

КЛИНИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА

УДК 618.19-006.6(476.6)

**КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ВЫЯВЛЕНИЯ BRCA-1
С ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОЙ ОЦЕНКОЙ ЭКСПРЕССИИ РЕЦЕПТОРОВ
АНДРОГЕНОВ И C-KIT (CD117) ПРИ ТРОЙНОМ НЕГАТИВНОМ РАКЕ
МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У ЖЕНЩИН ГРОДНЕНСКОЙ ОБЛАСТИ***А. Ю. Крылов, Ю. В. Крылов, М. Г. Зубрицкий,
И. А. Курстак, С. А. Ляликов, В. А. Басинский***Институт повышения квалификации и переподготовки кадров
Государственного комитета судебных экспертиз Республики Беларусь, г. Минск
Витебский государственный медицинский университет
Гродненское областное клиническое патологоанатомическое бюро
Гродненский государственный медицинский университет**

В Гродненской области в 2010–2015 гг. проведено иммуногистохимическое обследование 2008 пациенток с раком молочной железы с определением Her2/neu, рецепторов эстрогена и прогестерона. Тройной негативный рак молочной железы, отрицательный к этим маркерам, выявлен в 19,8 % случаев при ежегодных колебаниях его доли в пределах 16,4–21,6 %.

В базе данных по определению BRCA-1 (449 женщин с раком молочной железы) у 39 был установлен тройной негативный рак молочной железы. Мутация BRCA-1 выявлена в 5 из 39 (12,8 %) наблюдений. Гистологически эти опухоли были представлены инвазивным протоковым раком, G2–G3 — у 3 пациенток, а также медулярным раком, G3 — 2 случая. При ИГХ-исследовании 23 случаев экспрессия CD117 различной интенсивности выявлена в 11 (47,8 %), а очаговая ядерная экспрессия (< 1 %) андроген рецепторов — в 1 (4,35 %) случае.

Наличие случаев гиперэкспрессии C-kit (CD-117) предполагает изучение возможности таргетной терапии иматинибом по аналогии с гастроинтестинальными стромальными опухолями. Это, в свою очередь, требует включения C-kit (CD-117) в список обязательных ИГХ-маркеров при тройном негативном раке молочной железы, а установление в послеоперационном диагнозе тройного негативного рака молочной железы, предполагает необходимость определения мутации BRCA-1.

Ключевые слова: тройной негативный рак молочной железы, BRCA-1 мутации, экспрессия рецепторов андрогенов и C-kit.

**CLINICAL AND MORPHOLOGICAL ANALYSIS OF BRCA-1 IDENTIFICATION
WITH IMMUNOHISTOCHEMICAL ASSESSMENT OF ANDROGEN RECEPTOR
AND C-KIT (CD117) EXPRESSION IN TRIPLE-NEGATIVE BREAST CANCER
IN WOMEN OF GRODNO REGION***A. Y. Krylov, Y. V. Krylov, M. G. Zubritsky,
I. A. Kurstak, S. A. Lyalikov, V. A. Basinski***Institute of In-service Training and Staff Retraining
of the State Committee of the Republic of Belarus Legal Expertise, Minsk
Vitebsk State Medical University
Grodno Regional Clinical Pathoanatomical Bureau
Grodno State Medical University**

We conducted the immunohistochemical examination of 2008 patients with breast cancer determining Her2/neu, receptor estrogene, and progesterone in Grodno region over 2010–2015. We revealed triple negative breast cancer to be negative to these markers in 19.8 %, with annual fluctuations of its share within 16.4–21.6 %.

39 women from the BRCA-1 database (449 women with breast cancer) detected triple negative breast cancer. Mutation of BRCA-1 was identified in 5 out of 39 (12.8 %) cases. Histologically, these tumors were presented by invasive ductal carcinoma, by G2–G3 and also medullary cancer in 3 cases, by G3 — in 2 cases. During the immunohistochemical study of 23 cases, CD-117 expression of varying intensity was detected in 11 (47.8 %) and focal nuclear expression of androgen receptors (< 1 %) in 1 case (4.35 %).

The presence of C-kit (CD-117) hyperexpression presupposes the study of the possibility of the targeted therapy with imatinib by analogy with gastrointestinal stromal tumors, which, in turn, requires the inclusion of C-kit (CD 117) into the list of mandatory immunohistochemical markers in triple negative breast cancer, and the postoperative diagnosis of triple negative breast cancer presupposes the necessity for BRCA-1 mutation identification.

Key words: triple-negative breast cancer, BRCA-1 mutations, expression of androgen receptor and C-kit.

Введение

О большей частоте мутаций BRCA-1 в тройном негативном раке молочной железы (ТНРМЖ) по сравнению с остальными случаями рака молочной железы (РМЖ) сообщают, в частности, N. M. Tun et al. (2014) [1].

Отсутствие возможности использования для лечения ТНРМЖ таргетной и гормональной терапии диктует необходимость поиска иммуногистохимических (ИГХ) маркеров для определения возможности разработки таргетной терапии ТНРМЖ. Недавно появились публикации об экспрессии в ряде случаев ТНРМЖ рецепторов андрогенов (AR). По данным литературных источников, AR экспрессируется в 10–43 % ТНРМЖ [2, 3, 4].

В наших предыдущих исследованиях AR определялись в ТНРМЖ в 11 случаях из 50, что составило 22 %, и характеризовались отсутствием регионарных и отдаленных метастазов [5]. В последние годы появились публикации, в которых описаны попытки таргетной терапии AR + РМЖ [6].

Кроме того, по данным литературных источников, в части случаев ТНРМЖ определяется экспрессия C-kit (CD-117). M. Tahany et al. (2011) в 54 из 72 (75 %) случаев ТНРМЖ обнаружили позитивные C-kit (CD-117), причем отчетливо окраска была в 20 (37,1 %) наблюдениях [7]. Sara Janssan et al. (2014) при анализе 34 случаев ТНРМЖ обнаружили позитивную реакцию C-kit (CD-117) в 16 (49 %) наблюдениях, негативную — в 17 (51 %) [8]. Все вышесказанное указывает на возможность проведения ИГХ-анализа экспрессии AR и C-kit (CD-117) клетками опухолей пациенток с ТНРМЖ, которым проводилось определение мутации гена BRCA-1.

Цель исследования

Провести клиничко-морфологический анализ выявления BRCA-1 при ТНРМЖ с оценкой экспрессии AR и C-kit (CD-117).

Материал и методы

Молекулярно-генетическое исследование образцов ДНК на наличие мутаций в генах BRCA-1 проводилось методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) у 449 пациенток с РМЖ. При анализе базы данных установлено, что BRCA-1 исследовался в 39 случаях ТНРМЖ, где был проведен клиничко-морфологический анализ. ИГХ-исследование экспрессии AR и C-kit (CD-117) проведено у 23 больных, так как часть материала была выдана на руки пациенткам. Для морфологического исследования из архивных парафиновых блоков готовили срезы толщиной 5 мкм, которые депарафинировали в ксилоле, спиртах и окрашивали гематоксилином и эозином. Для иммуногистохимического исследования использовались стандартные методики и наборы антител фирмы «ДАКО». Оценка морфологических параметров проводилась с использованием светового оптического микроскопа «Carl Zeiss» Axioscop 40 при увеличении в 100, 200 и 400.

Статистический анализ результатов исследования был выполнен с использованием аналитического пакета «Statistica», 7.0. При необходимости сравнения частот встречаемости признаков в различных группах использовали таблицы сопряжения — тест χ^2 , а при малом ($n \leq 10$) размере сравниваемых групп — точный тест Фишера (Fisher's exact test).

Результаты и обсуждение

В Гродненской области в 2010–2015 гг. проведено иммуногистохимическое (ИГХ) обследование 2008 пациенток с раком молочной железы (РМЖ) с определением Her2/neu, рецепторов эстрогена (ER) и прогестерона (PR). Тройной негативный рак (ТНРМЖ), отрицательный к этим маркерам, выявлен в 398 (19,8 %) случаях при ежегодных колебаниях его доли в пределах 16,4–21,6 % (таблица 1).

Таблица 1 — Выявление ТНРМЖ в Гродненской области 2010–2015 гг.

Показатель	2010	χ^2 , p	2011	χ^2 , p	2012	χ^2 , p	2013	χ^2 , p	2014	χ^2 , p	2015	всего
ТНРМЖ (абс./%)	34/16,4 %	0,79 0,3748	65/19 %	0,07, 0,7858	67/20 %	0,22, 0,6397	58/17,4 %	0,22, 0,6381	77/20 %	0,22, 0,6368	97/21,6 %	398/ 19,8 %
РМЖ	207	—	334	—	330	—	308	—	380	—	449	2008

Анализ данных таблицы 1 показывает, что удельный вес ТНРМЖ колебался в пределах 16,4–21,6 %, составляя в среднем за изученный период 19,8 %, и статистически значимых различий ежегодно не наблюдалось ($p > 0,05$).

Пик заболеваемости РМЖ регистрировался у женщин в возрасте 60–65 лет [9]. По нашим данным, в 2010 г. средний возраст составил 52,8, в 2011 г. — 56,4, в 2012 г. — 57,2, в 2013 г. — 56,6, в 2014 г. — 56,5, в 2015 г. — 58 лет.

Средний возраст пациенток с ТНРМЖ в нашем исследовании составил 56,2 года. Данные литературных источников также свидетельствуют о более молодом возрасте выявления опухоли при ТНРМЖ: 50 лет [10], 55,6 лет [11].

В наших предыдущих исследованиях мутаций BRCA-1 у населения Гродненской области их частота у пациенток без учета наследственной отягощенности с диагнозом РМЖ составила 3,8 %. Частота встречаемости мутаций

BRCA-1 у пациенток с первично-множественным раком (ПМР) молочной железы составила 8,6 % и была достоверно выше, чем у пациенток без ПМР молочной железы — 2,7 % ($p < 0,02$). Процент выявления BRCA-1 не зависел от степени экспрессии ER, PR и HER2/neu [12–15].

В клинико-диагностической лаборатории Гродненской областной клинической больни-

цы в 2010–2014 гг. проведено определение мутации BRCA-1 в 449 случаях РМЖ, при этом 39 случаев были представлены ТНРМЖ (средний возраст этих пациенток составил $54,8 \pm 11,7$ лет). Всего за этот период в группе из 449 наблюдений РМЖ выявлено 17 (3,8 %) женщин с мутацией в генах BRCA-1 (12 из 410 — не ТНРМЖ и 5 из 39 — ТНРМЖ) (таблица 2).

Таблица 2 — Частота определения мутации в генах BRCA-1 при ТНРМЖ и других РМЖ

Показатель	Не ТНРМЖ (абс./%)	ТНРМЖ (абс./%)	χ^2 ; p
Мутация BRCA-1	12/2,9 %	5/12,8 %	7,05; 0,0079
Всего	410	39	—

Анализ данных таблицы показывает, что при ТНРМЖ данная мутация встречается чаще, чем в группе пациенток с не ТНРМЖ.

При морфологическом анализе ТНРМЖ был представлен в 29 (74,4 %) случаях инвазивной протоковой карциномой (G2–3), в 4 (10,3 %) — инвазивной дольковой карциномой (G2–3), в 5 (12,8 %) случаях — медуллярным (G3) и в 1 (2,5 %) — недифференцированным раком (G3).

Мутация гена BRCA-1 выявлена в 5 (12,8 %) случаях ТНРМЖ из 39. Средний возраст пациенток составил $52,6 \pm 11,8$ года. Гистологически эти опухоли были представлены: в 2 случаях медуллярным раком G3, в 3 — инвазивным протоковым раком G2–G3. 2 наблюдения были представлены первично-множественными злокачественными опухолями. Так, в одном случае имело место метакхронное билатеральное поражение молочных желез, а в другом — метакхронное поражение молочной железы и эндометрия.

Иммуногистохимическое исследование с антителами к AR и CD-117 проведено в 23 случаях, так как часть материала была выдана пациенткам. При анализе экспрессии этих маркеров установлено, что экспрессия CD-117 различной интенсивности выявлена в 11 (47,8

%) случаях, а очаговая ядерная экспрессия AR (< 1 %) — в 1 (4,35 %) случае.

В материале, исследованном иммуногистохимически, было 2 наблюдения с наличием мутации BRCA-1. Оба были AR негативны. В одном случае (пациентке 61 год), гистологически представленном медуллярным раком G3 с метастатическим поражением одного из подмышечных лимфатических узлов, обнаружена очаговая цитоплазматическая экспрессия C-kit (CD-117) (метакхронное билатеральное поражение молочных желез). В другом (67 лет) — выявлялась гиперэкспрессия C-kit (CD-117). Гистологически — медуллярный рак G3, без метастазов в лимфатические узлы (метакхронное поражение молочной железы и эндометрия) (рисунок 1).

Наличие в нашем материале случаев гиперэкспрессии C-kit (CD-117) клетками ТНРМЖ предполагает (по аналогии с позитивными к C-kit (CD-117) гастроинтестинальными стромальными опухолями) изучение возможности применения иматиниба. Это определяет необходимость включения в набор обязательных ИГХ-маркеров при ТНРМЖ маркера C-kit (CD-117). Кроме того, относительно высокая частота мутаций BRCA-1 в ТНРМЖ предполагает при его выявлении в послеоперационном материале определение мутаций BRCA-1.

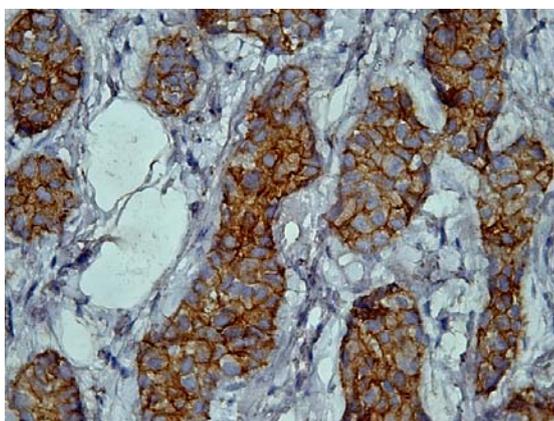


Рисунок 1 — Медуллярный рак молочной железы. $\times 400$, опухоль солидного строения. Экспрессия C-kit (CD-117), интенсивное цитоплазматическое и мембранное окрашивание в различные оттенки коричневого цвета

Выводы

1. В 2010–2015 гг. в Гродненской области выявление ТНРМЖ колебалось в пределах 16,4–21,6 %, составляя в среднем 19,8 % от всех РМЖ.

2. Мутации BRCA-1 были выявлены в 5 из 39 (12,8 %) случаев ТНРМЖ.

Гистологически эти опухоли представлены: в 2 случаях медулярным раком G3, в 3 — были инвазивным протоковым раком G2–G3. В двух наблюдениях отмечены первично-множественные злокачественные опухоли. В одном случае имело место метакхронное билатеральное поражение молочных желез, а в другом — метакхронное поражение молочной железы и эндометрия.

3. Иммуногистохимическое исследование экспрессии AR и C-kit (CD-117), проведенное в 23 случаях РМЖ, выявило экспрессию CD-117 различной интенсивности в 11 (47,8 %), а очаговую ядерную экспрессию (< 1 %) AR — в 1 (4,35 %) случае.

4. Наличие в нашем материале случаев гиперэкспрессии C-kit (CD-117) клетками ТНРМЖ, предполагает (по аналогии с позитивными к C-kit (CD-117) гастроинтестинальными стромальными опухолями) изучение возможности применения иматиниба. Это определяет необходимость включения в набор обязательных ИГХ-маркеров при ТНРМЖ C-kit (CD-117). Кроме того, относительно высокая частота мутаций BRCA-1 в ТНРМЖ предполагает при его выявлении в послеоперационном материале определение мутаций BRCA-1.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Risk of having BRCA1 mutation in high-risk women with triple-negative breast cancer: a meta-analysis / N. M. Tun [et al.] // Clin. Genet. — 2014. — Vol. 85(1). — P. 43–48.

2. Androgen receptor expression and breast cancer survival in postmenopausal women / R. Hu [et al.] // Clin. Cancer Res. — 2011. — Vol. 17(7). — P. 1867–1874.

3. Expression of androgen receptors in triple negative breast carcinomas / I. Mrklic' [et al.] // Acta Histochemica. — 2013. — Vol. 115. — P. 344–348.

4. Androgen receptor driven transcription in molecular apocrine breast cancer is mediated by Fox A1 / J. L. Robinson [et al.] // EMBO Journal. — 2011. — Vol. 30. — P. 3019–3027.

5. Определение андрогеновых рецепторов в клетках тройного негативного рака молочной железы / А. Ю. Крылов [и др.] // Иммунопатология, аллергология, инфектология. — 2016. — № 1. — С. 32–36.

6. Multiple Molecular Subtypes of Triple-Negative Breast Cancer Critically Rely on Androgen Receptor and Respond to Enzalutamide in vivo / V. N. Barton [et al.] // Molecular Cancer Therapeutics. — 2015. — С. 769–778.

7. Overexpression of c-KIT (CD-117) in triple-negative breast cancer / Sh. M. Tahany [et al.] // Egyptian Journal of Pathology. — 2011. — Vol. 31, Is. 2. — P. 113–117.

8. The Three Receptor Tyrosine Kinases c-KIT, VEGFR2 and PDGFR α , Closely Spaced at 4q12, Show Increased Protein Expression in Triple-Negative Breast Cancer / S. Jansson [et al.] // Open access Freely available online. — 2014. — Vol. 9, № 7. — P. 54–62.

9. Клинические рекомендации. Онкология / под ред. В. И. Чисова, С. Л. Дарьяловой. — 2-е изд., испр. и доп. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. — 928 с.

10. Single Centre Clinical of a Greek Patient Population with Triple-Negative Breast Cancer / D. Panousis [et al.] // Hellenic Journal of Surgeru. — 2014. — Vol. 86, № 5. — С. 280–286.

11. Identificaaion of prognostic different subgroups in triple negative breast cancer by Her 2-neu protein expression / G. Schmidt [et al.] // Arch Gynecol Obster. — 2014. — Vol. 209. — P. 1221–1229.

12. Особенности рецепторного статуса у пациенток с наследственным раком молочной железы в белорусской популяции / И. А. Курстак [и др.] // Матер. науч.-практ. конф., посвященной 55-летию учреждения образования «Гродненский государственный медицинский университет» «Актуальные проблемы медицины», Гродно, 3–4 октября 2013 г. — Гродно: ГрГМУ, 2013. — С. 384–387.

13. Частота мутаций гена BRCA и клинический риск при наследственных опухолях женской репродуктивной системы / О. Е. Кузнецов [и др.] // Здравоохранение. — 2011. — № 4. — С. 71–74.

14. Прогностическая значимость клинико-генетических признаков в диагностике предрасположенности к наследственному раку молочной железы и яичников у здоровых лиц в белорусской популяции / И. А. Курстак [и др.] // Журнал Гродн. гос. мед. университета. — 2013. — № 1 (41). — С. 34–36.

15. Прогнозирование мутации в генах BRCA у пациенток с раком молочной железы / И. А. Курстак [и др.] // Лабораторная диагностика. Восточная Европа. — 2014. — № 1(9). — С. 24–30.

Поступила 12.10.2016

УДК 616.831:616.134.9:[616.13:611.018.74]-008.6-053.81

**МЕХАНИЗМ ВОЗНИКНОВЕНИЯ ДИСФУНКЦИИ ЭНДОТЕЛИЯ
У ЛИЦ МОЛОДОГО ВОЗРАСТА СО СПОНДИЛОГЕННОЙ
ВЕРТЕБРО-БАЗИЛЯРНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ**

Н. А. Некрасова¹, Е. Л. Товажнянская¹, Н. В. Галиновская², А. Н. Цуканов³

¹Харьковский Национальный медицинский университет, Украина

²Гомельский государственный медицинский университет

³Республиканский научно-практический центр
радиационной медицины и экологии человека, г. Гомель

Цель: оценить характер изменения напряжения сдвига в сосудах вертебрально-базиллярной системы у пациентов молодого возраста с синдромом вертебро-базиллярной недостаточности (ВБН).

Материал и методы. Обследован 131 пациент (70 женщин и 61 мужчина) в возрасте от 18 до 40 лет (средний возраст $29,8 \pm 3,8$ года) с проявлениями синдрома ВБН на фоне мышечно-рефлекторных, нейрососудистых и корешковых синдромов остеохондроза шейного отдела позвоночника. Контрольную группу составили 25 здоровых доноров. Всем пациентам выполнялись радиологические исследования шейного отдела с функциональными пробами, доплерографическое исследование и дуплексное сканирование сосудов шеи и магистральных артерий головы с функциональными пробами; проводилось определение эндотелина-1 (ЭТ-1), оксида азота (NO) сыворотки крови. Изменение напряжения сдвига в сосудах вертебрально-базиллярной системы (ВББ) оценивали, анализируя индекс Стюарта (ISD), систоло-диастолический показатель.