

## СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ РЕЦЕПТОРОВ ЭСТРОГЕНОВ И ПРОГЕСТЕРОНА В НЕИЗМЕНЕННОЙ, ОПУХОЛЕВОЙ И МЕТАСТАТИЧЕСКОЙ ТКАНЯХ ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Е. Е. Шашова, И.В. Кондакова, Е.М. Слонимская, С. А. Глущенко

*ГУ «НИИ онкологии Томского научного центра СО РАМН»*

Проведено изучение уровня рецепторов эстрогенов и прогестерона в неизменной, опухолевой тканях и в лимфогенных метастазах у 40 больных операбельными формами РМЖ со стадией  $T_{1-4}N_{0-3}M_0$  в возрасте 30–69 лет. Показано, что рецепторы эстрогенов и прогестерона присутствуют в неизменной, опухолевой тканях и лимфогенных метастазах. Сопоставление уровня рецепторов женских половых гормонов в тканях выявило, что не всегда рецепторный статус первичной опухоли совпадает со статусом в метастатической и неизменной тканях. Конверсию рецепторов эстрогенов с положительных в первичных опухолях на отрицательные в метастазах можно рассматривать как один из путей развития опухолевой прогрессии и формирования резистентности метастатических клеток к адьювантной гормональной терапии.

Ключевые слова: рак молочной железы, рецепторы эстрогенов и прогестерона.

### COMPARATIVE STUDY OF THE LEVELS OF ESTROGEN AND PROGESTERON RECEPTORS IN NORMAL, TUMOR AND METASTATIC TISSUES OF BREAST CANCER PATIENTS

E.E. Shashova, I.V. Kondakova, E.M. Slonimskaya, S.A. Gluschenko

*Cancer Research Institute, Tomsk Scientific Center, Siberian Branch of the RAMS*

The levels of estrogen and progesterone receptors in normal and tumor tissues and in lymphogenous metastases of 40 patients with stage  $T_{1-4}N_{0-3}M_0$  operable breast cancer were studied. The age of the patients ranged between 30 and 69 years. Receptors of estrogens and progesterone were shown to be present in normal and tumor tissues and in lymphogenous metastases. Comparison of the levels of female sex hormone receptors in tissues showed that the receptor status of the primary tumor not always coincided with the status in metastatic and normal tissues. Conversion of estrogen receptors from positive in primary tumor into negative in metastases may be considered as one of the ways of development of tumor progression and formation of metastatic cell resistance to adjuvant hormone therapy.

Key words: breast cancer, estrogen and progesterone receptors.

Развитие рака молочной железы (РМЖ) тесно связано с воздействием эстрогенов, которые реализуют свой биологический эффект через рецепторы. Считается, что наличие в опухоли рецепторов эстрогенов (ЕР) и прогестерона (ПР) является благоприятным прогностическим признаком и свидетельствует о чувствительности опухоли к регуляторному воздействию экзогенных гормонов. Отсутствие рецепторов может быть связано с тем, что клетка лишена их изначально или утратила в процессе своего роста под влиянием различных эндогенных или экзогенных факторов [4, 9, 13]. Изучение уровня экспрессии ЕР является важным не только в тканях первичных опухолей, но и в метастазах, поскольку действие адьювантной гормональной терапии при раке молочной железы (РМЖ) направлено на предупреждение их развития. Однако далеко не всегда рецепторный фенотип,

присущий первичной опухоли, сохраняется в метастазах [6, 9].

Известно, что в неизменной ткани и доброкачественных новообразованиях молочной железы рецепторы ЕР и ПР обнаруживаются значительно реже и в меньших количествах, чем в ткани опухоли [5, 14]. В раковых клетках уровень рецепторов стероидных гормонов может колебаться от 0 до 5000 фмоль/мг белка, что, вероятнее всего, связано с биологической гетерогенностью опухоли, степенью ее дифференцировки и пролиферативной активностью клеток. Показано, что в рецептор-негативных опухолях пролиферативные процессы протекают в 10 раз активнее, чем в рецептор-положительных [3, 12]. Пациенты с опухолями, содержащими низкий, но положительный уровень ПР (от 10 до 20 фмоль/мг белка), имели лучший прогноз, чем пациенты с ПР-отрицательными опухолями.

Таблица 1

**Уровень рецепторов эстрогенов и прогестерона в неизменной, опухолевой тканях и лимфогенных метастазах при раке молочной железы**

Рецепторный фенотип	Уровень рецепторов женских половых гормонов (фмоль/мг белка в ч)					
	Опухолевая ткань		Неизменная ткань		Лимфогенные метастазы	
EP(+)	58 %	16,04 ± 1,80	58 %	26,3 ± 6,37*	29 %	33,81 ± 11,50*
EP(-)	42 %	3,49 ± 0,75	42 %	0,47 ± 0,04	71 %	2,47 ± 0,91
PP(+)	47 %	16,47 ± 2,71	-	-	5 %	18,3 ± 0,04
PP(-)	53 %	2,17 ± 0,56	-	-	95 %	1,88 ± 0,63

Примечание: \* – различия статистически значимы по сравнению с показателями в опухолевой ткани ( $p < 0,05$ ).

Существенно и то, что экспрессия ПР индуцируется эстрогенами, и, соответственно, ПР(-) новообразования при высоком уровне EP могут быть результатом нарушения передачи эстрогенного сигнала с рецептора или быть связаны с низким уровнем эстрогенов [1]. В связи с этим изучение содержания рецепторов эстрогенов и прогестерона в опухолях, окружающих ее перифокальных тканях, а также лимфогенных метастазах представляет значительный интерес.

Целью настоящей работы явилось сравнительное изучение уровня рецепторов эстрогенов и прогестерона в неизменной, опухолевой тканях и в лимфогенных метастазах при РМЖ.

### Материал и методы

Материалом для исследования явились образцы тканей, взятые от 40 больных с операбельными формами РМЖ со стадией  $T_{1-4}N_{0-3}M_0$  в возрасте 30–69 лет (средний возраст –  $53,62 \pm 1,08$  года). Лимфогенные метастазы ( $N_0$ ) отсутствовали у 37 % пациентов, в 35 % наблюдений метастазами было поражено до 4 регионарных лимфоузлов ( $N_1$ ), в 26 % – от 5 до 10 ( $N_2$ ), в 2 % – более 10 ( $N_3$ ). Неизменную, опухолевую и метастатическую ткани для исследования брали одновременно, непосредственно после выполнения радикального хирургического вмешательства и хранили при  $-70^\circ\text{C}$ . При определении уровня EP и ПР образцы тканей молочной железы гомогенизировали в жидком азоте до порошкообразного состояния. Порошок экстрагировали 6–8-кратным объемом буфера. Для определения уровня рецепторов эстрогенов и прогестерона использовали надосадочную жидкость. Содержание рецепторов эстрогенов оценивалось радиолигандным ме-

тодом и выражали в фмоль гормона, специфически связанного 1 мг цитозольного белка [2]. Эту величину рассчитывали с учетом разности между средней величиной общего связывания (в отсутствие конкурента) меченого гормона и неспецифического связывания меченого гормона (в присутствии конкурента). Рецептор-положительными считали ткани, в цитозолях которых содержалось более 10 фмоль специфически связанного эстрадиола или 10 фмоль специфически связанного прогестерона на 1 мг белка. При сопоставлении данных о статусе рецепторов эстрогенов и прогестерона в опухоли, оцененных уголь-декстрановым методом, с результатами иммуногистохимического исследования совпадение результатов было в 87 % наблюдений, что соответствует литературным данным, в которых этот разброс варьирует от 70 до 90 % [7].

### Результаты и обсуждение

У больных РМЖ рецепторы эстрогенов присутствуют в неизменной, опухолевой тканях, а также в метастатически измененных регионарных лимфатических узлах (табл. 1). В неизменной ткани молочной железы и в опухолевой рецепторный статус эстрогенов был положительным в 58 % случаев, тогда как в лимфогенных метастазах лишь в 29 % образцов. Количественное определение показало, что в метастазах, сохранивших EP(+) статус, уровень рецепторов был значительно выше, чем в ткани опухоли. Также содержание рецепторов эстрогенов было достоверно выше в EP(+) неизменной ткани по сравнению с опухолевой. В нашем материале ПР(-) опухоли преобладали над ПР(+), их частота составила 53

Таблица 2

**Рецепторный статус в опухолевой, неизменной тканях и лимфогенных метастазах у больных РМЖ в зависимости от характера лимфогенного метастазирования**

Типы изменения ЕР и ПР статуса, соответственно	Количество пациентов (абс. ч., %)		
	Всего	N <sub>0</sub> и N <sub>1</sub>	N <sub>2</sub> и N <sub>3</sub>
ЕР <sub>опухоль</sub> = ЕР <sub>метастазы</sub>	10 (63)	5	5
ЕР(+) <sub>опухоль</sub> и ЕР(-) <sub>метастазы</sub>	4 (25)	2	2
ЕР(-) <sub>опухоль</sub> и ЕР(+) <sub>метастазы</sub>	2 (12)	2	0
ЕР <sub>опухоль</sub> = ЕР <sub>неизменная ткань</sub>	7 (58)	4	3
ЕР(+) <sub>опухоль</sub> и ЕР(-) <sub>неизменная ткань</sub>	2 (17)	1	1
ЕР(-) <sub>опухоль</sub> и ЕР(+) <sub>неизменная ткань</sub>	3 (25)	3	0
ЕР <sub>неизменная ткань</sub> = ЕР <sub>метастазы</sub>	7 (64)	4	3
ЕР(+) <sub>неизменная ткань</sub> и ЕР(-) <sub>метастазы</sub>	3 (27)	2	1
ЕР(-) <sub>неизменная ткань</sub> и ЕР(+) <sub>метастазы</sub>	1 (9)	1	0
ПР <sub>опухоль</sub> = ПР <sub>метастазы</sub>	7 (44)	4	3
ПР(+) <sub>опухоль</sub> и ПР(-) <sub>метастазы</sub>	8 (50)	6	2
ПР(-) <sub>опухоль</sub> и ПР(+) <sub>метастазы</sub>	1 (6)	0	1

% и 47 % соответственно. ПР(-) лимфогенные метастазы были выявлены в 95 % наблюдений. Уровень ПР в неизменной ткани нами не изучался, но, по данным литературы, этот вид рецепторов встречается в 50 % образцов и не всегда соответствует их содержанию в опухоли [3]. Скорее всего, это связано с тем, что уровень ПР в тканях находится под двойным контролем. С одной стороны, он ограничивается содержанием эстрадиола, который через ЕР стимулирует синтез ПР. С другой стороны, прогестерон, который усиливает транспорт ПР в ядро, снижает их концентрацию в цитоплазме. Вероятнее всего, причиной различной величины эстроген- и прогестерон-связывающей способности отдельных типов клеток является морфологическая и биологическая гетерогенность клеточного состава опухоли.

Сравнение уровня рецепторов эстрогенов и прогестерона в ткани лимфогенных метастазов с первичной опухолью показало, что ЕР статус совпадал в 63 % случаев, а ПР статус – в 44 % (табл. 2). В 25% наблюдений ЕР статус первичной опухоли был положительным, а статус

лимфогенных метастазов отрицательным, и в 12 % при ЕР(-) – статусе опухоли статус метастазов был ЕР(+). Изменение статуса ПР первичной опухоли с положительного на отрицательный в метастазах наблюдался в 50 % наблюдений, и лишь в 1 случае статус опухоли изменился с отрицательного на положительный в метастазах. При сравнении статуса ЕР опухоли и неизменной ткани было обнаружено, что в 58 % случаев он не менялся. В 17 % при ЕР(+)<sub>опухоль</sub> выявлялась ЕР(-)<sub>неизменная ткань</sub>, в 25 % опухоль была ЕР(-), а неизменная ткань – ЕР(+). При сравнении значения ЕР в неизменной ткани с метастазами тождественность выявлена в 64 %, в 27 % наблюдений при ЕР(+)<sub>неизменной ткани</sub> статус метастазов был отрицательным, в 9 % при ЕР(-)<sub>неизменной ткани</sub> метастазы были ЕР(+).

Низкое соответствие ЕР и ПР статуса тканей при РМЖ согласуется с данными других исследователей [2, 8, 9]. Важно отметить, что чаще из рецептор-положительных опухолей образуются рецептор-отрицательные метастазы. Возможно, несоответствие рецепторного

статуса эстрогенов и прогестерона первичной опухоли, неизменной ткани и метастазов может быть связано с тем, что при трансформации и прогрессии заболевания клетка способна изменять рецепторный статус, что обусловлено ее биологическими особенностями [9].

В настоящее время принято считать, что отсутствие регионарных метастазов ( $N_0$ ) или поражение метастазами не более 4 регионарных лимфоузлов ( $N_1$ ) является благоприятным прогностическим признаком, тогда как при  $N_2$  и  $N_3$  прогноз менее благоприятен. Представленные результаты показывают, что соответствие ER статуса опухоли и метастазов, а также изменение статуса с положительного в опухоли на отрицательный в метастазах или неизменной ткани встречается одинаково часто при любом N. Изменение ER статуса с отрицательного в опухоли на положительный в метастазах и неизменной ткани, а также при ER(-) неизменной ткани наличие ER(+) метастазов наблюдается только при благоприятном прогнозе по N признаку. Для рецепторов прогестерона такой характер изменений не выявлен. Можно предположить, что изменения ER статуса тканей молочной железы, связанные с благоприятным прогнозом, могут быть результатом приобретения клеткой уникальных свойств, ограничивающих дальнейшее распространение процесса.

Одним из возможных механизмов, который объясняет изменения в содержании стероидных рецепторов, может быть то, что первоначально опухоль является разнородной по содержанию рецепторов стероидных гормонов. При метастазировании в итоге нарушения взаимосвязей между клетками часть из них отрывается и затем образует новые клоны. В этот период может изменяться доля рецептор-положительных и рецептор-отрицательных клеточных клонов, первоначально представленных в высокогетерогенной опухоли, часть из которых может затем диффундировать в регионарные лимфоузлы

и отличаться меньшей гетерогенностью [11]. Механизм преобразования рецепторов женских половых гормонов в тканях молочной железы остается неясным и нуждается в дальнейшем изучении.

Таким образом, полученные данные о несоответствии статуса рецепторов стероидных гормонов в тканях молочной железы могут свидетельствовать о возможном изменении уровня рецепторов женских половых гормонов в течение прогрессии заболевания. Конверсию рецепторов эстрогенов с положительных в первичных опухолях на отрицательные в метастазах можно рассматривать в качестве одного из механизмов опухолевой прогрессии. Кроме того, этот феномен может играть важную роль в формировании резистентности метастатических клеток к адьювантной гормональной терапии при РМЖ.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Берштейн Л.М. // Природа. 2000. № 3. С. 1–9.
2. Бассалык Л.С., Муравьева Н.И., Кузьмина З.В. и др. Определение рецепторов стероидных гормонов в гормонозависимых опухолях для назначения эндокринной терапии: Методические рекомендации. М., 1987. 16 с.
3. Бассалык Л.С., Кузьмина З.В., Муравьева Н.И. и др. // Вопросы онкологии. 1982. Т. 28, № 7. С. 3–6.
4. Берштейн Л.М., Цырлина Е.В., Коваленко И.Г. и др. // Вопросы онкологии. 2003. Т. 49, № 6. С. 716–724.
5. Ильичева Т.Н., Проняева Т.Р., Сметанников А.А. и др. // Вопросы онкологии. 1998. Т. 44, № 4. С. 390–394.
6. Цырлина Е.В., Гамаюнова В.Б., Порошина Т.Е. и др. // Вопросы онкологии. 1999. Т. 45, № 3. С. 261–265.
7. Andersen J., Bentzen S.M., Poulsen H.S. // Eur. J. Cancer Clin. Oncol. 1988. Vol. 24. P. 377–384.
8. van Agthoven T., Timmermans M., Dorssers L.C. et al. // Int. J. Cancer. 1995. Vol. 63, Issue 6. P. 790–793.
9. Brankovic-Magic M., Jankovich R., Neskovich-Konstantinovich Z. et al. // J. Cancer Res. Clin. Oncol. 2001. P. 370–378.
10. Clarke R., Dickson R.B., Brunner N. // Ann. Oncol. 1990. Vol. 1. P. 401–407.
11. Davis B.W., Zava D.T., Locher G.W. et al. // Eur. J. Cancer Clin. Oncol. 1984. Vol. 20. P. 375–385.
12. Holland P.A., Knox W.F., Potten C.S. et al. // J. Natl. Cancer Inst. 1997. Vol. 89. P. 1059–1065.
13. Holdaway I.M., Mason B.H., Bennett R.C. et al. // Cancer. 1988. Vol. 62, Issue 1. P. 109–113.
14. Mohammed R.H., Lakatua D.J., Haus E. et al. // Cancer. 1986. Vol. 58, Issue 5. P. 1076–1081.

Поступила 21.01.08