

## КЛІНІКО-МОРФОЛОГІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ ТА ПРОГНОЗ ПЕРЕБІГУ РІЗНИХ МОЛЕКУЛЯРНИХ ПІДТИПІВ РАКУ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ

Любота Р.В.<sup>1</sup>, Любота І.І.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ, Україна

<sup>2</sup>Київський міський клінічний онкологічний центр, м. Київ, Україна

**Ключові слова:** рак молочної залози, молекулярні типи, прогноз перебігу

### Вступ

Рак молочної залози (РМЗ) є одним із найпоширеніших онкологічних захворювань в Україні. За даними Національного канцер-реєстру України, стандартизований показник захворюваності на рак молочної залози в 2009 році становить 53,57 випадків на 100 тис. жіночого населення. Хоча захворюваність на злоякісні новоутворення молочної залози постійно збільшується, смертність від них має тенденцію до зменшення [1].

Морфологічно РМЗ – це неоднорідна група пухлин, які відрізняються за клінічним перебігом та чутливістю до лікування. Однак навіть гістологічно аналогічні пухлини мають різну чутливість до хіміо- та променевої терапії, що визначає їх клінічний перебіг. Ці відмінності обумовлені обмеженістю морфологічної класифікації РМЗ для визначення прогнозу перебігу та тактики медикаментозного лікування. Дослідження експресії генів клітинами раку молочної залози та їх кореляція з фенотиповими проявами дозволили доповнити морфологічну класифікацію шляхом виділення молекулярних підтипів. На основі імуногістохімічного фенотипу карциноми молочної залози можна класифікувати мінімум на 4 молекулярних підтипи, які відрізняються між собою за прогнозом перебігу, відповіддю на медикаментозну терапію, загальною та безрецидивну виживаність [2-5]. Молекулярні підтипи РМЗ, які мають принципове клінічне значення наведено в таблиці 1.

РМЗ поділяється на люмінальні, HER2+ та тричі негативний молекулярні підтипи. До люмінальних відносяться пухлини, які експресують рецептори до естрогенів та прогестерону, і в залежності від експресії HER2/neu поділяються на А (не експресують HER2/neu) та Б (експресують HER2/neu). HER2+ називаються пухлини з гіперекспресією HER2/neu та відсут-

ністю ER, PR. Пухлини негативні за трьома вищезазначеними ознаками відносяться до тричі негативного (базальноподібного) РМЗ. Встановлено, що люмінальні типи пов'язані з менш агресивним перебігом та добрим прогнозом в порівнянні з Her2+ та тричі негативним (ТН) [5,6]. ТН підтип пов'язаний з високою частотою мутації BRCA1, агресивним перебігом, відсутністю реакції на гормонотерапію та трастузумаб, низькою загальною та безрецидивною виживаністю [5-8].

Залежність між імуногістохімічними маркерами та чутливістю пухлини до медикаментозного лікування добре вивчена і лежить в основі клінічних рекомендацій з ад'ювантного лікування РМЗ. Однак кількість досліджень, які б оцінювали взаємозв'язок між молекулярними підтипами та клініко-морфологічними характеристиками РМЗ, обмежена.

**Метою** даного популяційного дослідження є вивчення поширеності, клініко-морфологічних особливостей, загальної та безрецидивної виживаності хворих на РМЗ в залежності від молекулярного типу останнього.

### Матеріали та методи

**Підбір пацієнтів.** В дослідження включено 244 хворих на рак молочної залози у віці від 23 до 76 років (середній вік – 53±1,7 роки), які знаходились на лікування в клініці кафедри онкології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця на базі хірургічного відділення Київського міського клінічного онкологічного центру з 1 січня по 31 грудня 2005 року.

У всіх хворих оцінювали вік на момент постановки діагнозу, менструальну функцію, розмір, гістологічний тип та ступінь диференціювання пухлини, а також наявність метастазів в регіонарних лімфатичних вузлах (РЛВ).

Таблиця 1

**Імуногістохімічний фенотип молекулярних підтипів РМЗ**

Молекулярний підтип	Імуногістохімічний портрет					Частота виявлення
	ER*	PR*	HER2/neu *	CK 5/6*	EGFR*	
Luminal A	+	+	-	-	-	56-61%
Luminal B	+	+	+	-	-	9-16%
HER2+	-	-	+	-	-	8-16%
Triple negative (Basal-like)	-	-	-	+	+	8-20%

\*ER – рецептори до естрогенів; PR – рецептори до прогестерону; HER2/neu – рецептори епідермального фактору росту II типу; CK – цитокератин; EGFR – рецептор епідермального фактору росту.

Розмір пухлини оцінювали після вимірювання її максимального діаметру та класифікували згідно з Міжнародною TNM-класифікацією, як T1 (до 2 см), T2 (2-5 см), T3 (більше 5 см). Відсутність менструацій у хворих протягом 1 року до моменту встановлення діагнозу розцінювалась як менопауза. Гістологічний тип та ступінь диференціювання пухлини оцінювали згідно з національними стандартами, які відображають рекомендації провідних міжнародних організацій. Для оцінки метастатичного ураження регіонарних лімфовузлів з післяопераційного матеріалу макроскопічно відбирали 10 підозрілих на наявність метастазів лімфатичних вузлів, з яких готували патогістологічні препарати та оцінювали мікроскопічно.

Молекулярні підтипи РМЖ встановлювали на основі результатів імуногістохімічного дослідження експресії ER, PR та HER2/neu. Всі пухлини поділили на 4 підтипа: люмінальний А (Luminal A) – ER+ та/або PR+, HER2/neu-, люмінальний Б (Luminal B) – ER+ та/або PR+, HER2/neu+, HER2+ (ER- та PR-, HER2/neu +), тричі негативний (Triple negative) – ER- та PR-, HER2/neu-.

Всі хворі отримали ад'ювантне лікування згідно з національними стандартами лікування раку молочної залози. Однак при гіперекспресії HER2/neu жодна з хворих, включених в дане дослідження, в ад'ювантному режимі не отримувала трастузумаб.

*Імуногістохімічне дослідження.* З парафінових блоків виготовляли зрізи товщиною 4-5 мікрон, які поміщали на скельця, попередньо оброблених полі-L-лізином. Потім матеріал обробляли за загальноприйнятою стандартною методикою з використанням наступних антитіл: ER – клон 1D5, PgR – клон 636, HER2/neu – клон CB11.

Інтерпретацію результатів імуногістохімічної реакції проводили з використанням якісної оцінки ядерної реакції: негативна – “-”, слабо позитивна – “+”, помірно позитивна – “++”, виражено позитивна – “+++”, та кількісної системи оцінки реакції в % зафарбованих пухлинних клітин.

При оцінці експресії HER2/neu відмічали вираженість забарвлення цитоплазматичної мембрани: реакція “-”, “+” – відсутність гіперекспресії, реакція “+++” – гіперекспресія HER2/neu. Наявність гіперекспресії HER2/neu у випадках реакції “++” оцінювалась за допомогою методу гібридизації in situ з використанням флюоресцентної мітки FISH (флюоресцентна in situ гібридизація). Дослідження проводились в патогістологічній лабораторії Київського міського клінічного онкологічного центру (зав. лабораторією – д.м.н. Захарцева Л.М.).

*Статистичний аналіз.* Статистичну достовірність відмінностей між молекулярними підтипами рака молочної залози оцінювали за допомогою однофакторного дисперсійного аналізу (ANOVA). Відмінності вважали статистично достовірними при рівні значимості (p) менше 0,05. Загальну та безрецидивну виживаність визначали за допомогою метода Каплана-Майєра.

Всі статистичні розрахунки виконували за допомогою програми MS Excel.

#### Результати

В результаті проведеного дослідження всіх хворих, на основі результатів імуногістохімічного дослідження експресії ER, PR та HER2/neu, розподілили на 4 групи: люмінальний А – 152 (62%) пацієнтки, тричі негативний – 49 (20%), люмінальний Б – 28 (12%) та HER2+ – 15 (6%).

Клініко-морфологічні характеристики молекулярних підтипів РМЖ наведено в таблиці 2.

Таблиця 2

#### Клініко-морфологічні характеристики молекулярних підтипів РМЖ

Клініко-морфологічні характеристики	Всього n (%)	Luminal A n (%)	Luminal B n (%)	HER2+ n (%)	Triple negative n (%)	P
<b>Вік на момент постановки діагнозу</b>						0,1449
<50 років	80 (33%)	48 (32%)	7 (25%)	4 (26,5%)	21 (43%)	
50-69 років	149 (61%)	96 (63%)	19 (68%)	10 (66,5%)	24 (49%)	
≥70 років	15 (6%)	8 (5%)	2 (7%)	1 (7%)	4 (8%)	
<b>Менструальна функція</b>						0,0299
Пременопауза	87 (36%)	54 (36%)	7 (25%)	4 (27%)	22 (45%)	
Менопауза	157 (64%)	98 (64%)	21 (75%)	11 (73%)	27 (55%)	
<b>Розмір пухлини</b>						0,088
До 2 см	103 (42%)	65 (43%)	11 (39%)	6 (40%)	21 (43%)	
2-5 см	131 (54%)	81 (53%)	16 (57%)	8 (53%)	26 (53%)	
Більше 5 см	10 (4%)	6 (4%)	1 (4%)	1 (7%)	2 (4%)	
<b>Гістологічний тип</b>						0,038
Частковий	46 (19%)	34 (22,5%)	4 (14%)	1 (7%)	7 (14%)	
Протоковий	171 (70%)	104 (68,5%)	22 (78%)	12 (79%)	33 (67%)	
Змішаний*	13 (5%)	8 (5%)	1 (4%)	1 (7%)	3 (7%)	
Інші**	14 (6%)	6 (4%)	1 (4%)	1 (7%)	6 (12%)	
<b>Ступінь диференціювання пухлини</b>						0,0943
G1	14 (6%)	8 (5%)	1 (4%)	1 (7%)	4 (8%)	
G2	174 (71%)	116 (76,5%)	25 (89%)	12 (79%)	21 (43%)	
G3,G4	56 (23%)	28 (18,5%)	2 (7%)	2 (14%)	24 (49%)	
<b>Статус регіонарних лімфатичних вузлів</b>						0,008
Немає метастазів	130 (53%)	83 (55%)	12 (43%)	10 (67%)	25 (51%)	
Метастази в РЛВ	114 (47%)	69 (45%)	16 (57%)	5 (33%)	24 (49%)	

\*часткова-протокова карцинома; \*\*слизова, медулярна та папілярна карциноми.

Частота виявлення різних молекулярних підтипів РМЗ статистично достовірно залежить від наступних клініко-морфологічних характеристик: менструальна функція на момент постановки діагнозу, гістологічний тип пухлини та статус РЛВ. В пременопаузі найчастіше діагностується тричі негативний та люмінальний А молекулярні підтипи РМЗ (45% та 32% відповідно). У хворих, які на момент встановлення діагнозу знаходились в менопаузі, частіше за інші зустрічається люмінальний Б (75%) та HER2+ (73%) типи РМЗ.

Відмінності між імуногістохімічними підтипами спостерігалися при різних гістологічних типах РМЗ. Часткові карциноми найчастіше зустрічалися при люмінальному А (22,5%) та HER2+ і тричі негативному (по 14%) типах. Протоковий рак молочної залози зустрічався в 79% та 78% випадків люмінального Б та HER2+ молекулярних підтипах відповідно. Частково-протокова карцинома однаково часто зустрічається при різних типах рака молочної залози. Слизова, медулярна та папілярна карциноми мають тричі негативний імуногістохімічний варіант в 14% випадків.

Метастатичне ураження регіонарних лімфатичних вузлів частіше асоціюється з люмінальним Б та тричі негативним молекулярним фенотипом у 57% та 49% випадків відповідно.

Достовірно значущої залежності між імуногістохімічним фенотипом раку молочної залози та віком на момент постановки діагнозу, розміром і ступенем диференціювання пухлини не встановлено. Однак спостерігається тенденція до збільшення частоти виявлення низько- та недиференційованих пухлин при тричі негативному молекулярному підтипі РМЗ.

В таблиці 3 представлені дані про наявність метастазів в РЛВ, як показник агресивності, в залежності від розміру пухлини при досліджуваних молекулярних підтипах РМЗ.

Метастази в регіонарних лімфатичних при розмірі пухлини до 2 см (категорія Т1 за класифікацією TNM) найчастіше спостерігаються у хворих на тричі негативний рак молочної залози (48%), а при категорії Т2 (від 2,1 до 5,0 см) – при люмінальних підтипах (81% та 58%).

Результати аналізу 5-ти річної загальної та безрецидивної виживаності хворих з досліджуваних груп представлені на малюнку 1 та 2 і в таблиці 4 та 5 відповідно.

Загальна виживаність найвища серед хворих з люмінальним А типом РМЗ, а найнижча – при HER2+ та люмінальному Б (74% проти 58% та 57% відповідно).

5-ти річна безрецидивна виживаність гірша у хворих з люмінальним Б та тричі негативним РМЗ (42% та 45% відповідно) у порівнянні з хворими на люмінальний А молекулярний підтип.

Таблиця 3

Розмір пухлини при метастатичному ураженні регіонарних лімфовузлів

Розмір пухлини при наявності метастазів в РЛВ	Молекулярний фенотип					P 0,0365
	Всього n (%)	Luminal A n (%)	Luminal B n (%)	HER2+ n (%)	Triple negative n (%)	
T1	33 (32%)	19 (28%)	3 (27%)	1 (17%)	10 (48%)	
T2	78 (60%)	47 (58%)	13 (81%)	3 (38%)	13 (50%)	

Таблиця 4

Загальна виживаність хворих в залежності від молекулярного підтипу РМЗ

Молекулярний підтип РМЗ	Загальна виживаність хворих (роки)				
	1	2	3	4	5
Luminal A	99%	95%	92%	80%	74%
Luminal B	100%	100%	92%	83%	58%
HER2+	100%	71%	57%	57%	57%
Triple negative	98%	90%	86%	69%	60%

Таблиця 5

Безрецидивна виживаність хворих в залежності від молекулярного підтипу РМЗ

Молекулярний підтип РМЗ	Загальна виживаність хворих (роки)				
	1	2	3	4	5
Luminal A	95%	84%	79%	66%	62%
Luminal B	100%	83%	67%	58%	42%
HER2+	85%	57%	57%	57%	57%
Triple negative	95%	81%	69%	57%	45%

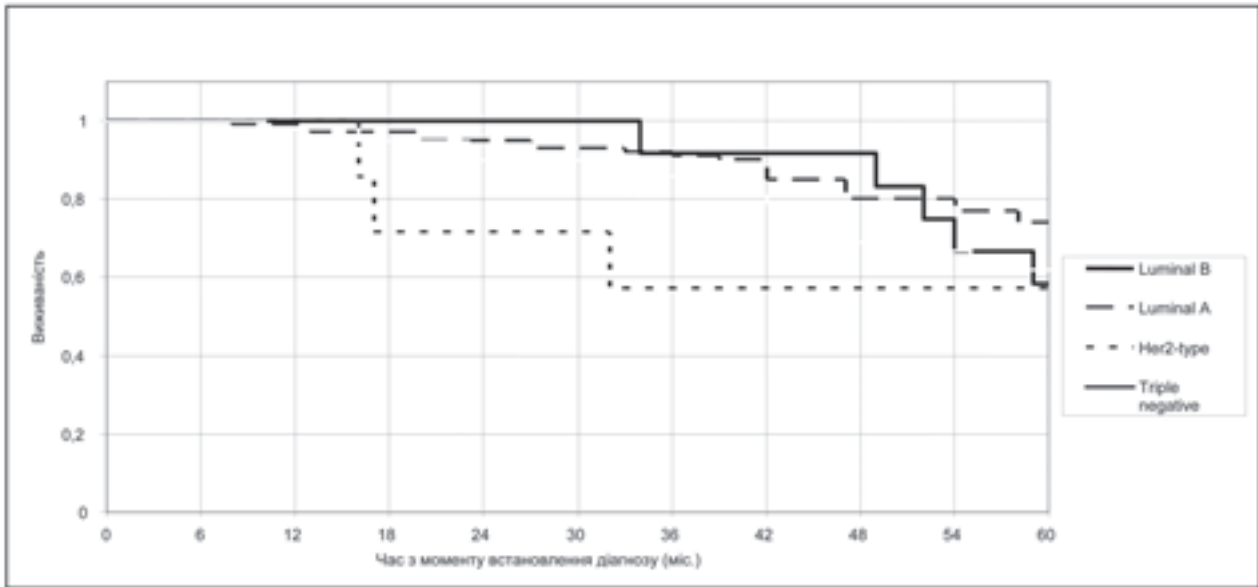


Рис. 1. Загальна виживаність хворих в залежності від молекулярного підтипу РМЗ

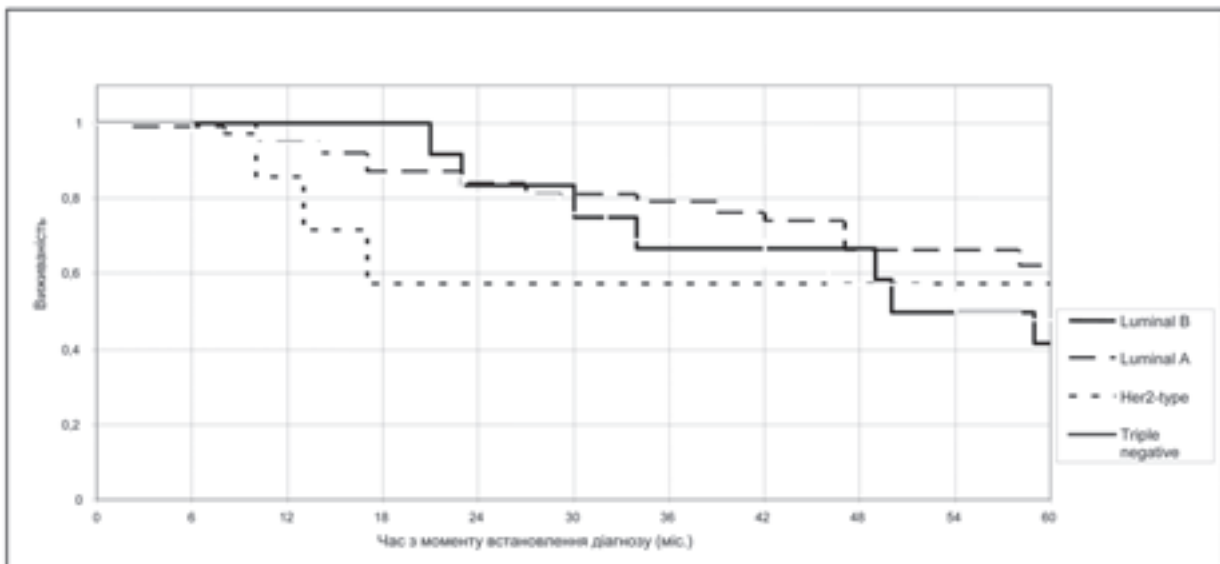


Рис. 2. Безрецидивна виживаність хворих в залежності від молекулярного підтипу РМЗ

### Обговорення

Отримані в даному популяційному дослідженні результати свідчать, що частота виявлення різних молекулярних підтипів раку молочної залози, визначених на основі імуногістохімічного дослідження пухлини, неоднакова. Найчастіше зустрічається люмінальний А (62%) молекулярний тип РМЗ, другим за частотою є тричі негативний (20%), потім – люмінальний Б (12%) та HER2+ (6%) типи.

Люмінальний А підтип РМЗ в більшості випадків діагностується у хворих в менопаузі, має частковий гістологічний тип та метастазує в регіонарні лімфатичні вузли при значних розмірах пухлини (58% випадків при категорії T2). 5-ти річна загальна та безрецидивна виживаність в даному молекулярному типі є найбільшою і становить 74% та 62% відповідно.

Тричі негативний РМЗ характеризується частковим, слизовим, медулярним та папілярним гістологічним типом, у половині випадків метастазує в РЛВ незалежно від

розміру пухлини в молочної залозі та діагностується у хворих в менопаузі. Порівняно з люмінальним А типом має меншу 5-ти річну загальну та безрецидивну виживаність (60% та 45% відповідно).

Люмінальний Б молекулярний тип найчастіше діагностується у жінок в менопаузі, в більшості випадків є протоковою карциномою, при якій метастази в регіонарних лімфовузлах зустрічаються при розмірах пухлини від 2,1 до 5,0 см. Має найнижчу 5-ти річну загальну та безрецидивну виживаність (58% та 42% відповідно).

HER2+ тип, як і люмінальний Б діагностується в менопаузі, в більшості випадків є протоковою карциномою, однак порівняно рідко метастазує в РЛВ. 5-ти річна загальна та безрецидивна виживаність однакова і становить 57%.

Отже, найбільш благоприємним молекулярним підтипом раку молочної залози з точки зору клінічного перебігу є люмінальний А РМЗ. Неблагоприємний клінічний

перебіг люмінального Б та HER2+ типів, можливо, пов'язаний з відсутністю терапії трастузумабом.

#### ЛІТЕРАТУРА:

1. Бюлетень Національного канцер-реєстру № 12 – “Рак в Україні, 2009-2010” [Текст] . – Київ, 2011.
2. Perou C.M. Molecular portraits of human breast tumours [Text] /Perou C.M., Sorlie T., Eisen M.B. et al. // Nature – 2000. – Vol. 406(6797). – P.747–52.
3. Sorlie T., Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications [Text] / Sorlie T., Perou C.M., Tibshirani R. et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2001. – Vol. 98(19). – P.10869–10874.
4. Sorlie T. Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets [Text] / Sorlie T., Tibshirani R., Parker J et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA – 2003. – Vol. 100(14). – P. 8418–8423.
5. Sotiriou C. Breast cancer classification and prognosis based on gene expression profiles from a

population-based study [Text] / Sotiriou C., Neo S.Y., McShane L.M. et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2003. – Vol. 100(18). – P.10393–10398.

6. Carey L.A. Race, breast cancer subtypes, and survival in the Carolina Breast Cancer Study [Text] / Carey L.A., Perou C.M., Livasy C.A. et al. // JAMA – 2006. – Vol. 295(21). – P.2492–2502.
7. Foulkes W.D. Germline BRCA1 mutations and a basal epithelial phenotype in breast cancer [Text] / Foulkes W.D., Stefansson I.M., Chappuis P.O. et al. // J. Natl. Cancer Inst. – 2003. – Vol. 95(19). – P.1482–1485.
8. Liu H. Basal-HER2 phenotype shows poorer survival than basal-like phenotype in hormone receptor-negative invasive breast cancers [Text] / Liu H., Fan Q., Zhang Z. et al. // Hum. Pathol. – 2008. – Vol. 39(2). – P.167–174.
9. Greene F.L. Cancer Staging Manual, 6th ed. AJCC (American Joint Committee on Cancer). [Text] / Greene F.L., Page D.S., Fleming I.D. et al. – New York: Springer-Verlag, 2002. – 421 p.

#### КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ И ПРОГНОЗ ТЕЧЕНИЯ РАЗНЫХ МОЛЕКУЛЯРНЫХ ПОДТИПОВ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Любота Р.В.<sup>1</sup>, Любота И.И.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Національний медичний університет імені А.А. Богомольця, м. Київ, Україна

<sup>2</sup>Київський міський клінічний онкологічний центр, м. Київ, Україна

**Резюме.** Морфологически рак молочной железы – это неоднородная группа опухолей, которые отличаются по клиническому течению и чувствительностью к лечению. Исследование экспрессии генов клетками рака молочной железы и их корреляция с фенотипическими проявлениями, позволили дополнить морфологическую классификацию путем выделения молекулярных подтипов. На основе иммуногистохимического фенотипа карциномы молочной железы можно классифицировать минимум на 4 молекулярных подтипы.

Целью данного популяционного исследования является изучение распространенности, клинико-морфологических особенностей, общей и безрецидивной выживаемости больных РМЖ в зависимости от молекулярного типа последнего.

В исследование включено 244 больных РМЖ в возрасте от 23 до 76 лет (средний возраст – 53±1,7 года), которые находились на лечении в клинике кафедры онкологии НМУ имени А.А. Богомольця на базе хирургического отделения Киевского городского клинического онкологического центра с 1 января по 31 декабря 2005 года.

В результате проведенного исследования всех больных на основе результатов иммуногистохимического исследования экспрессии ER, PR и HER2/neu, распределили на 4 группы: люминальный А – 152 (62%) пациентки, трижды негативный – 49 (20%), люминальный Б – 28 (12%) и HER2 + – 15 (6%).

**Ключевые слова:** рак молочной железы, молекулярные типы, прогноз течения.

#### CLINICAL AND MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS AND PROGNOSIS OF DIFFERENT MOLECULAR SUBTYPES OF BREAST CANCER

Lyubota R.<sup>1</sup>, Lyubota I.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>National O.O.Bohomolets Medical University, Kyiv, Ukraine

<sup>2</sup>Kyiv municipal clinical oncological center, Kyiv, Ukraine

**Summary.** Breast cancer is heterogeneous group of tumors that differ in clinical course and sensitivity to treatment. The study of gene expression breast cancer cells and their correlation with phenotypic manifestations, allowed complete morphological classification by providing molecular subtypes. Based on the immunohistochemical phenotype of breast carcinoma can be classified in at least four molecular subtypes.

The aim of this study is population-based study of prevalence, clinical and morphological features, general and disease-free survival in breast cancer patients according to molecular type of the latter.

The study included 244 breast cancer patients aged 23 to 76 years (median 53 ± 1,7 years) who were treated in hospital oncology department of National A.A.Bohomolets Medical University, on the basis of the surgical department of the Kyiv City Clinical Cancer Center from January 1 to December 31, 2005.

The study of all patients on the basis of the immunohistochemical study the expression of ER, PR and HER2/neu, were divided into 4 groups: luminal A – 152 (62%) patients, triple negative – 49 (20%), luminal B – 28 (12%) and HER2 + – 15 (6%).

**Keywords:** breast cancer, molecular types, prognosis.