УДК 616-006.6-091

К.В. Конышев[1,2], С.В. Сазонов[1,2]

HER2-ПОЗИТИВНЫЕ ПОДТИПЫ ПЕРВИЧНОЙ ОПУХОЛИ ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ЧАСТО ИМЕЮТ ГЕТЕРОГЕННЫЕ МЕТАСТАЗЫ, ТОГДА КАК ТРИЖДЫ НЕГАТИВНЫЙ ПОДТИП ОПУХОЛИ ОСТАЕТСЯ СТАБИЛЬНЫМ ПРИ МЕТАСТАЗИРОВАНИИ

[1]ГАУЗ СО Институт медицинских клеточных технологий,
г. Екатеринбург, Российская Федерация;
[2]ФГБОУ ВО Уральский государственный медицинский университет,
г. Екатеринбург, Российская Федерация

Резюме. ***Цель исследования:*** оценить стабильность биологического подтипа рака молочной железы (РМЖ) при регионарном метастазировании в случаях с трижды негативным, гормонрецептор-негативным Her2-позитивным и гормонрецептор-позитивным Her2-позитивным подтипами первичной опухоли (ПО). ***Материал и методы***. Исследование было проведено на операционном материале первичной опухоли и регионарных метастазов 36 пациенток с РМЖ. Применялись иммуногистохимический метод (антитела к рецепторам эстрогенов, рецепторам прогестерона, Her2/neu, Ki67) и метод усиленной серебром гибридизации *in situ* (SISH) (ДНК-метки к гену HER2 и CEN17) для определения статуса соответствующих биомаркеров в ПО и метастазах с последующим отнесением ткани к одному из суррогатных биологических подтипов РМЖ. Оценивались частоты изменений подтипа РМЖ при регионарном метастазировании, выявленные частоты сравнивались с использованием точного теста Фишера. ***Результаты и выводы.*** Биологический подтип рака молочной железы при регионарном метастазировании в большинстве случаев остается стабильным среди случаев всей выборки. Дискордантность подтипа наиболее часто наблюдается в случаях с гормонрецептор-негативным Her2-позитивным подтипом первичной опухоли.

Ключевые слова: рак молочной железы, метастазирование, гетерогенность опухолей

Конфликт интересов отсутствует.
Контактная информация автора, ответственного за переписку:
Конышев Константин Вячеславович
kon-konyshev@yandex.ru
Дата поступления 26.11.2020 г.
Образец цитирования:
Конышев К.В., Сазонов С.В. HER2-позитивные подтипы первичной опухоли при раке молочной железы часто имеют гетерогенные метастазы, тогда как трижды негативный подтип опухоли остается стабильным при метастазировании. http://vestnikural.ru/article/1150 [Электронный ресурс] Вестник уральской медицинской академической науки. 2020, Том 17, №4, с. 285–289, DOI: 10.22138/2500-0918-2020-17-4-285-289

Введение

Проблема гетерогенности опухолей начинает учитываться при клиническом ведении пациентов с некоторыми видами опухолевой патологии, в частности, рака молочной железы. При этом остается открытым вопрос об оптимальном использовании сведений о гетерогенности, которые патологоанатомы и специалисты по молекулярной биологии предоставляют лечащим врачам при рутинной работе. Также не до конца ясным остается вопрос о закономерностях, которым подчиняются процессы, приводящие к возникновению опухолевой гетерогенности [1, 2, 3].

Вопросы изменения суррогатных иммуногистохимических подтипов опухоли в регионарных метастазах при сравнении с первичной опухолью при раке молочной железы привлекают внимание исследователей, поскольку учет этого варианта опухолевой гетерогенности является возможным путем повышения эффективности терапии и оценки прогноза заболевания [4,5,6]. До настоящего времени не существует единого мнения о природе и значении для клиники таких различий. Некоторые авторы отрицают биологическое происхождение гетерогенности экспрессии белков, выявляемых иммуногистохимическим методом, сводя их к артефактам [7]. Однако в боль-

шинстве работ, опубликованных в последние годы, существование биологически обусловленной иммунофенотипической гетерогенности ткани первичной опухоли и метастазов не подвергается сомнению, а рекомендация оценивать Her2/neu-статус метастазов включена в рекомендации ASCO/CAP в редакциях, начиная с 2013 года, а также в профильные клинические рекомендации Российского общества онкомаммологов 2021 года [8, 9, 10].

При этом до настоящего времени нет единой точки зрения на закономерности изменений суррогатных иммуногистохимических подтипов при метастазировании РМЖ.

Цель исследования

Целью исследования стало оценить стабильность биологического подтипа рака молочной железы при регионарном метастазировании в случаях с трижды негативным, гормонрецептор-негативным Her2-позитивным и гормонрецептор-позитивным Her2-позитивным подтипами первичной опухоли.

Материал и методы

Операционный материал от 36 пациенток с диагнозом инвазивного рака молочной железы неспецифического типа, метастатическим поражением регионарных лимфатических узлов, не получавших неоадъювантную терапию, исследовался гистологическим и иммуногистохимическим (ИГХ) методами.

Срезы фиксированного формалином, залитого в парафиновые блоки материала первичной опухоли и регионарных лимфоузлов толщиной 5 мкм окрашивались гематоксилином и эозином для постановки диагноза и подтверждения наличия метастазов.

При исследовании ИГХ-методом срезы толщиной 5 мкм окрашивались моноклональными антителами к рецепторам к эстрогену (клон 1D5, Dako, Дания), рецепторам к прогестерону (клон PgR636, Dako, Дания), белку Ki67 (Dako, клон MIB-1) с использованием автостейнера Dako Link и моноклональными антителами к Her2/neu (клон 4B5, Ventana, США) при помощи автостейнера Ventana Benchmark GX. Ядра клеток докрашивались гематоксилином.

Результаты окрашивания опухолевых клеток антителами к стероидным гормонам оценивались в соответствии с системой оценки Allred, которая предполагает учет доли опухолевых клеток с окрашенными ядрами и интенсивности окрашивания ядер с последующим выставлением балльной оценки: 0 или 2 балла – отрицательный гормонрецепторный статус опухоли, 3-8 баллов – положительный [11].

Результаты ИГХ-окрашивания ткани опухоли с антителами к Her2/neu оценивались в соответствии с рекомендациями ASCO/CAP 2013, которые предусматривают выставление оценки в баллах. При уровне экспрессии онкобелка Her2/neu на мембранах опухолевых клеток 0 или 1+ опухоль имеет отрицательный, при уровне экспрессии 3+ - положительный, при уровне оценки 2+ - неопределенный Her2/neu-статус [8].

Экспрессия Ki67 оценивалась как процент окрашенных опухолевых клеток среди не менее 500 клеток в полях зрения с наибольшей пролиферативной активностью (<20% – опухоль с низкой пролиферативной активностью, ≥20% - опухоль с высокой пролиферативной активностью).

Материал первичной опухоли в случаях с неопределенным уровнем экспрессии онкобелка Her2/neu исследовался методом SISH для оценки амплификации гена HER2 (INFORM HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail, Ventana, США) с использованием автостейнера Ventana Benchmark XT. Результаты SISH-исследования оценивались в соответствии с рекомендациями ASCO/CAP 2013 года, предполагающими положительный Her2/neu-статус опухоли при амплификации гена HER2 и отрицательный в случаях без амплификации данного гена [8].

Первичная опухоль относилась к трижды негативному подтипу в 20 случаях, к гормонрецептор-негативному Her2-позитивному подтипу в 9 случаях, гормонрецептор-позитивному Her2-позитивному подтипу в 7 случаях [2]. Оценивались частоты изменений подтипа РМЖ при регионарном метастазировании, выявленные частоты сравнивалась с использованием точного теста Фишера [12].

Статистический анализ проводился с использованием программы MS Excel 2007. Принятый уровень статистической значимости (p) составлял 0,05 и менее.

Результаты

Подтип первичной опухоли был сохранен при метастазировании в 29 случаях (80,6%, 95% ДИ 63,4-91,2%), изменение подтипа наблюдалось в 7 случаях (19,4%, 95% ДИ 8,8-36,6%) ($p<0,05$). Среди 20 случаев с трижды негативным подтипом первичной опухоли в 1 случае метастаз относился к другому (люминальному B) подтипу (5%, 95% ДИ 0,3-26,9%). Из 9 случаев с гормонрецептор-негативным Her2-позитивным подтипом первичной опухоли в 4 случаях метастаз относился к другим (2 к трижды негативному, 1 к люминальному A, 1 к люминальному B) подтипам (44,4%, 59% ДИ 15,3-77,3%). Среди 7 случаев с гормонрецептор-позитивным Her2-позитивным подтипом первичной опухоли в 2 случаях метастаз относился к другим (1 к люминальному A, 1 к люминальному B) подтипам (28,6%, 95% ДИ 5,1-69,7%).

on-line ISSN 2500-0918
vestnikural.ru

Выводы

1. Биологический подтип рака молочной железы при регионарном метастазировании в большинстве случаев остается стабильным среди случаев всей выборки.

2. Дискордантность подтипа наиболее часто наблюдается в случаях с гормонрецептор-негативным Her2-позитивным подтипом первичной опухоли.

ЛИТЕРАТУРА

1. Zardavas D., Irrthum A., Swanton C., Piccart M. Clinical management of breast cancer heterogeneity. Nat. Rev. Clin. Oncol. 2015; 12 (7): 381–394.

2. Конышев К.В., Сазонов С.В. Исследование Her2/neu-статуса клеток рака молочной железы при регионарном метастазировании в случаях с неопределенным (2+) уровнем экспрессии Her2/neu в ткани первичной опухоли. Вестник уральской медицинской академической науки. 2018; 15 (1): 48-54.

3. Конышев К.В., Сазонов С.В. Изменение экспрессии иммуногистохимических маркеров в регионарных метастазах рака молочной железы. Архив патологии. 2020;82(4): 19-25.

4. Aitken S.J., Thomas J.S., Langdon S.P., Harrison D.J., Faratian D. Quantitative analysis of changes in ER, PR and HER2 expression in primary breast cancer and paired nodal metastases. Ann. Oncol. 2010; 21 (6): 1254–1261.

5. Konyshev K.V., Brilliant A.A., Sazonov S.V. Ki67 and estrogen receptor changes in breast cancer local metastases. Virchows Archiv. 2016; 469 (S1): 61

6. Конышев К.В., Бриллиант А.А., Сазонов С.В. Изменение экспрессии рецепторов к эстрогену клетками карциномы молочной железы при регионарном метастазировании. Вестник Уральской медицинской академической науки. 2015; 53 (2): 4-6.

7. Amir E., Miller N., Geddie W., Freedman O., Kassam F., Simmons C. et al. Prospective study evaluating the impact of tissue confirmation of metastatic disease in patients with breast cancer. J. Clin. Oncol. 2012; 30 (6): 587–592.

8. Wolff A.C., Hammond M.E.H., Hicks D.G., Dowsett M., McShane L.M. et al. Recommendations for Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 Testing in Breast Cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists Clinical Practice Guideline Update. Arch. Pathol. Lab. Med. 2014; 138 (2): 241–256.

9. Sazonov S.V., Konyshev K.V. Her2/neu in local metastases and primary focus of breast cancer. Virchows Archiv. 2015; 467 (S1): S55.

10. Конышев К.В., Бриллиант А.А., Сазонов С.В., Леонтьев С.Л. Her2/neu-статус первичной опухоли и регионарных метастазов при раке молочной железы. 2015; 54 (3): 40-42.

11. Allred D.C., Harvey J.M., Berardo M., Clark G.M. Prognostic and predictive factors in breast cancer by immunohistochemical analysis. Mod. Pathol. 1998; 11 (2): 155–68.

12. Петри А., Сэбин К. Наглядная медицинская статистика. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2015.

Авторы

Конышев Константин Вячеславович
ГАУЗ СО Институт медицинских клеточных технологий
Кандидат медицинских наук, врач-патологоанатом
Российская Федерация, 620137, г. Екатеринбург, ул. Вилонова, 76а
ФГБОУ ВО Уральский государственный медицинский университет Минздрава РФ
Младший научный сотрудник
Российская Федерация, 620028, г. Екатеринбург, г. Екатеринбург, ул. Репина 3
kon-konyshev@yandex.ru

Сазонов Сергей Владимирович
ГАУЗ СО Институт медицинских клеточных технологий
Д.м.н., профессор, заведующий патолого-анатомическим отделением
Российская Федерация, 620137, г. Екатеринбург, ул. Вилонова, 76а
ФГБОУ ВО Уральский государственный медицинский университет Минздрава РФ
Заведующий кафедрой гистологии, цитологии и эмбриологии
Российская Федерация, 620028, г. Екатеринбург, г. Екатеринбург, ул. Репина 3
imct@celltechnologies.ru

K.V. Konyshev[1,2], S.V. Sazonov[1,2]

HER2-POSITIVE SUBTYPES OF THE PRIMARY TUMOR IN BREAST CANCER OFTEN HAVE HETEROGENEOUS METASTASES, WHEREAS THE TRIPLE-NEGATIVE SUBTYPE OF THE TUMOR REMAINS STABLE WHEN METASTASIZED

[1]Institute of Medical Cell Technologies, Yekaterinburg, Russian Federation;
[2]Ural State Medical University, Yekaterinburg, Russian Federation

Abstract. ***Objective***: to evaluate the stability of the biological subtype of breast cancer (BC) in regional metastasis in cases with triple negative, hormone-receptor-negative Her2-positive and hormone-receptor-positive Her2-positive subtypes of the primary tumor (PT). ***Methods***. The study was realized on the surgical samples of the primary tumor and regional metastases of 36 patients with breast cancer. An immunohistochemistry (antibodies to estrogen receptors, progesterone receptors, Her2/neu, Ki67) and a silver-enhanced in situ hybridization (SISH) (DNA tags for the HER2 and CEN17 genes) were used to determine the status of the corresponding biomarkers in PT and metastases, followed by assigning the tissue to one of the surrogate biological subtypes of breast cancer. The frequency of changes in the BC subtype in regional metastasis was evaluated, and the detected frequencies were compared using the exact Fischer test. ***Results and conclusions.*** The biological subtype of breast cancer with regional metastasis in most cases remains stable among the cases of the entire sample. Discordance of the subtype is most often observed in cases with the hormone-receptor-negative Her2-positive subtype of the primary tumor.

Keywords: breast cancer, metastasis, tumor heterogeneity

There is no conflict of interest.
Contact details of the corresponding author:
Konstantin V. Konyshev
kon-konyshev@yandex.ru
Received 26.11.2020г
For citation:
Konyshev K.V., Sazonov S.V. HER2-positive subtypes of the primary tumor in breast cancer often have heterogeneous metastases, whereas the triple-negative subtype of the tumor remains stable when metastasized. http://vestnikural.ru/article/1150 [Online] Vestn. Ural. Med. Akad. Nauki. = Journal of Ural Medical Academic Science. 2020, Vol. 17, no. 4, pp. 285–289. DOI: 10.22138/2500-0918-2020-17-4-285-289 (In Russ)

REFERENCES

1. Zardavas D., Irrthum A., Swanton C., Piccart M. Clinical management of breast cancer heterogeneity. Nat. Rev. Clin. Oncol. 2015; 12 (7): 381–394. DOI: 10.1038/nrclinonc.2015.73
2. Konyshev K.V., Sazonov S.V. Study of Her2/neu status of locoregionally metastasizing breast cancer cells in the cases with equivocal (2+) level of Her2/neu oncoprotein expression in primary tumor tissue [Issledovanie Her2/neu-statusa kletok raka molochnoj zhelezy pri regionarnom metastazirovanii v sluchajah s neopredelennym (2+) urovnem jekspressii Her2/neu v tkani pervichnoj opuholi]. Journal of Ural Medical Academic Science [Vestnik ural'skoi meditsinskoi akademicheskoi nauki]. 2018; 15 (1): 48-54. DOI: 10.22138/2500-0918-2018-15-1-48-54 (in Russ)
3. Konyshev K.V., Sazonov S.V. Changes of immunohistochemical markers in local metastasis of breast cancer [Izmenenie jekspressii immunogistohimicheskih markerov v regionarnyh metastazah raka molochnoj zhelezy]. Archive of Pathology [Arkhiv Patologii]. 2020; 82 (4): 19-26. DOI: 10.17116/patol20208204119 (in Russ)
4. Aitken S.J., Thomas J.S., Langdon S.P., Harrison D.J., Faratian D. Quantitative analysis of changes in ER, PR and HER2 expression in primary breast cancer and paired nodal metastases. Ann. Oncol. 2010; 21 (6): 1254–1261. DOI: 10.1093/annonc/mdp427
5. Konyshev K.V., Brilliant A.A., Sazonov S.V. Ki67 and estrogen receptor changes in breast cancer local metastases. Virchows Archiv. 2016; 469 (S1): 61
6. Konyshev K.V., Brilliant A.A., Sazonov S.V. Change of estrogen receptor expression in breast cancer cells in locoregional metastases [Izmenenie jekspressii receptorov k jestrogenu kletkami karcinomy molochnoj zhelezy pri regionarnom metastazirovanii]. Journal of Ural Medical Academic Science [Vestnik ural'skoi meditsinskoi akademicheskoi nauki]. 2015; 53 (2): 4-6. (in Russ)

7. Amir E., Miller N., Geddie W., Freedman O., Kassam F., Simmons C. et al. Prospective study evaluating the impact of tissue confirmation of metastatic disease in patients with breast cancer. J. Clin. Oncol. 2012; 30 (6): 587–592. DOI: 10.1200/JCO.2010.33.5232

8. Wolff A.C., Hammond M.E.H., Hicks D.G., Dowsett M., McShane L.M. et al. Recommendations for Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 Testing in Breast Cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists Clinical Practice Guideline Update. Arch. Pathol. Lab. Med. 2014; 138 (2): 241–256. DOI: 10.5858/arpa.2013-0953-SA

9. Sazonov S.V., Konyshev K.V. Her2/neu in local metastases and primary focus of breast cancer. Virchows Archiv. 2015; 467 (S1): S55.

10. Konyshev K.V., Brilliant A.A., Sazonov S.V., Leontiev S.L. Her2/neu-status of the primary tumor and locoregional metastases in breast cancer [Her2/neu-status pervichnoj opuholi i regionarnyh metastazov pri rake molochnoj zhelezy]. Journal of Ural Medical Academic Science [Vestnik ural'skoi meditsinskoi akademicheskoi nauki]. 2015; 54 (3): 40-42. (in Russ)

11. Allred D.C., Harvey J.M., Berardo M., Clark G.M. Prognostic and predictive factors in breast cancer by immunohistochemical analysis. Mod. Pathol. 1998; 11 (2): 155–68.

12. Petri A., Sebin K. Medical statistics at a glance. Moscow: GEOTAR-Media; 2015. (in Russ)

Authors
Konstantin V. Konyshev
Institute of Medical Cell Technologies
Cand. Sci. (Med.), pathologist
76a, Vilonov str., Yekaterinburg, Russian Federation, 620137
Ural State Medical University
Reseracher
3 Repin St., Yekaterinburg, Russian Federation, 620028
kon-konyshev@yandex.ru

Sergey V. Sazonov
Institute of Medical Cell Technologies
MD, Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of Pathology Department
76a, Vilonov str., Yekaterinburg, Russian Federation, 620137
Ural State Medical University
Head of Department of Histology, Cytology and Embryology
3 Repin St., Yekaterinburg, Russian Federation, 620028
imct@celltechnologies.ru