

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Ажигалиев Н. А., Садыков С. С., Купирбаев С. К. // Мед. радиол. — 1988. — № 1. — С. 40—44.
2. Алимгазиев Ш. А. Сравнительная оценка методов консервативной терапии рака пищевода: Автореф. дис... канд. мед. наук. — Ташкент, 1983.
3. Давыдов М. И. Одномоментные операции в хирургическом и комбинированном лечении рака пищевода: Дис... д-ра мед. наук. — М., 1988.
4. Ефимов О. Н., Поддубный Б. К., Давыдов М. И. и др. // Современные вопросы хирургического лечения рака легкого, пищевода и кардии: Республиканская конф., 1-я, Материалы — Тбилиси, 1991. — С. 111.
5. Кочегаров А. А., Прокудина Т. Н. // Грудная хир. — 1984. — № 6. — С. 67—69.
6. Кочегаров А. А., Тухватуллин Р. К., Кочегарова Г. И. // Современные проблемы онкологии. — Ташкент, 1990. — С. 59—62.
7. Прозоров С. А. Рентгеноэндоэзофагеальное протезирование нитиновой спиралью: Дис... канд. мед. наук. — М., 1989.
8. Чиссов В. И., Мамонтов А. С., Кухаренко В. М. и др. // Хирургия. — 1991. — 1. — С. 43—47.
9. Dandapat M. C., Patro S. K., Rao K. R. R. M. // The Antiseptic. — 1990. — Vol. 87, N 5. — P. 242—244.
10. Drossel R., Schulz H.-J., Jacobash K.-H. // Z. klin. Med. — 1991. — Vol. 46, N 4. — P. 251—253.
11. Forni E., Meriggi F., Rossi G. et al. // Minerva med. — 1989. — Vol. 80, N 7. — P. 785—787.
12. Gossot D., Sarfati E., Celerier M. // Concours med. — 1987. — Vol. 109, N 4. — P. 318—320.
13. Hernandez Merlo F., Arguello de Andres J. M., Suarez Garcia A. et al. // Rev. esp. geriatr. y gerontol. — 1989. — Vol. 24, N 5. — P. 305—309.

Коллектив авторов, 1995
УДК 618.19-006.6:577.175.62

Н. Е. Хотченкова, Н. Е. Кушлинский,
В. Г. Дегтярь, Л. Е. Денисов, В. П. Лetyagin

**ЭНДОГЕННЫЕ СТЕРОИДЫ В ТКАНЯХ
МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У БОЛЬНЫХ
В ПОСТМЕНОПАУЗЕ ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ
ЖЕЛЕЗЫ**

Центральная клиническая больница Медицинского центра при
Правительстве России, НИИ клинической онкологии

Интенсивные исследования последних десятилетий позволили достичь значительных успехов в лечении рака молочной железы (РМЖ). Однако по-прежнему проблема адекватной оценки гормональной чувствительности РМЖ остается актуальной, поскольку от этой оценки зависит использование определенных методов лечения. Среди этих проблем достаточно важным, на наш взгляд, является изучение роли эндогенных стероидов при РМЖ у женщин в постменопаузе. Это связано не только с увеличенным риском возникновения РМЖ у таких женщин, но и со значительными изменениями в эндокринном статусе после менопаузы [1, 7, 9, 17], что еще больше осложняет проблему. В силу целого ряда обстоятельств традиционно наиболее подробно изучались влияние эстрогенов на нормальные и опухолевые клетки молочных желез (МЖ) и их роль

All patients undergoing by-pass could eat in the normal way beginning from postoperative day 6 and till the end of their lives. The patients' life time was 6 to 18 months depending upon disease advance.

Conclusions. 1. By-pass is operation of choice in stage III-IV irresectable cancer of esophageal lower third with stenosis.

2. If the irresectable stenotic tumor is located in the esophagus lower third with involvement of the mid third we recommend esophageal anastomosis in the right pleural cavity, while in cases with tumors involving the esophageal lower third only or invading the stomach anastomosis in the left pleural cavity is indicated.

3. By-pass procedure complies with requirements of social and medical rehabilitation and allows oral alimentation from postoperative day 6, is free from physical and moral disadvantages of gastrostomy.

4. By-pass is a technically difficult procedure with a considerable rate of lethality, and may therefore be performed in specialized esophageal clinics by surgeons having much experience in such surgery.

14. Jimenez F. J., Urtasun F., Munoz M. et al. // Endoscopy. — 1993. — Vol. 25, N 5. — P. 330.
15. Okunaka T., Kato H., Conaka C. et al. // Surg. Endosc. — 1990. — Vol. 4, N 3. — P. 150—153.
16. Wills J. S., Oglesby J. T. // Radiology. — 1988. — Vol. 167, N 1. — P. 41—43.

Поступила 01.02.95 / Submitted 01.02.95

N. E. Khotchenkova, N. E. Kushlinsky, W. G. Degtiar,
L. E. Denisov, V. P. Letyagin

**ENDOGENOUS STEROIDS
IN BREAST TISSUE
OF MENOPAUSAL PATIENTS
WITH BREAST CANCER**

Central Clinical Hospital, Russian Government Medical Center,
Research Institute of Clinical Oncology

Intensive research carried out over the last decades has led to a significant progress in management of breast cancer (BC). However, there still is the urgent problem of adequate evaluation of BC hormonal sensibility since such evaluation determines the application of certain treatment strategies. Of much importance is the study of the role of endogenous steroids in postmenopausal BC patients due to the increased risk of BC and considerable changes in hormonal status of women in menopause [1,7,9,17]. The studies have traditionally focussed on estrogen effect on normal and neoplastic breast cells and on estrogen role in BC pathogenesis. Most investigators believe that mechanisms regulating steroidogenesis, steroid accumulation and interaction with tumor cells may be different from regulatory mechanisms of normal cells of the same target tissue, in particular of

в патогенезе РМЖ. Большинство исследователей полагают, что механизмы, регулирующие стероидогенез, накопление и взаимодействие стероидов с опухолевыми клетками, могут отличаться от механизмов регуляции нормальных клеток той же ткани-мишени, в частности МЖ у больных РМЖ. Более того, на протяжении всего периода болезни могут иметь место нарушения на различных этапах такой регуляции [4]. Характер этих нарушений, вероятно, определяет развитие опухолевого процесса, в том числе сроки возникновения метастазов, рецидива заболевания.

Как известно, гормональная регуляция клеточных процессов стероидными гормонами опосредуется через соответствующие внутриклеточные рецепторы. Из рецепторов стероидов в первую очередь рецепторы эстрогенов (ЭР) и рецепторы прогестина (ПрР) играют важную роль в процессах контроля роста клеток РМЖ, а их концентрация и функциональная активность будут определять ответ клетки на воздействие соответствующего гормона [2, 6, 8]. Возможная роль эндогенных стероидов в этих процессах до сих пор остается неясной. В то же время, несмотря на большое число публикаций по изучению гормональной регуляции опухолевого роста МЖ, метастазирования РМЖ и процессов, связанных с функциональными изменениями нормальной ткани этой железы, нет однозначного ответа на вопрос о том, какие изменения в концентрации эндогенных гормонов в крови и клетке могут способствовать ее злокачественной трансформации [6, 24]. С последним связана также проблема поиска дополнительных критериев прогноза течения гормонозависимого РМЖ [5].

Цель настоящей работы — изучение взаимосвязи концентрации эстрадиола-17 β (Э) и прогестерона (Пр) в сыворотке крови больных РМЖ в постменопаузе, содержания указанных стероидов в цитозольной фракции РМЖ и окружающих опухоль непораженных тканей МЖ, а также уровня ЭР и ПрР в цитозоле РМЖ этих больных.

Материалы и методы. Обследовали 338 больных РМЖ с различными сроками менопаузы. Возраст больных колебался от 57 до 68 лет. Преобладающее число пациентов имело РМЖ в ранней стадии заболевания (I—IIa). Кровь у больных брали накануне операции утром натощак, сыворотку крови получали стандартным методом. Опухоли и не пораженные опухолью ткани МЖ были получены после хирургического удаления. Образцы тканей МЖ растирали в фарфоровой ступке при охлаждении жидким азотом, добавляли 4—5 (масса/объем) объемов буферного раствора состава: 10 ммоль/л трис-HCl, 1,5 ммоль/л ЭДТА, 1 ммоль/л дитиотрейтола (все фирмы «Fluka», Швейцария), 0,3% азида натрия («Koch-Light Laboratories», Англия), pH 7,4, при 20°С, 20% глицерина (по объему) («Fluka»). После оттаивания гомогенат центрифугировали с охлаждением 20 мин при 1500 g и из надосадочной жидкости получали цитозольную фракцию центрифугированием при 105 000 g в течение часа (ультрацентрифуга модели L7, «Beckman», США).

Определение ЭР и ПрР проводили радиолигандным методом с использованием активированного угля («Fluka», Швейцария), покрытого декстраном T70 («Fluka», Швейцария), для разделения свободного и связанного стероидов [2]. В работе использовали предварительно очищенные радиоактивные стероиды [2, 4, 6, 7-3H] эстрадиол и [1, 2, 6, 7-3H] прогестерон («Amersham», Англия) [3]. Специфическое связывание рассчитывали по разнице между общим и неспецифическим связыванием с учетом удельной радиоактивности лиганда, эффективности радиометрии и концентрации общего белка в пробе цитозоля. Концентрация общего белка (определяли по методу

the breast as concerns BC. Besides, disturbance of such regulation may occur at various stages of disease development [4]. The character of this disturbance may determine the course of tumor disease including time till metastasis or relapse.

As known the hormonal regulation of cellular processes by steroid hormones is mediated by certain intracellular receptors. Estrogen receptors (ER) and progesterin receptors (PrR) play the leading part in control of BC cell growth, while their concentration and functional activity determine cellular response to the action of the hormones [2,6,8]. The role of endogenous steroids in these processes is still unknown. In spite of numerous publications on hormonal regulation of breast tumor growth, BC metastasizing and processes associated with functional changes of normal breast tissue the opinions about changes in blood and cell endogenous hormone concentrations that may promote malignant transformation of cells are equivocal [6,24]. There is also a problem of additional prognostic criteria for course of hormone-dependant BC [5].

The purpose of this investigation was to study relationship of concentration of serum estradiol-17 β (E) and progesterone (Pr) in menopausal BC patients, E and Pr content in cytosol fraction of BC and intact breast tissue adjacent to the tumor, as well as ER and PrR content in BC cytosol of this category of patients.

Materials and Methods. The investigation was performed in 338 BC patients with various menopausal terms. The patients' age was ranging from 57 to 68 years. Most patients had stage I-IIa disease. Blood samples were taken in the morning on an empty stomach, serum was derived according to standard technique. Breast tumors and intact tissue were taken from surgical specimens on tumor removal. Breast tissue samples were triturated under cooling with liquid nitrogen and diluted with 4-5 (w/v) volumes of buffer solution consisting of 10 mmol/l tris-HCl, 1.5 mmol/l EDTA, 1 mmol dithiothreitol (all supplied by Fluka, Switzerland), 0.3% sodium azide (Koch-Light Laboratories, England) pH 7.4 at 20°C, 20% (v/v) glycerol (Fluka). After melting the homogenate was centrifuged under cooling for 20 min at 1,500 g, the supernatant was then centrifuged at 105,000 g for 1 h (Ultracentrifuge L7, Beckman, USA) to derive cytosol fraction.

Determination of ER and PrR was performed by radioligand methodology using activated coal (Fluka, Switzerland) coated with dextrane T70 (Fluka, Switzerland) to separate free and bound steroids [2]. Prepurified labeled steroids ([2,4,6,7-3H]estradiol and [1,2,6,7-3H]progesterone, Amersham, England) were used in the study [3]. Specific binding was calculated as the difference between total and nonspecific binding taking into account ligand specific radioactivity, radiometry efficiency and total protein concentration in cytosol samples. Total protein concentration (as determined by Lowry technique) in cytosol fraction was about 1.0 mg/ml cytosol.

Steroid hormones (E and Pr) in cytosol fraction and blood serum were determined by radioimmunological assay using reagent kits from Cea-Ire-Sorin (Italy-France). Serum steroid concentration was expressed in pmol/ml for E and in nmol/ml for Pr, cytosol steroid content was expressed in fmol per mg cytosol total protein.

Sample radiometry was carried out using a Rack-beta 1217 Liquid Scintillation Spectrometer (LKB, Sweden).

Results. Table 1 presents E and Pr concentrations in blood serum and breast tissue cytosol of menopausal BC patients. As seen blood Pr concentration did not depend on menopause duration, and E concentration after 5 menopausal years showed a sharp fall. There was no clear regularity in breast tissue cytosol E and Pr of these patients. While cytosol content of the steroids changed over 5 menopausal years (see table 1). These

Лоури) в цитозольной фракции при определении рецепторов состав-
ляла около 1,0 мг/мл цитозоля.

Стероидные гормоны (Э и Пр) в цитозольной фракции и в
сыворотке крови определяли радиоиммунологическим методом с по-
мощью наборов реактивов фирмы «Cea-Ite-Sorin» (Италия — Фран-
ция). Концентрацию стероидов в сыворотке крови выражали: для
Э — в пмоль/мл, для Пр — в нмоль/мл, а содержание стероидов в
цитозоле выражали в фмоль на 1 мг общего белка цитозоля.

Радиометрию проб проводили на жидкостном сцинтилляционном
спектрометре модели «Rack-beta 1217» (LKB, Швеция).

Результаты. В табл. 1 представлены результаты оп-
ределения концентрации Э и Пр в сыворотке крови
и цитозоле тканей МЖ у больных РМЖ в постмено-
паузе. Как видно из табл. 1, концентрация Пр в крови
не зависела от длительности менопаузы, а концентрация
Э после 5 лет менопаузы резко снижалась. Не обна-
ружено определенной закономерности в содержании Э
и Пр в цитозоле тканей МЖ у этих больных. В то
же время можно отметить изменение содержания этих
стероидов в цитозоле после 5 лет менопаузы (см.
табл. 1). Более наглядно можно видеть изменения в
содержании стероидов в цитозоле, если сравнить со-
отношение содержания стероида в цитозоле опухоли
к содержанию этого стероида в цитозоле не пораженной
опухолью ткани МЖ. Нами предложено называть это
соотношение «индексом накопления стероида в опу-
холи» — ИНС. Эта величина позволяет, на наш взгляд,
более адекватно оценивать изменение эндогенных сте-
роидов в цитозоле тканей МЖ, что было использовано
и другими исследователями [11, 13]. Как видно из
табл. 1, в зависимости от сроков менопаузы у больных
РМЖ ИНС для Пр изменялся незначительно в отличие
от ИНС для Э: самый большой ИНС наблюдался у
больных РМЖ в менопаузе до 5 лет. Следует отметить,
что самые низкие величины ИНС для обоих стероидов
получены у больных в менопаузе 5—10 лет (см. табл. 1).
Поскольку нами обнаружено, что у женщин в менопаузе
до 5 лет концентрация Э в крови была выше, чем у
женщин с более продолжительным сроком менопаузы,
для дальнейших исследований отбирали больных РМЖ
со сроками менопаузы более 5 лет.

Содержание Э и Пр в сыворотке крови и в цитозолях
нормальных тканей МЖ у больных РМЖ со сроком
менопаузы более 5 лет (см. выше) в зависимости от
содержания ЭР в опухоли представлено в табл. 2. Кон-
центрация Пр в крови не отличалась достоверно для
всех групп больных. Более высокая концентрация Э
в крови была найдена у группы больных ЭР⁺ (см. табл.
2). Для больных РМЖ, у которых содержание ЭР в
опухоли составляло до 20 фмоль на 1 мг общего белка
(группы ЭР⁻ и ЭР⁺), был получен более высокий ИНС
для Э, однако группа ЭР⁺ отличалась еще и самым низким
ИНС для Пр (см. табл. 2).

Результаты определения ПрР по группам в зави-
симости от содержания этих рецепторов в опухоли боль-
ных (аналогично ЭР) показали, что концентрация Пр
в сыворотке крови всех групп больных достоверно не
различалась (табл. 3). Концентрация Э в крови до-
стоверно различалась для групп ПрР⁺ и ПрР⁺⁺ как от
двух других групп, так и между собой. Эти две группы
больных также отличались по ИНС для Э. Как видно
из табл. 3, ИНС для Пр уменьшался с увеличением

Таблица 1

Table 1

**Эстрадиол и прогестерон в сыворотке крови
и цитозолях опухолей и нормальных тканей молочной
железы больных РМЖ разного срока менопаузы**
**Estradiol and progesterone in blood serum and cytosol
of breast tumors and intact tissue in BC patients
with different menopause duration**

Исследуемый материал	Менопауза		
	до 5 лет	6—10 лет	10 лет и более
Число больных No. of patients	20	20	39
Сыворотка крови: Blood serum:			
Э Е	80 ± 20	30 ± 6	37 ± 7
Пр Pr	1,2 ± 0,4	1,2 ± 0,5	1,3 ± 0,1
Число больных No. of patients	32	35	74
Цитозоль: Cytosol:			
Э (опух.) Е (tumor)	348 ± 168	123 ± 40	240 ± 81
Э (норм.) Е (normal)	141 ± 35	151 ± 44	154 ± 31
ИНС — Э ISA — Е	2,47 ± 1,19	0,81 ± 0,26	1,56 ± 0,53
Пр (опух.) Pr (tumor)	690 ± 178	1439 ± 301	1305 ± 245
Пр (норм.) Pr (normal)	691 ± 158	1793 ± 471	927 ± 236
ИНС — Пр ISA — Pr	1,17 ± 0,26	0,80 ± 0,17	1,38 ± 0,26
Material tested	less than 5 years	6-10 years	10 years and more
	Menopause		

Примечание. Здесь и в табл. 2—4 концентрация в сыворотке крови:
Э в пмоль/л, Пр в нмоль/л; в цитозоле: Э и Пр в фмоль на 1 мг
белка. Данные представлены в виде среднего ± стандартное отклонение.
Note. Here and in tables 2 through 4 serum concentration is expressed
in pmol/l (E) and nmol/l (Pr); cytosol concentration is expressed in fmol
per mg protein (both E and Pr). The data are presented as mean ± SD.

changes become more vivid in comparison of ratios
of cytosol steroids in the tumor and in intact breast
tissue. Let us call this ratio 'index of steroid accumulation
in tumor' or ISA. In our opinion this characteristic
allows a more adequate evaluation of changes in en-
dogenous steroids in breast tissue cytosol which is sup-
ported by other authors who employed this characteristic
[11,13]. Table 1 shows that ISA for Pr in BC patients
was changing but slightly contrary to ISA for E: the
largest ISA value was observed in BC patients in meno-
pause less than 5 years. The lowest ISA values for
both steroids were detected in the patients with meno-
pause of 5 to 10 years (see table 1). Since we discovered
that blood E concentration was higher in women with
menopause less than 5 year as compared to patients
with longer menopause, BC patients in menopause for
more than 5 years were selected for further study.

Table 2 demonstrates E and Pr content in blood
serum and normal breast tissue of BC patients with
menopause more than 5 years (see above) with respect
to tumor ER content. There was no significant difference

содержания ПрР в опухолях МЖ в данных группах больных.

При проведении данного исследования была выбрана группа больных РМЖ, которая наблюдалась в течение 5 лет после проведения хирургического удаления опухоли и определения ЭР, ПрР, концентрации Э и Пр в сыворотке крови и цитозоле. Больные были разделены на две группы: группа больных, у которых не возникли метастазы в течение срока наблюдения (группа MTS⁻), и группа больных, у которых были обнаружены метастазы (группа MTS⁺) в течение наблюдаемого срока. В табл. 4 представлены данные по концентрации Э и Пр в сыворотке крови и содержанию этих стероидов в цитозолях тканей МЖ указанных групп больных. Достоверных различий в концентрации стероидов в сыворотке крови не было обнаружено. Следует обратить внимание на значительную разницу в содержании обоих стероидов как в цитозолях опухолей, так и в цитозолях нормальных тканей МЖ для выбранных групп больных (см. табл. 4). При отсутствии метастазов содержание стероидов в цитозолях было значительно выше, чем при наличии метастазов. В то же время величины ИНС для обоих стероидов не различались значительно для обеих групп больных (см. табл. 4).

Обсуждение. Женщины после менопаузы из-за известных гормональных изменений находятся под пристальным вниманием клиницистов в связи с повышенным риском заболевания РМЖ в этой возрастной группе [1, 2, 7, 10]. Большинство исследователей отмечают снижение концентрации эстрогенов в крови после менопаузы [4, 24]. Некоторые отличия в результатах по определению стероидных гормонов у разных исследователей можно объяснить различиями в сроках менопаузы среди выбранных групп женщин, больных РМЖ. По нашему мнению, чем выше процент женщин со сроком менопаузы до 5 лет, тем выше средняя концентрация эстрогенов (в частности Э) для отобранной группы: достоверно более высокая концентрация Э в сыворотке крови больных РМЖ обнаружена нами в группе больных со сроком менопаузы до 5 лет (см. табл. 1). Данные табл. 1 позволяют нам утвердительно ответить на предположение, что содержание эндогенных стероидов («насыщенность стероидами») в опухолях и тканях, не пораженных опухолью, вероятно, зависит не только от концентрации стероида в крови больных, но и от других факторов. В то же время можно утверждать, что чем больше концентрация Э в крови, тем выше «насыщенность» — ИНС. В то же время при одинаковой концентрации Пр в крови больных обнаружено изменение в содержании эндогенного Пр и в опухоли, и в нормальной ткани МЖ (см. табл. 1).

До сих пор отсутствует единая точка зрения, какие самые низкие значения рецепторов стероидных гормонов следует использовать, чтобы определить опухоль как рецепторположительную и утверждать, что опухоль содержит рецепторы. Среди разных предложенных величин [11, 14] наиболее часто в качестве пограничного значения используют величину содержания рецепторов (связывающих мест) 10 фмоль на 1 мг общего белка цитозольной фракции: опухоль с содержанием рецеп-

Таблица 2

Table 2

Эстрадиол и прогестерон в сыворотке крови и цитозолях опухолей и нормальных тканей молочной железы больных РМЖ в зависимости от содержания рецепторов эстрадиола в опухоли
Estradiol and progesterone in blood serum and cytosol of breast tumor and normal tissue in menopausal BC patients with respect to tumor estradiol receptor content

Исследуемый материал	Рецепторы эстрадиола, фмоль на 1 мг белка			
	0—9,9 (ЭР ⁻)	10—19,9 (ЭР ⁺)	20—49,9 (ЭР ⁺⁺)	> 50 (ЭР ⁺⁺⁺)
Число больных No. of patients	25	17	16	29
Сыворотка крови: Blood serum				
Э	47 ± 11	120 ± 46	36 ± 10	34 ± 6
Пр	1,4 ± 0,4	1,8 ± 0,8	1,1 ± 0,2	1,1 ± 0,1
Число больных No. of patients	43	20	29	50
Цитозоль: Cytosol				
Э (опух.) E (tumor)	147 ± 70	685 ± 295	227 ± 146	130 ± 24
Э (норм.) E (normal)	86 ± 18	332 ± 82	161 ± 56	125 ± 27
ИНС — Э ISA — E	1,71 ± 0,81	2,06 ± 0,89	1,41 ± 0,91	1,04 ± 0,19
Пр (опух.) Pr (tumor)	1131 ± 269	816 ± 258	1075 ± 233	1482 ± 335
Пр (норм.) Pr (normal)	633 ± 163	1729 ± 604	907 ± 352	1246 ± 1022
ИНС — Пр ISA — Pr	1,79 ± 0,42	0,46 ± 0,15	1,19 ± 0,26	1,19 ± 0,27
Material tested	0-9.9 (ER ⁻)	10-19.9 (ER ⁺)	20-49.9 (ER ⁺⁺)	>50 (ER ⁺⁺⁺)
Estradiol receptors, fmol per mg protein				

in blood Pr in all groups of the patients. ER⁺ patients had significantly higher blood E concentrations (see table 2). BC patients with tumor ER less than 20 fmol per mg total protein (ER⁻ and ER⁺) had a higher ISA for E, while the ER⁺ group also demonstrated the lowest ISA for Pr (see table 2).

Grouping of PrR determinations with respect to tumor receptor content (similarly to ER) showed no statistically significant difference in serum Pr among the groups (table 3). There was a significant difference in blood E concentrations between groups PrR⁺ and PrR⁺⁺ and between these two and the remaining groups. Values of ISA for E were also different in these groups (see table 3). As seen in table 3 ISA for Pr was decreasing with rise of breast tumor PrR in these patient groups.

In this study we selected a group of BC patients followed-up for 5 years after surgery and determination

Таблица 3

Table 3

Эстрадиол и прогестерон в сыворотке крови и цитозолях опухолей и нормальных тканей молочной железы больных РМЖ в зависимости от содержания рецепторов прогестерона в опухоли
Estradiol and progesterone in blood serum and cytosol of breast tumor and normal tissue in menopausal BC patients with respect to tumor progesterone receptor content

Исследуемый материал	Рецепторы прогестерона, фмоль на 1 мг белка			
	0—9,9 (PrP ⁻)	10—19,9 (PrP ⁺)	20—49,9 (PrP ⁺⁺)	50 (PrP ⁺⁺⁺)
Число больных No. of patients	20	14	18	25
Сыворотка крови: Blood serum				
Э E	31 ± 6	100 ± 30	53 ± 10	26 ± 5
Пр Pr	1,2 ± 0,5	1,6 ± 0,4	1,2 ± 0,1	1,2 ± 0,1
Число больных No. of patients	32	20	44	45
Цитозоль: Cytosol				
Э (опух.) E (tumor)	208 ± 84	86 ± 23	347 ± 146	210 ± 90
Э (норм.) E (normal)	141 ± 33	112 ± 35	157 ± 42	167 ± 44
ИНС — Э ISA — E	1,48 ± 0,60	0,77 ± 0,20	2,21 ± 0,93	1,26 ± 0,54
Пр (опух.) Pr (tumor)	1259 ± 339	682 ± 174	1268 ± 270	1299 ± 323
Пр (норм.) Pr (normal)	868 ± 221	635 ± 214	1100 ± 320	1289 ± 410
ИНС — Пр ISA — Pr	1,45 ± 0,39	1,07 ± 0,27	1,15 ± 0,25	1,01 ± 0,25
Material tested	0-9.9 (PrR ⁻)	10-19.9 (PrR ⁺)	20-49.9 (PrR ⁺⁺)	50 (PrR ⁺⁺⁺)
	Progesterone receptors, fmol per mg protein			

торов выше этого значения считается рецепторположительной, а ниже — рецепторотрицательной. Отсюда понятно, что «разделение» опухолей на рецепторположительные и рецепторотрицательные с учетом порогового значения является в достаточной мере условным и в значительной степени зависит от метода определения рецепторов [2]. Тем не менее, несмотря на указанные условности, удается выявить определенные закономерности. Например, нами обнаружено, что только в группе больных РМЖ с содержанием ЭР в опухоли 10—19,9 фмоль на 1 мг белка концентрация Э в крови была самой высокой. Сходные результаты были получены и другими исследователями [19, 22]. В этой же группе больных отмечен самый высокий ИНС для Э. При недостоверных изменениях Пр в крови обнаружено значительное колебание ИНС для Пр (см. табл. 2).

Сходные закономерности обнаружены нами и для группы больных РМЖ, которые распределены по содержанию ПрР в МЖ, хотя ИНС для Э более низкий у группы с достоверно более высокой концентрацией

Таблица 4

Table 4

Эстрадиол и прогестерон в сыворотке крови и цитозолях опухолей и нормальных тканей молочной железы больных РМЖ разного срока менопаузы с наличием (MTS⁺) или отсутствием (MTS⁻) метастазов при сроке наблюдения 5 лет
Estradiol and progesterone in blood serum and cytosol of breast tumor and normal tissue in BC patients with different menopause duration respective of the presence (MTS⁺) or absence of metastases (MTS⁻) within a 5 year follow-up

Исследуемый материал	MTS ⁺	MTS ⁻
Число больных No. of patients	68	98
Сыворотка крови: Blood serum		
Э E	48 ± 7	36 ± 13
Пр Pr	1,3 ± 0,2	1,2 ± 0,2
Число больных No. of patients	127	13
Цитозоль: Cytosol		
Э (опух.) E (tumor)	248 ± 63	84 ± 40
Э (норм.) E (normal)	156 ± 23	81 ± 34
ИНС — Э ISA — E	1,59 ± 0,40	1,04 ± 0,49
Пр (опух.) Pr (tumor)	1267 ± 170	529 ± 113
Пр (норм.) Pr (normal)	1132 ± 194	317 ± 73
ИНС — Пр ISA — Pr	1,12 ± 0,15	1,67 ± 0,36
Material tested	MTS ⁺	MTS ⁻

of ER, PrR, E and Pr concentrations in blood serum and cytosol. The patients were stratified into two groups: patients free from metastases within follow-up term (MTS⁻ group) and patients developing metastases within follow-up term (MTS⁺ group). Table 4 summarizes measurements of serum E and Pr and concentrations of these steroids in breast tissue cytosol of the patient groups mentioned. There were no significant differences in serum steroid levels. Of note is the great difference between contents of the steroids both in tumor cytosol and in normal breast tissue cytosol in the patients selected (see table 4). Metastasis-free patients had considerably higher cytosol steroid levels than the patients with metastases. While ISA for both steroids failed to show significant difference in the two groups (see table 4).

Discussion. Postmenopausal women draw attention of clinicians because of increased risk of BC in this age group associated with certain hormonal changes [1,2,7,10]. Most investigators note reduction in blood estrogen concentration after menopause [4,24]. Some variation of results may be due to different menopausal durations in BC patients selected for study. Our opinion is as follows: the higher percentage of women with menopause less than 5 years the higher mean estrogen concentration in the group selected; serum E concen-

Э в крови этих больных (см. табл. 3). Кроме того, эти результаты являются еще одним доказательством того, что эндогенные стероиды не оказывают влияния на определение рецепторов стероидов в опухолях МЖ. Последнее являлось предметом продолжительных дискуссий [14].

Следовательно, можно предположить, что у больных РМЖ в нормальных и опухолевых клетках МЖ имеется механизм «накопления» стероидных гормонов. По крайней мере сказанное справедливо для содержания Э и Пр в клетках МЖ больных РМЖ в менопаузе. Механизм «накопления», вероятно, не зависит от концентрации указанных стероидов в крови, что предполагают и другие исследователи [12]. По нашему мнению, «накопление» стероидов может быть обусловлено содержанием рецепторов соответствующих стероидов в клетках МЖ только частично. Из других возможных причин следует указать на следующие: а) показано увеличение содержания свободного Э и снижение содержания глобулина, связывающего половые стероиды (ПССГ), у больных РМЖ в менопаузе [4], хотя имеются и другие данные [12]; б) увеличение в клетках опухоли содержания ПССГ, который не только сам может связывать Э в клетке, но и влиять на транспорт Э в клетку [20]; в) биосинтез эстрогенов в клетках из андрогенов, обусловленный активностью ароматазы [16], и стероидогенез, связанный с активностью 17 β -гидроксистероидоксидоредуктазы [18, 23]. Последнее, вероятно, наиболее важно, так как концентрация эстрона в крови при менопаузе значительно выше, чем Э [7], а в клетках опухолей МЖ преобладает редуказная активность 17 β -гидроксистероидоксидоредуктазы [21], что и обуславливает, видимо, более чем 20-кратное превышение Э над эстроном [15]. В любом случае независимо от того, какой механизм реализуется, в клетках МЖ больных РМЖ в менопаузе как в опухоли, так и в не пораженной опухолью ткани ИНС может и не зависеть от концентрации Э и Пр в крови больных.

Вполне вероятно, механизм «накопления» Э и Пр в клетках МЖ в некоторой степени может быть связан с патогенезом РМЖ, возникновением метастазов и, следовательно, прогнозом заболевания. Если это так, то величины содержания Э и Пр в клетках МЖ и соответственно ИНС можно использовать в качестве дополнительного критерия при прогнозе по крайней мере сроков возникновения метастазов (см. табл. 4).

Представленные результаты позволяют предположить, что дополнительным признаком отличия опухолевых клеток от не пораженных опухолью клеток той же МЖ является изменение механизма(ов) «накопления» Э и Пр в клетках. Разумеется, все вышесказанное не позволяет определить причины таких нарушений, так как обнаруженные факты могут быть проявлениями развития опухолевого процесса. Тем не менее дальнейшие исследования по сравнению величин ИНС с другими показателями опухоли при заболевании РМЖ могут дать ответ, в какой мере данный критерий правомерно использовать для оценки гормональной чувствительности РМЖ.

tration was higher in BC patients with menopause less than 5 years (see table 1). Data of table 1 support the supposition that endogenous steroid content (steroid saturation) in tumors and intact tissues may depend both on blood steroid concentration and on other factors. As concerns E it may be stated that the higher its blood concentration the higher the saturation, i.e. ISA. While patients with the same blood Pr concentrations had different endogenous Pr both in the tumor and in intact breast tissue (see table 1).

Until now there have been different opinions about the lower limit of steroid hormone receptors for defining a tumor as receptor-positive, i.e. containing receptors. The most common assessment of the boundary value of receptors is 10 fmol (binding sites) per mg total protein of cytosol fraction [11,14]. Tumors with receptor content above this value are considered receptor-positive, and those with receptor concentration below this limit are treated as receptor-negative. Therefore the classification of tumors into receptor-positive and receptor-negative is to a considerable degree conventional and depends upon receptor determination methodology [2]. However, in spite of the mentioned conventional assumptions there are certain regularities. We found the highest blood E concentration in the group of BC patients with a tumor ER content 10-19.9 fmol per mg protein only. Other investigators reported of similar results [19,22]. The same group had the highest ISA for E. There was a considerable variation in ISA for Pr the Pr changes being not statistically significant (see table 2).

Similar regularities were discovered in BC patients stratified in relation to breast PrR, though their ISA for E was lower in the group with significantly higher blood E (see table 3). Besides, these results are in favor of the supposition that endogenous steroids do not produce any effect on determination of breast tumor steroid receptors which has been the matter of long term dispute [14].

It may be supposed therefore that BC patients have a mechanism of steroid hormone "accumulation" in normal and tumor cells of the breast. This consideration is true at least for E and Pr content in breast cells of menopausal BC patients. The "accumulation" mechanism does not seem to depend upon blood concentration of these steroids which is supported by other investigators [12]. In our opinion the steroid "accumulation" is but partially determined by the presence of the relevant steroid receptors in breast cells. The other determinant factors may be as follows: a) increased E and decreased sex steroid binding globulin (SSBG) contents in menopausal BC patients [4], though there is other evidence too [12]; b) increased tumor cell SSBG which can both bind cellular E and affect E intracellular transport [20]; c) cellular estrogen biosynthesis from androgens due to aromatase activity [16] and steroidogenesis associated with activity of 17 β -hydroxysteroid oxidoreductase [18,23]. The last consideration seems to be of especial importance since blood estrone concentration in menopausal individuals is much higher than that of E [7], while there is a preponderance of 17 β -hydroxysteroid oxidoreductase activity in breast tumor cells [21] which seems to account for more than 20-fold excess of E

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Алисимов В. Н. // Вопр. онкол. — 1990. — Т. 36, № 7. — С. 771—784.
2. Бассалык Л. С. (ред.) // Рецепторы стероидных гормонов в опухолях человека. — М., 1987.
3. Дегтярь В. Г., Кушлинский Н. Е., Хотченкова И. В. // Вопр. мед. химии. — 1987. — № 2. — С. 71—73.
4. Заридзе Д. Г., Кушлинский Н. Е., Лифанова Е. Э., Бассалык Л. С. // Вопр. онкол. — 1990. — Т. 36, № 7. — С. 817—822.
5. Семизлазов В. Ф., Гнатыхин А. И., Летягин В. П. // Всесоюзный съезд онкологов, 4-й: Тезисы докладов. — Л., 1986. — С. 167—169.
6. Сидоренко Л. Н. // Гормонотерапия предрака и рака молочной железы. — М., 1986. — С. 8—21.
7. Сметтик В. П., Ткаченко Н. М., Глезер Г. А., Москаленко Н. П. // Климактерический синдром. — М., 1988.
8. Brochlehurst D., Wilde C. E., Fimlow J. et al. // J. clin. chem. — 1989. — Vol. 35. — P. 238—240.
9. Chang R. J., Plouffe L., Schaffer K. // Comprehensive Management in the Menopause / Eds J. Lorrain, L. Plouffe, V. Ravnika, L. Speroff, N. Watts. — Berlin — Heidelberg — New York. — 1994. — P. 3—13.
10. Denis R., Bergeron E., Leonhardt C. // Ibid. — P. 337—350.
11. Drafta D., Priscu A., Neascu E. et al. // J. Steroid Biochem. — 1983. — Vol. 18. — P. 459—463.
12. Ernster V. L., Wrench M. R., Petrakis N. L. et al. // J. nat. Cancer Inst. — 1987. — Vol. 79. — P. 949—960.
13. Fishman J., Niesselbaum J., Menendez-Botet C. J., Schwartz M. K. // J. Steroid Biochem. — 1977. — Vol. 8. — P. 893—896.
14. Fournier S., Brihmat F., Durant J. C. et al. // Cancer Res. — 1985. — Vol. 45. — P. 2895—2899.
15. James V. H. T., Reed M. J., Lai L. C. et al. // Ann. N. Y. Acad. Sci. — 1990. — Vol. 595. — P. 227—235.
16. Johnston S. R. D., Smith I. E., Doody D. // Cancer Res. — 1994. — Vol. 54. — P. 5875—5882.
17. Lorrain J., Ravnika V. A., Charest N. // Comprehensive Management in the Menopause / Eds J. Lorrain, L. Plouffe, V. Ravnika, L. Speroff, N. Watts. — Berlin — Heidelberg — New York. — 1994. — P. 229—245.
18. Lui-The V., Labrie C., Lhao Hui-Fon et al. // Ann. N. Y. Acad. Sci. — 1990. — Vol. 595. — P. 46—52.
19. McNeil J. M., Reed M. J., Beranek P. A. et al. // Int. J. Cancer. — 1986. — Vol. 38. — P. 193—196.
20. Meyer S., Brumm C., Stegner H.-E., Sinnecker G. H. // Exp. Clin. Endocrinol. — 1994. — Vol. 102. — P. 334—340.
21. Poutonen M., Monchamant B., Vihko R. // Cancer Res. — 1992. — Vol. 52. — P. 290—294.
22. Saez S., Martin P. M., Chouvet C. D. // Ibid. — 1978. — Vol. 38. — P. 3448—3478.
23. Touitou J., Chi Q.-Q., Rochefort H. // Biochem. biophys. Res. Commun. — 1994. — Vol. 201. — P. 1827—1832.
24. Vermeulen A. // Environm. Hlth Perspect. — 1993. — Vol. 101 (Suppl. 2). — P. 91—100.

over estrone [15]. Anyway cellular ISA both in the tumor and intact breast tissue of menopausal BC patients may be independant of blood E or Pr concentrations irrespective of the mechanism realized.

Most likely the mechanism of E and Pr accumulation in breast cells is to a certain degree associated with BC pathogenesis, metastasis development and consequently with disease prognosis. If so, E and Pr concentrations in breast cells and, consequently, ISA may be used as additional prognostic criteria at least in prediction of time till metastasis (see table 4).

Our findings suggest that alteration of E and Pr “accumulation” mehcanism(s) is another distinction between neoplastic and intact cells of the same breast. Of course, all the above-said fails to reveal the cause of such changes since the discovered facts may be manifestations of tumor disease development. Nevertheless further comparative study of ISA and other tumor characteristics in BC patients may elucidate to which extent this criterion may be used in evaluation of BC hormonal sensibility.

SPONSORED BY


Pharmacia
Kabi-Farmitalia Carlo Erba