

УДК 618.19-006.6:612.086

ЭКСПРЕССИЯ СПЕЦИФИЧЕСКИХ БЕЛКОВ PTEN И MUC4 У БОЛЬНЫХ С ИНВАЗИВНЫМ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

А.Б. Байжигитов

Представлены результаты изучения экспрессии специфических белков PTEN и MUC4 у больных с инвазивным раком молочной железы. Показано, что экспрессия данных белков влияет на результаты лечения рака молочной железы.

Ключевые слова: рак молочной железы; белки; иммуногистохимия.

EXPRESSION OF SPECIFIC PTEN AND MUC4 PROTEINS IN PATIENTS WITH THE INVASIVE BREAST CANCER

A.B. Bayzhigitov

The paper presented results of studying of expression of specific PTEN and MUC4 proteins in patients with invasive breast cancer in this article. It is shown that the expression of these proteins influences results of a cancer therapy of a mammary gland.

Keywords: breast cancer; proteins; immunohistochemistry.

Введение. В последнее время принято считать, что рак молочной железы (РМЖ) – это гетерогенное заболевание со специфическими биологическими, молекулярными и патогистологическими характеристиками [1]. Первичная и/или вторичная резистентность является основным препятствием для успешного клинического применения большинства противоопухолевых препаратов. Предполагается наличие нескольких потенциальных механизмов резистентности опухолевых клеток к воздействию трастузумаба.

1. Гиперэкспрессия инсулиноподобного фактора роста-1 (IGF1R) связана с резистентностью к трастузумабу, так как данные рецепторы физически взаимодействуют и участвуют в фосфорилировании HER2 (рецептор эпидермального фактора роста).

2. Активация сигнального каскада фосфоинозитол-3-киназы (PI3K) как следствие частичной или полной утраты функции гомолога фосфатазы и тензина (PTEN).

3. Подавление связывания трастузумаба с экстрацеллюлярным доменом HER2 в присутствии мембрано-ассоциированного гликопротеина MUC4 [2]. Мембрано-ассоциированный гликопротеин муцин 4 (MUC4) может скрывать HER2, защищая его от эффективного связывания с трастузумабом.

Как было показано, MUC4 прямо взаимодействует с HER2 [3]. Немногочисленные результаты предклинических исследований не исключают роль мутаций в гене HER2 (например, в 21-м экзоне) в формировании резистентности к трастузумабу (p95HER2). Мембранно-связанная часть, известная как p95, могла бы действовать как генетически активированная киназа, обуславливающая резистентность к трастузумабу [4]. Преклинически показано, что ингибиторы тирозинкиназы более эффективны при блокировании фосфорилирования p95 по сравнению с трастузумабом [5].

Целью настоящего исследования является определение частоты снижения экспрессии PTEN на госпитальной популяции у больных с инвазивным раком молочной железы.

Материал и методы исследования. Исследование представляло собой проспективное эпидемиологическое исследование иммуногистохимического изучения роли PTEN и MUC4 в разных молекулярно-генетических подгруппах рака молочной железы у пациентов с инвазивным РМЖ в Казахстане. Исследование проведено с мая 2014 г. по апрель 2015-го. В исследование были включены пациенты с инвазивным РМЖ согласно критериям включения и исключения (всего – 330 пациентов). Всем пациентам проводилась трепан-биопсия

молочной железы, материалы направлялись на иммуногистохимическое (ИГХ) исследование, которое проводилось в два этапа: на первом этапе определялась экспрессия рецепторов эстрогенов и прогестеронов, HER2, ядерный антиген Ki-67 у всех 330 пациентов. Тем пациентам, у которых был выявлен положительный HER2-статус, проводился второй этап ИГХ исследования: определение PTEN и MUC4.

Критерии включения: больные с патоморфологически установленным диагнозом инвазивного рака молочной железы, возраст > 18 лет, пациенты, подписавшие форму информированного согласия (ИС) до начала выполнения любых действий, связанных с исследованием.

Иммуногистохимический анализ проводили на срезах с парафиновых блоков опухолей, предназначенных для стандартного морфологического исследования. Срезы ткани крепились на специальные предметные стекла с положительным электрическим зарядом (SuperFrostPlus, Bio-Optica (Menzel), Италия). Приготовленные парафиновые срезы высушивали при температуре 37 °C в течение 12 часов. Перед процедурой окрашивания предметные стекла со срезами помещали в термостат (+56 °C) на 30 минут. Парафиновые срезы депарафинировали и дегидратировали по стандартной методике (3 смены Bio Clear и 3 смены Dehyol absolute по 10 минут). Демаскировку антигенов проводили в растворе целевого восстанавливающего буфера Dewaxing & Antigen Retrieval Buffer (100x Citrate Buffer, pH 6.0) и D&A, EDTA Buffer (100x) pH 8.0 с использованием водяной бани, при температуре 95–98 °C в течение 20 минут, затем стекла охлаждали при комнатной температуре в течение 15–20 минут, не вынимая срезы из контейнера с буфером.

Результаты исследования и обсуждение. Экспрессия PTEN была определена у всех пациентов, имеющих положительную экспрессию HER2 – 89 пациентов. Среди них было показано отсутствие экспрессии PTEN у 5 пациентов (5,6 %; 95 % ДИ 0,0–14,3) пациентов. Слабая экспрессия (снижение интенсивности по сравнению с нормальными эпителиальными клетками) наблюдалась у 13 (14,6 %; 95 % ДИ 7,9–23,3) пациентов. Положительная экспрессия была выявлена у 71 (79,8 %; 95 % ДИ 73,0–88,5) пациентов.

MUC4. Экспрессия MUC4 была определена у всех пациентов, имеющих положительную экспрессию HER2 – 89 пациентов.

Отсутствие окрашивания или слабое окрашивание (≤ 30 %) было выявлено у 64 пациентов (71,9 %) при 95 % ДИ 64,0–81,7. Слабое или умеренное

окрашивание (31–50 %) было обнаружено у 15 пациентов (16,9 %) при 95 % ДИ 9,0–26,6. Умеренное окрашивание (> 50 %) встречалось у 8 пациентов (9,0 %) при 95 % ДИ 1,1–18,7. Интенсивное окрашивание большинства клеток было выявлено у 2 пациентов (2,2 % (95 % ДИ 0,0–12,0)).

На основании этих данных негативный результат экспрессии MUC4 был обнаружен у 79 (88,8 % (95 % ДИ 80,3–94,5)) HER2-позитивных пациентов. Позитивный результат был обнаружен у 10 пациентов (11,2 % (95 % ДИ 5,5–19,7)).

У большинства пациентов выявлена инвазивная протоковая карцинома – 81,2 %. У половины пациентов исследования (50,3 %) выявлена умеренно дифференцированная степень злокачественности по классификации по G. Приблизительно с одинаковой частотой встречались II и III степени злокачественности, составившие 45,3 и 41,6 % пациентов соответственно.

При ИГХ-исследовании были определены экспрессия рецепторов стероидных гормонов (эстрогенов и прогестерона), а также экспрессия Ki67, белков PTEN и MUC4. Показано, что экспрессия рецепторов эстрогенов встречалась у 74,8 % пациентов, экспрессия рецепторов прогестерона была выявлена у 56,5 % пациентов. У 46,8 % пациентов выявлена интенсивная экспрессия Ki67.

При сравнении результатов с соответствующими литературными данными было показано, что полученные данные (снижение или полная потеря экспрессии PTEN обнаружена в общей сложности у 20,2 % пациентов), что соответствуют литературным данным. По данным литературных источников, снижение или полная потеря экспрессии PTEN была обнаружена с частотой от 22 до 64 % у HER2-позитивных пациентов с диагнозом РМЖ [4, 6].

Так, по данным итальянских исследователей было показано, что отсутствие экспрессии PTEN отмечается у 52 % пациентов с РМЖ, получающих трастузумаб [7].

В другом исследовании, которое было проведено в Японии, выявлено снижение экспрессии PTEN в 40,0–49,1 % случаев в различных популяциях пациентов с HER2-позитивным РМЖ [8].

Из вышеизложенного следует, что снижение или полная потеря экспрессии PTEN обнаружена, в общей сложности, у 20,2 % пациентов, что соответствует литературным данным. Негативный результат экспрессии MUC4 был обнаружен у 88,8 % HER2-позитивных пациентов. Позитивный результат был обнаружен у 10 (11,2 %) пациентов. Полученные данные могут иметь прогностическое значение и влиять на выживаемость больных раком молочной железы.

Литература

1. Микроскопическая техника: руководство / под ред. Д.С. Саркисова и Ю.Л. Петрова. М.: Медицина, 1996. С. 7–37.
2. *Allred D.C., Harvey J.M., Berardo M., Clark G.M.* Prognostic and predictive factors in breast cancer by immunohistochemical analysis // *Mod Pathol.* 1998. V. 11. P. 155–168.
3. *Dave B., Migliaccio I., Gutierrez M.C. et al.* Loss of phosphatase and tensin homolog or phosphoinositol-3 kinase activation and response to trastuzumab or lapatinib in human epidermal growth factor receptor 2-overexpressing locally advanced breast cancers // *J Clin Oncol.* 2001. V. 29. P. 166–173.
4. *Gori S., Sidoni A., Colozza M. et al.* EGFR, pMAPK, pAkt and PTEN status by immunohistochemistry: Correlation with clinical outcome in HER2-positive metastatic breast cancer patients treated with trastuzumab // *Ann Oncol.* 2009. V. 20. P. 648–654.
5. *Casa A.J., Dearth R.K., Litzenburger B.C. et al.* The type I insulin-like growth factor receptor pathway: a key player in cancer therapeutic resistance // *Front Biosci.* 2008. V. 13. P. 3273–87.
6. *Berns K., Horlings H.M., Hennessy B.T. et al.* A functional genetic approach identifies the PI3K pathway as a major determinant of trastuzumab resistance in breast cancer // *Cancer Cell.* 2007. V. 12. P. 395–402.
7. *Fabi A., Metro G., Di Benedetto A. et al.* Clinical significance of PTEN and p-Akt co-expression in HER2-positive metastatic breast cancer patients treated with trastuzumab-based therapies // *Oncology.* 2010. V. 78. P. 141–149.
8. *Fujita T., Doihara H., Kawasaki K. et al.* PTEN activity could be a predictive marker of trastuzumab efficacy in the treatment of ErbB2-overexpressing breast cancer // *Br J Cancer.* 2006. V. 94. P. 247–252.