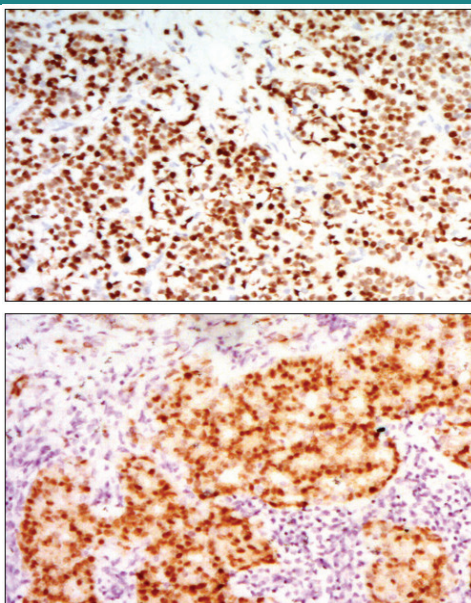


**Коньшев К.В.,
Сазонов С.В., Леонтьев С.Л.**

**ИЗМЕНЕНИЕ
РЕЦЕПТОРНОГО АППАРАТА
КЛЕТОК КАРЦИНОМЫ
МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ
ПРИ РЕГИОНАРНОМ
МЕТАСТАЗИРОВАНИИ**



Екатеринбург
2019

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
СВЕРДЛОВСКОЙ ОБЛАСТИ
ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский
университет»
ГАУЗ СО «Центр специализированных видов медицинской
помощи «Институт медицинских клеточных технологий»

Конышев К.В.,
Сазонов С.В., Леонтьев С.Л.

**ИЗМЕНЕНИЕ РЕЦЕПТОРНОГО АППАРАТА
КЛЕТОК КАРЦИНОМЫ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ
ПРИ РЕГИОНАРНОМ МЕТАСТАЗИРОВАНИИ**

Екатеринбург, Россия
2019

УДК 616-092.18
ББК 52.5

Конышев К.В., Сазонов С.В., Леонтьев С.Л. Изменение рецепторного аппарата клеток карциномы молочной железы при регионарном метастазировании/ Екатеринбург, ВУМАН, 2019. – 116 с.

Konyshov K.V., Sazonov S.V., Leontiev S.L. Changes in the receptor apparatus of breast carcinoma cells during regional metastasis / Yekaterinburg, VUMAN, 2019. - 116 p.

Рецензенты:

Юшков Б.Г. – Заслуженный деятель науки РФ, член-корр. РАН, доктор медицинских наук, профессор

Демидов С.М. – Заслуженный врач РФ, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой онкологии и медицинской радиологии УГМУ МЗ РФ, член президиума РООМ

Петров С.В. – доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры общей патологии Казанского государственного медицинского университета, Лауреат премии Правительства РФ в области медицины.

В монографии представлены результаты научной работы, посвященные выявлению закономерностей в изменениях экспрессии ключевых биомаркеров в опухолевых клетках при регионарном метастазировании рака молочной железы. Описаны как типичные изменения экспрессии каждого из исследованных компонентов рецепторного аппарата клеток опухоли при метастазировании, так и обнаруженные взаимосвязи подобных изменений. Выявлено одновременное повышение при метастазировании уровней экспрессии рецепторов к эстрогену и рецепторов к прогестерону в случаях с умеренными уровнями экспрессии рецепторов к стероидным гормонам в клетках первичной опухоли. Описана обратная зависимость изменений уровней экспрессии рецепторов к эстрогену и онкобелка Her2/neu в клетках метастазов при сравнении с клетками первичной опухоли с неопределенным уровнем экспрессии Her2/neu (2+), а также сохранение Her2/neu-статуса опухолевой ткани в таких случаях.

Издание представляет интерес для широкого круга врачей, гистологов, врачей патологоанатомов, научных сотрудников, биологов, аспирантов, студентов медицинских вузов и биологических факультетов университетов.

Рекомендовано к изданию Ученым советом ГАУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий» в качестве монографии (протокол № 4 от 05.06.2018 г.).

ISBN 978_5_9908479_9_6

© ГАУЗ СО Институт медицинских клеточных технологий, 2019;

© ФГБОУ ВО Уральский государственный медицинский университет, 2019;

© Конышев К.В., Сазонов С.В., Леонтьев С.Л., 2019

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	7
ГЛАВА 1. РОЛЬ РЕЦЕПТОРНОГО АППАРАТА КЛЕТОК В РЕГИОНАРНОМ МЕТАСТАЗИРОВАНИИ КАРЦИНОМЫ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И РАЗЛИЧИЕ ИММУНОФЕНОТИПА КЛЕТОК ПЕРВИЧНОЙ И МЕТАСТАТИЧЕСКОЙ ОПУХОЛЕЙ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)	9
1.1. Характеристика, функции и роль рецепторов к эстрогену, рецепторов к прогестерону, Her2/neu и Ki67 в клетке в норме и при опухолевой патологии	9
1.2. Современные представления о развитии злокачественных опухолей и формировании метастазов	19
1.3. Гетерогенность опухоли. Изменения экспрессии рецепторов к эстрогену, рецепторов к прогестерону, Her2/neu и Ki67 при метастазировании карциномы молочной железы	22
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	33
2.1. Характеристика выборки и материала	33
2.2. Гистологический метод	33
2.3. Иммуногистохимический метод	35
2.4. Метод гибридизации <i>in situ</i>	38
2.5. Общая характеристика выборки и формирование групп исследования	39
2.6. Статистический метод	44
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	45
3.1. Изучение экспрессии рецепторов к эстрогену в ткани первичной опухоли и регионарных метастазов инвазивной неспецифической карциномы молочной железы	45
3.2. Изучение экспрессии рецепторов к прогестерону в ткани первичной опухоли и регионарных метастазов инвазивной неспецифической карциномы молочной железы	58
3.3. Изучение экспрессии онкобелка Her2/neu в ткани первичной опухоли и регионарных метастазов инвазивной неспецифиче-	

ской карциномы молочной железы	67
3.4. Изучение экспрессии маркера пролиферации Ki67 в ткани первичной опухоли и регионарных метастазов инвазивной неспецифической карциномы молочной железы	79
ГЛАВА 4. ОБЩЕЕ ЗАКЛЮЧЕНИЕ	88
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	93
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	94

ВВЕДЕНИЕ

Рак молочной железы — самая распространенная опухолевая патология среди женщин в мире (Hoeftnagel L.D. et al., 2010). Для оценки прогноза течения заболевания и назначения терапии проводится иммуногистохимическое исследование экспрессии рецепторов к эстрогену, рецепторов к прогестерону, онкобелка Her2/neu и маркера пролиферации Ki67 в ткани первичной опухоли (Coates A.S. et al., 2015).

Рецепторы к эстрогену (РЭ) участвуют в регуляции генов, определяющих пролиферацию, дифференцировку и выживание клеток, а также активируют цитоплазматические сигнальные пути в раковых клетках, такие как PI3K, Ras, Rho-ГТФазы (O'Lone R. et al., 2004, Завьялова М.В. с соавт., 2013, Manavathi B. et al., 2013). Рецепторы к прогестерону (РП) являются транскрипционными факторами для генов, участвующих в клеточном цикле (Grimm S.L. et al., 2016). Онкобелок Her2/neu представляет собой рецепторную тирозинкиназу семейства рецепторов к эпидермальному фактору роста, активируется без лиганда, образуя димеры с другими представителями этого семейства, и запускает сигнальные пути, ведущие к пролиферации, выживанию и метастазированию опухолевых клеток (Гуревич Л.Е. с соавт., 2012). Белок Ki67 присутствует в клетках на всех этапах митотического цикла (Penault-Llorca F., Radosevic-Robin N., 2017).

Уровень экспрессии каждого из приведенных выше биомаркеров оказывает влияние на прогноз заболевания и определяет эффективность противоопухолевых лекарственных препаратов. Различные сочетания РЭ, РП, Her2/neu и Ki67 в ткани первичных опухолей позволяют назначить персонализированную терапию каждой пациентке (Франк Г.А. с соавт., 2014).

Уровни экспрессии каждого из биомаркеров могут изменяться при метастазировании. Это является возможной причиной недостаточной эффективности терапии, назначенной на основании результатов иммуногистохимического исследования первичной опухоли (Pectasides D. et al., 2006). Исследования закономерностей изменений рецепторного статуса опухолей при метастазировании позволят разработать рекомендации, учитывающие возможные отличия метастатической ткани от ткани первичной опухоли, что приведет к повышению эффективности персонализированной терапии рака молочной железы (Aurilio G. et al., 2014).

Вовлеченность РЭ, РП, Her2/neu и Ki67 в механизмы канцероген-

неза при раке молочной железы обуславливает постоянное внимание исследователей к ним. Исследования, посвященные закономерностям изменений рецепторного аппарата и пролиферативного статуса опухолевых клеток при метастазировании, расширяют представления о биологии опухолей (Giretti M.S. et al., 2008, Falck A.K. et al., 2013).

ГЛАВА 1.

РОЛЬ РЕЦЕПТОРНОГО АППАРАТА КЛЕТОК В РЕГИОНАРНОМ МЕТАСТАЗИРОВАНИИ КАРЦИНОМЫ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И РАЗЛИЧИЕ ИММУНОФЕНОТИПА КЛЕТОК ПЕРВИЧНОЙ И МЕТАСТАТИЧЕСКОЙ ОПУХОЛЕЙ

1.1. Характеристика, функции и роль рецепторов к эстрогену, рецепторов к прогестерону, Her2/neu и Ki67 в клетке в норме и при опухолевой патологии

В настоящее время стандарт морфологического исследования рака молочной железы включает в себя оценку статуса рецепторов к эстрогену, рецепторов к прогестерону, онкобелка Her2/neu и индекса пролиферации Ki67. Это обусловлено вовлеченностью указанных биомаркеров в сигнальные пути и генетические механизмы канцерогенеза, а также существенной связью между статусом каждого биомаркера и ответом опухоли на соответствующую терапию у конкретной пациентки.

Рецепторы к эстрогену относятся к надсемейству ядерных рецепторов - структурно сходных лиганд-индуцируемых транскрипционных факторов белковой природы. Это семейство включает в себя также рецепторы к прогестерону, андрогену, тиреоидным гормонам, ретиноидам, витамину Д и некоторым другим молекулам (Welboren W.-J. et al., 2007). Молекула рецептора к эстрогену состоит из нескольких функциональных регионов, отвечающих за связывание молекулы эстрогена, димеризацию, связывание рецепторного комплекса с молекулой ДНК и непосредственное осуществление транскрипции (Moggs J.G., Orphanides G., 2001). В клетке рецепторы к эстрогену экспрессируются преимущественно в ядре, однако в небольших количествах присутствуют в цитоплазме и в составе клеточной мембраны (Кириллина М.П., 2011; Невожай В.И., Мюллер Е.С., 2007). Экспрессия рецепторов к эстрогену в норме характерна для клеток матки, яичника, фаллопиевых труб, влагалища, молочных желез, гипофиза, гипоталамуса и некоторых других структур мозга, костей, печени и сердечно-сосудистой системы (Карасев В.Е. et al., 2016; Katzenellenbogen B.S., 1996). В процессе нормального развития молочной железы при половом созревании рецепторы к эстрогену играют существенную роль в формировании и ро-

сте протоков, а при беременности и лактации участвуют в процессе формирования концевых отделов молочных желез (Manavathi B. et al., 2013; Жирнова А.С. et al., 2017). Вовлеченность рецепторов к эстрогену в сигнальные пути регуляции пролиферации и дифференцировки клеток обуславливает их существенную роль при опухолевом поражении ткани молочной железы (Macfarlane R. et al., 2012; Ataseven B. et al., 2012; Kinsella M.D. et al., 2012).

Рецепторы к эстрогену в клетках человека представлены двумя формами — рецепторы к эстрогену- α (РЭ α) и рецепторы к эстрогену- β (РЭ β), аминокислотные последовательности которых кодируются разными генами. Строение обеих форм сходно, но не одинаково, тогда как последовательность и функции функциональных регионов совпадают. РЭ α при развитии рака молочной железы выступает в качестве онкобелка, в то время, как РЭ β подавляет опухолевый рост, в частности, ткань опухоли с низким уровнем экспрессии РЭ β хуже отвечает на гормональную терапию (Норр Т.А. et al., 2004). Эффекты рецепторов к эстрогену- α изучены более полно, поскольку в органах репродуктивной системы и в опухолях из их клеток представлен преимущественно эта разновидность РЭ (Слонимская Е.М. et al., 2014). В связи с этим, авторы большинства источников специально оговаривают, что, упоминая рецепторы к эстрогену, они имеют в виду РЭ α ; в данной работе также была исследована экспрессия рецепторов к эстрогену- α , которые в дальнейшем обозначаются как «рецепторы к эстрогену» без указания формы.

Действие рецепторов к эстрогену в опухолевой клетке осуществляется тремя путями.

Геномный прямой (классический), предусматривающий транскрипцию генов, содержащих в промоторе специфическую последовательность ДНК (estrogen responsive element, ERE), к которой непосредственно присоединяется молекула РЭ в составе рецепторного комплекса (O'Lone R. et al., 2004; Красильников М.А., Щербаков А.М., 2014).

Геномный непрямой (неклассический), предусматривающий транскрипцию генов, не содержащих ERE, с промоторами которых непосредственно связываются ядерные транскрипционные факторы, входящие в рецепторный комплекс РЭ (Björnström L., Sjöberg M., 2005).

Негеномный, при котором локализованные в мембране РЭ активируют тирозинкиназные сигнальные клеточные пути (PI3K, Src,

АКТ/МАРК) (Williams C., Lin C.-Y., 2013; Хисамов А.А. с соавт., 2015).

При реализации классического геномного пути действия с молекулой РЭ, находящейся в цитоплазме, связывается молекула эстрогена, вызывая фосфорилирование молекулы рецептора, диссоциацию белков-шаперонинов и ее конформационные изменения. После этого молекула РЭ димеризуется, и димер поступает в ядро клетки, где связывается с ДНК-последовательностью ERE, содержащейся в промоторах эстроген-зависимых генов. На этом этапе РЭ-димер формирует комплекс с корегуляторами транскрипции (AIB1, CBP/P300, PCAF, Cyclin D1 и другие). Помимо активации транскрипции, присоединение к промотору комплекса, образованного РЭ, может подавлять транскрипцию ряда генов, что связано с присоединением не коактиваторов, а корепрессоров транскрипции (BRCA1, BRCA2, Smad4 и другие) к димеру РЭ при образовании транскрипционного комплекса (Osborne C.K., Schiff R., 2005).

Коактиваторы, например, AIB1, в составе комплекса с присоединенным к ERE-участку промотора димером РЭ, активируют ферментативную активность ацетилтрансфераз, которые расплетают спираль ДНК, обеспечивая начало транскрипции (Manavathi B. et al., 2013).

В настоящее время известно более 35 генов, содержащих ERE, транскрипция которых активируется рецепторами к эстрогену за счет прямого геномного пути. Продукты некоторых из них в дальнейшем могут участвовать в возникновении и развитии рака молочной железы, в частности, рецепторы к прогестерону типа А, факторы роста VEGF и TGF α (O'Lone R. et al., 2004).

Рецепторы к эстрогену могут выступать в качестве коактиваторов транскрипции тех генов, промоторы которых не содержат ERE-последовательностей ДНК, но содержат такие последовательности, как AP-1 или SP-1. При этом, в отличие от прямого геномного пути действия РЭ в клетке, димер РЭ, активированный молекулой эстрогена, соединяется с молекулами транскрипционных факторов, связанных непосредственно с молекулой ДНК, такими, как c-jun или c-fos, а РЭ, в качестве коактиватора, может стабилизировать связь комплекса с ДНК или привлекать дополнительные коактиваторные молекулы, таким образом непрямо участвуя в транскрипции. Неклассическим путем рецепторы к эстрогену активируют транскрипцию более 16 генов. Белковые продукты некоторых из них играют существенную роль в канцерогенезе, такие как рецепторы EGFR и

рецепторы к прогестерону типа В, фактор роста VEGF, транскрипционные факторы c-fos и myc, регулятор клеточного цикла Cyclin D1, ингибитор апоптоза Bcl-2 и другие (O'Lone R. et al., 2004).

В 1942 году Гансом Селье были опубликованы данные о быстром действии стероидных гормонов в клетках, причем скорость наступления эффекта была существенно выше, чем это возможно при реализации транскрипционной активности (Selye H., 1942). Последующие исследования продемонстрировали возможность реализации внеядерных эффектов рецепторов к эстрогену, расположенных в клеточной мембране (Losel R.M. et al., 2003). Время реализации таких эффектов не превышает нескольких минут с момента воздействия эстрогена на рецептор (Osborne C.K., Schiff R., 2005). Локализованные в мембране клеток рецепторы к эстрогену способны к непосредственному взаимодействию с рядом молекул, которое приводит к активации сигнальных путей, в которых эти молекулы задействованы. К ним относятся рецептор к инсулиноподобному фактору роста 1 типа (IGFR1), регуляторная субъединица p85 фосфатидилинозитол-3-киназы (PI3K), адапторная молекула Shc, обеспечивающая связь РЭ с молекулами некоторых тирозинкиназных рецепторов к факторам роста, и Src (Castoria G. et al., 2001; Kahlert S. et al., 2000; Simoncini T. et al., 2000). Активация этих промежуточных механизмов при воздействии эстрогена на рецептор к эстрогену приводит к реализации клеточных сигнальных путей PI3K и MAPK, имеющие выраженные онкогенные эффекты. Кроме того, Akt и MAPK могут осуществлять фосфорилирование ядерных рецепторов к эстрогену и их коактиваторов, усиливая тем самым их транскрипционную активность (ManavathiB. et al., 2013).

Другим механизмом негеномного действия рецепторов к эстрогену является непрямая активация рецептора к эпидермальному фактору роста (EGFR). Молекула РЭ, связанная с кавеоломином 1 типа в клеточной мембране, активирует G-белки, выступая в качестве рецептора, связанного с G-белком (GPCR), при присоединении молекулы эстрогена. Последующая активация c-Src и матричных металлопротеиназ (MMP) приводит к высвобождению молекул эпидермального фактора роста (EGF) на наружной поверхности клеточных мембран. Аутокринным или паракринным путем молекулы EGF затем связываются со специфическими мембранными рецепторами EGFR, что приводит к активации сигнальных путей MAPK и Akt, ведущих к пролиферации и выживанию опухолевых клеток.

Негеномные эффекты мембранных рецепторов к эстрогену в клетках РМЖ могут быть модифицированы белками PELP1 и MTA1. PELP1 образует комплексы с молекулами Src и РЭ, которые блокируют белковый продукт антионкогена Rb и этим способствуют вхождению опухолевой клетки в S-фазу митоза (Vadlamudi R.K. et al., 2001). MTA1 является корепрессором геномной активности РЭ, который способствует перемещению молекул РЭ из ядра в цитоплазму. Накопление РЭ в цитоплазме способствует нарастанию активности клеточных сигнальных путей, в которых негеномно участвуют молекулы РЭ (Kumar R. et al., 2002).

В настоящее время существует концепция восьми отличительных черт злокачественных опухолей (hallmarks of cancer), предложенная D. Hanahan с соавторами. Согласно ей, клеткам любых злокачественных опухолей присущ комплекс физиологических изменений, в который входят самодостаточность пролиферативных сигналов, нечувствительность к факторам, подавляющим клеточное деление, измененный метаболизм, отмена апоптоза, неограниченный пролиферативный потенциал, выраженная способность активизировать неоангиогенез, недоступность для иммунной системы организма и способность к миграции и инвазии (Hanahan D., Weinberg R.A., 2011). Многие из этих отличительных черт приобретаются клетками рака молочной железы благодаря транскрипции соответствующих генов при геномном действии рецепторов к эстрогену. Так, фактор роста TGF α , рецептор EGFR, транскрипционные факторы c-fos и тус, регулятор клеточного цикла Cyclin D1 способствуют пролиферации опухолевых клеток, фактор роста эндотелия сосудов (VEGF) – неоангиогенезу в опухоли, а эффекты белкового продукта гена Bcl-2 связаны с подавлением апоптоза. Транскрипционный фактор c-fos, кроме того, участвует в индукции эпителиально-мезенхимального перехода опухолевых клеток – процесса, по современным представлениям, лежащего в основе метастазирования злокачественных опухолей (Tse J.C., Kalluri R., 2007; Eger A. et al., 2000; Mejlvang J. et al., 2007). Продукты других генов, транскрипция которых зависит от РЭ, не участвуют в реализации инвазии и метастазирования клеток рака молочной железы.

Эксперименты, проведенные на РЭ-положительных клетках рака молочной железы линий T47-D и MCF-7 M.S. Giretti и соавторами показали, что внеядерные рецепторы к эстрогену являются необходимым звеном в приобретении опухолевой клеткой подвижности и, вследствие этого, к метастазированию. Мембранные рецепторы к

эстрогену, активированные присоединением эстрадиола, запускают сигнальный путь РЭ/белок Gα/Rho-ГТФаза A/Rho-ассоциированная киназа ROCK/моэзин/актин, в результате которого актинсвязывающий белок моэзин вызывает конформационные изменения актина, его переход из глобулярного состояния в фибриллярное, что приводит к формированию псевдоподий и приобретению клеткой способности к движению (Завьялова М.В.с соавт., 2013; Giretti M.S. et al., 2008).

Негеномные механизмы действия РЭ в клетках рака молочной железы, связанные с активацией сигнальных путей PI3K и MAPK, вносят существенный вклад в метастазирование рака молочной железы, поскольку каждый из них участвует в реализации эпителиально-мезенхимального перехода. Активированные мембранные и цитоплазматические рецепторы к эстрогену способны как к непосредственной стимуляции сигнальных путей PI3K и MAPK, так и к опосредованной — путем активации тирозинкиназных рецепторов к факторам роста (IGFR и EGFR) (Manavathi B. et al., 2013).

Молекула рецептора к прогестерону имеет белковую природу и состоит из нескольких функциональных регионов, аналогично молекулам рецептора к эстрогену других ядерных транскрипционных факторов: участки для связывания с лигандом (молекулой прогестерона), последовательностью ДНК, транскрипционными кофакторами, а также участок для непосредственного осуществления транскрипции. В отличие от рецепторов к эстрогену, димеризация рецептора к прогестерону не является необходимым условием осуществления транскрипции, а в структуре его молекулы отсутствует соответствующий регион (Grimm S.L et al., 2016).

Молекулы рецепторов к прогестерону существуют в двух изоформах — рецепторы к прогестерону типа А и рецепторы к прогестерону типа В. Обе изоформы являются продуктами одного гена, а синтез той или иной формы происходит в результате использования одного из двух промоторов (Briskin C., 2013).

Для осуществления транскрипции рецепторы к прогестерону присоединяются к нитям ДНК на участках, общих для РП, рецепторов андрогену, рецепторов к минералокортикоидам и рецепторов к глюкокортикоидам — гормон-зависимых участках, HRE (Lieberman B. et al., 1993). При этом также известна последовательность из шести нуклеотидов, к которой молекулы рецепторов к прогестерону присоединяются избирательно и более интенсивно связываются с другими транскрипционными факторами для образования комплек-

са — прогестерон-зависимые участки, PRE (Yin P. et al., 2012). Помимо непосредственного участия в активации транскрипции в составе комплекса с кофакторами, связанные с молекулами прогестерона рецепторы к прогестерону могут обеспечивать регулирующее влияние на процессы транскрипции в тех случаях, когда они присоединены к участкам PRE, располагающимся не в промоторных регионах прогестерон-зависимых генов (Ballaré C. et al., 2013). Молекулы рецепторов к прогестерону, не активированные прогестероном, могут выполнять роль репрессоров транскрипции, присоединяясь к участкам PRE и, таким образом, блокируя промоторы прогестерон-зависимых генов (Vicent G.P. et al., 2013). Анализ активности транскрипции прогестерон-зависимых генов показал, что в нормальном эпителии молочной железы и в раковых клетках рецепторы к прогестерону активируют транскрипцию разных генов, что связано с различным набором кофакторов и воздействием опухолевого микроокружения на клетки РМЖ (Grimm S.L. et al., 2016). В клетках рака молочной железы рецепторы к прогестерону, преимущественно изоформы В, в комплексе с кофакторами Stat3, Stat5 и другими, активируют транскрипцию ряда генов, регулирующих пролиферацию клеток, таких, как Wnt1, Bcl-xL, p21/CIP1 и c-Myc (Proietti C.J. et al., 2011).

Помимо функционирования в качестве транскрипционных факторов, рецепторы к прогестерону могут участвовать в активации внутриклеточных сигнальных каскадов, например, связанных с G-белками. Однако сведения об участии мембранной формы РП в качестве рецептора, связанного с G-белками (GPCR) в этих механизмах противоречивы и не содержат единой для исследователей позиции (Moussatche P., Lyons T.J., 2012).

Рецепторы к прогестерону участвуют в транскрипции гена Wnt1, белковый продукт которого участвует в реализации эпителиально-мезенхимального перехода, инициируя подавление транскрипции гена Е-кадгерина фактором Snail (Kalluri R., Weinberg R.A., 2009). Однако этот механизм не выделяет опухоли РП-положительных подтипов среди других подтипов РМЖ по степени активности факторов эпителиально-мезенхимального перехода и не имеет существенного значения при метастазировании опухоли (Lamb R. et al., 2013).

Определяемые при иммуногистохимическом исследовании уровни экспрессии рецепторов к стероидным гормонам в клетках рака молочной железы имеют важное клиническое значение, поскольку позволяют оценить ответ опухоли на гормональную терапию и про-

гноз для пациентки(Закирова Л.Т. с соавт., 2015; Кириллина М.П., 2011). В настоящее время существует несколько систем оценки уровня экспрессии рецепторов к эстрогену и рецепторов к прогестерону. Основным итогом применения любой из систем оценки является присвоение опухоли в каждом случае положительного или отрицательного статуса рецепторов к эстрогену и рецепторов к прогестерону. Рекомендации Американской коллегии патологов (CAP) предполагают обязательную оценку доли РЭ- или РП-положительных клеток среди всех клеток опухоли, находящихся в срезе. При этом пограничным значением для положительного статуса опухоли является 1% и более окрашенных опухолевых клеток. Использование систем оценки, учитывающие не только долю клеток, но и интенсивность окраски их ядер, указанные рекомендации CAP также допускают (Hammond M.E.H. et al., 2010). В России наиболее распространена полуколичественная балльная система оценки уровней экспрессии РЭ и РП, предложенная D.C. Allred (Allred D.C. et al, 1998).

Онкоген HER2 (ErbB2), кодирующий онкобелок Her2/neu, располагается в 21 регионе длинного плеча 17 хромосомы (17q21). Онкоген neu, вызывающий развитие опухолей мозга у крыс, был описан С. Shih в 1981 году. В исследованиях, проведенных в 1984 и 1985 годах A.L. Schechter показал, что ген neu гомологичен вирусному онкогену птичьего эритроblastоза v-erbB и гену рецептора к эпидермальному фактору роста (EGFR). В результате проводимых параллельно исследований С. R. King в 1985 году описал амплификацию гена, связанного с EGFR, в культуре клеток рака молочной железы человека, и предложил назвать новый ген «человеческий рецептор к эпидермальному фактору роста-2» (human epidermal growth factor receptor-2, HER2). В настоящее время номенклатура онкогена и онкобелка Her2/neu подразумевает наименование «ErbB2» для гена человека и грызунов, «HER2» используется для обозначения человеческого гена и его белкового продукта, а «neu» — их аналогов у грызунов. Комбинированное наименование «Her2/neu» используется для белкового продукта человека и грызунов (Moasser M.M., 2007). Транскрипционная активность данного гена регулируется рядом факторов, в частности, в клетках рака молочной железы, коактиваторами транскрипции семейств SRC (SRC-1 и SRC-3/AIB-1) и AP-2 (AP-2 α и AP-2 γ) (Moi L.L.H. et al., 2012; Powe D.G. et al., 2009; Hurst H.C., 2001).

Рецептор Her2/neu, представляющий собой трансмембранный гли-

копротеин молекулярной массой 185 кДа, состоящий из 1255 аминокислот, впервые был описан Т. Akiyama (Akiyama T. et al., 1986). Онкобелок Her2/neu входит в семейство тирозинкиназных рецепторов к человеческому эпидермальному фактору роста, наряду с Her1 (EGFR, ErbB1), Her3 (ErbB3) и Her4 (ErbB4). В условиях нормы рецептор Her2/neu регулирует процессы роста и ветвления протоков при формировании молочных желез (Andrechek E.R. et al., 2005). Подобно молекулам других членов семейства тирозинкиназных рецепторов к человеческому эпидермальному фактору роста, Her2/neu состоит из внеклеточного участка, трансмембранного участка и внутриклеточного участка, обладающего тирозинкиназной активностью (Иванова Ю.Л. с соавт., 2013). При выполнении функции передачи стимула внутрь клетки при присоединении лиганда к внеклеточным участкам молекул происходит их димеризация. Образование гетеродимеров при этом происходит чаще, чем образование гомодимеров, и от комбинации типов рецепторов семейства HER в димере зависит активация тех или иных внутриклеточных сигнальных путей. Примечательно, что Her2/neu не имеет специфического лиганда, но обладает максимальной тирозинкиназной активностью, что обеспечивает наиболее интенсивный внутриклеточный эффект гетеродимеров с его участием (Moasser M.M., 2007). В связи с высокой прогностической и предиктивной значимостью этого биомаркера при раке молочной железы, оценка Her2/neu-статуса опухолевой ткани при этой патологии включена в российские и международные рекомендации по диагностике РМЖ (Гуревич Л.Е. et al., 2012).

Онкогенное действие Her2/neu в раковой клетке возможно при гиперэкспрессии онкобелка Her2/neu и/или амплификации кодирующего его гена. Амплификация — это генетическое нарушение, связанное с накоплением в 17 хромосоме избыточных копий гена Her2/neu. Этот онкогенный механизм реализуется без мутаций гена HER2, и направлен на преодоление действия репрессоров его транскрипции путем преобладания количества копий гена над количеством молекул репрессоров (Birnbaum D. et al., 2009). В большинстве случаев избыточное количество копий гена HER2 ведет к гиперэкспрессии онкобелка Her2/neu на мембранах опухолевых клеток при РМЖ, что обнаруживается при иммуногистохимическом исследовании ткани опухоли. Гиперэкспрессия Her2/neu в подавляющем большинстве случаев сопровождается амплификацией его гена, но амплификация гена в ряде случаев сопровождается умеренной экспрессией белка Her2/neu на поверхности опухолевых клеток (Nitta

Н. et al., 2016).

Тирозинкиназная активность молекул Her2/neu, включенных в состав гетеродимеров или образующих гомодимеры, ведет к фосфорилированию ключевых молекул ряда внутриклеточных сигнальных каскадов (Герштейн Е.С., Кушлинский Н.Е., 2014). В случае образования гетеродимера Her2/neu с Her3, происходит активация сигнального пути PI3K/Akt, приводящего к изменению метаболизма, пролиферации, приобретению клеткой устойчивости к апоптозу и реализации эпителиально-мезенхимального перехода. Образование гетеродимера Her2/neu с Her1 (EGFR) ведет к активации сигнальных путей Ras/Raf/MAPK и PI3K, что также приводит к активации эпителиально-мезенхимального перехода и других процессов, придающих клетке опухолевые свойства (Moasser M.M., 2007).

Her2/neu-статус опухоли при раке молочной железы позволяет оценить эффективность таргетной анти-Her2-терапии, а также прогноз (Абильтаева А.А. с соавт., 2016). При этом основной целью оценки результатов исследования опухолевой ткани методами ИГХ и гибридизации *in situ* является определение положительного или отрицательного Her2-статуса опухоли. Статус опухоли является положительным, если результат иммуногистохимического исследования оценивается как 3+ или обнаружена амплификация гена HER2, а отрицательным при уровне экспрессии Her2/neu в ткани опухоли 0 или 1+ или отсутствии амплификации гена HER2. В тех случаях, в которых уровень экспрессии онкобелка Her2/neu составляет 2+ необходимо исследование опухолевой ткани методом гибридизации *in situ* для оценки Her2-статуса опухоли (Wolff A.C. et al., 2014).

Маркер пролиферации Ki67 впервые был описан Gerdes с соавторами в 1983 году при исследовании линии клеток лимфомы Ходжкина. Обнаруженный белок был назван в честь университета г. Киль (Kiel) и клона антител №67, с помощью которого новый белок был выделен. Ген, кодирующий белок Ki67, расположен в 25 локусе длинного плеча 10 хромосомы (10q25-ter) (Penault-Llorca F., Radosevic-Robin N., 2017). Ki67 представляет собой белок молекулярной массой 395 кДа, подверженный выраженным конформационным изменениям в течение клеточного цикла.

Ki67 экспрессирован в ядре клетки в течение G1, S, G2 и M фаз клеточного цикла, но не в G0. В ходе митоза локализация Ki67 в ядре изменяется от ядрышка до периферии конденсированных хромосом. Сведения о том, что время полужизни белка Ki67 составляет от 60 до 90 минут, позволяет исследователям считать, что его синтез

и разрушение находятся под очень точным контролем (Brown D.C., Gatter K.C., 2002). Однако в настоящее время не существует единого мнения о роли белка Ki67 в течение клеточного цикла (Penault-Llorca F., Radosevic-Robin N., 2017). Известно, что в случае репрессии транскрипции гена, кодирующего Ki67, клетка не вступает в митоз (Brown D.C., Gatter K.C., 2002). В ряде работ последних лет предлагаются и обосновываются некоторые функции Ki67. Так, M. Takagi с соавторами описали структурную функцию Ki67, в соответствии с которой Ki67 снаружи поддерживает форму хромосом во время митоза, в то время, как конденсины и топоизомераза II обеспечивают поддержание структуры хромосомы изнутри (Takagi M. et al., 2016). Другая группа исследователей обосновала функционирование белка Ki67 в качестве «сурфактанта», препятствующего слипанию конденсированных хромосом во время митоза (Cuylen S. et al., 2016).

Ki67 позволяет оценить пролиферативный статус опухоли, который считается высоким при ИГХ-окрашивании 20% и более опухолевых клеток при подсчете не менее 500 опухолевых клеток в полях зрения с наибольшей пролиферативной активностью (Франк Г.А. с соавт., 2014). Пролиферативный статус опухоли позволяет оценить прогноз и эффективность терапии лекарственными средствами, направленными против делящихся клеток (Зборовская И.Б., 2014; Савостикова М.В. с соавт., 2014).

1.2. Современные представления о развитии злокачественных опухолей и формировании метастазов

Несмотря на современные достижения в изучении биологических аспектов канцерогенеза и успехи в лечении злокачественных опухолей, причиной более 90% смертей, связанных с опухолевой патологией, является метастатический процесс (Вишневская Я.В. с соавт., 2005; Завьялова М.В. с соавт., 2006; Фесик Е.А. с соавт., 2014). Формирование метастазов является сложным биологическим процессом, проходящим в несколько этапов.

1. Формирование новых сосудов в опухоли.
2. Выделение из массы первичной опухоли клеток, способных к метастазированию.
3. Инвазия в базальную мембрану, окружающую первичную опухоль, и миграция через нее, а также через подлежащее межклеточное вещество.

4. Инвазия в базальную мембрану кровеносных или лимфатических сосудов.

5. Проникновение в просвет сосуда (интравазация).

6. Адгезия циркулирующих опухолевых клеток к эндотелию капилляров органов-мишеней или структурам синуса лимфатического узла.

7. Инвазия опухолевых клеток через слой эндотелиальных клеток и базальную мембрану капилляра (экстравазация) или выход в паренхиму лимфатического узла.

8. Рост метастатической опухоли (Spano D. et al., 2012).

Непосредственно метастатический процесс начинается с инвазии и миграции клеток первичной опухоли через базальную мембрану и внеклеточный матрикс к сосудам (Крахмаль Н.В. с соавт., 2015).

Поскольку источником рака молочной железы является эпителиальная ткань, опухолевым клеткам для приобретения способности к миграции и инвазии необходимо изменить свои тесные связи с другими клетками и внеклеточным матриксом (Чикина А.С., Александрова А.Ю., 2014). Исследователи выделяют два принципиальных способа миграции эпителиальных опухолевых клеток при раковой патологии, в том числе при раке молочной железы: миграция отдельных клеток и миграция групп клеток, которые имеют существенные различия в реализации механизмов интегрин-зависимого взаимодействия клеток с межклеточным веществом, кадгерин-зависимого взаимодействия клеток друг с другом, формирования клеточной полярности, структуры актинового цитоскелета, а также действия внеклеточных протеаз. При этом стромальные клетки могут способствовать миграции опухолевых клеток. В случае миграции отдельных клеток им могут предшествовать макрофаги, а в случае миграции групп клеток — фибробласты. Для движения клеток в трехмерном окружении соединительной ткани необходимы перестройка актинового цитоскелета и формирование специальных структур на поверхности клеточной мембраны: ламеллоподий, филоподий, подосом и инвадоподий (Condeelis J., Pollard J.W., 2006).

В большинстве случаев, миграция отдельных клеток становится возможной, благодаря эпителиально-мезенхимальному переходу, при реализации которого они приобретают морфологию мезенхимальных клеток и начинают двигаться, используя аналогичные механизмы (Глушанкова Н.А. с соавт., 2014). Основными признаками эпителиально-мезенхимального перехода являются потеря плотных межклеточных контактов, приобретение фибробластоподобной ве-

ретеневидной формы, способности к инвазии снижению вероятности вступления в митоз (Засадкевич Ю.М., Сазонов С.В., 2014). В комплексе эти факторы могут приводить к выходу отдельных клеток из массы первичной опухоли. Раковая клетка, совершившая эпителиально-мезенхимальный переход, осуществляет перемещение во внеклеточном матриксе посредством протеолитической деградации его белков, а также постепенной смене точек прикрепления к его структурам (Андреева О.Е. с соавт., 2012). Скорость такого перемещения составляет 0,1-1,0 мкм/мин (Yilmaz M., Christofori G., 2010).

Ключевым событием, приводящим к реализации эпителиально-мезенхимального перехода, является снижение экспрессии Е-кадгерина (Мнихович М.В. et al., 2017; Семина С.Е., Багров Д.В., Красильников М.А., 2015). В большинстве случаев ее вызывает подавление транскрипции гена Е-кадгерина рядом репрессоров, таких, как Snail-1, Snail-2 (Slug), Zeb1, Zeb2 и Twist (Шапошников А.В. с соавт., 2013; Щербakov А.М. с соавт., 2013). Внутриклеточные сигнальные пути Ras/MAPK и PI3K/Akt, активные в большинстве случаев рака, в том числе РМЖ, существенно повышают активность Snail-1 и, таким образом, активизируют эпителиально-мезенхимальный переход (Tiwari N. et al., 2012).

Кроме мезенхимальноподобной миграции, возникающей вследствие эпителиально-мезенхимального перехода, раковые клетки способны к амебоподобному перемещению. Его реализация становится возможной при активации сигнального пути RhoA/ROCK, ведущего к перестройке актинового цитоскелета опухолевой клетки с формированием псевдоподий (Дугина В.Б. с соавт., 2017). При таком типе перемещения клетка не нуждается в протеолитическом разрушении межклеточного вещества и в смене точек прикрепления к его структурам при помощи интегринов. Движение клетки в трехмерной сети внеклеточного матрикса осуществляется по типу макрофага через промежутки в его волокнах и осуществляется с более высокой скоростью, чем движение по типу мезенхимальных клеток (Мнихович М.В., Печникова В.В., 2015; Paňková K. et al., 2010). По данным М. S. Giretti с соавторами, активация сигнального пути RhoA/ROCK в клетках рака молочной железы возможна при действии мембранного рецептора к эстрогену, ассоциированного с белком G α (Giretti M.S. et al., 2008).

Клетки рака молочной железы способны перемещаться в составе кластеров, сохраняя связь между собой. При этом на инвазив-

ном фронте подобных кластеров экспрессирован белок подоплатин, индуцирующий образование филоподий и миграцию опухолевых клеток в составе кластеров. При этом признаки эпителиально-мезенхимального перехода могут присутствовать в полном объеме (потеря Е-кадгерина, приобретение мезенхимальных маркеров и N-кадгерина), присутствовать частично (экспрессия мезенхимальных маркеров с сохранением экспрессии Е-кадгерина), или отсутствовать. Кластерам опухолевых клеток в этом случае могут предшествовать фибробласты, макрофаги или изолированные опухолевые клетки (Martin-Villar E. et al., 2006).

Лимфогенное метастазирование рака молочной железы становится возможным благодаря взаимному воздействию опухолевых клеток и эндотелиальных клеток лимфатических сосудов. Секретируемые раковыми клетками члены семейства факторов роста эндотелия сосудов (VEGF), VEGF-C и VEGF-D, преимущественно связываются с рецепторами к фактору роста эндотелия сосудов 3 типа (VEGFR-3), которые у взрослых преимущественно экспрессированы на эндотелиальных клетках лимфатических сосудов. В свою очередь, эндотелиальные клетки лимфатических сосудов выделяют хемокины CCL19 и CCL21, которые являются лигандами для рецептора CCR7, экспрессированного на раковых клетках, включая клетки РМЖ (Spano D. et al., 2012).

Для дальнейшего развития метастаза в органах мишенях, в частности, в лимфатических узлах, необходимо формирование метастатических ниш - направленные изменения межклеточного вещества и клеточного состава в тех областях органов-мишеней, в которых возможна экстравазация опухоли (Любимова Н.В., Кушлинский Н.Е., 2015; Соцкова Е.А. с соавт., 2009). Данное изменение происходит под влиянием таких факторов, как VEGF-A, TNF α и TGF β , выделяемых клетками первичной опухоли (Oskarsson T. et al., 2011).

1.3. Гетерогенность опухоли. Изменения экспрессии рецепторов к эстрогену, рецепторов к прогестерону, Her2/neu и Ki67 при метастазировании карциномы молочной железы

Методические достижения последних лет существенно расширили и усложнили представления о морфологии, патофизиологии, молекулярной биологии и генетике рака молочной железы. Одной из наиболее актуальных проблем стала в настоящее время гетерогенность опухоли (Niehans G.A. et al., 1993; Simon R. et al., 2001). Раз-

личия морфологических свойств опухолевой ткани, сосуществование участков с различными гистологическими характеристиками у одного пациента известны на протяжении всей истории микроскопического исследования опухолевых поражений любой локализации и утвердились в официальных классификациях заболеваний и правилах формулировки диагноза. Успехи в изучении молекулярных и генетических характеристик опухолей и соответствующих аспектов канцерогенеза привели к формированию современных комплексных представлений о гетерогенности опухолей (Алексеев И.В. с соавт., 2016; Мазуренко Н.Н. с соавт., 2015; Zardavas D. et al., 2015). В соответствии с ними, выделены следующие уровни гетерогенности опухоли:

1. Гетерогенность клинических проявлений.
2. Гетерогенность лучевой визуализации.
3. Макроскопическая гетерогенность.
4. Микроскопическая (гистологическая) гетерогенность.
5. Гетерогенность экспрессии белка.
6. Генетическая гетерогенность.

Кроме того, гетерогенность опухоли может быть пространственной и временной.

Временная гетерогенность опухоли отражает клональную эволюцию клеток в процессе развития опухоли (Федянин М.Ю. с соавт., 2017).

Пространственная гетерогенность опухоли проявляется в следующих различиях:

1. Различия между фокусами опухоли при мультицентрическом/мультифокальном росте.
2. Различия между первичной опухолью и метастазами.
3. Различия между первичной опухолью и рецидивом.
4. Различия между клонами клеток в одной опухоли.
5. Отличия отдельных клеток в пределах одной опухоли друг от друга.

Проблемы, связанные с гетерогенностью опухолей, в частности, карциномы молочной железы, в настоящее время активно исследуются (Колядина И.В. с соавт., 2015; Tanner M. et al., 2001; Thor A., 2001). При этом генетические различия клонов опухолевых клеток исследуются как в пределах первичной опухоли, так и между клонами клеток первичных и метастатических опухолей, а различия в уровнях экспрессии белковых биомаркеров сравнивают, как правило, между тканью первичных и метастатических опухолей (Крас-

нов Г.С. с соавт., 2015; Пальцева Е.М. с соавт., 2012; Gancberg D. et al., 2002; Xu R. et al., 2002).

В золотой стандарт исследования рака молочной железы входит иммуногистохимическая оценка уровней экспрессии рецепторов к эстрогену, рецепторов к прогестерону, онкобелка Her2/neu и маркера пролиферации Ki67 в ткани первичной опухоли для оценки прогноза и назначения персонализированной терапии. Важность каждого из этих маркеров для принятия клинических решений, а также их связь с ключевыми механизмами канцерогенеза обуславливают на протяжении более 20 лет неослабевающий интерес к вопросам несоответствия уровней экспрессии каждого из них в ткани первичной и метастатической опухолей (Carlsson J. et al., 2004; Cui X. et al., 2005). Понимание механизмов изменений уровней экспрессии биомаркеров, входящих в золотой стандарт исследования РМЖ, при метастазировании и последующее изменение клинических рекомендаций по диагностике этой патологии позволит снизить количество случаев с недостаточным терапевтическим эффектом назначаемых по показаниям лекарственных схем (Богуш Т.А. с соавт., 2013; Gong Y. et al., 2005; Pectasides D. et al., 2006).

Различия клеток регионарных метастазов и первичной опухоли при раке молочной железы по уровню экспрессии клинически значимых биомаркеров являются предметом изучения с 1970-х годов. Так, различия концентраций рецепторов к эстрогену в клетках первичного и метастатического опухолевых очагов при карциноме молочной железы были исследованы биохимическими методами Rosen P.P. с соавторами. В данной работе обнаруженная частота различий РЭ-статусов первичной опухоли и метастазов любых локализаций составила 38%, причем частоты встречаемости РЭ-положительной ткани метастаза при РЭ-отрицательной ткани первичной опухоли и РЭ-отрицательной ткани метастаза при РЭ-положительной ткани первичной опухоли не демонстрировали достоверных различий (Rosen P.P. et al., 1977).

В течение последующих лет регулярно публиковались работы, посвященные исследованию вопросов соответствия статусов рецепторов к половым стероидным гормонам и онкобелка Her2/neu в ткани первичной и метастатической опухолей при карциноме молочной железы (Aitken S.J. et al., 2010; Broom R.J. et al., 2009; Dawood S. et al., 2010; Liedtke C. et al., 2009; Wu J.M. et al., 2008).

При исследовании изменения статуса рецепторов к эстрогену в большинстве работ показано существование определенной доли слу-

чаев рака молочной железы, в которых РЭ-статус метастатической ткани и ткани первичной опухоли не совпадают (Hoefnagel L.D. et al., 2010; Kanczuga-Koda L. et al., 2010; Thompson A.M. et al., 2010). В метаанализе, объединившем результаты 33 исследований (4200 случаев) различий РЭ-статусов первичной и метастатической опухолей, выполненном G. Aurilio с соавторами, приводится объединенное значение доли случаев с различиями РЭ-статусов первичной опухоли и метастазов, равное 0,2 (95% ДИ 0,16-0,25), а аналогичный показатель при включении в исследование только регионарных метастазов составил 0,16 (95% ДИ 0,11-0,22). При этом доля случаев с РЭ-негативным статусом метастатической ткани при РЭ-позитивном статусе ткани первичной опухоли составила 0,24 (95% ДИ 0,18-0,31), а доля случаев с РЭ-позитивным статусом ткани метастазов при РЭ-негативном статусе первичной опухоли составила 0,14 (95% ДИ 0,09-0,20). Достоверность различий полученных пропорций была подтверждена статистически (Aurilio G. et al., 2014). При анализе доступных источников частота случаев с изменением статуса рецепторов к эстрогену при метастазировании рака молочной железы составляла от 4 до 62% всех случаев с метастазами (Га-тауллин И.Г. ссоавт., 2010; van Agthoven T. et al., 1995; Amir E. et al., 2008). Не было обнаружено работ, демонстрирующих полное отсутствие изменения статуса рецепторов к эстрогену при регионарном метастазировании РМЖ.

Исследования, посвященные изменению статуса рецепторов к прогестерону при регионарном метастазировании РМЖ, начали проводиться позже, чем исследования несоответствия статусов рецепторов к эстрогену. Первая найденная публикация на эту тему была выпущена в 1983 году I.M. Holdaway и J.V. Bowditch, которые обнаружили частоту расхождений РП-статусов первичной и метастатической опухолей на уровне 35%, с преобладанием частоты случаев появления РП-отрицательных метастазов при РП-положительной ткани первичной опухоли над частотой случаев с изменением в противоположном направлении (Holdaway I.M., Bowditch J. V., 1983). Аналогично исследованиям РЭ, концентрация РП в опухолевых клетках оценивалась биохимическими методами до начала 1990-х годов, когда общепринятым методом определения РП-статуса РМЖ стало иммуногистохимическое исследование опухолевой ткани (Hammond M.E.H. et al., 2010). Доля расхождений статусов рецепторов к прогестерону в ткани первичной и метастатической опухолей в большинстве работ превышает аналогичный показатель для

рецепторов к эстрогену (Nishimura R. et al., 2011; Bogina G. et al., 2011; Idirisinghe P.K. et al., 2010). Так, в рассмотренном выше метаанализе G. Aurilio и соавторов, основанном на материале 24 работ и включившем в себя 2739 пациентов, приводится объединенное значение доли случаев с различиями РП-статусов первичной опухоли и метастазов, равное 0,33 (95% ДИ 0,29-0,38). Для рассмотренных отдельно регионарных метастазов этот показатель составил 0,26 (95% ДИ 0,21-0,32). Доля случаев с отрицательным РП-статусом метастазов при положительном РП-статусе первичной опухоли составляла 0,46 (95% ДИ 0,37-0,55) и была достоверно выше доли случаев с положительным РП-статусом ткани метастазов при РП-отрицательной ткани первичной опухоли, составлявшей 0,15 (95% ДИ 0,12-0,17) (Aurilio G. et al., 2014). Частота изменений РП-статуса при метастазировании, в соответствии с результатами доступных публикаций, составляла от 12 до 54% среди всех случаев метастатического РМЖ (Дружков О.Б. с соавт., 2012; van Agthoven T. et al., 1995; Sari E. et al., 2011). Работ, авторы которых не обнаружили изменение РП-статуса при метастазировании РМЖ, среди доступных источников найдено не было.

Наличие изменений Her2/neu-статуса клеток карциномы молочной железы при метастазировании является предметом для дискуссии среди исследователей. Первой найденной работой, посвященной сравнению уровней экспрессии Her2/neu клетками первичной опухоли и регионарных метастазов, было исследование H. Lacroix с соавторами. В представленной работе исследователи сопоставляли уровни экспрессии онкобелка Her2/neu и амплификацию кодирующего его гена *ErbB2* в ткани первичной и метастатической опухолей и пришли к выводу, что исследованные параметры сохраняются при регионарном метастазировании (Lacroix H. et al., 1989). В дальнейшем появляются работы, как опровергающие, так и подтверждающие существование изменений Her2/neu-статуса опухолевой ткани РМЖ при метастазировании (Pusztai L. et al., 2010; Fabi A. et al., ; Aoyama K. et al., 2010; Bozzetti C. et al., 2011; Chang H.J. et al., 2011; Cho E.Y. et al., 2008; Tapia C. et al., 2007; Vincent-Salomon A. et al., 2007). Среди рассмотренных работ наибольшая частота изменений Her2/neu-статуса опухолевой ткани при метастазировании была обнаружена P. Regitnig с соавторами, она составляла 0,24 (95% ДИ 0,07-0,5) (Regitnig P. et al., 2004). Доля изменений статуса Her2/neu при метастазировании карциномы молочной железы приведена в метаанализе G. Aurilio и соавторов, объединившем материал 2987

случаев из 31 исследования, и составляет 0,08 (95% ДИ 0,06-0,10) (Aurilio G. et al., 2014). В отличие от определения статусов РЭ и РП, основанного на результатах иммуногистохимического исследования опухолевой ткани, при исследовании расхождений Her2/neu-статусов первичной опухоли и метастазов в ряде случаев использовался также метод гибридизации *in situ*, позволяющий оценить амплификацию гена *ErbB2*, кодирующего белок Her2/neu (Xiang J. et al., 2011; Xiao C. et al., 2011; Zurrida S. et al., 2011).

Исследования гетерогенности экспрессии маркера пролиферации Ki67 начали публиковаться позже, чем аналогичные исследования гетерогенности экспрессии РЭ, РП и Her2/neu, что связано с более поздним вхождением оценки пролиферативного статуса по уровню экспрессии Ki67 в золотой стандарт диагностики рака молочной железы. Пороговое значение доли Ki67-положительных опухолевых клеток, разделяющее случаи РМЖ с высоким и низким уровнями пролиферации, изменялось с течением времени. В настоящее время рекомендованным для диагностики является пороговое значение 20% окрашенных опухолевых клеток, однако обсуждается вопрос о введении двух пороговых значений, предусматривающих случаи с низким (окрашено $\leq 10\%$ опухолевых клеток), промежуточным (окрашено от 10 до 30% опухолевых клеток) и высоким (окрашено $\geq 30\%$ опухолевых клеток) уровнем пролиферативной активности РМЖ (Coates A.S. et al., 2015; Goldhirsch A. et al., 2013). При этом рекомендованным для диагностики остается пороговое значение 20% окрашенных опухолевых клеток. Самое раннее найденное исследование, посвященное изменению пролиферативного статуса опухоли при метастазировании, было проведено в 2002 году F. Buxant с соавторами, наблюдавшими достоверное повышение уровня экспрессии Ki67 в ткани метастазов ($29,8 \pm 12,2\%$) в сравнении с тканью первичной опухоли ($21,8 \pm 9,8\%$) (Buxant F. et al., 2002). Более поздние исследования подтверждают существование определенной группы случаев, в которых Ki67-статус опухолевой ткани изменяется с частотой от 4,4% до 38,8% (Ibrahim T. et al., 2013; D'Andrea M.R. et al., 2007). В рассмотренных работах не было обнаружено достоверных различий частот случаев с высоким пролиферативным статусом ткани метастаза при низком пролиферативном статусе ткани первичной опухоли и частот случаев с обратным изменением Ki67-статуса при метастазировании. При этом в ряде работ, посвященных изучению изменений уровня экспрессии Ki67 в ткани РМЖ при метастазировании, обнаружено достоверное повышение пролиферативной

активности ткани метастазов в сравнении с тканью первичной опухоли (Nishimura R. et al., 2011; Buxant F. et al., 2002; Paksoy S.E. et al., 2013).

Высокая предиктивная ценность иммуногистохимического исследования уровня экспрессии рецепторов к эстрогену, рецепторов к прогестерону, онкобелка Her2/neu и маркера пролиферации Ki67 в ткани карциномы молочной железы неразрывно связана с последующей оценкой статуса каждого из этих маркеров. Последующее принятие терапевтических решений основано именно на информации о положительном или отрицательном статусе каждого из клеточных рецепторов и высоком или низком пролиферативном статусе опухоли, определяемом с помощью ИГХ-окрашивания среза ткани антителами к Ki67. В связи с выраженной клинической направленностью большинства опубликованных исследований, основной интерес для их авторов представлял феномен различия статусов биомаркеров в ткани первичной и метастатической опухолей при РМЖ и влияние изменений рецепторного и пролиферативного статусов при метастазировании на выбор тактики лечения и на прогностические показатели (Gerratana L. et al., 2014; Raica M. et al., 2014; Rossi S. et al., 2015; Yang Y.F. et al., 2014). Изменения уровней экспрессии РЭ, РП, Her2/neu и Ki67 при метастазировании РМЖ, отражающие биологические закономерности опухолевой прогрессии, в доступной литературе освещены недостаточно широко. В работе А. Falck с соавторами (2013 год) приводятся данные об отсутствии значимых различий уровней экспрессии РЭ и Ki67 и понижении уровня экспрессии РП при сравнении этих биомаркеров в ткани регионарных метастазов и первичной опухоли при РМЖ (Falck A.K. et al., 2013). При этом не найдено работ, содержащих комплексное методически единообразное описание и анализ взаимосвязей между изменениями уровней экспрессии РЭ, РП, Her2/neu и Ki67, а также о связанных с этими изменениями механизмах канцерогенеза.

ИГХ-исследование опухолевой ткани при РМЖ является суррогатным методом определения молекулярно-генетического подтипа, поскольку различные сочетания положительных и отрицательных статусов РЭ, РП, Her2/neu и высокого и низкого Ki67-статуса достоверно соответствуют истинным молекулярно-генетическим подтипам РМЖ, определяемым при помощи мультигенных сигнатур (Пак Д.Д. с соавт., 2012; Goldhirsch A. et al., 2013). Фенотипическая гетерогенность рака молочной железы, проявляющаяся в изменении суррогатного подтипа опухоли при метастазировании, была опи-

сана в нескольких публикациях. Частота изменений молекулярно-биологического подтипа, приведенная в этих работах, составляла от 11 до 32% среди исследованных случаев РМЖ с регионарными метастазами (Falck A.K. et al., 2013). Статистическая достоверность различий (Тест Мак Немара-Боукера на асимметрию) направлений изменений подтипа опухоли при регионарном метастазировании была обнаружена для ткани первичной опухоли, относящейся к люминальному А подтипу РМЖ (прогностически самый благоприятный подтип). В тех случаях этой подгруппы, когда изменения подтипа происходили, метастатическая ткань имела признаки более агрессивных молекулярных подтипов. При исследовании случаев РМЖ с любым молекулярным подтипом первичной опухоли направленность изменений подтипа при метастазировании не была статистически подтверждена (Falck A.K. et al., 2013).

По мнению ряда исследователей, опухолевая гетерогенность и различия клонов клеток в настоящее время являются наиболее вероятными объяснениями недостаточной эффективности противоопухолевой терапии при раке молочной железы (Ufen M.-P. et al., 2013; Aurilio G. et al., 2013; Tot T. et al., 2014). Однако подобная позиция не является общепринятой, поскольку ряд авторов связывает наблюдаемые различия не с биологическими феноменами, а с техническими ошибками или ограничениями методов. В литературе описано четыре группы возможных причин несоответствия рецепторного и пролиферативного статуса ткани метастазов и первичной опухоли при раке молочной железы.

1. Ошибки или ограничения методов на преаналитическом и аналитическом этапах исследования гистологического материала. После взятия образца ткани рака молочной железы во время операции или при трепан-биопсии результаты последующего иммуногистохимического исследования могут оказаться ложными вследствие холодовой ишемии, недостаточной или избыточной фиксации, использования фиксаторов, не рекомендованных производителем ИГХ-реагентов, термической обработки для ускорения фиксации, нарушение рекомендованных объемов и сроков замены фиксатора. Также к ложным результатам ИГХ-исследования опухолевой ткани может вести неоптимальное выполнение протокола ИГХ-окрашивания, использование некачественных реагентов и ошибок в настройке техники. Различия условий обработки материала первичной опухоли и регионарных метастазов, таким образом, могут вести к наблюдаемым различиям уровней экспрессии исследуе-

мых биомаркеров. На аналитическом этапе к несовпадению результатов ИГХ-исследования ткани первичной и метастатической опухолей может вести недостаточная стандартизация методов оценки результатов окрашивания или невыполнение рекомендаций по оценке результатов окрашивания (Pusztai L. et al., 2010; Khasraw M. et al., 2011).

2. Предшествующая метастазированию поликлональность опухоли. В ряде случаев уровень экспрессии биомаркеров, который оценивают при ИГХ-исследовании рака молочной железы, неодинаков в различных участках первичной опухоли. В случаях, когда материал первичной опухоли забирается при помощи трепан-биопсии, его объем ограничен, и в срез могут не попасть клетки, совпадающие по иммунофенотипу с клетками метастазов. Также возможно метастазирование клеток, представляющих клон с иными свойствами, чем те клоны, к которым относится большинство клеток первичной опухоли и которые формируют ее иммунофенотип. В таком случае в результате размножения клеток метастаза уровень экспрессии биомаркеров в его ткани будет иным по сравнению с тканью первичной опухоли (Pusztai L. et al., 2010; Zardavas D. et al., 2015).

3. Эволюция клеток в процессе развития опухоли. Изменение генетического профиля клеток рака молочной железы происходит за счет мутационных и других изменений экспрессии отдельных генов. Изменение иммунофенотипа в таких случаях связано с приобретением клеткой способности образовывать метастазы (Pusztai L. et al., 2010).

4. Клональная селекция опухолевых клеток под давлением терапии. Гормональная терапия, действие которой направлено на опухолевые клетки, экспрессирующие рецепторы к половым стероидным гормонам, приводит к подавлению развития соответствующих клонов и не действует на те опухолевые клоны, в развитии которых не задействованы сигнальные пути, связанные с рецепторами к эстрогену и рецепторами к прогестерону. Опухолевые клоны, на которые не действует гормональная терапия, получают преимущество в развитии и обеспечивают появление метастазов. Таргетная анти-Her2/neu терапия аналогичным образом подавляет клоны Her2/neu-позитивных клеток, предоставляя преимущество клонам с отрицательным Her2/neu-статусом опухолевых клеток, которые участвуют в метастазировании (Khasraw M. et al., 2011).

Несовпадение рецепторного и пролиферативного статусов первичной опухоли и метастазов при раке молочной железы, как пока-

зано в ряде исследований, имеет прогностическую и предиктивную значимость. В ряде работ показано ухудшение прогноза в случаях с изменением статуса рецепторов к эстрогену, рецепторов к прогестерону или Her2/neu в опухолевых клетках при метастазировании независимо от направления изменений (Niikura N. et al., 2012; Wilking U. et al., 2011), или при появлении РЭ-, РП- или Her2/neu-негативных метастазов при позитивной первичной опухоли (Ibrahim T. et al., 2013; Dieci M.V. et al., 2013). Кроме того, в доступной литературе есть данные об отсутствии влияния расхождения статусов ключевых биомаркеров в ткани первичной и метастатической опухолей при раке молочной железы на прогноз заболевания (Amir E. et al., 2012).

Недостаточный объем и противоречивость данных о существовании, причинах и биологических механизмах изменений рецепторного и пролиферативного статусов при метастазировании рака, отсутствие единого взгляда среди экспертов на клиническую значимость этого феномена не позволяют включить обязательную комплексную оценку уровней экспрессии рецепторов к эстрогену, рецепторов к прогестерону, Her2/neu и Ki67 в ткани метастазов в клинические рекомендации (Chan A. et al., 2012; Петров С.В., 2014; Arihiro K. et al., 2013; Dueñas E.M. de. et al., 2014; Ieni A. et al., 2014; Kaufman P.A. et al., 2014; Sighoko D. et al., 2014). Однако в последнее время ИГХ-исследование статуса ключевых биомаркеров в метастатической ткани рака молочной железы начинает входить в клинические рекомендации в качестве дополнительного исследования (Cardoso F. et al., 2012) или в качестве обязательного исследования только Her2/neu-статуса (Wolff A.C. et al., 2014). Принятыми в России стандартами оказания медицинской помощи больным раком молочной железы иммуногистохимическое исследование метастатической ткани РМЖ не предусмотрено.

Таким образом, среди исследователей не существует единого мнения о механизмах опухолевой гетерогенности и закономерностях изменения уровней экспрессии рецепторного аппарата клеток рака молочной железы при метастазировании. В большинстве работ не подвергается сомнению феномен различий статусов и уровней экспрессии РЭ, РП, Her2/neu и Ki67 в ткани первичной и метастатической опухолей. При этом в части работ не было обнаружено преимущественного направления изменений статусов и уровней экспрессии различных компонентов рецепторного аппарата клеток РМЖ при регионарном метастазировании, тогда как результаты тех работ,

авторы которых описали закономерности таких изменений, являются противоречивыми. Отсутствие единой точки зрения в этом вопросе свидетельствует о необходимости продолжения исследований на данную тему.

Несмотря на обширные сведения о внутриклеточных механизмах, связанных с метастазированием опухолей, крайне скудным остается объем фактического материала, описывающего участие различных компонентов рецепторного аппарата клеток в метастазировании рака молочной железы.

При реализации в опухолевых клетках сигнальных путей, связанных с РЭ, РП и Her2/neu, происходит взаимное влияние этих молекул. При этом закономерности их взаимодействия при метастазировании РМЖ остаются неизученными.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Характеристика выборки и материала

Исследование проводилось на базе патолого-анатомического отделения Государственного автономного учреждения здравоохранения Свердловской области «Институт медицинских клеточных технологий» (ГАУЗ СО ИМКТ). В качестве объекта исследования выступал операционный материал первичной опухоли и пораженных метастазами регионарных лимфатических узлов. В состав исследованной выборки вошли 104 пациентки, проходившие лечение в городском онкомаммологическом центре на базе муниципального автономного учреждения здравоохранения г. Екатеринбурга «Городская клиническая больница №40» (МАУ ГКБ №40) и в Государственном бюджетном учреждении здравоохранения Свердловской области «Свердловский областной онкологический диспансер» (ГБУЗ СО СООД). Возраст пациенток составлял от 33 до 83 лет, медиана — 63 года, нижний квартиль — 55 лет, верхний квартиль — 70 лет. Отбор пациенток для участия в исследовании проводился в соответствии со следующими критериями включения:

- гистологически подтвержденный диагноз инвазивного рака молочной железы неспецифического типа
- наличие метастатического поражения регионарных лимфатических узлов.

Критерием исключения являлось проведение радио- или химиотерапии до выполнения мастэктомии.

Операционный материал вошедших в исследование пациенток фиксировался 10% раствором нейтрального забуференного формалина, после чего дегидратировался путем проводки по спиртам возрастающих концентраций. Дегидратированный материал заливался в парафиновые блоки (Коржевский Д.Э., Гиляров А.В., 2010).

Фиксированный формалином, залитый в парафиновые блоки материал исследовался гистологическим, иммуногистохимическим методами, методом гибридизации *insitu*, статистическим методом.

2.2. Гистологический метод

С парафиновых блоков, содержащих материал первичной опухоли и удаленных при операции лимфатических узлов, изготавлива-

лись срезы толщиной 5 мкм при помощи ротационного полуавтоматического микротомы с системой переноса срезов Microm HM340 (MICROM, Германия). Депарафинизация препаратов осуществлялась в батарее ксилолов и спиртов, после чего срезы окрашивались гематоксилином и эозином (рис. 1). При гистологическом исследовании устанавливался диагноз инвазивного рака молочной железы неспецифического типа, оценивалась стадия заболевания по классификации TNM. Затем в каждом случае из блоков, содержащих материал первичной опухоли, отбирался один, наиболее полно отражающий гистологические особенности исследуемой опухоли, а из блоков, содержащих материал удаленных при операции регионарных лимфатических узлов, отбирались те блоки, в которых присутствовали регионарные метастазы (рис. 2). Материал отобранных блоков затем был исследован иммуногистохимически.

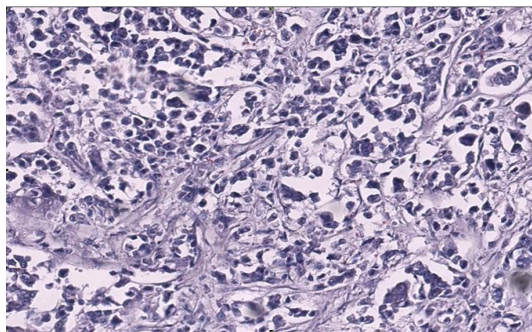


Рис. 1. Инвазивный неспецифический рак молочной железы, первичная опухоль. Окраска: гематоксилин-эозин. Ув.: $\times$ об. 20, ок 10.

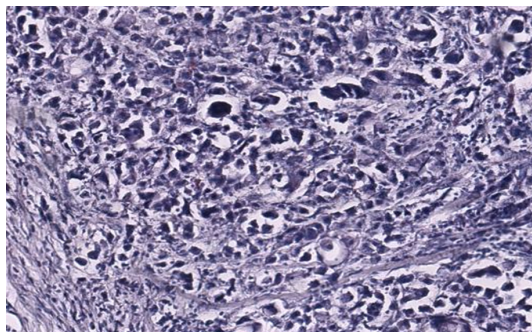


Рис. 2. Инвазивный неспецифический рак молочной железы, регионарный метастаз. Окраска: гематоксилин-эозин. Ув.: $\times$ об. 20, ок 10.

2.3. Иммуногистохимический метод

Для проведения иммуногистохимического (ИГХ) исследования с парафиновых блоков, содержащих материал первичной карциномы молочной железы и ее регионарных метастазов, производились срезы толщиной 4 мкм. Иммуногистохимическое исследование материала каждого блока проводилось для оценки уровня экспрессии рецепторов к эстрогену (РЭ), рецепторов к прогестерону (РП), онкобелка Her2/neu и маркера пролиферации Ki67 в опухолевой ткани.

Для проведения ИГХ-исследования экспрессии РЭ, РП и Ki67 срезы депарафинировались в батарее ксилолов и спиртов, затем осуществлялось восстановление антигенов в Target Retrieval Solution (Dako, Дания) с использованием миниавтоклава Dako Pascal S2800 (Dako, Дания) (Зайцев В.Б. с соавт., 2013). Иммуногистохимическое окрашивание ткани срезов осуществлялось с помощью моноклональных антител к РЭ (клон 1D5, Dako, Дания), РП (клон PgR636, Dako, Дания) и Ki67 (клон MIB-1, Dako, Дания) с использованием автостейнера DakoLink. Ядра клеток докрашивались гематоксилином в автоматическом режиме (Михалева Л.М. с соавт., 2015).

Для исследования экспрессии онкобелка Her2/neu срезы обрабатывались по стандартным методикам компании Ventana, включавшим депарафинизацию, восстановление антигена, окрашивание моноклональными анти-Her2/neu-антителами (клон 4B5, Ventana, США), докраску ядер гематоксилином с помощью автостейнера Ventana Benchmark GX (Ventana, США).

Оценка уровней экспрессии исследуемых биомаркеров производилась с использованием светового микроскопа Zeiss Axio Lab M1 (Zeiss, Германия) при увеличении $\times 100$ (Франк Г.А. с соавт., 2014).

Оценка уровней экспрессии РЭ и РП клетками первичной опухоли регионарных метастазов производилась по системе Allred (рис. 3) (Allred D.C. et al., 1998). Эта полуколичественная комбинированная система предполагает оценку пропорции окрашенных ядер среди ядер всех опухолевых клеток (proportionscore, PS, принимает значения от 0 до 5 баллов) и оценку интенсивности окрашивания ядер клеток опухоли (intensitiescore, IS, принимает значения от 0 до 3 баллов). Уровень экспрессии РЭ или РП представляет собой сумму значений PS и IS (totalscore, TS, принимает значения 0, 2-8 баллов). В соответствии с системой оценки Allred, статус опухоли может быть РЭ/РП-положительным (при уровне экспрессии 3-8 баллов) и РЭ/РП-отрицательным (при уровне экспрессии 0 и 2 балла).

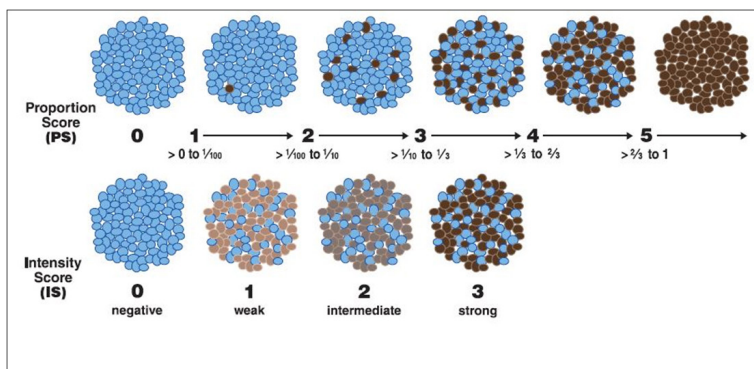


Рис. 3. Схема оценки уровня экспрессии рецепторов к эстрогену и рецепторов к прогестерону, разработанная D. C. Allred.

Оценка уровня экспрессии онкобелка Her2/neu производилась в соответствии с рекомендациями Американского общества клинической онкологии и Коллегии американских патологов (ASCO/CAP) в редакции 2013 года (Wolff A.C. et al., 2014). В соответствии с указанными рекомендациями, уровень экспрессии Her2/neu обозначается количеством баллов, которое отражает пропорцию окрашенных клеток и интенсивность окраски. Так, 0 баллов — отсутствие окрашивания или слабое/едва заметное неполное окрашивание мембран до 10% опухолевых клеток включительно в инвазивном компоненте опухоли, 1+ — неполное слабое/едва заметное окрашивание мембран более 10% клеток инвазивного компонента опухоли, 2+ — неполное или полное слабое или умеренное по интенсивности окрашивание мембран более 10% опухолевых клеток по типу «проволочной сетки» или полное интенсивное окрашивание мембран до 10% опухолевых клеток включительно по типу «проволочной сетки» в инвазивном компоненте опухоли, 3+ — полное интенсивное окрашивание мембран опухолевых клеток по типу «проволочной сетки» в инвазивном компоненте опухоли. При этом уровень экспрессии Her2/neu 0 или 1+ является признаком отрицательного, 2+ — неопределенного, 3+ — положительного Her2/neu-статуса опухоли (рис. 4).

Оценка уровня экспрессии маркера пролиферации Ki67 производилась в соответствии с методикой, приведенной в (Франк Г.А. соавт., 2014). Данная методика предусматривает подсчет доли окрашенных ядер среди ядер всех опухолевых клеток при подсчете не менее 500 опухолевых клеток, причем поля зрения для подсчета вы-

бираются по признаку наибольшей митотической активности. В соответствии с рекомендациями согласительной конференции St. Gallen 2015, уровень экспрессии Ki67 в 10% опухолевых клеток и менее, является низким, более 10% и менее 30% является промежуточным, 30% и более — высоким (рис. 5-7).

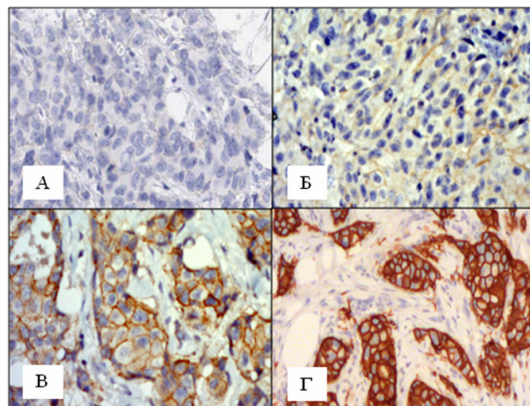


Рис. 4. Экспрессия онкобелка Her2/neu в ткани первичной опухоли инвазивного неспецифического рака молочной железы на уровне 0 (А), 1+ (Б), 2+ (В), 3+ (Г). ИГХ-реакция с антителами к Her2/neu (клон 4B5, Ventana, США). Ув.: $\times$ об. 20, ок. 10.

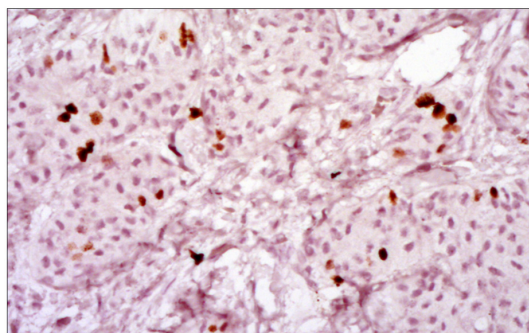


Рис. 5. Уровень экспрессии Ki67 в ткани первичной опухоли неспецифического рака молочной железы на уровне 5% (низкий уровень экспрессии). ИГХ-реакция с антителами к Ki67 (клон MIB-1, Dako, Дания). Ув.: $\times$ об. 20, ок. 10.

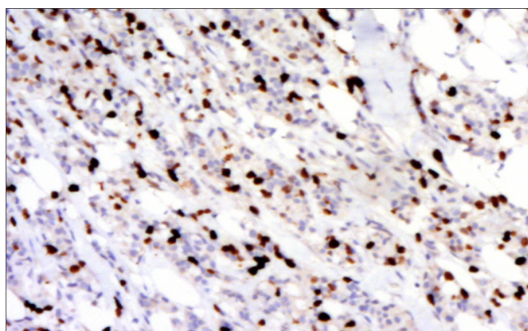


Рис. 6. Уровень экспрессии Ki67 в ткани первичной опухоли неспецифического рака молочной железы на уровне 20% (промежуточный уровень экспрессии). ИГХ-реакция с антителами к Ki67 (клон MIB-1, Dako, Дания). Ув.: $\times$ об. 20, ок. 10.

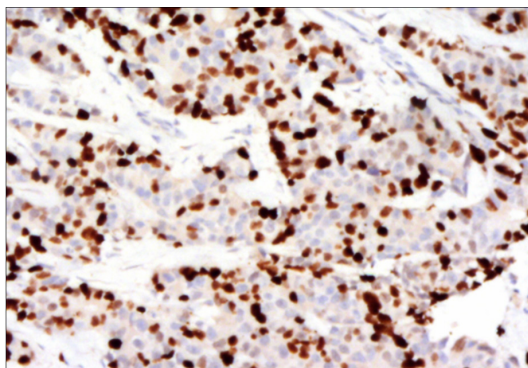


Рис. 7. Уровень экспрессии Ki67 в ткани первичной опухоли неспецифического рака молочной железы на уровне 40% (высокий уровень экспрессии). ИГХ-реакция с антителами к Ki67 (клон MIB-1, Dako, Дания). Ув.: $\times$ об. 20, ок. 10.

2.4. Метод гибридизации *in situ*

Неопределенный уровень экспрессии онкобелка Her2/neu(2+) является показанием к исследованию статуса гена *ErbB2*, который кодирует данный белок. В исследуемой выборке из 104 случаев в 19 случаях уровень экспрессии Her2/neu в ткани первичной опухоли был оценен как 2+. Материал первичной опухоли в этих случаях был дополнительно исследован методом усиленной серебром гибридизации *in situ* (silver enhanced *in situ* hybridization, SISH) для

оценки амплификации гена *ErbB2* (Богомолов А.Г. с соавт., 2014). Для выполнения гибридизации *in situ* изготавливались срезы толщиной 3 мкм, SISH-исследование проводилось в иммуностейнере Ventana Benchmark XT (Ventana, США), с использованием систем визуализации Ultra View Red ISH DNP, Ultra View SILVERISH и зонда INFORMHER2 DualISH DNA Probe Cocktail. Результаты реакции оценивались при помощи светового микроскопа Zeiss Axio Lab M1 (Zeiss, Германия) при увеличении $\times 630$ в соответствии с рекомендациями ASCO/CAP 2013 года, предусматривающими определения отношения количества сигналов HER2/CEP17 в ядрах 20 клеток инвазивного компонента опухоли (Wolff A.C. et al., 2014). При отношении количества сигналов HER2/CEP17 более 2 ген *ErbB2* амплифицирован (положительный Her2/neu-статус опухоли), при отношении количества сигналов HER2/CEP17 2 и менее амплификация гена отсутствует (отрицательный Her2/neu-статус опухоли) (рис. 8).

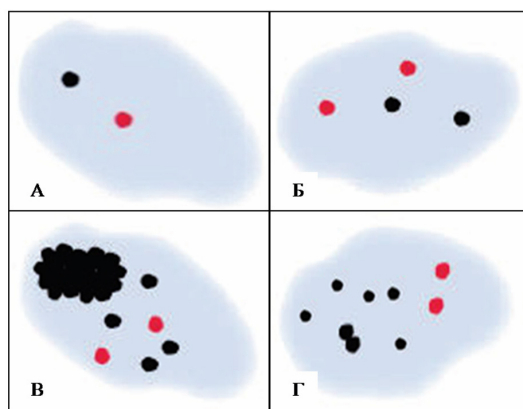


Рис. 8. Схема подсчета сигналов гена *ErbB2* (черная метка) и 7 хромосомы (красная метка) в ядрах опухолевых клеток при исследовании рака молочной железы методом усиленной серебром гибридизации *in situ* (SISH). А, Б — амплификация отсутствует; В, Г — амплификация обнаружена.

2.5. Общая характеристика выборки и формирование групп исследования

В исследование вошел материал от 104 пациенток с диагнозом инвазивной неспецифической карциномы молочной железы. Уровни экспрессии рецепторов к эстрогену, рецепторов к прогестерону, он-

кобелка Her2/neu и маркера пролиферации Ki67 в ткани первичной опухоли и отобранных для сравнения регионарных метастазов представлены в таблице 1.

Таблица 1

Уровни экспрессии рецепторов к эстрогену, рецепторов к прогестерону, Her2/neu и Ki67 в ткани первичной опухоли (ПО) и регионарных метастазов (М) РМЖ в исследованной выборке

№ случая	Уровень экспрессии							
	РЭ, баллы по Allred		РП, баллы по Allred		Her2/neu, +		Ki67, %	
	ПО	М	ПО	М	ПО	М	ПО	М
1	0	0	0	0	0	1	80	40
2	2	6	5	0	0	1	5	10
3	0	2	0	2	0	1	70	5
4	0	0	0	0	2	0	70	10
5	8	7	6	5	1	2	5	5
6	3	5	0	6	2	1	10	5
7	0	0	0	0	0	2	5	5
8	0	0	0	0	2	1	40	10
9	4	0	0	0	0	1	5	10
10	0	0	0	0	3	3	10	5
11	0	0	0	0	0	0	70	50
12	0	0	0	0	3	1	40	30
13	3	0	6	0	2	0	20	30
14	4	6	5	6	0	0	25	50
15	6	0	8	6	0	0	40	10
16	6	8	5	7	0	1	15	25
17	6	4	8	7	3	2	5	10
18	5	8	2	6	3	1	25	15
19	5	8	3	7	2	1	25	40
20	7	8	5	7	0	1	30	15
21	5	8	4	8	2	0	5	20
22	8	7	2	0	0	1	60	5
23	7	7	8	6	1	1	30	5
24	7	8	5	3	0	1	30	5
25	0	0	0	0	3	3	15	45
26	8	2	0	0	0	2	10	25
27	8	7	7	7	0	1	20	40
28	7	8	3	2	1	0	15	10
29	4	7	3	8	0	0	15	20
30	7	7	4	7	0	0	15	10

№ случая	Уровень экспрессии							
	РЭ, баллы по Allred		РП, баллы по Allred		Her2/neu, +		Ki67, %	
	ПО	М	ПО	М	ПО	М	ПО	М
31	6	7	7	7	0	0	5	5
32	0	4	0	0	3	2	25	40
33	7	7	7	7	0	0	20	5
34	5	7	0	5	2	0	25	30
35	5	7	4	7	0	0	10	10
36	7	7	6	7	0	0	10	2
37	6	7	5	7	0	0	10	5
38	0	0	0	0	1	0	70	80
39	7	8	6	7	1	0	50	30
40	5	7	2	4	0	1	10	30
41	4	8	2	6	1	2	10	30
42	6	7	7	6	0	0	10	15
43	8	7	0	2	2	1	20	10
44	3	7	2	6	2	0	10	10
45	6	8	5	7	0	0	30	20
46	0	2	0	0	0	0	70	95
47	0	4	0	0	0	0	20	50
48	5	7	2	6	2	1	5	15
49	7	8	6	2	1	0	30	10
50	6	8	5	8	0	1	15	5
51	5	7	4	3	0	0	30	5
52	6	7	0	0	2	0	25	15
53	0	0	0	0	3	0	5	20
54	7	7	0	0	3	3	30	80
55	2	0	0	0	3	3	20	80
56	6	8	5	7	0	0	15	5
57	0	0	0	0	2	2	60	60
58	8	7	7	7	1	1	5	20
59	6	8	0	7	0	1	30	30
60	0	0	0	8	3	3	15	50
61	0	0	0	0	0	1	50	90
62	5	7	3	7	0	0	15	20
63	7	7	8	8	0	0	10	10
64	5	6	8	6	0	0	10	5
65	0	0	0	0	2	0	40	50
66	0	0	0	0	0	0	70	100
67	6	7	4	6	0	0	30	10
68	5	6	2	0	0	0	15	30
69	2	5	3	6	0	0	20	10

№ случая	Уровень экспрессии							
	РЭ, баллы по Allred		РП, баллы по Allred		Her2/neu, +		Ki67, %	
	ПО	М	ПО	М	ПО	М	ПО	М
70	8	8	7	8	0	1	15	15
71	7	8	5	7	0	0	20	40
72	0	0	0	0	0	0	80	0
73	0	0	0	0	0	0	80	90
74	0	0	0	0	0	0	70	95
75	0	0	0	0	0	0	30	30
76	0	8	0	7	3	1	40	0
77	8	7	0	0	0	0	30	40
78	7	7	6	0	0	0	10	20
79	6	8	7	8	0	1	30	50
80	7	2	6	4	0	1	10	10
81	6	7	2	4	2	1	5	1
82	0	0	0	0	0	0	60	80
83	6	7	6	7	1	0	20	10
84	0	0	0	0	0	0	90	70
85	6	6	4	7	2	2	25	3
86	7	7	5	6	2	0	20	10
87	6	7	3	7	2	1	40	20
88	6	4	3	4	1	0	50	20
89	7	7	6	0	0	0	10	5
90	6	7	3	2	3	3	20	20
91	5	6	8	7	0	0	5	5
92	8	8	6	7	0	0	15	20
93	7	7	7	7	1	0	15	15
94	7	6	8	8	0	0	15	10
95	0	0	0	0	1	0	90	70
96	6	7	4	6	0	0	20	15
97	7	6	6	6	0	0	25	5
98	7	8	4	6	0	1	10	5
99	5	7	7	8	0	0	25	15
100	0	0	0	0	0	0	60	70
101	6	5	6	5	0	0	10	15
102	6	3	6	8	2	3	25	30
103	7	7	5	7	2	1	15	5
104	3	5	4	6	0	0	40	70

Для изучения изменений экспрессии исследуемых биомаркеров (РЭ, РП, Her2/neu и Ki67) при регионарном метастазировании неспецифического инвазивного рака молочной железы были сформированы

рованы группы в соответствии с уровнем экспрессии каждого из них в ткани первичной опухоли (таблицы 2-5). Диапазоны значений уровней экспрессии РЭ, РП и Ki67, характеризующие ту или иную группу, обусловлены результатами международных клинических исследований и отражают биологические особенности опухолей, относящихся к соответствующим группам.

Таблица 2

Распределение случаев по группам в соответствии с уровнем экспрессии рецепторов к эстрогену в ткани первичной опухоли

Уровень экспрессии РЭ в ткани первичной опухоли	Количество случаев
Все случаи	104
Экспрессия отсутствует (TS=0 или 2)	31
Промежуточный уровень экспрессии (TS=3-6)	43
Высокий уровень экспрессии (TS=7-8)	30

Таблица 3

Распределение случаев по группам в соответствии с уровнем экспрессии рецепторов к прогестерону в ткани первичной опухоли

Уровень экспрессии РП в ткани первичной опухоли	Количество случаев
Все случаи	104
Экспрессия отсутствует (TS=0 или 2)	46
Промежуточный уровень экспрессии (TS=3-6)	42
Высокий уровень экспрессии (TS=7-8)	16

Таблица 4

Распределение случаев по группам в соответствии с уровнем экспрессии онкобелка Her2/neu в ткани первичной опухоли

Уровень экспрессии Her2/neu в ткани первичной опухоли	Количество случаев
Все случаи	104
Экспрессия отсутствует (0)	61
Низкий уровень экспрессии (1+)	12
Неопределенный уровень экспрессии (2+)	19
Высокий уровень экспрессии (3+)	12

При оценке частот изменений уровня экспрессии РЭ, РП и Her2/neu при метастазировании учитывались случаи, в которых уровни экспрессии этих биомаркеров в ткани первичной опухоли и регионарных метастазов отличаются на 1 балл и более, а при оценке частот изменений Ki67 при метастазировании — на 10% и более.

Изменения иммунофенотипа неспецифического инвазивного

рака молочной железы при регионарном метастазировании исследовались путем сравнения уровней экспрессии каждого биомаркера в ткани первичной опухоли и регионарного метастаза в каждом случае в сформированных группах. В тех случаях, в которых количество пораженных регионарными метастазами было более одного, для сравнения отбирался один парафиновый блок, содержащий ткань метастаза, отличающуюся от ткани первичной опухоли по уровню экспрессии исследованных биомаркеров в наибольшей степени.

Таблица 5

Распределение случаев по группам в соответствии с уровнем экспрессии маркера пролиферации Ki67 в ткани первичной опухоли

Уровень экспрессии Ki67 в ткани первичной опухоли	Количество случаев
Все случаи	104
Низкий уровень экспрессии ($\leq 10\%$)	29
Промежуточный уровень экспрессии (от 10% до 30%)	37
Высокий уровень экспрессии ($\geq 30\%$)	38

2.6. Статистический метод

В сформированных группах сравнивались уровни экспрессии каждого биомаркера в ткани первичной и метастатической опухолей. Для оценки достоверности полученных различий использовался знаково-ранговый тест Вилкоксона. Для сравнения частот изменений уровней экспрессии PЭ, РП, Her2/neu и Ki67 в ткани карциномы молочной железы при регионарном метастазировании использовался точный тест Фишера. Для исследования связи изменений уровней экспрессии рецепторов к эстрогену и рецепторов к прогестерону при метастазировании рассчитывался коэффициент корреляции Спирмена. Для оценки согласия частот встречаемости Her2/neu-статусов в первичной и метастатической опухоли использовалась к Коэна. Наблюдаемые различия считались достоверными при уровне значимости $\leq 0,05$. Статистическая обработка данных проводилась согласно общепринятым методам (Петри А., Сэбин К., 2015) с использованием программ «Gretl» и «MS Excel 2007».

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1. Изучение экспрессии рецепторов к эстрогену в ткани первичной опухоли и регионарных метастазов инвазивной неспецифической карциномы молочной железы

В исследованной выборке из 104 случаев РМЖ различия уровня экспрессии РЭ в ткани первичной опухоли и регионарных метастазов наблюдались в 67 случаях (64,4%, 95% ДИ 54,4-73,4%). При этом в 49 случаях (47,1%, 95% ДИ 37,3-57,1%) уровень экспрессии РЭ в ткани метастазов был выше, чем в ткани первичной опухоли, а в 18 случаях (17,3%, 95% ДИ 10,1-26,3%) уровень экспрессии РЭ в ткани первичной опухоли был выше, чем в ткани метастазов (рис. 9).

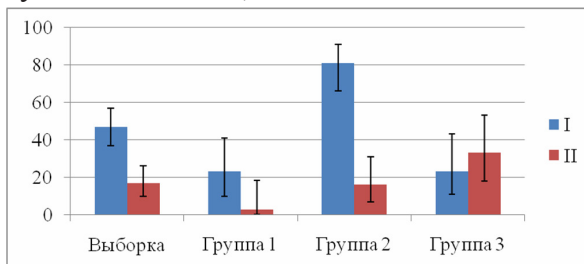


Рис. 9. Частоты изменений уровня экспрессии рецепторов к эстрогену при регионарном метастазировании РМЖ (%). I – частота случаев с повышением уровня экспрессии РЭ при регионарном метастазировании, II – частота случаев с понижением уровня экспрессии РЭ при регионарном метастазировании.

При сравнении среди всех включенных в исследование случаев (N=104) частот изменений уровня экспрессии РЭ в ткани молочной железы при регионарном метастазировании обнаружено достоверное преобладание частоты встречаемости случаев с повышением уровня экспрессии РЭ при метастазировании над частотой встречаемости случаев с его понижением ($p < 0,05$, точный тест Фишера).

Среди всех случаев, вошедших в исследование, медиана уровня экспрессии РЭ в ткани первичной опухоли составляла 5,5, межквартильный размах 7, медиана уровня экспрессии РЭ в ткани метастазов составляла 7, межквартильный размах 7 (рис. 10).

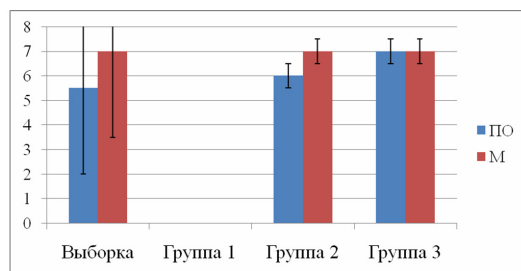


Рис. 10. Медианы уровней экспрессии рецепторов к эстрогену в ткани первичной опухоли (ПО) и метастаза (М) с межквартильными размахами.

Значения уровней экспрессии РЭ в ткани первичной и метастатической опухолей всех включенных в исследование случаев приведены в таблице 1.

При сравнении уровней экспрессии РЭ тканью первичной опухоли и тканью регионарных метастазов обнаружено достоверное повышение уровня экспрессии РЭ в метастатической ткани ($p < 0,05$, знаково-ранговый критерий Уилкоксона).

Все случаи, вошедшие в исследование, были разделены на 3 группы в соответствии с уровнем экспрессии рецепторов к эстрогену в ткани первичной опухоли. В первую группу вошел 31 случай с уровнем экспрессии РЭ 0 или 2 балла. Во вторую группу вошли 43 случая с уровнем экспрессии РЭ 3-6 баллов. В третью группу вошли 30 случаев с уровнем экспрессии РЭ 7-8 баллов.

В первой группе уровень экспрессии РЭ при метастазировании изменился в 8 случаях из 31 (25,8%, 95% ДИ 12,5-44,9%). При этом в 7 случаях (22,6%, 95% ДИ 10,3-41,5%) уровень экспрессии РЭ в ткани метастазов был выше, чем в ткани первичной опухоли, а в 1 случае (3,2%, 95% ДИ 0,2-18,5%) уровень экспрессии РЭ в ткани первичной опухоли был выше, чем в ткани метастазов (рис. 9).

При сравнении в первой группе частот изменений уровня экспрессии РЭ в ткани молочной железы при регионарном метастазировании в сторону повышения и в сторону понижения не обнаружено достоверных различий ($p = 0,053$, точный тест Фишера).

В первой группе медиана уровня экспрессии РЭ в ткани первичной опухоли составляла 0 (рис. 11), межквартильный размах 0, медиана уровня экспрессии РЭ в ткани метастазов составляла 0 (рис. 12), межквартильный размах 0 (рис. 10). Значения уровней экспрессии РЭ в ткани первичной и метастатической опухолей случаев пер-

вой группы приведены в таблице 6.

Таблица 6

Уровни экспрессии рецепторов к эстрогену в ткани первичной опухоли (ПО) и регионарных метастазов (М) РМЖ в случаях первой группы

№ случая	Уровень экспрессии РЭ, баллы по Allred	
	ПО	М
1	0	0
2	2	6
3	0	2
4	0	0
5	0	0
6	0	0
7	0	0
8	0	0
9	0	0
10	0	0
11	0	4
12	0	0
13	0	2
14	0	4
15	0	0
16	2	0
17	0	0
18	0	0
19	0	0
20	0	0
21	0	0
22	2	5
23	0	0
24	0	0
25	0	0
26	0	0
27	0	8
28	0	0
29	0	0
30	0	0

При сравнении уровней экспрессии РЭ тканью первичной опухоли и тканью метастазов не обнаружено достоверных различий ($p > 0,05$, знаково-ранговый критерий Уилкоксона).

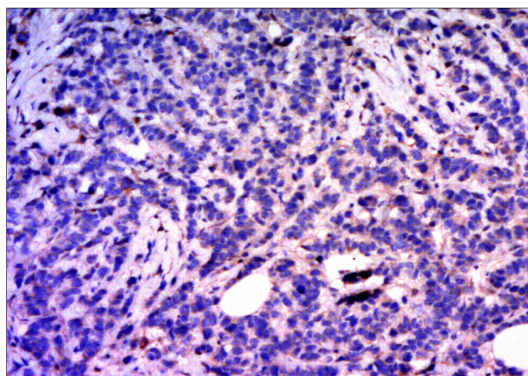


Рис. 11. Экспрессия рецепторов к эстрогену в ткани первичной опухоли при раке молочной железы у пациенток первой группы на уровне 0 баллов по шкале Allred. ИГХ-реакция с антителами к рецепторам к эстрогену (клон 1D5, Dako, Дания). Ув.: $\times$ об. 20, ок. 10.

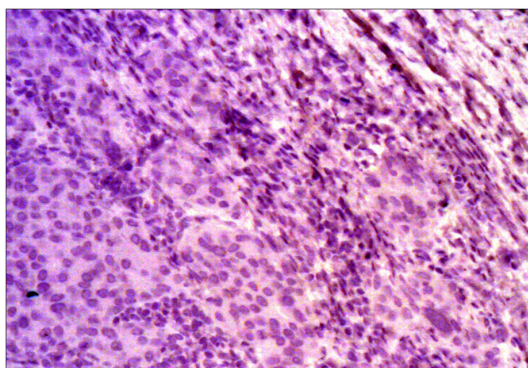


Рис. 12. Экспрессия рецепторов к эстрогену в ткани регионарного метастаза рака молочной железы у пациенток первой группы на уровне 0 баллов по шкале Allred. ИГХ-реакция с антителами к рецепторам к эстрогену (клон 1D5, Dako, Дания). Ув.: $\times$ об. 20, ок. 10.

Во второй группе уровень экспрессии РЭ при метастазировании изменился в 42 случаях из 43 (97,7%, 95% ДИ 86,2-99,9%). При этом в 35 случаях (81,4%, 95% ДИ 66,1-91,1%) уровень экспрессии РЭ в ткани метастазов был выше, чем в ткани первичной опухоли, а в 7 случаях (16,3%, 95% ДИ 7,3-31,3%) уровень экспрессии РЭ в ткани первичной опухоли был выше, чем в ткани метастазов (рис. 9).

Во второй группе обнаружено достоверное преобладание частоты встречаемости случаев с повышением уровня экспрессии РЭ при

метастазировании над частотой встречаемости случаев с его понижением ($p < 0,0001$, точный тест Фишера).

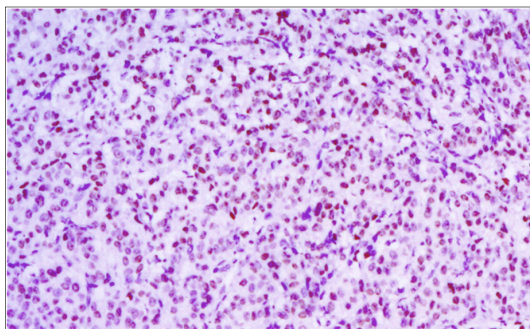


Рис. 13. Экспрессия рецепторов к эстрогену в ткани первичной опухоли при раке молочной железы у пациенток второй группы на уровне 5 баллов по шкале Allred. ИГХ-реакция с антителами к рецепторам к эстрогену (клон 1D5, Dako, Дания). Ув.: $\times$ об. 20, ок. 10.

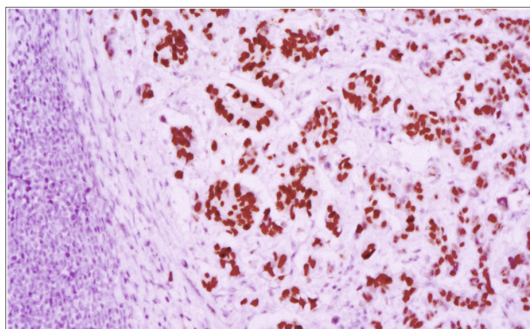


Рис. 14. Экспрессия рецепторов к эстрогену в ткани регионарного метастаза рака молочной железы у пациенток второй группы на уровне 7 баллов по шкале Allred. ИГХ-реакция с антителами к рецепторам к эстрогену (клон 1D5, Dako, Дания). Ув.: $\times$ об. 20, ок. 10.

Медиана уровня экспрессии РЭ в ткани первичной опухоли во второй группе составляла 6 (рис. 13), межквартильный размах 1, медиана уровня экспрессии РЭ в ткани метастазов составляла 7 (рис. 14), межквартильный размах 1 (рис. 10). Значения уровней экспрессии РЭ в ткани первичной и метастатической опухолей случаев второй группы приведены в таблице 7.

При сравнении уровней экспрессии РЭ тканью первичной опухоли

ли и тканью регионарных метастазов обнаружено достоверное повышение уровня экспрессии РЭ в метастатической ткани ($p=0,0017$, знаково-ранговый критерий Уилкоксона) (рис. 15).

Таблица 7

Уровни экспрессии рецепторов к эстрогену в ткани первичной опухоли и регионарных метастазов РМЖ в случаях второй группы

№ случая	Уровень экспрессии РЭ, баллы по Allred	
	ПО	М
1	3	5
2	4	0
3	3	0
4	4	6
5	6	0
6	6	8
7	6	4
8	5	8
9	5	8
10	5	8
11	4	7
12	6	7
13	5	7
14	5	7
15	6	7
16	5	7
17	4	8
18	6	7
19	3	7
20	6	8
21	5	7
22	6	8
23	5	7
24	6	7
25	6	8
26	6	8
27	5	7
28	5	6
29	6	7
30	5	6
31	6	8
32	6	7

№ случая	Уровень экспрессии РЭ, баллы по Allred	
	ПО	М
33	6	7
34	6	6
35	6	7
36	6	4
37	6	7
38	5	6
39	6	7
40	5	7
41	6	5
42	6	3
43	3	5

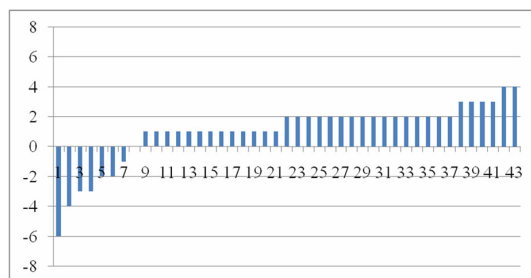


Рис. 15. Разницы уровней экспрессии рецепторов к эстрогену в ткани метастаза и первичной опухоли РМЖ в случаях второй группы.

В третьей группе уровень экспрессии РЭ при метастазировании изменился в 17 случаях из 30 (56,7%, 95% ДИ 37,7-74,0%). При этом в 7 случаях (23,3%, 95% ДИ 10,6-42,7%) уровень экспрессии РЭ в ткани метастазов был выше, чем в ткани первичной опухоли, а в 10 случаях (33,3%, 95% ДИ 17,9-52,9%) уровень экспрессии РЭ в ткани первичной опухоли был выше, чем в ткани метастазов (рис. 9).

В третьей группе при сравнении частот изменений уровня экспрессии РЭ в ткани молочной железы при регионарном метастазировании в сторону повышения и в сторону понижения не обнаружено достоверных различий ($p=0,57$, точный тест Фишера).

В третьей группе медиана уровня экспрессии РЭ в ткани первичной опухоли составляла 7 (рис. 16), межквартильный размах 1, медиана уровня экспрессии РЭ в ткани метастазов составляла 7 (рис. 17), межквартильный размах 1 (рис. 10). Значения уровней экспрес-

сии РЭ в ткани первичной и метастатической опухолей случаев второй группы показаны в таблице 8.

При сравнении уровней экспрессии РЭ тканью первичной опухоли и тканью метастазов не обнаружено достоверных различий ($p=0,39$, знаково-ранговый критерий Уилкоксона).

Таблица 8

Уровни экспрессии рецепторов к эстрогену в ткани первичной опухоли и регионарных метастазов РМЖ в случаях третьей группы

№ случая	Уровень экспрессии РЭ, баллы по Allred	
	ПО	ПО
1	8	7
2	7	8
3	8	7
4	7	7
5	7	8
6	8	2
7	8	7
8	7	8
9	7	7
10	7	7
11	7	7
12	7	8
13	8	7
14	7	8
15	7	7
16	8	7
17	7	7
18	8	8
19	7	8
20	8	7
21	7	7
22	7	2
23	7	7
24	7	7
25	8	8
26	7	7
27	7	6
28	7	6
29	7	8
30	7	7

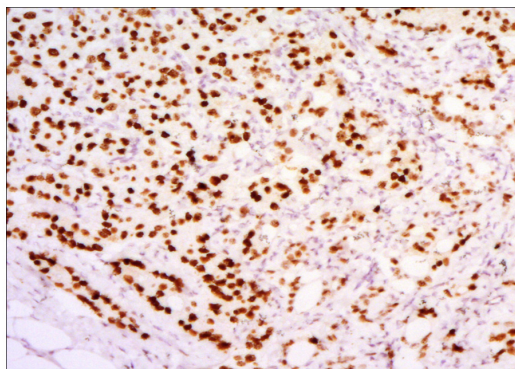


Рис. 16. Экспрессия рецепторов к эстрогену в ткани первичной опухоли при раке молочной железы у пациенток третьей группы на уровне 7 баллов по шкале Allred. ИГХ-реакция с антителами к рецепторам к эстрогену (клон 1D5, Dako, Дания). Ув.: $\times$ об. 20, ок. 10.

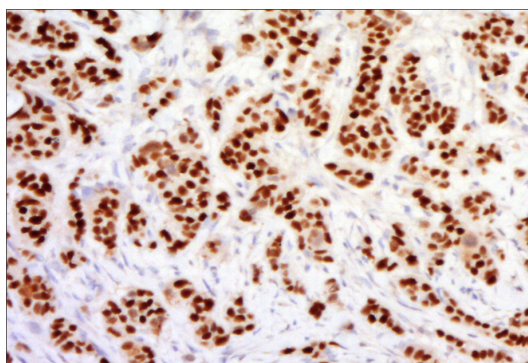


Рис. 17. Экспрессия рецепторов к эстрогену в ткани регионарного метастаза рака молочной железы у пациенток третьей группы на уровне 7 баллов по шкале Allred. ИГХ-реакция с антителами к рецепторам к эстрогену (клон 1D5, Dako, Дания). Ув.: $\times$ об. 20, ок. 10.

3.2. Изучение экспрессии рецепторов к прогестерону в ткани первичной опухоли и регионарных метастазов инвазивной неспецифической карциномы молочной железы

В исследованной выборке из 104 случаев РМЖ различия уровня экспрессии РП в ткани первичной опухоли и регионарных метастазов наблюдались в 64 случаях (61,5%, 95% ДИ 51,5-70,8%). При этом в 44 случаях (42,3%, 95% ДИ 32,3-52,4%) уровень экспрессии РП в ткани

метастазов был выше, чем в ткани первичной опухоли, а в 20 случаях (19,2%, 95% ДИ 12,4-28,4%) уровень экспрессии РП в ткани первичной опухоли был выше, чем в ткани метастазов (рис. 18).

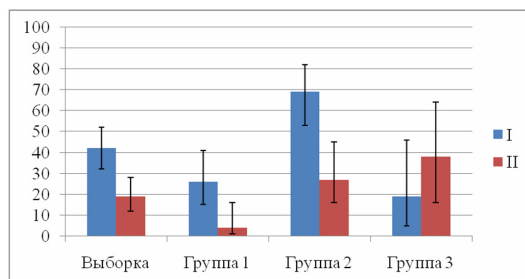


Рис. 18. Частоты изменений уровня экспрессии рецепторов к прогестерону при регионарном метастазировании РМЖ (%). I — частота случаев с повышением уровня экспрессии РП при регионарном метастазировании, II — частота случаев с понижением уровня экспрессии РП при регионарном метастазировании.

При сравнении среди всех включенных в исследование случаев частот изменений уровня экспрессии РП в ткани молочной железы при регионарном метастазировании обнаружено достоверное преобладание частоты встречаемости случаев с повышением уровня экспрессии РП при метастазировании над частотой встречаемости случаев с его понижением ($p=0,0005$, точный тест Фишера).

Среди всех случаев, вошедших в исследование, медиана уровня экспрессии РП в ткани первичной опухоли составляла 3, межквартильный размах 6, медиана уровня экспрессии РП в ткани метастазов составляла 6, межквартильный размах 7 (рис. 19).

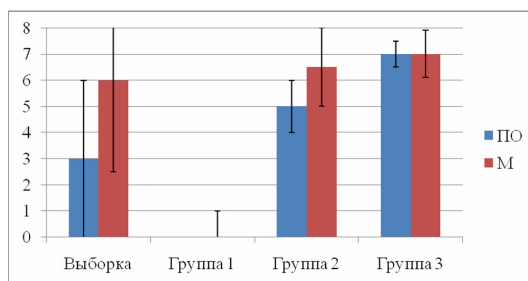


Рис. 19. Медианы уровней экспрессии рецепторов к прогестерону в ткани первичной опухоли (ПО) и метастаза (М) с межквартильными размахами.

Значения уровней экспрессии РП в ткани первичной и метастатической опухолей всех включенных в исследование случаев приведены в таблице 1.

При сравнении уровней экспрессии РП тканью первичной опухоли и тканью регионарных метастазов обнаружено достоверное повышение уровня экспрессии РП в метастатической ткани ($p=0,002$, знаково-ранговый критерий Уилкоксона).

Все случаи, вошедшие в исследование, были разделены на 3 группы в соответствии с уровнем экспрессии рецепторов к прогестерону в ткани первичной опухоли. В первую группу вошли 46 случаев с уровнем экспрессии РП 0 или 2 балла. Во вторую группу вошли 42 случая с уровнем экспрессии РП 3-6 баллов. В третью группу вошли 16 случаев с уровнем экспрессии РП 7-8 баллов.

В первой группе уровень экспрессии РП при метастазировании изменился в 14 случаях из 46 (30,4%, 95% ДИ 18,2-45,9%). При этом в 12 случаях (26,1%, 95% ДИ 14,8-41,4%) уровень экспрессии РП в ткани метастазов был выше, чем в ткани первичной опухоли, а в 2 случаях (4,4%, 95% ДИ 0,8-16,0%) уровень экспрессии РП в ткани первичной опухоли был выше, чем в ткани метастазов (рис. 18).

В первой группе при сравнении частот изменений уровня экспрессии РП в ткани молочной железы при регионарном метастазировании обнаружено достоверное преобладание частоты встречаемости случаев с повышением уровня экспрессии РЭ при метастазировании над частотой встречаемости случаев с его понижением ($p=0,007$, точный тест Фишера).

В первой группе медиана уровня экспрессии РП в ткани первичной опухоли составляла 0 (рис. 20), межквартильный размах 0, медиана уровня экспрессии РП в ткани метастазов составляла 0 (рис. 21), межквартильный размах 2 (рис. 19). Значения уровней экспрессии РП в ткани первичной и метастатической опухолей случаев первой группы приведены в таблице 9.

Таблица 9

Уровни экспрессии рецепторов к прогестерону в ткани первичной опухоли (ПО) и регионарных метастазов (М) РМЖ в случаях первой группы

№ случая	Уровень экспрессии РП, баллы по Allred	
	ПО	М
1	0	0
2	0	2
3	0	0
4	0	6
5	0	0
6	0	0
7	0	0
8	0	0
9	0	0
10	0	0
11	2	6
12	2	0
13	0	0
14	0	0
15	0	0
16	0	5
17	0	0
18	2	4
19	2	6
20	0	2
21	2	6
22	0	0
23	0	0
24	2	6
25	0	0
26	0	0
27	0	0
28	0	0
29	0	0
30	0	7
31	0	8
32	0	0
33	0	0
34	0	0
35	2	0

№ случая	Уровень экспрессии РП, баллы по Allred	
	ПО	М
36	0	0
37	0	0
38	0	0
39	0	0
40	0	7
41	0	0
42	2	4
43	0	0
44	0	0
45	0	0
46	0	0

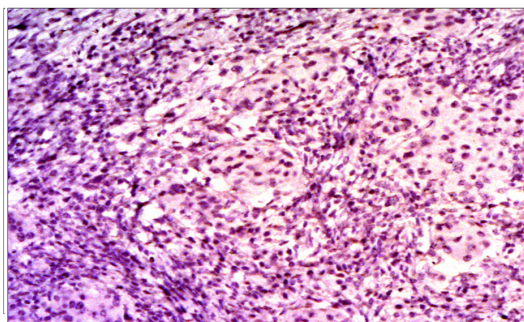


Рис. 20. Экспрессия рецепторов к прогестерону в ткани первичной опухоли при раке молочной железы у пациенток первой группы на уровне 0 баллов по шкале Allred. ИГХ-реакция с антителами к рецепторам к прогестерону (клон PgR636, Dako, Дания). Ув.: $\times$ об. 20, ок. 10.

Во второй группе уровень экспрессии РП при метастазировании изменился в 41 случае из 42 (97,6%, 95% ДИ 85,9-99,9%). При этом в 29 случаях (69,1%, 95% ДИ 52,8-81,9%) уровень экспрессии РП в ткани метастазов был выше, чем в ткани первичной опухоли, а в 12 случаях (28,6%, 95% ДИ 16,2-44,8%) уровень экспрессии РП в ткани первичной опухоли был выше, чем в ткани метастазов (рис. 18).

Во второй группе обнаружено достоверное преобладание частоты встречаемости случаев с повышением уровня экспрессии РП при метастазировании над частотой встречаемости случаев с его понижением ($p=0,0004$, точный тест Фишера).

Во второй группе медиана уровня экспрессии РП в ткани первич-

ной опухоли составляла 5 (рис. 22), межквартильный размах 2, медиана уровня экспрессии РП в ткани метастазов составляла 6,5 (рис. 23), межквартильный размах 3 (рис. 19). Значения уровней экспрессии РП в ткани первичной и метастатической опухолей случаев второй группы приведены в таблице 10.

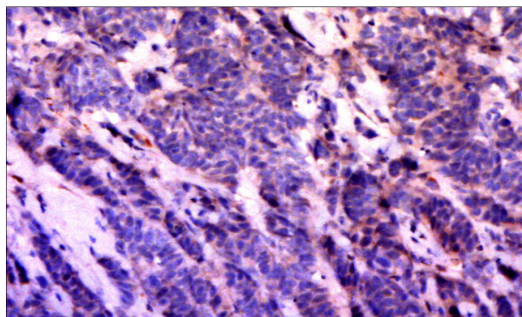


Рис. 21. Экспрессия рецепторов к прогестерону в ткани регионарного метастаза рака молочной железы у пациенток первой группы на уровне 0 баллов по шкале Allred. ИГХ-реакция с антителами к рецепторам к прогестерону (клон PgR636, Dako, Дания). Ув.: $\times$ об. 20, ок. 10.

Таблица 10

Уровни экспрессии рецепторов к прогестерону в ткани первичной опухоли (ПО) и регионарных метастазов (М) РМЖ в случаях второй группы

№ случая	Уровень экспрессии РП, баллы по Allred	
	ПО	М
1	5	0
2	6	5
3	6	0
4	5	6
5	5	7
6	3	7
7	5	7
8	4	8
9	5	3
10	3	2
11	3	8
12	4	7
13	4	7
14	6	7
15	5	7

№ случая	Уровень экспрессии РП, баллы по Allred	
	ПО	М
16	6	7
17	5	7
18	6	2
19	5	8
20	4	3
21	5	7
22	3	7
23	4	6
24	3	6
25	5	7
26	6	0
27	6	4
28	6	7
29	4	7
30	5	6
31	3	7
32	3	4
33	6	0
34	3	2
35	6	7
36	4	6
37	6	6
38	4	6
39	6	5
40	6	8
41	5	7
42	4	6

При сравнении уровней экспрессии РП тканью первичной опухоли и тканью регионарных метастазов обнаружено достоверное повышение уровня экспрессии РП в метастатической ткани ($p=0,03$, знаково-ранговый критерий Уилкоксона) (рис. 24).

Уровень экспрессии РП в случаях третьей группы при метастазировании изменился в 9 случаях из 16 (56,3%, 95% ДИ 30,6-79,3%). При этом в 3 случаях (18,8%, 95% ДИ 5,0-46,3%) уровень экспрессии РП в ткани метастазов был выше, чем в ткани первичной опухоли, а в 6 случаях (37,5%, 95% ДИ 16,3-64,1%) уровень экспрессии РП в ткани первичной опухоли был выше, чем в ткани метастазов (рис. 18).

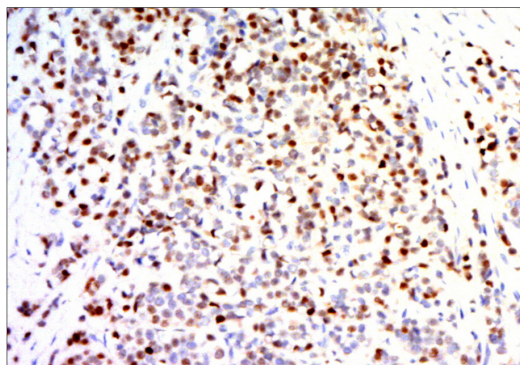


Рис. 22. Экспрессия рецепторов к прогестерону в ткани первичной опухоли при раке молочной железы у пациенток второй группы на уровне 5 баллов по шкале Allred. ИГХ-реакция с антителами к рецепторам к прогестерону (клон PgR636, Dako, Дания). Ув.: $\times$ об. 20, ок. 10.

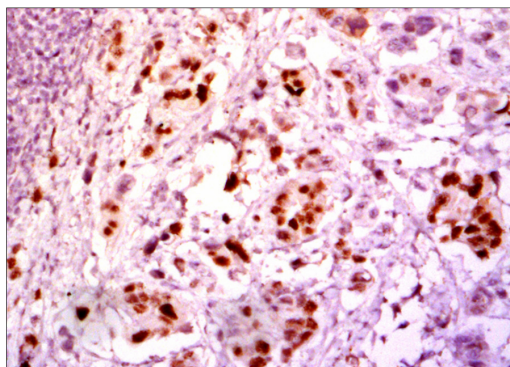


Рис. 23. Экспрессия рецепторов к прогестерону в ткани регионарного метастаза рака молочной железы у пациенток второй группы на уровне 6 баллов по шкале Allred. ИГХ-реакция с антителами к рецепторам к прогестерону (клон PgR636, Dako, Дания). Ув.: $\times$ об. 20, ок. 10.

При сравнении частот изменений уровня экспрессии РП в ткани молочной железы в случаях третьей группы при регионарном метастазировании в сторону повышения и в сторону понижения не обнаружено достоверных различий ($p=0,433$, точный тест Фишера).

В третьей группе медиана уровня экспрессии РП в ткани первичной опухоли составляла 7 (рис. 25), межквартильный размах 1, медиана уровня экспрессии РП в ткани метастазов составляла 7 (рис.

26), межквартильный размах 1,75 (рис. 19). Значения уровней экспрессии РП в ткани первичной и метастатической опухолей случаев третьей группы приведены в таблице 11.

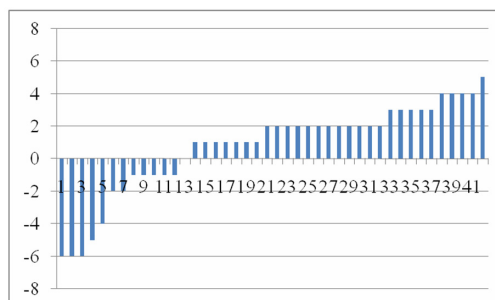


Рис. 24. Разницы уровней экспрессии рецепторов к прогестерону в ткани метастаза и первичной опухоли РМЖ в случаях второй группы.

Таблица 11

Уровни экспрессии рецепторов к прогестерону в ткани первичной опухоли (ПО) и регионарных метастазов (М) РМЖ в случаях третьей группы

№ случая	Уровень экспрессии РП, баллы по Allred	
	ПО	М
1	8	6
2	8	7
3	8	6
4	7	7
5	7	7
6	7	7
7	7	6
8	7	7
9	8	8
10	8	6
11	7	8
12	7	8
13	8	7
14	7	7
15	8	8
16	7	8

При сравнении уровней экспрессии РП тканью первичной опухоли и тканью метастазов не обнаружено достоверных различий

($p=0,23$, знаково-ранговый критерий Уилкоксона).

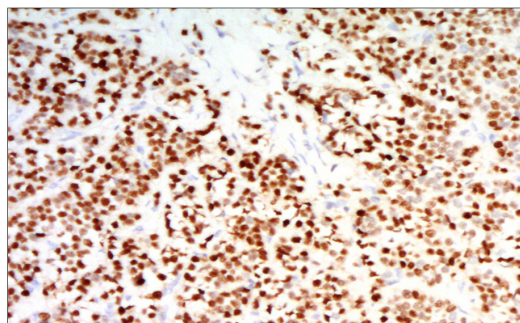


Рис. 25. Экспрессия рецепторов к прогестерону в ткани первичной опухоли при раке молочной железы у пациенток третьей группы на уровне 7 баллов по шкале Allred. ИГХ-реакция с антителами к рецепторам к прогестерону (клон PgR636, Дако, Дания). Ув.: $\times$ об. 20, ок. 10.

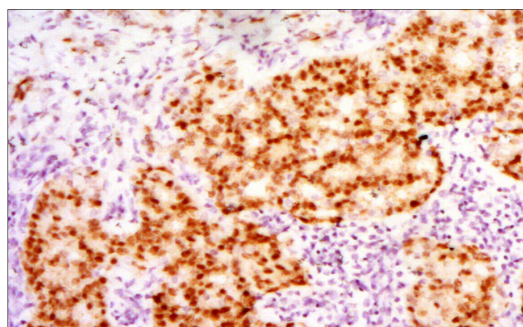


Рис. 26. Экспрессия рецепторов к прогестерону в ткани регионарного метастаза рака молочной железы у пациенток третьей группы на уровне 7 баллов по шкале Allred. ИГХ-реакция с антителами к рецепторам к прогестерону (клон PgR636, Дако, Дания). Ув.: $\times$ об. 20, ок. 10.

Транскрипционная зависимость гена, кодирующего рецепторы к прогестерону, от рецепторов к эстрогену, обуславливает высокий уровень корреляции между уровнями экспрессии РЭ и РП при раке молочной железы. Для оценки зависимости изменений уровня экспрессии РП от изменений уровня экспрессии РЭ при регионарном метастазировании РМЖ был проведен анализ частот случаев с изменениями уровня экспрессии РП в группе с умеренным уровнем экс-

прессии РЭ (3-6 баллов по Allred) в ткани первичной опухоли, для которой было обнаружено выраженное и направленное изменение уровня экспрессии РЭ при регионарном метастазировании. Также в этой группе было проведено исследование уровней экспрессии РП в ткани первичной опухоли и регионарных метастазов и корреляционный анализ связи изменений уровней экспрессии РЭ и РП при регионарном метастазировании РМЖ.

Из 43 случаев с умеренным уровнем экспрессии рецепторов к эстрогену в ткани первичной опухоли произошло повышение уровня экспрессии РЭ при метастазировании в 35 случаях, в 26 из которых произошло повышение и уровня экспрессии рецепторов к прогестерону. Снижение уровня экспрессии РЭ при метастазировании в этой группе произошло в 7 случаях, в 4 из которых произошло снижение и уровня экспрессии рецепторов к прогестерону. Доля случаев с одинаковым направлением изменений уровней экспрессии РЭ и РП составила 69,8% (95% ДИ 53,7-82,3%) в группе с умеренным уровнем экспрессии РЭ в ткани первичной опухоли (рис. 27).

Медиана уровня экспрессии РП в ткани первичной опухоли составила 4, межквартильный размах 4, в ткани регионарных метастазов — 6, межквартильный размах — 2, различие медиан достоверно ($p < 0,001$, знаково-ранговый критерий Уилкоксона).

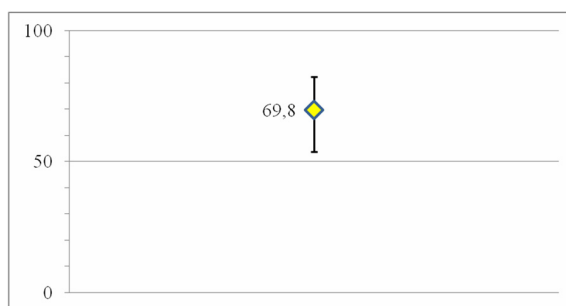


Рис. 27. Частота случаев с одинаковым направлением изменений уровней экспрессии рецепторов к эстрогену и рецепторов к прогестерону в ткани карциномы молочной железы при регионарном метастазировании в группе случаев с умеренным уровнем экспрессии РЭ (3-6 баллов по Allred) в ткани первичной опухоли (%).

Для оценки связи между изменениями уровней экспрессии РП и РЭ при регионарном метастазировании РМЖ в группе с умеренным уровнем экспрессии РЭ был проведен корреляционный анализ изме-

нений уровней экспрессии каждого рецептора при регионарном метастазировании (рис. 28). Переменными для корреляционного анализа стали разности уровней экспрессии РЭ и РП в ткани метастаза и в ткани первичной опухоли, приведенные в таблице 12.

Таблица 12

Разности уровней экспрессии рецепторов к эстрогену (РЭ) и рецепторов к прогестерону (РП) в ткани первичной опухоли (ПО) и регионарных метастазов (М) РМЖ в случаях с умеренным уровнем экспрессии РЭ (3-6 баллов) в ткани первичной опухоли

№ случая	Разность уровней экспрессии = М-ПО	
	РЭ	РП
1	-6	-2
2	-4	0
3	-3	-6
4	-3	2
5	-2	-1
6	-2	1
7	-1	-1
8	0	3
9	1	0
10	1	2
11	1	-1
12	1	0
13	1	-2
14	1	2
15	1	-2
16	1	2
17	1	1
18	1	4
19	1	-1
20	1	-1
21	1	2
22	2	6
23	2	1
24	2	2
25	2	5
26	2	3
27	2	2
28	2	2
29	2	4

№ случая	Разность уровней экспрессии = М-ПО	
	РЭ	РП
30	2	3
31	2	-1
32	2	2
33	2	7
34	2	4
35	2	1
36	2	1
37	2	2
38	3	4
39	3	4
40	3	4
41	3	5
42	4	4
43	4	4

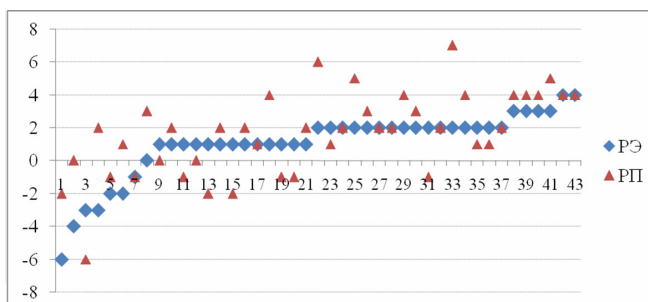


Рис. 28. Разности уровней экспрессии рецепторов к эстрогену (РЭ) и рецепторов к прогестерону (РП) тканью метастазов и первичной опухоли при регионарном метастазировании РМЖ в группе случаев с умеренным уровнем экспрессии РЭ (3-6 баллов по Allred) в ткани первичной опухоли.

При анализе данных, приведенных в таблице 14, коэффициент ранговой корреляции Спирмена составил 0,67 (положительная корреляционная связь средней силы) при уровне статистической значимости $p < 0,001$.

3.3. Изучение экспрессии онкобелка Her2/neu в ткани первичной опухоли и регионарных метастазов инвазивной неспецифической карциномы молочной железы

В исследованной выборке из 104 случаев РМЖ различия уровня экспрессии Her2/neu в ткани первичной опухоли и регионарных метастазов наблюдались в 52 случаях (50,0%, 95% ДИ 40,1-59,9%). При этом в 22 случаях (21,1%, 95% ДИ 14,0-30,5%) уровень экспрессии Her2/neu в ткани метастазов был выше, чем в ткани первичной опухоли, а в 30 случаях (28,9%, 95% ДИ 20,6-38,7%) уровень экспрессии Her2/neu в ткани первичной опухоли был выше, чем в ткани метастазов (рис. 29).

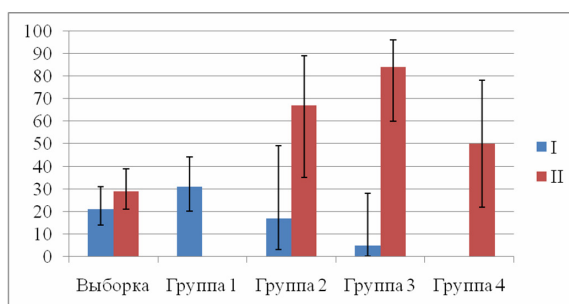


Рис. 29. Частоты изменений уровня экспрессии онкобелка Her2/neu при регионарном метастазировании РМЖ (%). I — частота случаев с повышением уровня экспрессии Her2/neu при регионарном метастазировании, II — частота случаев с понижением уровня экспрессии Her2/neu при регионарном метастазировании.

При сравнении среди всех включенных в исследование случаев (N=104) частот изменений уровня экспрессии Her2/neu в ткани молочной железы при регионарном метастазировании в сторону повышения и в сторону понижения не обнаружено достоверных различий ($p=0,26$, точный тест Фишера).

Среди всех случаев, вошедших в исследование, медиана уровня экспрессии Her2/neu в ткани первичной опухоли составляла 0, межквартильный размах 2, медиана уровня экспрессии Her2/neu в ткани метастазов составляла 0, межквартильный размах 1 (рис. 30).

Значения уровней экспрессии Her2/neu в ткани первичной и метастатической опухолей всех включенных в исследование случаев приведены в таблице 1.

При сравнении уровней экспрессии Her2/neu тканью первичной опухоли и тканью метастазов также не обнаружено достоверных различий ($p=0,15$, знаково-ранговый критерий Уилкоксона).

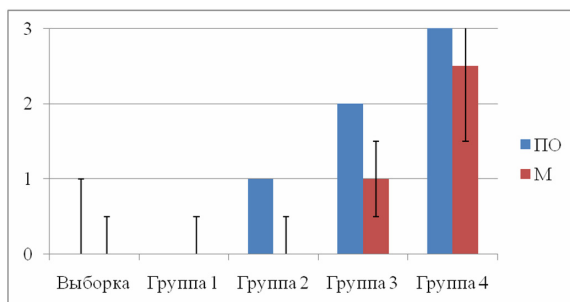


Рис. 30. Медианы уровней экспрессии онкобелка Her2/neu в ткани первичной опухоли (ПО) и метастаза (М) с межквартильными размахами.

Все случаи, вошедшие в исследование, были разделены на 4 группы в соответствии с уровнем экспрессии онкобелка Her2/neu в ткани первичной опухоли. В первую группу вошел 61 случай с уровнем экспрессии Her2/neu 0, во вторую группу — 12 случаев с уровнем экспрессии Her2/neu 1+, в третью группу – 19 случаев с уровнем экспрессии Her2/neu 2+, в четвертую группу – 12 случаев с уровнем экспрессии Her2/neu 3+.

В первой группе уровень экспрессии Her2/neu при метастазировании повысился в 19 случаях из 61 (31,2%, 95% ДИ 20,3-44,4%) (рис. 29).

Во всех случаях первой группы уровень экспрессии Her2/neu в ткани первичной опухоли составлял 0 (рис. 31), медиана уровня экспрессии Her2/neu в ткани метастазов составляла 0 (рис. 32), межквартильный размах 1 (рис. 30). Значения уровней экспрессии Her2/neu в ткани первичной и метастатической опухолей случаев первой группы приведены в таблице 13.

Таблица 13

Уровни экспрессии онкобелка Her2/neu в ткани первичной опухоли (ПО) и регионарных метастазов (М) РМЖ в случаях первой группы

№ случая	Уровень экспрессии Her2/neu, +	
	ПО	М
1	0	1
2	0	1
3	0	1
4	0	2
5	0	1
6	0	0
7	0	0
8	0	0
9	0	1
10	0	1
11	0	1
12	0	1
13	0	2
14	0	1
15	0	0
16	0	0
17	0	0
18	0	0
19	0	0
20	0	0
21	0	0
22	0	1
23	0	0
24	0	0
25	0	0
26	0	0
27	0	1
28	0	0
29	0	0
30	0	1
31	0	1
32	0	0
33	0	0
34	0	0
35	0	0
36	0	0

№ случая	Уровень экспрессии Her2/neu, +	
	ПО	М
37	0	0
38	0	0
39	0	1
40	0	0
41	0	0
42	0	0
43	0	0
44	0	0
45	0	0
46	0	0
47	0	1
48	0	1
49	0	0
50	0	0
51	0	0
52	0	0
53	0	0
54	0	0
55	0	0
56	0	0
57	0	1
58	0	0
59	0	0
60	0	0
61	0	0

Вовторой группе при сравнении частот изменений уровня экспрессии Her2/neu в ткани молочной железы при регионарном метастазировании обнаружено достоверное преобладание частоты встречаемости случаев с понижением уровня экспрессии Her2/neu при метастазировании над частотой встречаемости случаев с его повышением ($p=0,036$, точный тест Фишера).

Во всех случаях, вошедших во вторую группу, уровень экспрессии Her2/neu в ткани первичной опухоли составлял 1+ (рис. 33), медиана уровня экспрессии Her2/neu в ткани метастазов составляла 0 (рис. 34), межквартильный размах 1 (рис. 30). Значения уровней экспрессии Her2/neu в ткани первичной и метастатической опухолей случаев второй группы приведены в таблице 14.

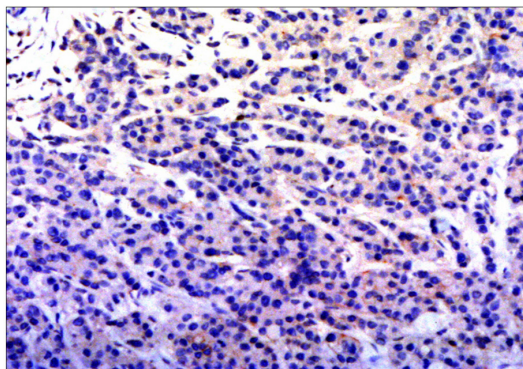


Рис. 31. Экспрессия онкобелка Her2/neu в ткани первичной опухоли при раке молочной железы у пациенток первой группы на уровне 0. ИГХ-реакция с антителами к Her2/neu (клон 4B5, Ventana, США). Ув.: $\times$ об. 20, ок. 10.

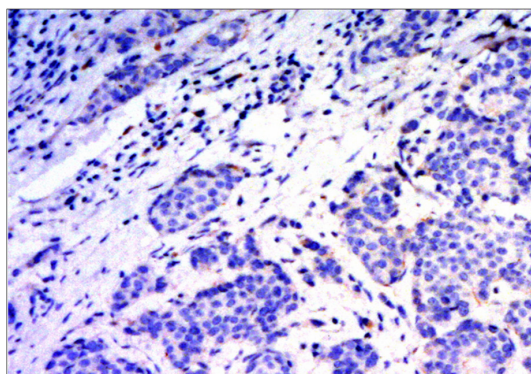


Рис. 32. Экспрессия онкобелка Her2/neu в ткани регионарного метастаза рака молочной железы у пациенток первой группы на уровне 0. ИГХ-реакция с антителами к Her2/neu (клон 4B5, Ventana, США). Ув.: $\times$ об. 20, ок. 10.

При сравнении уровней экспрессии Her2/neu тканью первичной опухоли и тканью метастазов не обнаружено достоверных различий ($p=0,07$, знаково-ранговый критерий Уилкоксона).

Таблица 14

Уровни экспрессии онкобелка Her2/neu в ткани первичной опухоли (ПО) и регионарных метастазов (М) РМЖ в случаях второй группы

№ случая	Уровень экспрессии Her2/neu, +	
	ПО	М
1	1	2
2	1	1
3	1	0
4	1	0
5	1	0
6	1	2
7	1	0
8	1	1
9	1	0
10	1	0
11	1	0
12	1	0

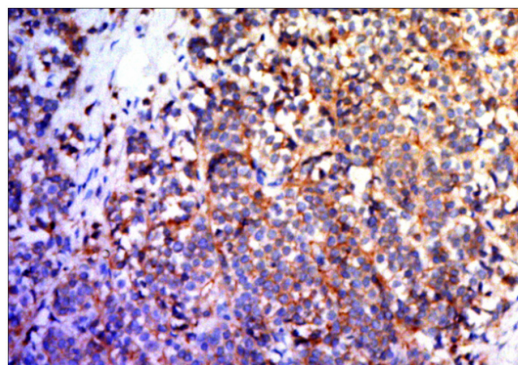


Рис. 33. Экспрессия онкобелка Her2/neu в ткани первичной опухоли при раке молочной железы у пациенток второй группы на уровне 1+. ИГХ-реакция с антителами к Her2/neu (клон 4B5, Ventana, США). Ув.: $\times$ об. 20, ок. 10.

В третьей группе уровень экспрессии Her2/neu при метастазировании изменился в 17 случаях из 19 (89,5%, 95% ДИ 65,5-98,2%). При этом в 1 случае (5,3%, 95% ДИ 0,3-28,1%) уровень экспрессии Her2/neu в ткани метастазов был выше, чем в ткани первичной опухоли, а в 16 случаях (84,2%, 95% ДИ 59,5-95,8%) уровень экспрессии Her2/neu в ткани первичной опухоли был выше, чем в ткани метастазов (рис. 29).

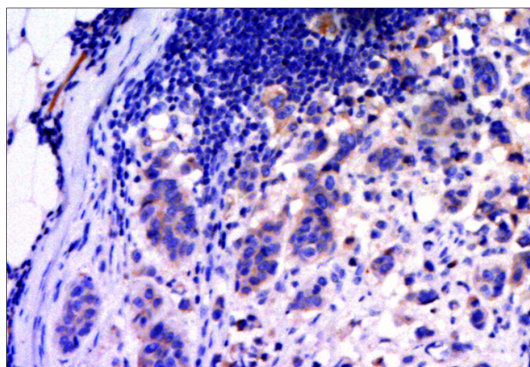


Рис. 34. Экспрессия онкобелка Her2/neu в ткани регионарного метастаза рака молочной железы у пациенток второй группы на уровне 0. ИГХ-реакция с антителами к Her2/neu (клон 4B5, Ventana, США). Ув.: $\times$ об. 20, ок. 10.

В третьей группе обнаружено достоверное преобладание частоты встречаемости случаев с понижением уровня экспрессии Her2/neu при метастазировании над частотой встречаемости случаев с его повышением ($p < 0,05$, точный тест Фишера).

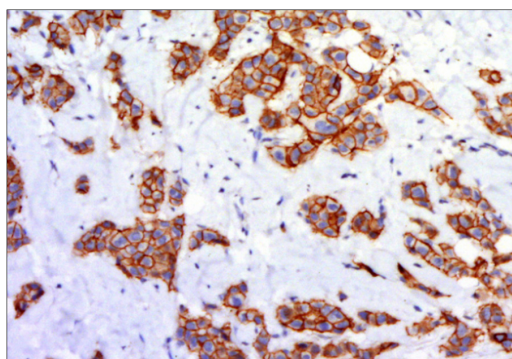


Рис. 35. Экспрессия онкобелка Her2/neu в ткани первичной опухоли при раке молочной железы у пациенток третьей группы на уровне 2+. ИГХ-реакция с антителами к Her2/neu (клон 4B5, Ventana, США). Ув.: $\times$ об. 20, ок. 10.

Во всех случаях третьей группы уровень экспрессии Her2/neu в ткани первичной опухоли составлял 2+ (рис. 35), медиана уровня экспрессии Her2/neu в ткани метастазов составляла 1+ (рис. 36),

межквартильный размах 1 (рис. 30). Значения уровней экспрессии Her2/neu в ткани первичной и метастатической опухолей случаев третьей группы приведены в таблице 15.

Таблица 15

Уровни экспрессии онкобелка Her2/neu в ткани первичной опухоли (ПО) и регионарных метастазов (М) РМЖ в случаях третьей группы

№ случая	Уровень экспрессии Her2/neu, +	
	ПО	М
1	2	0
2	2	1
3	2	1
4	2	0
5	2	1
6	2	0
7	2	0
8	2	1
9	2	0
10	2	1
11	2	0
12	2	2
13	2	0
14	2	1
15	2	2
16	2	0
17	2	1
18	2	3
19	2	1

При сравнении уровней экспрессии Her2/neu тканью первичной опухоли и тканью регионарных метастазов обнаружено достоверное понижение уровня экспрессии Her2/neu в метастатической ткани ($p=0,0004$, знаково-ранговый критерий Уилкоксона) (рис. 37).

Поскольку уровень экспрессии Her2/neu в ткани первичной опухоли во всех случаях третьей группы составлял 2+, этот материал был исследован с применением SISH-метода для оценки Her2/neu-статуса первичной опухоли. Из 19 случаев, вошедших в третью группу, в 4 случаях амплификация гена Erbb2 в ткани первичной опухоли была обнаружена (положительный Her2/neu-статус опухоли) (рис. 38), а в 15 случаях данный ген не был амплифицирован (отрицательный Her2/neu-статус опухоли) (рис. 39).

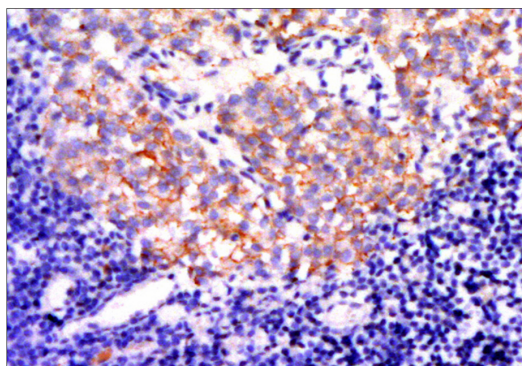


Рис. 36. Экспрессия онкобелка Her2/neu в ткани регионарного метастаза рака молочной железы у пациенток третьей группы на уровне 1+. ИГХ-реакция с антителами к Her2/neu (клон 4B5, Ventana, США). Ув.: $\times$ об. 20, ок. 10.

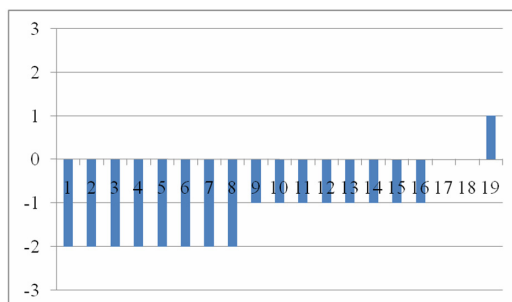


Рис. 37. Разницы уровней экспрессии онкобелка Her2/neu в ткани метастаза и первичной опухоли РМЖ в случаях третьей группы.

Уровни экспрессии Her2/neu в ткани первичной и метастатической опухолей, данные об амплификации гена *ErbB2* в ткани первичной опухоли и Her2/neu-статусах первичной и метастатической опухолей в третьей группе приведены в таблице 16.

Из 4 случаев с обнаруженной амплификацией гена *ErbB2* в ткани первичной опухоли в 1 случае уровень экспрессии Her2/neu в ткани метастаза составлял 3+ (положительный Her2/neu-статус опухоли), а во всех 15 случаях без амплификации гена *ErbB2* в ткани первичной опухоли Her2/neu-статус метастатической ткани не был положительным, что продемонстрировано в таблице 17.

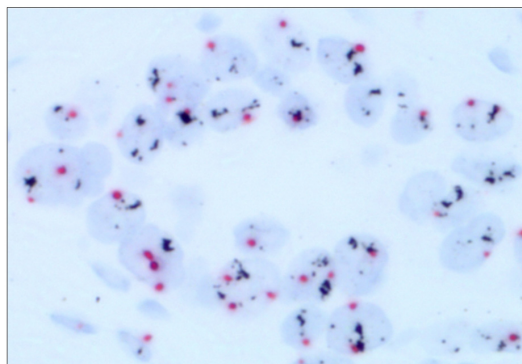


Рис. 38. Амплификация гена *ErbB2* в ткани первичной опухоли при раке молочной железы. Усиленная серебром гибридизация *in situ* (SISH) (ДНК-зонд INFORMHER2 DualISH DNAProbeCocktail, Ventana, США). Ув.: $\times$ об. 63, ок. 10.

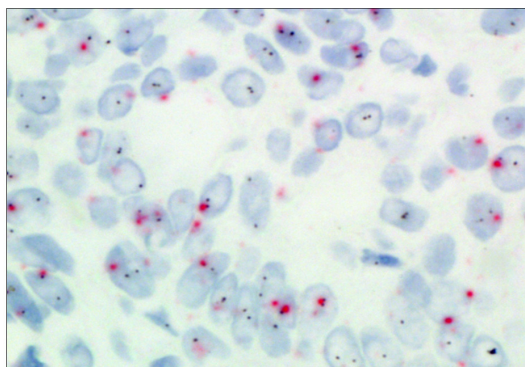


Рис. 39. Отсутствие амплификации гена *ErbB2* в ткани первичной опухоли при раке молочной железы. Усиленная серебром гибридизация *in situ* (SISH) (ДНК-зонд INFORMHER2 DualISH DNAProbeCocktail, Ventana, США). Ув.: $\times$ об. 63, ок. 10.

Частота совпадения *Her2/neu*-статусов ткани первичной и метастатической опухолей в третьей группе составила 84,2% (95% ДИ 59,5-95,8%) (рис. 40). Для описания степени согласия частот положительных и отрицательных *Her2/neu*-статусов первичной и метастатической ткани при раке молочной железы в данной группе было вычислено значение каппы Коэна, составившее 0,34, что соответствует умеренной степени согласия.

Таблица 16

Характеристика уровней экспрессии Her2/neu (ур. эксп.), амплификации гена Erbb2 (амп.) и Her2/neu-статусов (статус) случаев третьей группы

№ случая	Ткань первичной опухоли			Ткань регионарного метастаза	
	ур. эксп., +	амп.	статус	ур. эксп., +	статус
1	2	Нет	Отрицательный	0	Отрицательный
2	2	Нет	Отрицательный	1	Отрицательный
3	2	Нет	Отрицательный	1	Отрицательный
4	2	Нет	Отрицательный	0	Отрицательный
5	2	Нет	Отрицательный	1	Отрицательный
6	2	Нет	Отрицательный	0	Отрицательный
7	2	Есть	Положительный	0	Отрицательный
8	2	Нет	Отрицательный	1	Отрицательный
9	2	Нет	Отрицательный	0	Отрицательный
10	2	Нет	Отрицательный	1	Отрицательный
11	2	Нет	Отрицательный	0	Отрицательный
12	2	Есть	Положительный	2	Отрицательный
13	2	Нет	Отрицательный	0	Отрицательный
14	2	Нет	Отрицательный	1	Отрицательный
15	2	Есть	Положительный	2	Отрицательный
16	2	Нет	Отрицательный	0	Отрицательный
17	2	Нет	Отрицательный	1	Отрицательный
18	2	Есть	Положительный	3	Положительный
19	2	Нет	Отрицательный	1	Отрицательный

Таблица 17

Сопоставление Her2/neu-статусов ткани первичной опухоли и регионарных метастазов в третьей группе

Her2/neu-статус		первичной опухоли	
		+	–
регионарных метастазов	+	1	0
	–	3	15

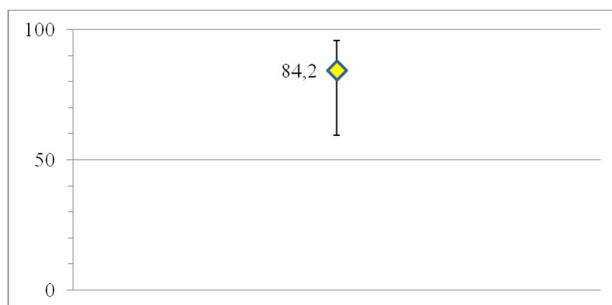


Рис. 40. Частота совпадений Her2/neu-статусов первичной и метастатической опухолей в группе случаев с неопределенным уровнем экспрессии Her2/neu (2+) в ткани первичной опухоли (%).

При исследовании уровня экспрессии рецепторов к эстрогену в ткани первичной опухоли и изменений уровня экспрессии РЭ при регионарном метастазировании в случаях третьей группы с негативным Her2/neu-статусом опухолевой ткани в первичном и метастатическом очагах (n=15) выявлено 8 случаев с более высоким уровнем экспрессии РЭ в ткани метастазов, чем в ткани первичной опухоли (53,3%, 95% ДИ 27,4-77,7%) и 2 случая, в которых уровень экспрессии РЭ в ткани метастазов был ниже, чем в ткани первичной опухоли (13,3%, 95% ДИ 2,3-41,6%). Различие полученных частот достоверно ($p=0,05$, точный тест Фишера).

В четвертой группе уровень экспрессии Her2/neu при метастазировании понизился в 6 случаях из 12 (50%, 95% ДИ 22,3-77,7%) (рис. 29).

В случаях, вошедших в четвертую группу, уровень экспрессии Her2/neu в ткани первичной опухоли составлял 3+ (рис. 41), медиана уровня экспрессии Her2/neu в ткани метастазов составляла 2,5 (рис. 42), межквартильный размах 2 (рис. 30). Значения уровней экспрессии Her2/neu в ткани первичной и метастатической опухолей случаев четвертой группы приведены в таблице 18.

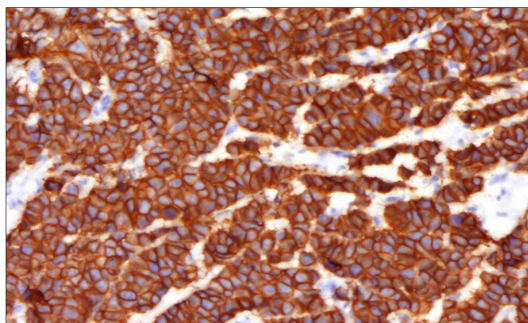


Рис. 41. Экспрессия онкобелка Her2/neu в ткани первичной опухоли при раке молочной железы у пациенток четвертой группы на уровне 3+. ИГХ-реакция с антителами к Her2/neu (клон 4B5, Ventana, США). Ув.: $\times$ об. 20, ок. 10.

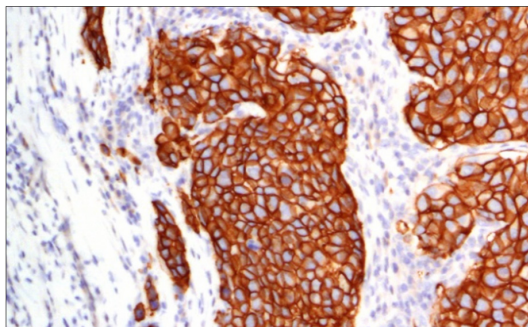


Рис. 42. Экспрессия онкобелка Her2/neu в ткани регионарного метастаза рака молочной железы у пациенток четвертой группы на уровне 3+. ИГХ-реакция с антителами к Her2/neu (клон 4B5, Ventana, США). Ув.: $\times$ об. 20, ок. 10.

Таблица 18

Уровни экспрессии онкобелка Her2/neu в ткани первичной опухоли (ПО) и регионарных метастазов (М) РМЖ в случаях четвертой группы

№ случая	Уровень экспрессии Her2/neu, +	
	ПО	М
1	3	3
2	3	1
3	3	2
4	3	1
5	3	3

№ случая	Уровень экспрессии Her2/neu, +	
	ПО	М
6	3	2
7	3	0
8	3	3
9	3	3
10	3	3
11	3	1
12	3	3

При сравнении уровней экспрессии Her2/neu тканью первичной опухоли и тканью метастазов не обнаружено достоверных различий ($p>0,05$, знаково-ранговый критерий Уилкоксона).

3.4. Изучение экспрессии маркера пролиферации Ki67 в ткани первичной опухоли и регионарных метастазов инвазивной неспецифической карциномы молочной железы

В исследованной выборке из 104 случаев РМЖ различия уровня экспрессии Ki67 в ткани первичной опухоли и регионарных метастазов наблюдались в 47 случаях (45,2%, 95% ДИ 35,5-55,2%). При этом в 24 случаях (23,1%, 95% ДИ 15,6-32,6%) уровень экспрессии Ki67 в ткани метастазов был выше, чем в ткани первичной опухоли, а в 23 случаях (22,1%, 95% ДИ 14,8-31,5%) уровень экспрессии Ki67 в ткани первичной опухоли был выше, чем в ткани метастазов (рис. 43).

При сравнении среди всех включенных в исследование случаев ($N=104$) частот изменений уровня экспрессии Ki67 в ткани молочной железы при регионарном метастазировании в сторону повышения и в сторону понижения не обнаружено достоверных различий ($p>0,999$, точный тест Фишера).

Среди всех случаев, вошедших в исследование, медиана уровня экспрессии Ki67 в ткани первичной опухоли составляла 20, межквартильный размах 27,5, медиана уровня экспрессии Ki67 в ткани метастазов составляла 15, межквартильный размах 30 (рис. 44).

Значения уровней экспрессии Ki67 в ткани первичной и метастатической опухолей всех включенных в исследование случаев приведены в таблице 1.

При сравнении уровней экспрессии Ki67 тканью первичной опухоли и тканью метастазов также не обнаружено достоверных разли-

чий ($p=0,71$, знаково-ранговый критерий Уилкоксона).

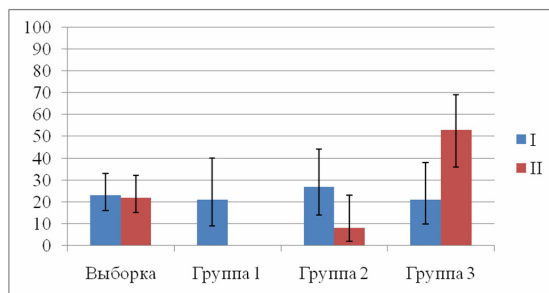


Рис. 43. Частоты изменений уровня экспрессии маркера пролиферации Ki67 при регионарном метастазировании РМЖ (%). I — частота случаев с повышением уровня экспрессии Ki67 при регионарном метастазировании, II — частота случаев с понижением уровня экспрессии Ki67 при регионарном метастазировании.

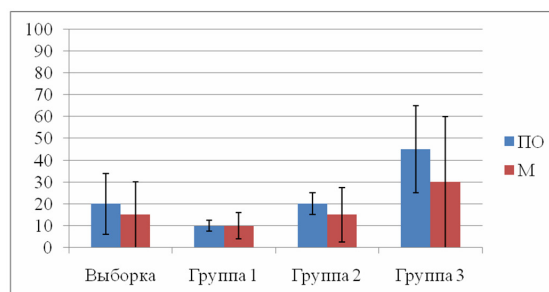


Рис. 44. Медианы уровней экспрессии маркера пролиферации Ki67 в ткани первичной опухоли (ПО) и метастаза (М) с межквартильными размахами.

Все случаи, вошедшие в исследование, были разделены на 3 группы в соответствии с уровнем экспрессии Ki67 в ткани первичной опухоли. В первую группу вошли 29 случаев с уровнем экспрессии $Ki67 \leq 10\%$. Во вторую группу вошли 37 случаев с уровнем экспрессии $Ki67 > 10\%$ и $< 30\%$. В третью группу вошли 38 случаев с уровнем экспрессии $Ki67 \geq 30\%$.

В первой группе уровень экспрессии Ki67 при метастазировании изменился в 6 случаях из 29 (20,7%, 95% ДИ 8,7-40,3%) и был выше в ткани метастазов, чем в ткани первичной опухоли (рис. 43).

В первой группе медиана уровня экспрессии Ki67 в ткани пер-

вичной опухоли составляла 10 (рис. 45), межквартильный размах 5, медиана уровня экспрессии Ki67 в ткани метастазов составляла 10 (рис. 46), межквартильный размах 12,5 (рис. 44). Значения уровней экспрессии Ki67 в ткани первичной и метастатической опухолей случаев первой группы приведены в таблице 19.

Таблица 19

Уровни экспрессии маркера пролиферации Ki67 в ткани первичной опухоли (ПО) и регионарных метастазов (М) РМЖ в случаях первой группы

№ случая	Уровень экспрессии Ki67, %	
	ПО	М
1	5	10
2	5	5
3	10	5
4	5	5
5	5	10
6	10	5
7	5	10
8	5	20
9	10	25
10	5	5
11	10	10
12	10	2
13	10	5
14	10	30
15	10	30
16	10	15
17	10	10
18	5	15
19	5	20
20	5	20
21	10	10
22	10	5
23	10	20
24	10	10
25	5	1
26	10	5
27	5	5
28	10	5
29	10	15

При сравнении уровней экспрессии Ki67 тканью первичной опухоли и тканью метастазов не обнаружено достоверных различий ($p=0,08$, знаково-ранговый критерий Уилкоксона).

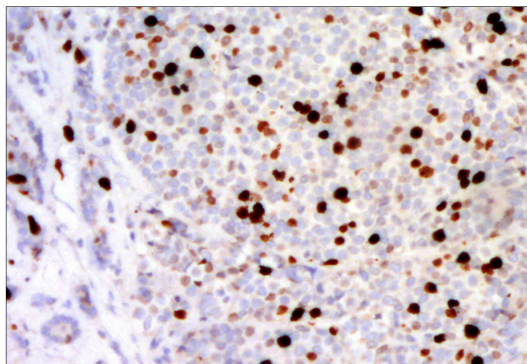


Рис. 45. Экспрессия маркера пролиферации Ki67 в ткани первичной опухоли при раке молочной железы у пациенток первой группы на уровне 10%. ИГХ-реакция с антителами к Ki67 (клон MIB-1, Dako, Дания). Ув.: $\times$ об. 20, ок. 10.

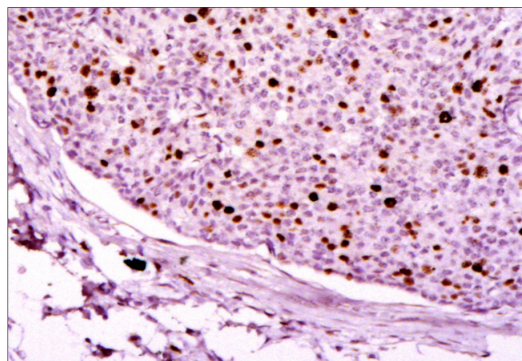


Рис. 46. Экспрессия маркера пролиферации Ki67 в ткани регионарного метастаза рака молочной железы у пациенток первой группы на уровне 10%. ИГХ-реакция с антителами к Ki67 (клон MIB-1, Dako, Дания). Ув.: $\times$ об. 20, ок. 10.

Во второй группе уровень экспрессии Ki67 при метастазировании изменился в 13 случаях из 37 (35,1%, 95% ДИ 20,7-52,6%). При этом в 10 случаях (27,0%, 95% ДИ 14,4-44,4%) уровень экспрессии Ki67 в ткани метастазов был выше, чем в ткани первичной опухоли, а в 3

случаях (8,1%, 95% ДИ 2,1-23,0%) уровень экспрессии Ki67 в ткани первичной опухоли был выше, чем в ткани метастазов (рис. 43).

При сравнении во второй группе частот изменений уровня экспрессии Ki67 в ткани молочной железы при регионарном метастазировании в сторону повышения и в сторону понижения не обнаружено достоверных различий ($p=0,064$, точный тест Фишера).

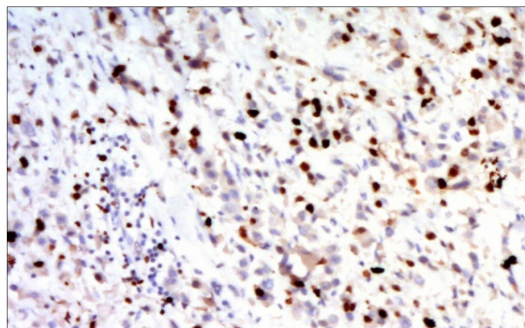


Рис. 47. Экспрессия маркера пролиферации Ki67 в ткани первичной опухоли при раке молочной железы у пациенток второй группы на уровне 20%. ИГХ-реакция с антителами к Ki67 (клон MIB-1, Dako, Дания). Ув.: $\times$ об. 20, ок. 10.

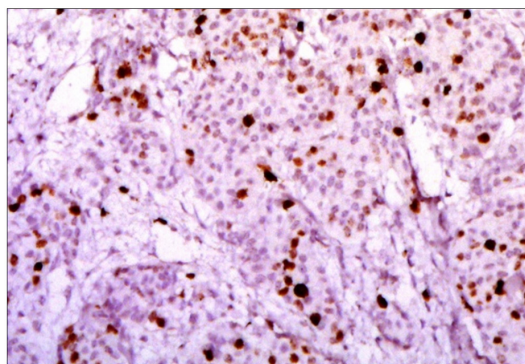


Рис. 48. Экспрессия маркера пролиферации Ki67 в ткани регионарного метастаза рака молочной железы у пациенток второй группы на уровне 15%. ИГХ-реакция с антителами к Ki67 (клон MIB-1, Dako, Дания). Ув.: $\times$ об. 20, ок. 10.

Во второй группе медиана уровня экспрессии Ki67 в ткани первичной опухоли составляла 20 (рис. 47), межквартильный размах

10, медиана уровня экспрессии Ki67 в ткани метастазов составляла 15 (рис. 48), межквартильный размах 25 (рис. 44).

Значения уровней экспрессии Ki67 в ткани первичной и метастатической опухолей случаев второй группы приведены в таблице 20.

Таблица 20

Уровни экспрессии маркера пролиферации Ki67 в ткани первичной опухоли (ПО) и регионарных метастазов (М) РМЖ в случаях второй группы

№ случая	Уровень экспрессии Ki67, %	
	ПО	М
1	20	30
2	25	50
3	15	25
4	25	15
5	25	40
6	15	45
7	20	40
8	15	10
9	15	20
10	15	10
11	25	40
12	20	5
13	25	30
14	20	10
15	20	50
16	15	5
17	25	15
18	20	80
19	15	5
20	15	50
21	15	20
22	15	30
23	20	10
24	15	15
25	20	40
26	20	10
27	25	3
28	20	10
29	20	20
30	15	20

№ случая	Уровень экспрессии Ki67, %	
	ПО	М
31	15	15
32	15	10
33	20	15
34	25	5
35	25	15
36	25	30
37	15	5

При сравнении уровней экспрессии Ki67 тканью первичной опухоли и тканью метастазов обнаружено достоверных различий ($p=0,52$, знаково-ранговый критерий Уилкоксона).

В третьей группе уровень экспрессии Ki67 при метастазировании изменился в 28 случаях из 38 (73,7%, 95% ДИ 56,6-86,0%). При этом в 8 случаях (21,1%, 95% ДИ 10,1-37,8%) уровень экспрессии Ki67 в ткани метастазов был выше, чем в ткани первичной опухоли, а в 20 случаях (52,6%, 95% ДИ 36,1-68,7%) уровень экспрессии Ki67 в ткани первичной опухоли был выше, чем в ткани метастазов (рис. 43).

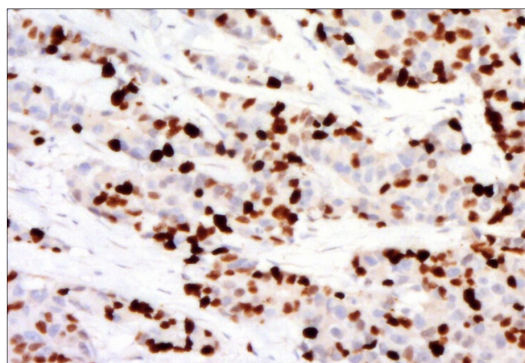


Рис. 49. Экспрессия маркера пролиферации Ki67 в ткани первичной опухоли при раке молочной железы у пациенток третьей группы на уровне 40%. ИГХ-реакция с антителами к Ki67 (клон MIB-1, Dako, Дания). Ув.: $\times$ об. 20, ок. 10.

При сравнении в третьей группе частот изменений уровня экспрессии Ki67 в ткани молочной железы при регионарном метастазировании обнаружено достоверное преобладание частоты встречаемости случаев с понижением уровня экспрессии Ki67 при метаста-

зировании над частотой встречаемости случаев с его повышением ($p=0,008$, точный тест Фишера).

В третьей группе медиана уровня экспрессии Ki67 в ткани первичной опухоли составляла 45 (рис. 49), межквартильный размах 40, медиана уровня экспрессии Ki67 в ткани метастазов составляла 30 (рис. 50), межквартильный размах 60 (рис. 44).

Значения уровней экспрессии Ki67 в ткани первичной и метастатической опухолей случаев третьей группы приведены в таблице 21.

Таблица 21

Уровни экспрессии маркера пролиферации Ki67 в ткани первичной опухоли (ПО) и регионарных метастазов (М) РМЖ в случаях третьей группы

№ случая	Уровень экспрессии Ki67, %	
	ПО	М
1	80	40
2	70	5
3	70	10
4	40	10
5	70	50
6	40	30
7	40	10
8	30	15
9	60	5
10	30	5
11	30	5
12	70	80
13	50	30
14	30	20
15	70	95
16	30	10
17	30	5
18	30	80
19	60	60
20	30	30
21	50	90
22	40	50
23	70	100
24	30	10
25	80	0
26	80	90

№ случая	Уровень экспрессии Ki67, %	
	ПО	М
27	70	95
28	30	30
29	40	0
30	30	40
31	30	50
32	60	80
33	90	70
34	40	20
35	50	20
36	90	70
37	60	70
38	40	70

При сравнении уровней экспрессии Ki67 тканью первичной опухоли и тканью метастазов не обнаружено достоверных различий ($p=0,55$, знаково-ранговый критерий Уилкоксона).

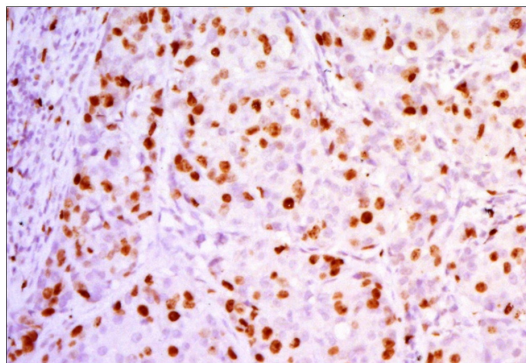


Рис. 50. Экспрессия маркера пролиферации Ki67 в ткани регионарного метастаза рака молочной железы у пациенток третьей группы на уровне 30%. ИГХ-реакция с антителами к Ki67 (клон MIB-1, Dako, Дания). Ув.: $\times$ об. 20, ок. 10.

ГЛАВА 4. ОБЩЕЕ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При анализе закономерностей изменений уровня экспрессии РЭ при регионарном метастазировании РМЖ обнаружено достоверное повышение уровня экспрессии РЭ в ткани метастазов и преобладание частоты случаев с повышением уровня экспрессии РЭ над частотой случаев с его понижением в группе с умеренным (3-6 баллов по шкале Allred) уровнем экспрессии РЭ в ткани первичной опухоли.

При исследовании изменений уровня экспрессии РП при регионарном метастазировании рака молочной железы также обнаружено повышением уровня экспрессии РП в ткани метастазов и преобладание частоты случаев с повышением уровня экспрессии РП над частотой случаев с его понижением в группе с умеренным (3-6 баллов по шкале Allred) уровнем экспрессии РП в ткани первичной опухоли. Проведенный статистический анализ указывает на связь изменений уровня экспрессии рецепторов к прогестерону с изменениями уровня экспрессии рецепторов к эстрогену, что объясняется транскрипционной зависимостью генов РП от действия РЭ, который выступает как транскрипционный фактор для гена РП типа А и коактиватор транскрипции для гена РП типа В (O'Lone R. et al., 2004).

Уровень экспрессии онкобелка Her2/neu в опухолевой ткани достоверно снижается при регионарном метастазировании в группе с неопределенным уровнем экспрессии Her2/neu (2+) в ткани первичной опухоли; также в этой группе частота случаев со снижением уровня экспрессии Her2/neu в ткани опухоли при регионарном метастазировании рака молочной железы достоверно преобладает над частотой случаев с его повышением. При анализе в этой группе Her2/neu-статусов опухолевой ткани первичной опухоли (статус определялся при молекулярно-генетическом исследовании амплификации гена Erbb2 методом усиленной серебром гибридизации *in situ* (SISH)) и регионарных метастазов (статус определялся ИГХ-методом) обнаружено сохранение отрицательного Her2/neu-статуса опухолевой ткани при метастазировании в большинстве случаев. Кроме того, для случаев с неопределенным уровнем экспрессии онкобелка Her2/neu (2+) и отсутствием амплификации гена Erbb2 в ткани первичной опухоли при раке молочной железы, а также снижением уровня экспрессии Her2/neu при метастазировании характерен умеренный уровень экспрессии рецепторов к эстрогену в тка-

ни первичной опухоли, который повышается при метастазировании.

При исследовании изменений при регионарном метастазировании РМЖ уровней экспрессии РЭ, РП и Her2/neu в других группах, а также маркера пролиферации Ki67 во всех группах, сформированных в зависимости от уровня его экспрессии в ткани первичной опухоли, не обнаружено значимых различий. В этих группах частоты случаев с изменениями уровней экспрессии исследованных биомаркеров при метастазировании могли превышать 50%, однако отсутствие статистически значимых различий не позволяло судить об обнаруженных закономерностях.

Обнаруженные изменения позволяют предположить важную роль рецепторов к эстрогену в процессе формирования метастазов РЭ-положительных опухолей и их регулирующее влияние на уровень экспрессии онкобелка Her2/neu в случаях без амплификации кодирующего его гена Erbb2.

Гиперэкспрессия онкобелка Her2/neu (3+) является результатом амплификации гена Erbb2, а умеренный уровень экспрессии этого маркера (2+) может быть результатом как амплификации гена, так и повышения его транскрипционной активности без амплификации (Powe D.G. et al., 2009). Второй механизм более распространен, что согласуется и с результатами данной работы. Транскрипция гена Her2/neu регулируется несколькими факторами, в частности, молекулами семейств SRC (NCoA) и AP-2 (Moi L.L.H. et al., 2012; Powe D.G. et al., 2009; Hurst H.C., 2001). Транскрипционные факторы семейства SRC (SRC-1 и SRC-3/AIB), соединяясь с промоторным участком гена Erbb2, активируют его транскрипцию, что ведет к повышению синтеза белка Her2/neu и его экспрессии на мембране опухолевых клеток. Аналогичным путем реализуется функция факторов семейства AP-2. Регулирующие воздействия транскрипционных факторов семейства AP-2 AP-2 α и AP-2 γ зависят от соотношения концентраций этих молекул в кариоплазме. Несмотря на то, что изолированно и AP-2 α , и AP-2 γ являются активаторами транскрипции гена Erbb2, при нарушении баланса их концентраций в кариоплазме в пользу AP-2 γ их активирующая функция не реализуется (Orso F. et al., 2004; Логинова Н.П. с соавт., 2014).

Супрессия транскрипции неамплифицированного гена Erbb2 в клетках карциномы молочной железы при метастазировании может быть связана с прекращением активирующих воздействий транскрипционных факторов семейств SRC и AP-2 и проявляется в таких случаях снижением уровня экспрессии Her2/neu в ткани метастазов

при сравнении с тканью первичной опухоли.

Другим результатом проведенного исследования стало обнаружение повышения уровня экспрессии рецепторов к эстрогену при метастазировании инвазивного неспецифического рака молочной железы в группе с умеренным уровнем экспрессии этого маркера (3-6 баллов) в ткани первичной опухоли.

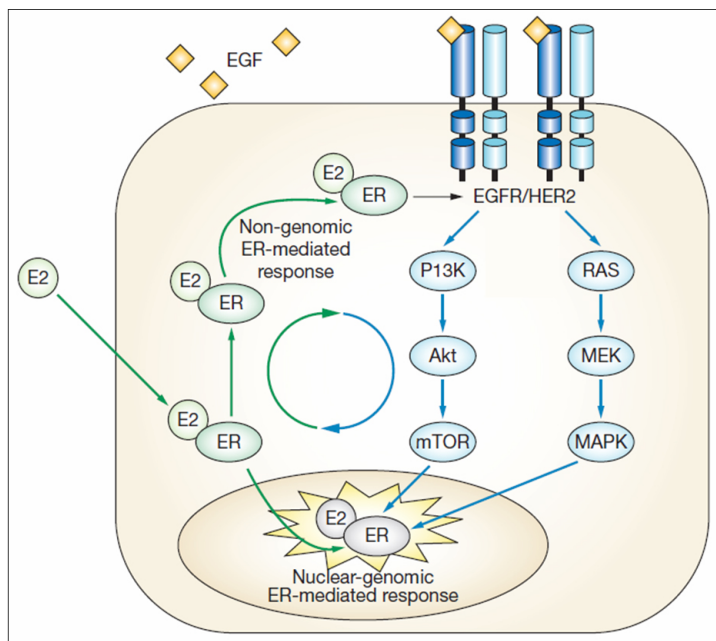


Рис. 51. Схема некоторых сигнальных путей рецепторного аппарата клетки рака молочной железы (PratA. et al., 2008).

При развитии карциномы молочной железы функции рецепторов к эстрогену в раковых клетках реализуются по геномному и негеномному путям (рис. 51). Геномный путь функционирования рецепторов к эстрогену предполагает связывание молекулы эстрогена с молекулой рецептора и ее последующей димеризацией в цитоплазме клетки. Димер поступает в ядро, и в комплексе с молекулами различных коактиваторов присоединяется к промотору регулируемых генов либо непосредственно (прямое геномное действие РЭ), либо через молекулы коактиваторов (непрямое геномное действие РЭ). Результатом геномного действия рецепторов к эстрогену является активация транскрипции зависимых от него генов клеточ-

ного цикла, пролиферации, антиапоптотических и других генов. Негеномный путь функционирования характерен для молекул рецепторов к эстрогену, локализованных в клеточной мембране независимо или в комплексе с рецептором, сопряженным с G-белком (GPCR). Мембранный РЭ может быть активирован связыванием с молекулой эстрогена, фосфорилированием или, в случае активирующей мутации гена РЭ, не зависеть от дополнительных активирующих воздействий. Подобно другим мембранным рецепторам, локализованные на мембране РЭ активируют клеточные сигнальные пути.

Необходимым условием метастазирования карциномы молочной железы является осуществление эпителиально-мезенхимального перехода (ЭМП), необходимого для дезагрегации эпителиальных клеток, отделения их от базальной мембраны и проникновения в лимфатические и кровеносные сосуды. Одним из ключевых элементов ЭМП является перестройка актина в цитоплазме клетки, в результате которой клетка приобретает возможность самостоятельно двигаться (Брага Э.А. с соавт., 2017). ЭМП в клетке карциномы молочной железы реализуется при активации сигнальных путей PI3K и Ras, которые могут быть активированы мембранной молекулой РЭ. Также локализованные в клеточной мембране молекулы РЭ, связанные с GPCR, запускают каскад активации рГТФаз, приводящий к перестройке актина и приобретению раковой клеткой подвижности (Кушлинский Н.Е., Немцова М.В., 2014; Giretti M.S. et al., 2008). Таким образом, негеномные эффекты рецепторов к эстрогену в клетках РЭ-положительной первичной опухоли играют существенную роль в формировании метастазов рака молочной железы.

В случаях, когда ткань первичной карциномы молочной железы имеет промежуточный уровень экспрессии РЭ (3-6 баллов), метастазирование клеток опухоли, имеющих более высокий уровень РЭ, чем другие, происходит с большей вероятностью. Популяция потомков таких клеток, образующая метастаз, таким образом, имеет более высокий уровень экспрессии рецепторов к эстрогену, чем первичная опухоль.

Геномные эффекты рецепторов к эстрогену связаны с непрямой регуляцией транскрипции гена *ErbB2*. Транскрипционные факторы SRC-1 и SRC-3/AIB являются коактиваторами РЭ и, образуя комплексы с этой молекулой, не могут участвовать в транскрипции гена *ErbB2*. РЭ является транскрипционным фактором для гена *AP-2γ* и повышает транскрипцию белкового продукта этого гена, одновременно понижая транскрипцию гена *AP-2α* (Orso F. et al., 2004). В

результате изменения баланса концентраций AP-2 γ и AP-2 α транскрипция гена ErbB2, обусловленная этими факторами, останавливается.

В ряде случаев в РЭ-положительной ткани карциномы молочной железы может наблюдаться умеренная экспрессия онкобелка Her2/neu (2+), обусловленная транскрипцией гена ErbB2 без амплификации. При метастазировании таких опухолей уровень экспрессии рецепторов к эстрогену в ткани метастазов будет выше, чем в ткани первичной опухоли, за счет клональной селекции в пользу клеток, более интенсивно экспрессирующих РЭ, а уровень экспрессии Her2/neu в ткани метастазов будет ниже, чем в ткани первичной опухоли, вследствие осуществления в этих клетках РЭ-опосредованных механизмов подавления транскрипции Her2/neu. В данной работе описанный эффект наблюдался в 8 случаях из 12.

В ходе исследования было обнаружено достоверное повышение уровня экспрессии рецепторов к прогестерону при регионарном метастазировании инвазивной неспецифической карциномы молочной железы в группе случаев с промежуточным уровнем экспрессии (3-6 баллов) РП в ткани первичной опухоли. Поскольку экспрессия РП регулируется геномным действием РЭ, схожие изменения уровня экспрессии РП при метастазировании ожидаемы. При исследовании закономерностей изменений уровня экспрессии Ki67 при метастазировании инвазивной неспецифической карциномы молочной железы не обнаружено достоверных различий.

Полученные данные позволили описать закономерности изменения рецепторного аппарата клеток карциномы молочной железы при регионарном метастазировании, которые отражены на схеме (рис. 52).

Таким образом, в результате проведенных комплексных исследований цель исследования достигнута, задачи выполнены. Результаты научно-исследовательской работы позволили сделать следующие выводы.

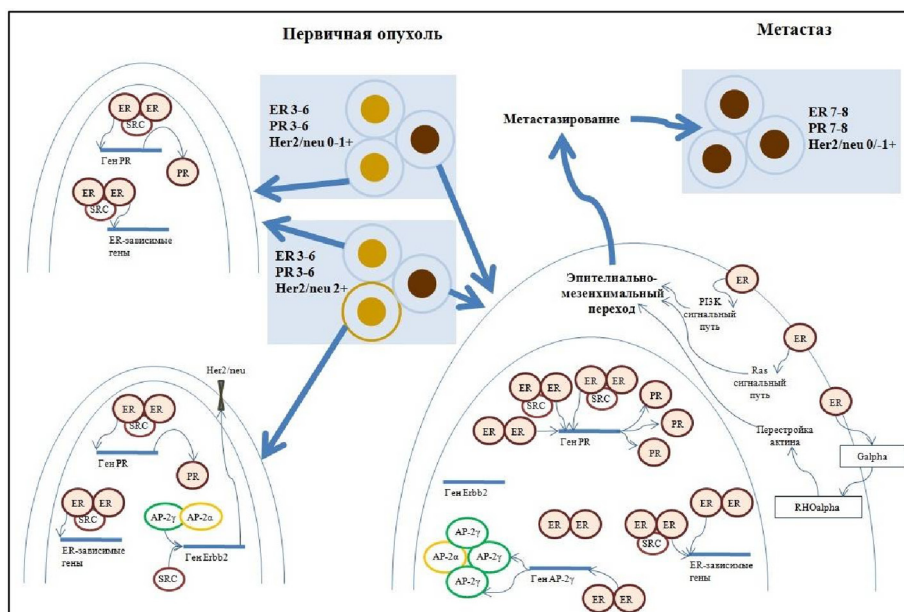


Рис. 52.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ИГХ – иммуногистохимия

ПО – первичная опухоль

РМЖ – рак молочной железы

РП – рецепторы к прогестерону

РЭ – рецепторы к эстрогену

ЭМП – эпителиально-мезенхимальный переход

SISH – усиленная серебротгбридизацияinsitu (silverenhancedinsitu hybridization)

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абильтяева А.А. Молекулярный тип рака молочной железы, как прогностический фактор метастазирования (обзор литературы) / А.А. Абильтяева, Т.А. Адылханов, А.О. Мысаев // Наука и здравоохранение. – 2016. – Т. 3, № 1. – С. 119–128.
2. Алексеенко И.В. Причина раковых мутаций: поправимая плохая жизнь или неизбежные стохастические ошибки репликации? / И.В. Алексеенко, А.И. Кузьмич, В.В. Плешкан, Д.В. Тюлькина, М.В. Зиновьева, М.Б. Костина, Е.Д. Свердлов // Молекулярная биология. – 2016. – Т. 50, № 6. – С. 906–921.
3. Андреева О.Е. Значение транскрипционного фактора Snail1 в регуляции гормональной чувствительности культивируемых *in vitro* клеток рака молочной железы / О.Е. Андреева, А.М. Щербаков, В.А. Шатская, М.А. Красильников // Вопросы онкологии. – 2012. – Т. 58, № 1. – С. 71–76.
4. Богомоллов А.Г. Флуоресцентная гибридизация *in situ* ДНК-проб, полученных из индивидуальных хромосом и хромосомных районов / А.Г. Богомоллов, Т.В. Карамышева, Н.Б. Рубцов // Молекулярная биология. – 2014. – Т. 146, № 5. – С. 78–82.
5. Богуш Т.А. Дискордантность статуса эстрогеновых рецепторов между первичным и метастатическим раком молочной железы - возможные причины и прогностическая значимость / Т.А. Богуш, А.С. Попова, Е.А. Дудко, Е.О. Игнатова, Б.Е. Полоцкий, С.А. Тюляндин, М.И. Давыдов // Антибиотики и химиотерапия. – 2013. – Т. 58, № 7–8. – С. 40–47.
6. Брага Э.А. Молекулярные механизмы в метастазировании рака яичников: ключевые гены и регуляторные микроРНК / Э.А. Брага, М.В. Фридман, Н.Е. Кушлинский // Биохимия. – 2017. – Т. 82, № 5. – С. 717–731.
7. Вишневская Я.В. Инфильтрирующий дольковый рак молочной железы: особенности метастазирования (гистологическая и иммуногистохимическая характеристика) / Я.В. Вишневская, В.Д. Ермилова, Н.А. Савелов, М.И. Нечушкин, А.В. Триголосов, А.В. Петровский, Г.Ю. Чемерис, Т.И. Захарова // Архив патологии. – 2005. – Т. 67, № 4. – С. 17–21.
8. Гатауллин И.Г. Обоснование выбора оптимальной схемы лечения больных метастатическим раком молочной железы / И.Г. Гатауллин, А.И. Хасанова, Г.Н. Хусаинова, С.В. Петров, Р.Ш. Хасанов // Кубанский научный медицинский вестник. – 2010. – Т. 123, № 9. – С.

55–58.

9. Герштейн Е.С. Факторы роста, их рецепторы и нижележащие сигнальные белки: от эксперимента к клинике / Е.С. Герштейн, Н.Е. Кушлинский // Успехи молекулярной онкологии. – 2014. – № 1. – С. 27–35.

10. Глушанкова Н.А. Роль е-кадхерина в неопластической эволюции эпителиальных клеток / Н.А. Глушанкова, И.Ю. Житняк, Д.В. Айолло, С.Н. Рубцова // Успехи молекулярной онкологии. – 2014. – № 1. – С. 12–17.

11. Гуревич Л.Е. Значение иммуногистохимии для таргетной терапии и прогнозирования в онкологии / Л.Е. Гуревич, И.А. Казанцева, Н.А. Корсакова, М.А. Бобров // Альманах клинической медицины. – 2012. – Т. 27, . – С. 27–34.

12. Дружков О.Б. Динамика иммунофенотипа рака молочной железы / О.Б. Дружков, И.Г. Гатауллин, М.О. Дружков // Казанский медицинский журнал. – 2012. – Т. 93, № 5. – С. 731–734.

13. Дугина В.Б. Изоформы актина и неопластическая трансформация / В.Б. Дугина, Г.С. Шагиева, Н.В. Хромова, П.Б. Копнин // Успехи молекулярной онкологии. – 2017. – Т. 4, № 1. – С. 8–16.

14. Жирнова А.С. Иммуногистохимические особенности тканей молочной железы при пролиферативной форме фиброзно-кистозной болезни у женщин репродуктивного возраста / А.С. Жирнова, Н.Н. Шевлюк, П.П. Курлаев, О.М. Абрамзон, В.К. Есипов, А.В. Залошков, А.С. Чигиренко // Морфология. – 2017. – Т. 151, № 3. – С. 68.

15. Завьялова М.В. Сопряженность лимфогенного метастазирования и гистологического строения инфильтративного компонента протокового рака молочной железы / М.В. Завьялова, В.М. Перельмутер, Е.М. Слонимская, С.В. Вторушин, Е.Ю. Гарбуков, С.А. Глущенко // Сибирский онкологический журнал. – 2006. – № 1. – С. 32–35.

16. Завьялова М.В. Особенности лимфогенного метастазирования при люминальном А типе рака молочной железы. Сибирский онкологический журнал / М.В. Завьялова, Н.С. Телегина, С.В. Вторушин, В.М. Перельмутер, Е.М. Слонимская, Е.В. Денисов, Н.В. Чердынцева, С.В. Паталяк, Н.А. Скрябин, К.Ю. Христенко // Сибирский онкологический журнал. – 2013. – № 56. – С. 41–44.

17. Зайцев В.Б. Морфофункциональная характеристика селезенки человека (иммуногистохимическое исследование) / В.Б. Зайцев, Н.С. Федоровская, Д.А. Дьяконов, А.М. Федоровский, Л.В. Дорох, Е.В. Коледаева, И.Н. Гамулинская // Морфология. – 2013. – Т. 143,

№ 3. – С. 27–31.

18. Закирова Л.Т. Прогностическая значимость иммуногистохимических маркеров RE, RP, Her2/neu рака молочной железы у женщин молодого возраста / Л.Т. Закирова, Д.А. Нишанов, Л.Т. Алимходжаева // Евразийский онкологический журнал. – 2015. – Т. 6, № 3. – С. 42–47.

19. Засадкевич Ю.М. Роль молекулы клеточной адгезии е-кадгерина в онтогенезе человека в норме и патологии / Ю.М. Засадкевич, С.В. Сазонов // Морфология. – 2014. – Т. 146, № 5. – С. 78–82.

20. Зборовская И.Б. Современные стратегии исследования маркеров опухолевого роста в клинической практике / И.Б. Зборовская // Успехи молекулярной онкологии. – 2014. – № 2. – С. 4–15.

21. Иванова Ю.Л. Иммуноцитохимическая визуализация рецептора P185her2 с помощью антител, соединенных с дибарназой, и конъюгатов барстара с коллоидным золотом / Ю.Л. Иванова, Э.Ф. Эдельвейс, О.Г. Леонова, Т.Г. Баландин, В.И. Попенко, С.М. Деев // Молекулярная биология. – 2013. – Т. 47, № 5. – С. 818.

22. Карасев В.Е. Значение послеоперационной гормональной терапии вида оперативного вмешательства в рецидивировании фиброаденом молочных желез у женщин репродуктивного возраста / В.Е. Карасев, В.Т. Долгих, О. Корпачева, А.В. Ершов // Клиническая патофизиология. – 2016. – Т. 22, № 4. – С. 33–39.

23. Кириллина М.П. Иммуногистохимическое исследование рецепторов стероидных гормонов при раке молочной железы / М.П. Кириллина // Онкохирургия. – 2011. – Т. 3, № 2. – С. 37–38.

24. Колядина И.В. Иммунная гетерогенность рака молочной железы I стадии: биологическое, популяционное и прогностическое значение (опыт международного сотрудничества) / И.В. Колядина, И.В. Поддубная, С.Ј.Н. Van de Velde, P.J.K. Kuppen, Г.А. Франк, Д.В. Комов, А.И. Карселадзе, E. Bastiaannet, N.G. Dekker-Ensink // Современная онкология. – 2015. – Т. 17, № 1. – С. 30–38.

25. Конышев К.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 / К.В.Конышев, С.В.Сазонов // Вестник уральской медицинской академической науки. – 2018. – Т. 15, №1. – С. 48-54.

26. Конышев К.В. Her2/neu-статус первичной опухоли и регионарных метастазов при раке молочной железы // К.В.Конышев, С.В.Сазонов, А.А. Бриллиант // Вестник уральской медицинской академической науки. – 2015. –Т. 54, №3. –С. 40-42.

27. Кобышев К.В. Уровень экспрессии Ki67 в ткани первичной опухоли и регионарных метастазов при раке молочной железы / К.В.Кобышев, С.В.Сазонов, А.А. Бриллиант // Уральский медицинский журнал. – 2015. –Т. 130, №7. –С. 51-55.

28. Кобышев К.В. Изменение экспрессии рецепторов к эстрогену клетками карциномы молочной железы при регионарном метастазировании / К.В.Кобышев, С.В.Сазонов, А.А. Бриллиант // Вестник уральской медицинской академической науки. –2015. –Т. 53, №2. –С. 4-6.

29. Кобышев К.В. Экспрессия гормональных рецепторов клетками регионарных метастазов и первичного очага при раке молочной железы. / К.В.Кобышев, С.В.Сазонов, А.А. Бриллиант // Уральский медицинский журнал. –2014. –Т. 116, №2. –С. 48-50.

30. Кобышев К.В. Взаимосвязь изменений уровней экспрессии рецепторов эстрогена и прогестерона при регионарном метастазировании рака молочной железы / К.В.Кобышев, С.В.Сазонов // Морфология. – 2018. – Т. 153, №3. – С. 146.

31. Кобышев К.В. Стандартизация иммуногистохимического определения уровня экспрессии Ki67 в клетках различных тканей / К.В.Кобышев, С.В.Сазонов, А.А. Бриллиант // Морфология. – 2017. – №3. – С. 100.

32. Кобышев К.В. Экспрессия рецепторов эстрогенов на клетках первичной опухоли и регионарных метастазов при раке молочной железы / К.В.Кобышев, С.В.Сазонов, А.А. Бриллиант // Морфология. – 2014. – Т. 145, №3. – С. 100.

33. Коржевский Д.Э. Основы гистологической техники / Д.Э. Коржевский, А.В. Гиляров. – СПб: СпецЛит, 2010. – 95 с.

34. Красильников М.А. Сигнальные пути, регулируемые эстрогенами, и их роль в опухолевой прогрессии: новые факты и направления поиска / М.А. Красильников, А.М. Щербаков // Успехи молекулярной онкологии. – 2014. – № 1. – С. 12–26.

35. Краснов Г.С. Молекулярно-генетические механизмы формирования лекарственной устойчивости при терапии рака предстательной железы / Г.С. Краснов, А.А. Дмитриев, А.Ф. Садритдинова, Н.Н. Волченко, Е.Н. Славнова, Т.В. Данилова, А.В. Снежкина, Н.В. Мельникова, М.С. Федорова, В.А. Лакунина, А.А. Белова, К.М. Ньюшко, Б.Я. Алексеев, А.Д. Каприн, А.В. Кудрявцева // Молекулярная биология. – 2015. – Т. 49, № 5. – С. 716.

36. Крахмаль Н.В. Инвазия опухолевых эпителиальных клеток: механизмы и проявления / Н.В. Крахмаль, М.В. Завьялова, Е.В. Де-

нисов, С.В. Вторушин, В.М. Перельмутер // Acta Naturae (русская-зычная версия). – 2015. – Т. 7, № 2. – С. 18–31.

37. Кушлинский Н.Е. Молекулярные механизмы опухолевого роста / Н.Е. Кушлинский, М.В. Немцова // Патогенез. – 2014. – Т. 12, № 1. – С. 4–14.

38. Логинова Н.П. Особенности экспрессии цитокератинов 5 и 8 в клетках эпителиальной стромы тимуса и количество Т-Рес в периферических Т-лимфоцитах у детей с врожденными пороками сердца / Н.П. Логинова, В.А. Четвертных, В.В. Семченко, Е.В. Сайдакова, Н.В. Чемурзиева // Иммунология. – 2014. – Т. 35, № 6. – С. 333–337.

39. Любимова Н.В. Биохимические маркеры метастазирования в кости / Н.В. Любимова, Н.Е. Кушлинский // Успехи молекулярной онкологии. – 2015. – № 1. – С. 61–75.

40. Мазуренко Н.Н. Спектр мутаций онкогенов различается в субтипах меланомы кожи / Н.Н. Мазуренко, И.В. Цыганова, А.А. Лушников, Д.А. Понкротова, О.А. Анурова, Е.А. Черемушкин, И.Н. Михайлова, Л.В. Демидов // Молекулярная биология. – 2015. – Т. 49, № 6. – С. 1022.

41. Михалева Л.М. Гистологическое и иммуногистохимическое исследования в диагностике амилоидоза печени / Л.М. Михалева, З.В. Гиоева, К. Рёкен // Архив патологии. – 2015. – Т. 77, № 4. – С. 11–16.

42. Мнихович М.В. Иммуногистохимическая оценка экспрессии кадгерин-катенинового комплекса при раке молочной железы / М.В. Мнихович, К.Ю. Мидибер, А.Р. Галлямова, А.Г. Эрзиева, В.В. Лучинин, С.В. Анистратов, А.В. Шилов // Журнал анатомии и гистопатологии. – 2017. – Т. 6, № 1. – С. 63–68.

43. Мнихович М.В. Гетеротипический клеточный каннибализм в опухолевых клетках молочной железы / М.В. Мнихович, В.В. Печникова // Журнал анатомии и гистопатологии. – 2015. – Т. 4, № 15. – С. 83–84.

44. Невожай В.И. Иммуногистохимическое исследование рецепторов стероидных гормонов при раке молочной железы / В.И. Невожай, Е.С. Мюллер // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2007. – № 4. – С. 79–80.

45. Пак Д.Д. Подтипы рака молочной железы / Д.Д. Пак, Е.А. Расказова, Т.В. Данилова // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2012. – № 3–4. – С. 13–19.

46. Пальцева Е.М. Экспрессия ряда молекулярно-биологических маркеров в первичных аденокарциномах толстой кишки и их мета-

стазах в лимфатических узлах / Е.М. Пальцева, О.Ю. Самофалова, Ю.В. Горбачева, П.В. Царьков // Архив патологии. – 2012. – Т. 74, № 4. – С. 12–20.

47. Петри А. Наглядная медицинская статистика / А. Петри, К. Сэбин. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2015. Вып. 3. – 216 с.

48. Петров С.В. Возможности и ограничения иммуногистохимического анализа в клинической онкологии / С.В. Петров // Уральский медицинский журнал. – 2014. – № 8. – С. 5–9.

49. Савостикова М.В. Иммуноцитохимическое определение важнейших факторов прогноза у больных раком молочной железы / М.В. Савостикова, И.Ю. Коротких, К.П. Лактионов // Онкология. Журнал им. П.А. Герцена. – 2014. – Т. 2, № 1. – С. 33–36.

50. Сазонов С.В. Гистологические и иммуногистохимические проявления эпителио-мезенхимального перехода при тройном негативном раке молочной железы / С.В. Сазонов, К.В. Конышев, Н.В. Казанцева, М.В. Токарева, Ю.М. Бриллиант // Вестник уральской медицинской академической науки 2016. – № 2. – С. 53–63.

51. Семина С.Е. Межклеточные взаимодействия и развитие гормональной резистентности клеток ракомолочной железы / С.Е. Семина, Д.В. Багров, М.А. Красильников // Успехи молекулярной онкологии. – 2015. – № 2. – С. 50–55.

52. Слонимская Е.М. Роль морфологических и генетических особенностей строения рецепторов эстрогенов альфа в развитии резистентности к эндокринотерапии тамоксифеном у пациенток с люминальным раком молочной железы / Е.М. Слонимская, С.В. Вторушин, Н.Н. Бабышкина, С.В. Паталяк // Сибирский онкологический журнал. – 2014. – № 3. – С. 39–44.

53. Соцкова Е.А. Факторы, влияющие на метастазирование в парастернальные лимфатические узлы при раке молочной железы центральной локализации / Е.А. Соцкова, А.В. Петровский, М.И. Нечушкин, Н.В. Бекузарова, И.В. Поддубная // Сибирский онкологический журнал. – 2009. – № 4. – С. 79–80.

54. Федянин М.Ю. Внутриопухолевая гетерогенность и клональная эволюция рака толстой кишки / М.Ю. Федянин, Х.М. Эльснукаева, С.А. Тюлядин // Успехи молекулярной онкологии. – 2017. – Т. 4, № 1. – С. 24–34.

55. Фесик Е.А. Особенности лимфогенного метастазирования при билатеральном раке молочных желез / Е.А. Фесик, Н.В. Крахмаль, М.В. Завьялова, Е.М. Слонимская, С.В. Вторушин, В.М. Перельмутер // Бюллетень сибирской медицины. – 2014. – Т. 13, № 6. – С.

20–26.

56. Франк Г.А. Рак молочной железы. Практическое руководство для врачей / Г.А. Франк, Л.Э. Завалишина, К.М. Пожарисский. – М.: Практическая медицина, 2014. – 176 с.

57. Хисамов А.А. Механизмы развития и пути преодоления эндокринной резистентности при раке молочной железы / А.А. Хисамов, О.О. Мануйлова, М.Ю. Бяхов // Злокачественные опухоли. – 2015. – Т. 15, № 4. – С. 54–63.

58. Чикина А.С. Метастазирование: клеточные механизмы и их регуляция / А.С. Чикина, А.Ю. Александрова // Молекулярная биология. – 2014. – Т. 48, № 2. – С. 195.

59. Шапошников А.В. Строение сигнального пути Jak/Stat и его взаимосвязь с аппаратом транскрипции / А.В. Шапошников, И.Ф. Комарьков, Л.А. Лебедева, Ю.В. Шидловский // Молекулярная биология. – 2013. – Т. 47, № 3. – С. 388.

60. Щербаков А.М. Молекулярные механизмы гормональной резистентности рака молочной железы: роль сигнальных путей NF- κ B и Snail1 / А.М. Щербаков, О.Е. Андреева, А.А. Шарапов, Р.К. Таноян // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2013. – Т. 11, № 12. – С. 42–52.

61. Van Agthoven T. Expression of estrogen, progesterone and epidermal growth factor receptors in primary and metastatic breast cancer / T. van Agthoven, M. Timmermans, L.C.J. Dorssers, S.C. Henzen-Logmans // Int. J. Cancer. – 1995. – Т. 63, № 6. – С. 790–793.

62. Aitken S.J. Quantitative analysis of changes in ER, PR and HER2 expression in primary breast cancer and paired nodal metastases. / S.J. Aitken, J.S. Thomas, S.P. Langdon, D.J. Harrison, D. Faratian // Ann. Oncol. – 2010. – Т. 21, № 6. – С. 1254–61.

63. Akiyama T. The product of the human c-erbB-2 gene: a 185-kilodalton glycoprotein with tyrosine kinase activity. / T. Akiyama, C. Sudo, H. Ogawara, K. Toyoshima, T. Yamamoto // Science (80-). – 1986. – Т. 232, № 4758. – С. 1644–1646.

64. Allred D.C. Prognostic and predictive factors in breast cancer by immunohistochemical analysis. / D.C. Allred, J.M. Harvey, M. Berardo, G.M. Clark // Mod. Pathol. – 1998. – Т. 11, № 2. – С. 155–68.

65. Amir E. Discordance between Receptor Status in Primary and Metastatic Breast Cancer: an Exploratory Study of Bone and Bone Marrow Biopsies / E. Amir, W.S. Ooi, C. Simmons, H. Kahn, M. Christakis, S. Popovic, M. Kalina, A. Chesney, G. Singh, M. Clemons // Clin. Oncol. – 2008. – Т. 20, № 10. – С. 763–768.

66. Amir E. Prospective study evaluating the impact of tissue confirmation of metastatic disease in patients with breast cancer / E. Amir, N. Miller, W. Geddie, O. Freedman, F. Kassam, C. Simmons, M. Oldfield, G. Dranitsaris, G. Tomlinson, A. Laupacis, I.F. Tannock, M. Clemons // *J. Clin. Oncol.* – 2012. – T. 30, № 6. – C. 587–592.

67. Andrechek E.R. Targeted disruption of ErbB2/Neu in the mammary epithelium results in impaired ductal outgrowth. / E.R. Andrechek, D. White, W.J. Muller // *Oncogene.* – 2005. – T. 24, № 5. – C. 932–7.

68. Aoyama K. A comparison of HER2/neu gene amplification and its protein overexpression between primary breast cancer and metastatic lymph nodes. / K. Aoyama, T. Kamio, T. Nishikawa, S. Kameoka // *Jpn. J. Clin. Oncol.* – 2010. – T. 40, № 7. – C. 613–9.

69. Arihiro K. Discordant HER2 status between primary breast carcinoma and recurrent/metastatic tumors using fluorescence in situ hybridization on cytological samples / K. Arihiro, M. Oda, K. Ogawa, K. Tominaga, Y. Kaneko, T. Shimizu, S. Matsumoto, M. Oda, Y. Kurita, Y. Taira // *Jpn. J. Clin. Oncol.* – 2013. – T. 43, № 1. – C. 55–62.

70. Ataseven B. HER2/neu, Topoisomerase 2a, Estrogen and Progesterone Receptors: Discordance between Primary Breast Cancer and Metastatic Axillary Lymph Node in Expression and Amplification Characteristics. / B. Ataseven, D. Gologan, A. Gunesch, V. Kehl, B. Hoegel, M. Beer, W. Eiermann // *Breast Care (Basel).* – 2012. – T. 7, № 6. – C. 465–70.

71. Aurilio G. Discordant hormone receptor and human epidermal growth factor receptor 2 status in bone metastases compared to primary breast cancer / G. Aurilio, L. Monfardini, S. Rizzo, A. Sciandivasci, L. Preda, V. Bagnardi, D. Disalvatore, G. Pruneri, E. Munzone, P. Della Vigna, G. Renne, M. Bellomi, G. Curigliano, A. Goldhirsch, F. Nolè // *Acta Oncol. (Madr).* – 2013. – T. 52, . – C. 1649–1656.

72. Aurilio G. A meta-analysis of oestrogen receptor, progesterone receptor and human epidermal growth factor receptor 2 discordance between primary breast cancer and metastases / G. Aurilio, D. Disalvatore, G. Pruneri, V. Bagnardi, G. Viale, G. Curigliano, L. Adamoli, E. Munzone, A. Sciandivasci, F. De Vita, A. Goldhirsch, F. Nolè // *Eur. J. Cancer.* – 2014. – T. 50, № 2. – C. 277–289.

73. Ballaré C. Nucleosome-Driven Transcription Factor Binding and Gene Regulation / C. Ballaré, G. Castellano, L. Gaveglia, S. Althammer, J. González-Vallinas, E. Eyra, F. Le Dily, R. Zaurin, D. Soronellas, G.P. Vicent, M. Beato // *Mol. Cell.* – 2013. – T. 49, № 1. – C. 67–79.

74. Birnbaum D. A reason why the ERBB2 gene is amplified and

not mutated in breast cancer / D. Birnbaum, F. Sircoulomb, J. Imbert // *Cancer Cell Int.* – 2009. – T. 9, № 1. – C. 5.

75. Björnström L. Mechanisms of Estrogen Receptor Signaling: Convergence of Genomic and Nongenomic Actions on Target Genes / L. Björnström, M. Sjöberg // *Mol. Endocrinol.* – 2005. – T. 19, № 4. – C. 833–842.

76. Bogina G. Comparison of hormonal receptor and HER-2 status between breast primary tumours and relapsing tumours: clinical implications of progesterone receptor loss / G. Bogina, L. Bortesi, M. Marconi, M. Venturini, G. Lunardi, F. Coati, A. Massocco, E. Manfrin, C. Pegoraro, G. Zamboni // *Virchows Arch.* – 2011. – T. 459, № 1. – C. 1–10.

77. Bozzetti C. Comparison of HER2 status in primary and paired metastatic sites of gastric carcinoma. / C. Bozzetti, F. V Negri, C.A. Lagrasta, P. Crafa, C. Bassano, I. Tamagnini, G. Gardini, R. Nizzoli, F. Leonardi, D. Gasparro, R. Camisa, S. Cavalli, S. Capelli, E.M. Silini, A. Ardizzoni // *Br. J. Cancer.* – 2011. – T. 104, № 9. – C. 1372–6.

78. Brisken C. Progesterone signalling in breast cancer: a neglected hormone coming into the limelight. / C. Brisken // *Nat. Rev. Cancer.* – 2013. – T. 13, № 6. – C. 385–96.

79. Broom R.J. Changes in estrogen receptor, progesterone receptor and Her-2/neu status with time: discordance rates between primary and metastatic breast cancer. / R.J. Broom, P.A. Tang, C. Simmons, L. Bordeleau, A.M. Mulligan, F.P. O'Malley, N. Miller, I.L. Andrulis, D.M. Brenner, M.J. Clemons // *Anticancer Res.* – 2009. – T. 29, № 5. – C. 1557–62.

80. Brown D.C. Ki67 protein: The immaculate deception? // *Histopathology.* 2002. T. 40. № 1. C. 2–11.

81. Buxant F. Ki-67 Immunostaining Activity is Higher in Positive Axillary Lymph Nodes than in the Primary Breast Tumor / F. Buxant, V. Anaf, P. Simon, I. Fayt, J.C. Noël // *Breast Cancer Res. Treat.* – 2002. – T. 75, № 1. – C. 1–3.

82. Cardoso F. Locally recurrent or metastatic breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. / F. Cardoso, N. Harbeck, L. Fallowfield, S. Kyriakides, E. Senkus // *Ann. Oncol.* – 2012. – T. 23 Suppl 7, № suppl_7. – C. vii11-9.

83. Carlsson J. HER2 expression in breast cancer primary tumours and corresponding metastases. Original data and literature review / J. Carlsson, H. Nordgren, J. Sjöström, K. Wester, K. Villman, N.O. Bengtsson, B. Ostenstad, H. Lundqvist, C. Blomqvist // *Br. J. Cancer.* –

2004. – T. 90, № 12. – C. 2344–8.

84. Castoria G. PI3-kinase in concert with Src promotes the S-phase entry of oestradiol-stimulated MCF-7 cells / G. Castoria, A. Migliaccio, A. Bilancio, M. Di Domenico, A. De Falco, M. Lombardi, R. Fiorentino, L. Varricchio, M.V. Barone, F. Auricchio // *EMBO J.* – 2001. – T. 20, № 21. – C. 6050–6059.

85. Chan A. A retrospective study investigating the rate of HER2 discordance between primary breast carcinoma and locoregional or metastatic disease. / A. Chan, A. Morey, B. Brown, D. Hastrich, P. Willsher, D. Ingram // *BMC Cancer.* – 2012. – T. 12, . – C. 555.

86. Chang H.J. Discordant human epidermal growth factor receptor 2 and hormone receptor status in primary and metastatic breast cancer and response to trastuzumab. / H.J. Chang, S.-W. Han, D.-Y. Oh, S.-A. Im, Y.K. Jeon, I.A. Park, W. Han, D.-Y. Noh, Y.-J. Bang, T.-Y. Kim // *Jpn. J. Clin. Oncol.* – 2011. – T. 41, № 5. – C. 593–9.

87. Cho E.Y. Comparison of Her-2, EGFR and cyclin D1 in primary breast cancer and paired metastatic lymph nodes: an immunohistochemical and chromogenic in situ hybridization study. / E.Y. Cho, J.J. Han, Y.-L. Choi, K.-M. Kim, Y.L. Oh // *J. Korean Med. Sci.* – 2008. – T. 23, № 6. – C. 1053–61.

88. Coates A.S. Tailoring therapies - improving the management of early breast cancer: St GallenInternational Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2015 / A.S. Coates, E.P. Winer, A. Goldhirsch, R.D. Gelber, M. Gnant, M. Piccart-Gebhart, B. Thurlimann, H.-J. Senn, Panel members, F. Andre, J. Baselga, J. Bergh, H. Bonnefoi, H. Burstein, F. Cardoso, M. Castiglione-Gertsch, a. S. Coates, ... B. Xu // *Ann. Oncol.* – 2015. – T. 26, № 8. – C. 1533–1546.

89. Condeelis J. Macrophages: obligate partners for tumor cell migration, invasion, and metastasis / J. Condeelis, J.W. Pollard // *Cell.* – 2006. – T. 124, № 2. – C. 263–266.

90. Cui X. Biology of progesterone receptor loss in breast cancer and its implications for endocrine therapy. / X. Cui, R. Schiff, G. Arpino, C.K. Osborne, A. V Lee // *J. Clin. Oncol.* – 2005. – T. 23, № 30. – C. 7721–35.

91. Cuylen S. Ki-67 acts as a biological surfactant to disperse mitotic chromosomes / S. Cuylen, C. Blaukopf, A.Z. Politi, T. Müller-Reichert, B. Neumann, I. Poser, J. Ellenberg, A.A. Hyman, D.W. Gerlich // *Nature.* – 2016. – T. 535, № 7611. – C. 308–312.

92. D’Andrea M.R. Correlation between genetic and biological aspects in primary non-metastatic breast cancers and corresponding synchronous

axillary lymph node metastasis / M.R. D'Andrea, M.R. Limiti, M. Bari, P. Zambenedetti, A. Montagutti, F. Ricci, G.L. Pappagallo, D. Sartori, O. Vinante, P.L. Mingazzini // *Breast Cancer Res. Treat.* – 2007. – T. 101, № 3. – C. 279–284.

93. Dawood S. Prognosis of women with metastatic breast cancer by HER2 status and trastuzumab treatment: An institutional-based review / S. Dawood, K. Broglio, A.U. Buzdar, G.N. Hortobagyi, S.H. Giordano // *J. Clin. Oncol.* – 2010. – T. 28, № 1. – C. 92–98.

94. Dieci M. V. Discordance in receptor status between primary and recurrent breast cancer has a prognostic impact: A single-institution analysis / M. V. Dieci, E. Barbieri, F. Piacentini, G. Ficarra, S. Bettelli, M. Dominici, P.F. Conte, V. Guarneri // *Ann. Oncol.* – 2013. – T. 24, № 1. – C. 101–108.

95. Dueñas E.M. de Prospective evaluation of the conversion rate in the receptor status between primary breast cancer and metastasis: results from the GEICAM 2009-03 ConvertHER study / E.M. de Dueñas, A.L. Hernández, Á.G. Zotano, R.M.P. Carrión, J.I.C. López-Muñiz, S.A. Novoa, Á.L. Rodríguez, J.A.P. Fidalgo, J.F. Lozano, O.B. Gasión, E.C. Carrascal, A.H. Capilla, I.B. López-Barajas, M.M. Mateu, M.H.L. de Ceballos Reyna, A.O. Ferrando, N.M. Jañez, A.M. González-Angulo // *Breast Cancer Res. Treat.* – 2014. – T. 143, № 3. – C. 507–515.

96. Eger A. Epithelial mesenchymal transition by c-Fos estrogen receptor activation involves nuclear translocation of beta-catenin and upregulation of beta-catenin/lymphoid enhancer binding factor-1 transcriptional activity / A. Eger, A. Stockinger, B. Schaffhauser, H. Beug, R. Foisner // *J. Cell Biol.* – 2000. – T. 148, № 1. – C. 173–187.

97. Fabi A. HER2 Protein and Gene Variation between Primary and Metastatic Breast Cancer: Significance and Impact on Patient Care / A. Fabi, A. Di Benedetto, G. Metro, L. Perracchio, C. Nisticò, F. Di Filippo, C. Ercolani, G. Ferretti, E. Melucci, S. Buglioni, I. Sperduti, P. Papaldo, F. Cognetti, M. Mottotese // *Clin Cancer Res.* – T. 17, № 7. – C. 2055–64.

98. Falck A.-K. St Gallen molecular subtypes in primary breast cancer and matched lymph node metastases--aspects on distribution and prognosis for patients with luminal A tumours: results from a prospective randomised trial. / A.-K. Falck, M. Fernö, P.-O. Bendahl, L. Rydén // *BMC Cancer.* – 2013. – T. 13, . – C. 558.

99. Falck A.K. Biomarker expression and St Gallen molecular subtype classification in primary tumours, synchronous lymph node metastases and asynchronous relapses in primary breast cancer patients with 10 years' follow-up / A.K. Falck, P.O. Bendahl, G. Chebil, H. Olsson, M.

Fernö, L. Rydén // *Breast Cancer Res. Treat.* – 2013. – T. 140, № 1. – С. 93–104.

100. Gancberg D. Comparison of HER-2 status between primary breast cancer and corresponding distant metastatic sites. / D. Gancberg, A. Di Leo, F. Cardoso, G. Rouas, M. Pedrocchi, M. Paesmans, A. Verhest, C. Bernard-Marty, M.J. Piccart, D. Larsimont // *Ann. Oncol.* – 2002. – T. 13, № 7. – С. 1036–43.

101. Gerratana L. Differences in hormonal receptor status and Ki67 expression between primary breast cancer and metastasis: Is variation related to previous therapy? / L. Gerratana, E. Poletto, M. Bonotto, A. Minisini, E. Ongaro, C. Bozza, M. Cinausero, C.D.L. Loreto, G. Fasola, F. Puglisi // *J. Clin. Oncol.* – 2014. – T. 32, № suppl; abstr e22006.

102. Giretti M.S. Extra-Nuclear Signalling of Estrogen Receptor to Breast Cancer Cytoskeletal Remodelling, Migration and Invasion / M.S. Giretti, X.-D. Fu, G. De Rosa, I. Sarotto, C. Baldacci, S. Garibaldi, P. Mannella, N. Biglia, P. Sismondi, A.R. Genazzani, T. Simoncini // *PLoS One.* – 2008. – T. 3, № 5. – С. e2238.

103. Goldhirsch A. Personalizing the treatment of women with early breast cancer: Highlights of the st gallen international expert consensus on the primary therapy of early breast Cancer 2013 / A. Goldhirsch, E.P. Winer, A.S. Coates, R.D. Gelber, M. Piccart-Gebhart, B. Thürlimann, H.J. Senn, K.S. Albain, F. André, J. Bergh, H. Bonnefoi, D. Bretel-Morales, H. Burstein, F. Cardoso, M. Castiglione-Gertsch, A.S. Coates, M. Colleoni, W.C. Wood // *Ann. Oncol.* – 2013. – T. 24, № 9. – С. 2206–2223.

104. Gong Y. Comparison of HER-2 status determined by fluorescence in situ hybridization in primary and metastatic breast carcinoma. / Y. Gong, D.J. Booser, N. Sneige // *Cancer.* – 2005. – T. 103, № 9. – С. 1763–9.

105. Grimm S.L. Progesterone Receptor Signaling Mechanisms / S.L. Grimm, S.M. Hartig, D.P. Edwards // *J. Mol. Biol.* – 2016. – T. 428, № 19. – С. 3831–3849.

106. Hammond M.E.H. American Society of Clinical Oncology / College of American Pathologists Guideline Recommendations for Immunohistochemical Testing of Estrogen and Progesterone Receptors in Breast Cancer / M.E.H. Hammond, D.F. Hayes, M. Dowsett, D.C. Allred, K.L. Hagerty, S. Badve, P.L. Fitzgibbons, G. Francis, N.S. Goldstein, M. Hayes, D.G. Hicks, S. Lester, R. Love, P.B. Mangu, L. McShane, K. Miller, C.K. Osborne, A. C. Wolff // *Arch. Pathol. Lab. Med.* – 2010. – T. 134, № 6. – С. 907–1101.

107. Hanahan D. Hallmarks of cancer: The next generation / // *Cell.*

2011. T. 144. № 5. C. 646–674.

108. Harvey J.M. Estrogen receptor status by immunohistochemistry is superior to the ligand-binding assay for predicting response to adjuvant endocrine therapy in breast cancer. / J.M. Harvey, G.M. Clark, C.K. Osborne, D.C. Allred // J. Clin. Oncol. – 1999. – T. 17, № 5. – C. 1474–1481.

109. Hoefnagel L.D. Receptor conversion in distant breast cancer metastases / L.D. Hoefnagel, M. Vijver, H.J. Slooten // Breast cancer Res. – 2010. – T. 12, . – C. R75.

110. Holdaway I.M. Variation in receptor status between primary and metastatic breast cancer / I.M. Holdaway, J. V. Bowditch // Cancer. – 1983. – T. 52, № 3. – C. 479–485.

111. Hopp T.A. Low Levels of Estrogen Receptor β Protein Predict Resistance to Tamoxifen Therapy in Breast Cancer / T.A. Hopp, H.L. Weiss, I.S. Parra, Y. Cui, C.K. Osborne, S.A.W. Fuqua // Clin. Cancer Res. – 2004. – T. 10, № 22. – C. 7490–7499.

112. Hurst H.C. Update on HER-2 as a target for cancer therapy: the ERBB2 promoter and its exploitation for cancer treatment. / H.C. Hurst // Breast cancer Res. – 2001. – T. 3, № 6. – C. 395–398.

113. Ibrahim T. Hormonal receptor, human epidermal growth factor receptor-2, and Ki67 discordance between primary breast cancer and paired metastases: clinical impact / T. Ibrahim, A. Farolfi, E. Scarpi, L. Mercatali // Oncology. – 2013. – T. 84, № 3. – C. 150–157.

114. Idirisinghe P.K. a. Hormone Receptor and c-ERBB2 Status in Distant Metastatic and Locally Recurrent Breast Cancer: Pathologic Correlations and Clinical Significance / P.K. a. Idirisinghe, a. a. Thike, P.Y. Cheok, G.M.-K. Tse, P.C.-W. Lui, S. Fook-Chong, N.S. Wong, P.H. Tan // Am. J. Clin. Pathol. – 2010. – T. 133, № 3. – C. 416–429.

115. Ieni A. Discordance rate of HER2 status in primary breast carcinomas versus synchronous axillary lymph node metastases: a multicenter retrospective investigation. / A. Ieni, V. Barresi, R. Caltabiano, A.M. Cascone, R. Del Sordo, D. Cabibi, P. Zeppa, S. Lanzafame, A. Sidoni, V. Franco, G. Tuccari // Onco. Targets. Ther. – 2014. – T. 7, . – C. 1267–72.

116. Kahlert S. Estrogen receptor alpha rapidly activates the IGF-1 receptor pathway. / S. Kahlert, S. Nuedling, M. van Eickels, H. Vetter, R. Meyer, C. Grohe // J. Biol. Chem. – 2000. – T. 275, № 24. – C. 18447–53.

117. Kalluri R. The basics of epithelial-mesenchymal transition / // J. Clin. Invest. 2009. T. 119. № 6. C. 1420–1428.

118. Kanczuga-Koda L. ER α and ER β expression in correlation with

Ki-67, Bcl-2 and Bak in primary tumors and lymph node metastases of breast cancer: The effect of pre-operative chemotherapy / L. Kanczuga-Koda, M. Koda, J. Tomaszewski, K. Jarzabek, J. Lotowska, M. Baltaziak, U. Sulkowska, M. Sobaniec-Lotowska, S. Sulkowski // *Oncol. Lett.* – 2010. – T. 1, № 6. – C. 1067–1071.

119. Katzenellenbogen B.S. Estrogen receptors: bioactivities and interactions with cell signaling pathways. / B.S. Katzenellenbogen // *Biol. Reprod.* – 1996. – T. 54, № 2. – C. 287–293.

120. Kaufman P.A. Assessing the discordance rate between local and central HER2 testing in women with locally determined HER2-negative breast cancer / P.A. Kaufman, K.J. Bloom, H. Burris, J.R. Gralow, M. Mayer, M. Pegram, H.S. Rugo, S.M. Swain, D.A. Yardley, M. Chau, D. Lalla, B. Yoo, M.G. Brammer, C.L. Vogel // *Cancer.* – 2014. – T. 120, № 17. – C. 2657–2664.

121. Khasraw M. The need to examine metastatic tissue at the time of progression of breast cancer: is re-biopsy a necessity or a luxury? / M. Khasraw, E. Brogi, A.D. Seidman // *Curr. Oncol. Rep.* – 2011. – T. 13, № 1. – C. 17–25.

122. Kinsella M.D. Estrogen receptor (ER), progesterone receptor (PR), and HER2 expression pre- and post- neoadjuvant chemotherapy in primary breast carcinoma: a single institutional experience. / M.D. Kinsella, A. Nassar, M.T. Siddiqui, C. Cohen // *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* – 2012. – T. 5, № 6. – C. 530–6.

123. Konyshov K.V. Correlation of changes of estrogen receptor and progesterone receptor expression levels in locoregional metastases of breast cancer comparing with primary tumour / K.V. Konyshov, S.V. Sazonov // *Virchows Archiv.* – 2018. – T. 473, №S.1. – C. S50.

124. Konyshov K.V. Change of Her2/neu protein expression level and Her2/neu status in local metastases of breast cancer with its equivocal (2+) expression in primary tumour / K.V. Konyshov, N.V. Kazantseva, S.V. Sazonov // *Virchows Archiv.* – 2017. – T. 471, №S1. – C. S295-S296.

125. Konyshov K.V. Ki67 and estrogen receptor changes in breast cancer local metastases / K.V. Konyshov, A.A. Brilliant, S.V. Sazonov // *Virchows Archiv.* – 2016. – T. 469, №S1. – C. S61.

126. Konyshov K.V. Her2/neu in local metastases and primary focus of breast cancer K.V. Konyshov, S.V. Sazonov // *Virchows Archiv.* – 2015. – T. 467, №1. – C. S55.

127. Kumar R. A naturally occurring MTA1 variant sequesters oestrogen receptor-alpha in the cytoplasm. / R. Kumar, R.-A. Wang, A. Mazumdar, A.H. Talukder, M. Mandal, Z. Yang, R. Bagheri-Yarmand, A.

Sahin, G. Hortobagyi, L. Adam, C.J. Barnes, R.K. Vadlamudi // *Nature*. – 2002. – T. 418, № 6898. – C. 654–7.

128. Lacroix H. Overexpression of erbB-2 or EGF receptor proteins present in early stage mammary carcinoma is detected simultaneously in matched primary tumors and regional metastases. / H. Lacroix, J.D. Iglehart, M.A. Skinner, M.H. Kraus // *Oncogene*. – 1989. – T. 4, № 2. – C. 145–51.

129. Lamb R. Wnt Pathway Activity in Breast Cancer Sub-Types and Stem-Like Cells / R. Lamb, M.P. Ablett, K. Spence, G. Landberg, A.H. Sims, R.B. Clarke // *PLoS One*. – 2013. – T. 8, № 7.

130. Lieberman B. a The constitution of a progesterone response element. / B. a Lieberman, B.J. Bona, D.P. Edwards, S.K. Nordeen // *Mol. Endocrinol.* – 1993. – T. 7, № 4. – C. 515–27.

131. Liedtke C. Prognostic impact of discordance between triple-receptor measurements in primary and recurrent breast cancer / C. Liedtke, K. Broglio, S. Moulder, L. Hsu, S.W. Kau, W.F. Symmans, C. Albarracin, F. Meric-Bernstam, W. Woodward, R.L. Theriault, L. Kiesel, G.N. Hortobagyi, L. Pusztai, A.M. Gonzalez-Angulo // *Ann. Oncol.* – 2009. – T. 20, № 12. – C. 1953–1958.

132. Losel R.M. Nongenomic steroid action: controversies, questions, and answers / R.M. Losel, E. Falkenstein, M. Feuring, A. Schultz, H.-C. Tillmann, K. Rossol-Haseroth, M. Wehling // *Physiol. Rev.* – 2003. – .

133. Macfarlane R. Molecular alterations between the primary breast cancer and the subsequent locoregional/metastatic tumor. / R. Macfarlane, M. Seal, C. Speers, R. Woods, H. Masoudi, S. Aparicio, S.K. Chia // *Oncologist*. – 2012. – T. 17, № 2. – C. 172–8.

134. Manavathi B. Derailed Estrogen Signaling and Breast Cancer: An Authentic Couple / B. Manavathi, O. Dey, V.N.R. Gajulapalli, R.S. Bhatia, S. Bugide, R. Kumar // *Endocr. Rev.* – 2013. – T. 34, № 1. – C. 1–32.

135. Martin-Villar E. Podoplanin binds ERM proteins to activate RhoA and promote epithelial-mesenchymal transition / E. Martin-Villar, D. Megias, S. Castel, M.M. Yurrita, S. Vilaro, M. Quintanilla // *J. Cell Sci.* – 2006. – T. 119, № 21. – C. 4541–4553.

136. Mejlvang J. Characterization of E-cadherin-dependent and -independent events in a new model of c-Fos-mediated epithelial-mesenchymal transition / J. Mejlvang, M. Kriaevska, F. Berditshevski, I. Bronstein, E.M. Lukanidin, J.H. Pringle, J.K. Mellon, E.M. Tulchinsky // *Exp. Cell Res.* – 2007. – T. 313, № 2. – C. 380–393.

137. Moasser M.M. The oncogene HER2; Its signaling and transforming

functions and its role in human cancer pathogenesis / M.M. Moasser // *Oncogene*. – 2007. – T. 26, № 45. – C. 6469–6487.

138. Moggs J.G. Estrogen receptors: orchestrators of pleiotropic cellular responses. / J.G. Moggs, G. Orphanides // *EMBO Rep*. – 2001. – T. 2, № 9. – C. 775–81.

139. Moi L.L.H. Steroid receptor coactivators, HER-2 and HER-3 expression is stimulated by tamoxifen treatment in DMBA-induced breast cancer / L.L.H. Moi, M.H. Flågeng, J. Gjerde, A. Madsen, T.H. Røst, O.A. Gudbrandsen, E.A. Lien, G. Mellgren // *BMC Cancer*. – 2012. – T. 12, № 1. – C. 247.

140. Moussatche P. Non-genomic progesterone signalling and its non-canonical receptor. / P. Moussatche, T.J. Lyons // *Biochem. Soc. Trans*. – 2012. – T. 40, № 1. – C. 200–4.

141. Niehans G.A. Stability of HER-2/neu expression over time and at multiple metastatic sites. / G.A. Niehans, T.P. Singleton, D. Dykoski, D.T. Kiang // *J. Natl. Cancer Inst*. – 1993. – T. 85, № 15. – C. 1230–5.

142. Niikura N. Loss of human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) expression in metastatic sites of HER2-overexpressing primary breast tumors / N. Niikura, J. Liu, N. Hayashi, E.A. Mittendorf, Y. Gong, S.L. Palla, Y. Tokuda, A.M. Gonzalez-Angulo, G.N. Hortobagyi, N.T. Ueno // *J. Clin. Oncol*. – 2012. – T. 30, № 6. – C. 593–599.

143. Nishimura R. Changes in the ER, PgR, HER2, p53 and Ki-67 biological markers between primary and recurrent breast cancer: discordance rates and prognosis. / R. Nishimura, T. Osako, Y. Okumura, R. Tashima, Y. Toyozumi, N. Arima // *World J. Surg. Oncol*. – 2011. – T. 9, . – C. 131.

144. Nitta H. The assessment of HER2 status in breast cancer: the past, the present, and the future / H. Nitta, B.D. Kelly, C. Allred, S. Jewell, P. Banks, E. Dennis, T.M. Grogan // *Pathol. Int*. – 2016. – T. 66, № 6. – C. 313–324.

145. O'Lone R. Genomic Targets of Nuclear Estrogen Receptors / R. O'Lone, M.C. Frith, E.K. Karlsson, U. Hansen // *Mol. Endocrinol*. – 2004. – T. 18, № 8. – C. 1859–1875.

146. Orso F. Activator protein-2gamma (AP-2gamma) expression is specifically induced by oestrogens through binding of the oestrogen receptor to a canonical element within the 5'-untranslated region. / F. Orso, E. Cottone, M.D. Hasleton, J.C. Ibbitt, P. Sismondi, H.C. Hurst, M. De Bortoli // *Biochem. J*. – 2004. – T. 377, № Pt 2. – C. 429–438.

147. Osborne C.K. Estrogen-receptor biology: Continuing progress and therapeutic implications / C.K. Osborne, R. Schiff // *J. Clin. Oncol*.

– 2005. – T. 23, № 8. – C. 1616–1622.

148. Oskarsson T. Breast cancer cells produce tenascin C as a metastatic niche component to colonize the lungs / T. Oskarsson, S. Acharyya, X.H.-F. Zhang, S. Vanharanta, S.F. Tavazoie, P.G. Morris, R.J. Downey, K. Manova-Todorova, E. Brogi, J. Massagué // *Nat. Med.* – 2011. – T. 17, № 7. – C. 867–874.

149. Paksoy S.E. A comparison of Ki 67 proliferative index in primary tumor and axillary metastatic lymph nodes with length of survival in patients with breast cancer. / S.E. Paksoy, I. Tasdelen, A.S. Balaban, G. Ozkaya, S. Tolunay // *Bratisl. Lek. Listy.* – 2013. – T. 114, № 11. – C. 645–9.

150. Paňková K. The molecular mechanisms of transition between mesenchymal and amoeboid invasiveness in tumor cells / // *Cell. Mol. Life Sci.* 2010. T. 67. № 1. C. 63–71.

151. Pectasides D. HER-2/neu status of primary breast cancer and corresponding metastatic sites in patients with advanced breast cancer treated with trastuzumab-based therapy. / D. Pectasides, A. Gaglia, P. Arapantoni-Dadioti, A. Bobota, C. Valavanis, V. Kostopoulou, N. Mylonakis, A. Karabelis, M. Pectasides, T. Economopoulos // *Anticancer Res.* – 2006. – T. 26, № 1B. – C. 647–53.

152. Penault-Llorca F. Ki67 assessment in breast cancer: an update / F. Penault-Llorca, N. Radosevic-Robin // *Pathology.* – 2017. – T. 49, № 2. – C. 166–171.

153. Powe D.G. Investigating AP-2 and YY1 protein expression as a cause of high HER2 gene transcription in breast cancers with discordant HER2 gene amplification / D.G. Powe, G. Akhtar, H.O. Habashy, T. Abdel-Fatah, E.A. Rakha, A.R. Green, I.O. Ellis // *Breast Cancer Res.* – 2009. – T. 11, № 6. – C. R90.

154. Prat A. The role of hormonal therapy in the management of hormonal-receptor-positive breast cancer with co-expression of HER2 / A. Prat, J. Baselga // *Nat. Clin. Pract. Oncol.* – 2008. – T. 5, № 9. – C. 531–542.

155. Proietti C.J. Novel role of signal transducer and activator of transcription 3 as a progesterone receptor coactivator in breast cancer / C.J. Proietti, W. Béguelin, M.C.D. Flaqué, F. Cayrol, M.A. Rivas, M. Tkach, E.H. Charreau, R. Schillaci, P. V. Elizalde // *Steroids.* – 2011. – T. 76, № 4. – C. 381–392.

156. Pusztai L. Estrogen and HER-2 receptor discordance between primary breast cancer and metastasis. / L. Pusztai, G. Viale, C.M. Kelly, C.A. Hudis // *Oncologist.* – 2010. – T. 15, № 11. – C. 1164–8.

157. Raica M. Hormone Receptors and HER2 Expression in Primary Breast Carcinoma and Corresponding Lymph Node Metastasis: Do we Need Both? / M. Raica, A.M. Cîmpean, R.A. Ceausu, V. Fulga, C. Nica, L. Rudico, L. Saptefrati // *Anticancer Res.* – 2014. – T. 34, № 3. – C. 1435–40.

158. Regitnig P. Change of HER-2/neu status in a subset of distant metastases from breast carcinomas / P. Regitnig, W. Schippinger, M. Lindbauer, H. Samonigg, S.F. Lax // *J. Pathol.* – 2004. – T. 203, № 4. – C. 918–926.

159. Rosen P.P. Estrogen receptor protein (ERP) in multiple tumor specimens from individual patients with breast cancer / P.P. Rosen, C.J. Menendez-Botet, J.A. Urban, A. Fracchia, M.K. Schwartz // *Cancer.* – 1977. – T. 39, № 5. – C. 2194–2200.

160. Rossi S. Hormone Receptor Status and HER2 Expression in Primary Breast Cancer Compared with Synchronous Axillary Metastases or Recurrent Metastatic Disease / S. Rossi, M. Basso, A. Strippoli, V. Dadduzio, E. Cerchiaro, R. Barile, E. D'Argento, A. Cassano, G. Schinzari, C. Barone // *Clin. Breast Cancer.* – 2015. – T. 15, № 5. – C. 307–312.

161. Sari E. Comparative study of the immunohistochemical detection of hormone receptor status and HER-2 expression in primary and paired recurrent/metastatic lesions of patients with breast cancer / E. Sari, G. Guler, M. Hayran, I. Gullu, K. Altundag, Y. Ozisik // *Med. Oncol.* – 2011. – T. 28, № 1. – C. 57–63.

162. Selye H. Correlations between the chemical structure and the pharmacological actions of the steroids / H. Selye // *Endocrinology.* – 1942. – T. 30, № 3. – C. 437–453.

163. Sighoko D. Discordance in hormone receptor status among primary, metastatic, and second primary breast cancers: biological difference or misclassification? / D. Sighoko, J. Liu, N. Hou, P. Gustafson, D. Huo // *Oncologist.* – 2014. – T. 19, № 6. – C. 592–601.

164. Simon R. Patterns of her-2/neu amplification and overexpression in primary and metastatic breast cancer. / R. Simon, A. Nocito, T. Hübscher, C. Bucher, J. Torhorst, P. Schraml, L. Bubendorf, M.M. Mihatsch, H. Moch, K. Wilber, A. Schötzau, J. Kononen, G. Sauter // *J. Natl. Cancer Inst.* – 2001. – T. 93, № 15. – C. 1141–6.

165. Simoncini T. Interaction of oestrogen receptor with the regulatory subunit of phosphatidylinositol-3-OH kinase. / T. Simoncini, A. Hafezi-Moghadam, D.P. Brazil, K. Ley, W.W. Chin, J.K. Liao // *Nature.* – 2000. – T. 407, № 6803. – C. 538–41.

166. Spano D. Molecular networks that regulate cancer metastasis / // Semin. Cancer Biol. 2012. T. 22. № 3. C. 234–249.

167. Takagi M. Perichromosomal protein Ki67 supports mitotic chromosome architecture / M. Takagi, T. Natsume, M.T. Kanemaki, N. Imamoto // Genes to Cells. – 2016. – T. 21, № 10. – C. 1113–1124.

168. Tanner M. Amplification of HER-2/neu and topoisomerase IIalpha in primary and metastatic breast cancer. / M. Tanner, P. Järvinen, J. Isola // Cancer Res. – 2001. – T. 61, № 14. – C. 5345–8.

169. Tapia C. HER2 gene status in primary breast cancers and matched distant metastases. / C. Tapia, S. Savic, U. Wagner, R. Schöneegg, H. Novotny, B. Grilli, M. Herzog, A.D. Barascud, I. Zlobec, G. Cathomas, L. Terracciano, G. Feichter, L. Bubendorf // Breast Cancer Res. – 2007. – T. 9, № 3. – C. R31.

170. Thompson A.M. Prospective comparison of switches in biomarker status between primary and recurrent breast cancer: the Breast Recurrence In Tissues Study (BRITS). / A.M. Thompson, L.B. Jordan, P. Quinlan, E. Anderson, A. Skene, J.A. Dewar, C.A. Purdie // Breast Cancer Res. – 2010. – T. 12, № 6. – C. R92.

171. Thor A. Are patterns of HER-2/neu amplification and expression among primary tumors and regional metastases indicative of those in distant metastases and predictive of Herceptin response? / A. Thor // J. Natl. Cancer Inst. – 2001. – T. 93, № 15. – C. 1120–1.

172. Tiwari N. et al. EMT as the ultimate survival mechanism of cancer cells / N. Tiwari, A. Gheldof, M. Tatari, G. Christofori // Semin. Cancer Biol. – 2012. – T. 22, № 3. – C. 194–207.

173. Tot T. Practical breast pathology / T. Tot, L. Tabár, P.B. Dean. – Stuttgart, Germany: Thieme, 2014. Вып. 2. – 198 с.

174. Tse J.C. Mechanisms of metastasis: Epithelial-to-mesenchymal transition and contribution of tumor microenvironment / // J. Cell. Biochem. 2007. T. 101. № 4. C. 816–829.

175. Ufen M.-P. Metastatic breast cancer: are we treating the same patients as in the past? / M.-P. Ufen, C.H. Kohne, M. Wischneswky, R. Wolters, I. Novopashenny, J. Fischer, M. Constantinidou, K. Possinger, A.C. Regierer // Ann. Oncol. – 2013. – T. 25, № 1. – C. 95–100.

176. Vadlamudi R.K. Molecular Cloning and Characterization of PELP1, a Novel Human Coregulator of Estrogen Receptor α / R.K. Vadlamudi, R.A. Wang, A. Mazumdar, Y.S. Kim, J. Shin, A. Sahin, R. Kumar // J. Biol. Chem. – 2001. – T. 276, № 41. – C. 38272–38279.

177. Vicent G.P. Unliganded progesterone receptormediated targeting of an RNA-containing repressive complex silences a subset of hormone-

inducible genes / G.P. Vicent, A.S. Nacht, R. Zaurin, J. Font-Mateu, D. Soronellas, F. Le Dily, D. Reyes, M. Beato // *Genes Dev.* – 2013. – T. 27, № 10. – C. 1179–1197.

178. Vincent-Salomon A. HER2 status of bone marrow micrometastasis and their corresponding primary tumours in a pilot study of 27 cases: a possible tool for anti-HER2 therapy management? / A. Vincent-Salomon, J.-Y. Pierga, J. Couturier, C.D. D'Enghien, C. Nos, B. Sigal-Zafrani, M. Lae, P. Fréneaux, V. Diéras, J.-P. Thiéry, X. Sastre-Garau // *Br. J. Cancer.* – 2007. – T. 96, № 4. – C. 654–9.

179. Welboren W.-J. Identifying estrogen receptor target genes. / W.-J. Welboren, H.G. Stunnenberg, F.C.G.J. Sweep, P.N. Span // *Mol. Oncol.* – 2007. – T. 1, № 2. – C. 138–143.

180. Wilking U. HER2 status in a population-derived breast cancer cohort: Discordances during tumor progression / U. Wilking, E. Karlsson, L. Skoog, T. Hatschek, E. Lidbrink, G. Elmberger, H. Johansson, L. Lindström, J. Bergh // *Breast Cancer Res. Treat.* – 2011. – T. 125, № 2. – C. 553–561.

181. Williams C. Oestrogen receptors in breast cancer: basic mechanisms and clinical implications. / C. Williams, C.-Y. Lin // *Ecancermedicalsecience.* – 2013. – T. 7. – C. 370.

182. Wolff A.C. 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 / A.C. Wolff, M.E.H. Hammond, D.G. Hicks, M. Dowsett, L.M. McShane, K.H. Allison, D.C. Allred, J.M.S. Bartlett, M. Bilous, P. Fitzgibbons, W. Hanna, R.B. Jenkins, P.B. Mangu, S. Paik, E.A. Perez, M.F. Press, P.A. Spears, ... D.F. Hayes // *Arch. Pathol. Lab. Med.* – 2014. – T. 138, № 2. – C. 241–256.

183. Wu J.M. Heterogeneity of Breast Cancer Metastases: Comparison of Therapeutic Target Expression and Promoter Methylation Between Primary Tumors and Their Multifocal Metastases / J.M. Wu, M.J. Fackler, M.K. Halushka, D.W. Molavi, M.E. Taylor, W.W. Teo, C. Griffin, J. Fetting, N.E. Davidson, A.M. De Marzo, J.L. Hicks, D. Chitale, M. Ladanyi, S. Sukumar, P. Argani // *Clin. Cancer Res.* – 2008. – T. 14, № 7. – C. 1938–1946.

184. Xiang J. Human epidermal growth factor receptor 2 protein expression between primary breast cancer and paired asynchronous local-regional recurrences. / J. Xiang, X. Pan, J. Xu, X. Fu, D. Wu, Y. Zhang, L. Shen, Q. Wei // *Exp. Ther. Med.* – 2011. – T. 2, № 6. – C. 1187–1191.

185. Xiao C. Stability of HER2-positive status in breast carcinoma: a

comparison between primary and paired metastatic tumors with regard to the possible impact of intervening trastuzumab treatment. / C. Xiao, Y. Gong, E.Y. Han, A.M. Gonzalez-Angulo, N. Sneige // *Ann. Oncol.* – 2011. – T. 22, № 7. – C. 1547–53.

186. Xu R. Amplification of Her-2/neu gene in Her-2/neu-overexpressing and -nonexpressing breast carcinomas and their synchronous benign, premalignant, and metastatic lesions detected by FISH in archival material. / R. Xu, M.A. Perle, G. Inghirami, W. Chan, Y. Delgado, H. Feiner // *Mod. Pathol.* – 2002. – T. 15, № 2. – C. 116–24.

187. Yang Y.F. Discordances in ER, PR and HER2 receptors between primary and recurrent/metastatic lesions and their impact on survival in breast cancer patients / Y.F. Yang, Y.Y. Liao, M. Yang, N.F. Peng, S.R. Xie, Y.F. Xie // *Med. Oncol.* – 2014. – T. 31, № 10. – C. 214.

188. Yilmaz M. Mechanisms of Motility in Metastasizing Cells / M. Yilmaz, G. Christofori // *Mol. Cancer Res.* – 2010. – T. 8, № 5. – C. 629–642.

189. Yin P. Genome-wide progesterone receptor binding: Cell type-specific and shared mechanisms in T47D breast cancer cells and primary leiomyoma cells / P. Yin, D. Roqueiro, L. Huang, J.K. Owen, A. Xie, A. Navarro, D. Monsivais, J.S. Coon V, J.J. Kim, Y. Dai, S.E. Bulun // *PLoS One.* – 2012. – T. 7, № 1.

190. Zardavas D. Clinical management of breast cancer heterogeneity / D. Zardavas, A. Irrthum, C. Swanton, M. Piccart // *Nat. Rev. Clin. Oncol.* – 2015. – T. 12, № 7. – C. 381–394.

191. Zurrida S. Receptor status (ER, PgR and HER2) discordance between primary tumor and locoregional recurrence in breast cancer. / S. Zurrida, E. Montagna, P. Naninato, M. Colleoni, A. Goldhirsch // *Ann. Oncol.* – 2011. – T. 22, № 2. – C. 479–80.

Информация об авторах:



Конышев Константин Вячеславович — врач-патологоанатом патолого-анатомического отделения ГАУЗ СО Институт медицинских клеточных технологий, кандидат медицинских наук, автор 39 научных публикаций, 5 патентов, стипендиат Губернатора Свердловской области за успехи в учебной и творческой деятельности (2016 г.) и Президента Российской Федерации за успехи в научной деятельности (2019 г.).



Сазонов Сергей Владимирович — заместитель главного врача по науке, заведующий патолого-анатомическим отделением ГАУЗ СО Институт медицинских клеточных технологий, доктор медицинских наук, профессор, автор 465 научных публикаций, 8 монографий, 32 патентов, 2 медицинских технологий, 6 клинических рекомендаций для врачей. Заведующий кафедрой Уральского государственного медицинского университета.



Леонтьев Сергей Леопольдович — главный врач ГАУЗ СО Институт медицинских клеточных технологий, доктор медицинских наук, профессор, автор 162 научных публикаций, 14 патентов, 4 монографий.

* — рисунок на обложке: Экспрессия рецепторов к прогестерону в ткани первичной опухоли и регионарном метастазе при раке молочной железы. ИГХ-реакция с антителами к рецепторам к прогестерону (клон PgR636, Dako, Дания). Ув.: × 200.

Изменение рецепторного аппарата клеток карциномы молочной железы при регионарном метастазировании

Changes in the receptor apparatus of breast carcinoma cells during regional metastasis

Информация о монографии:

В монографии представлены результаты научной работы, посвященные выявлению закономерностей в изменениях экспрессии ключевых биомаркеров в опухолевых клетках при регионарном метастазировании рака молочной железы. Описаны как типичные изменения экспрессии каждого из исследованных компонентов рецепторного аппарата клеток опухоли при метастазировании, так и обнаруженные взаимосвязи подобных изменений. Выявлено одновременное повышение при метастазировании уровней экспрессии рецепторов к эстрогену и рецепторов к прогестерону в случаях с умеренными уровнями экспрессии рецепторов к стероидным гормонам в клетках первичной опухоли. Описана обратная зависимость изменений уровней экспрессии рецепторов к эстрогену и онкобелка Her2/neu в клетках метастазов при сравнении с клетками первичной опухоли с неопределенным уровнем экспрессии Her2/neu (2+), а также сохранение Her2/neu-статуса опухолевой ткани в таких случаях.

Издание представляет интерес для врачей, научных сотрудников, биологов, аспирантов, студентов медицинских вузов и биологических факультетов.

Оригинал-макет подготовлен:

Издательство ООО «Редакция журнала

“Вестник уральской медицинской академической науки”»

Россия, 620014, Екатеринбург, ул. 8 Марта, 12а, офис 917

Тел./факс (343) 310-03-06

Усл.печ.л. 10,2. Тираж: 500

Подписано в печать 25.12.2019. Формат 60х84/16. Гарнитура Times New Roman

ISBN 978_5_9908479_9_6

ISBN 978-5-9908479-9-6



9 785990 847996