

Колядина И.В.<sup>1</sup>, Завалишина Л.Э.<sup>1</sup>, Андреева Ю.Ю.<sup>1</sup>,  
Савёлов Н.А.<sup>2</sup>, Тузова Е.А.<sup>2</sup>

## Прогностическая значимость генетического статуса TOP2A в HER2-позитивном раке молочной железы при неoadъювантной химиотерапии

1 — ФГБОУ ДПО РМАНПО МЗ РФ Москва; 2 — ГБУЗ ГМ "Московская городская онкологическая больница № 62 ДЗМ», Москва

Kolyadina I.V., Zavalishina L.E., Andreeva Yu.Yu., Savelov N.A., Tuzova E.A.

### Prognostic utility of genetic alterations of TOP2A in HER2-positive breast cancer after neoadjuvant chemotherapy

#### Резюме

В статье рассмотрена прогностическая значимость генетических нарушений TOP2A в HER-2-позитивном раке молочной железы при токсансодержащей неoadъювантной химиотерапии. Исследование выполнено на материале 73 больных, получивших комплексное лечение. До начала лечения, кроме молекулярно-генетического подтипа, определен статус изменений TOP2A методом FISH. По результатам операции, произведена оценка достижения полного морфологического регресса. Выявлена зависимость увеличения копийности гена TOP2A от размера первичной опухоли ( $p < 0,05$ ). Выраженность ответа опухоли на лечение коррелировала с обнаружения кластерной амплификации HER2, но не зависела от статуса TOP2A.

**Ключевые слова:** рак молочной железы, топоизомераза 2-альфа, TOP2A, PCR, HER2

#### Summary

The article discusses the prognostic significance of genetic disorders of TOP2A in HER-2-positive breast cancer in toxin-containing neoadjuvant chemotherapy. The study was performed on the material of 73 patients who received complex treatment. Before treatment, in addition to determining the molecular genetic subtype, the status of TOP2A changes was determined by the FISH method. According to the results of the operation, an assessment of the achievement of a complete pathomorphological response was made. The dependence of the increase in the copy number of the TOR2A gene on the size of the primary tumor ( $p < 0.05$ ) was revealed. The degree of tumor response to treatment correlated with the detection of cluster amplification of HER2, but did not depend on the status of TOR2A.

**Key words:** breast cancer, TOP2A, HER2, PCR

#### Введение

Белок топоизомеразы 2A (TOP2A) является ключевым ядерным ферментом, контролирующим пролиферацию, кодируется одноименным геном (TOP2A), расположенном в 17 хромосоме (17q12-q21). Кроме пролиферации, TOP2A участвует в репликации и транскрипции ДНК, формировании и разделении хромосом. Нарушения экспрессии TOP2A играют ключевую роль в канцерогенезе. Увеличение экспрессии TOP2A, как и ki67, является маркером повышения пролиферативной активности клеток (1). Показано, что уровень TOP2A выше в люминальных подтипах и тройном негативном раке молочной железы (2).

Белки семейства топоизомеразы являются ключевыми мишенями препаратов антрациклинового ряда. В

связи с локализацией, данный ген рассматривался в качестве потенциального маркера эффективности антиHer2 терапии. Прогностическая ценность TOP2A противоречива (3, 4). Метаанализ, проведенный в 2018 году L.Rep с соавт. (8), показал перспективность исследования TOP2A в качестве прогностического фактора для раков разных локализаций. Новый виток интереса к исследованию экспрессии TOP2A вызван стремлением оценить прогностическую значимость данного белка в свете молекулярно-генетической классификации рака молочной железы, персонафицированной терапии и обновленных критериев оценки эффективности неoadъювантной химиотерапии.

**Целью** нашего исследования была оценка генетического статуса TOP2A в HER2-позитивном раке молочной

железы, а также оценка эффективности неоадьювантной химиотерапии в зависимости от выявленных изменений.

## Материалы и методы

Исследование выполнено на архивном материале 73 больных раком молочной железы (РМЖ) II-III стадии, получивших комплексное лечение в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н.Блохина» с 2015 по 2018гг (НАХТ с анти-HER2 блокадой Трастузумабом ± Пертузумабом и радикальное хирургическое лечение с оценкой лечебного патоморфоза в первичной опухоли и регионарных лимфатических узлах по RCB). Возраст пациенток варьировал от 29 до 71 года, медиана – 51,5 лет; 45,2% пациенток имели первично-операбельные стадии (T1-3N0-1), 53,4% - местно-распространенные опухоли (T4; N2-3). Степень злокачественности (градация) рака G2-3 была у всех больных, люминальный HER2 - позитивный РМЖ был диагностирован у 41,1% пациенток, в 58,9% случаев опухоли были гормононегативными; Ki67 ≥ 20% отмечен в 91,5% опухолей. Предоперационная системная терапия включала антрациклин-содержащие режимы у 75,3% женщин (4AC + 4х паклитаксел 175мг/м<sup>2</sup> /12 х еженедельных введений паклитаксела 80мг/м<sup>2</sup>; одновременно с введением таксанов проводилась терапия Трастузумабом в стандартном режиме) и безантрациклиновый режим TCH ± Пертузумаб – 24,7% случаев. После окончания НАХТ пациенткам выполнено оперативное лечение (радикальная мастэктомия – 78,8%, органосохраняющее лечение – 21,2%) с оценкой морфологических данных. Была проанализирована частота достижения pCR (полного патоморфологического регресса опухоли) у больных после неоадьювантной химиотерапии с Трастузумабом в зависимости от уровня амплификации генов HER2 и TOP2a.

Генетический статус опухолей по генам HER2 и TOP2A оценен на архивном биопсийном материале, полученном до начала лечения. Исследование проведено с помощью наборов HER2 IQFISH pharmDx и TOP2A IQFISH pharmDx (DAKO) соответственно, согласно инструкции и рекомендациям ASCO/CAP 2018. Пороговым значением для оценки статуса TOP2A служило выявление 60 меток гена TOP2A. После чего подсчитывался индекс амплификации в соответствии с количеством центромер. Норме соответствует значение 0,8-2. Индекс ≤ 0,8 расценивается как делеция, ≥ 2 – как амплификация. В связи с техническими сложностями, анализ генетического статуса TOP2A выполнен у 21 больных.

Статистическая обработка данных выполнена с использованием критерия Хи-квадрат, уровень значимости p=0,05.

## Результаты и обсуждение

Анализ TOP2A выполнен у 21 больной; в большинстве случаев (16/21 случая; 76,2%) амплификация отсутствовала (0,8-2,0), у 2 пациенток была выявлена делеция гена (<0,8), в 3 случаях (14,3%) была отмечена амплификация (>2,0). Таким образом, генетические нарушения TOP2A отмечены в 23,8% исследованных образцов (рис.

1 — *этой и другие рисунки к статье на специальной цветной вставке журнала — прим. ред.*)

Уровень амплификации TOP2A не коррелировал с ответом опухоли на лечение (как клиническим, так и морфологическим), p>0,05. При анализе зависимости характера амплификации TOP2A от других факторов не отмечено статистической связи уровня амплификации TOP2A и таких факторов, как возраст пациенток (p=0,853), статус рецепторов стероидных гормонов (p=0,21), степень злокачественности G, уровня Ki67.

Выявлена зависимость стадии заболевания и наличия амплификации TOP2A. У пациенток с размером карциномы до 2,0см (T1) амплификация отсутствовала: у 2 из 4 больных отмечена делеция (<0,8), в 2 из 4 случаев нарушения TOP2A отсутствовали (0,8-2,0). У всех пациенток с размером опухоли, соответствующей T2-3, статус TOP2A соответствовал норме (0,8-2,0); и только у больных с местно-распространенным процессом (T4) в 2 из 11 случаев (18%) была обнаружена амплификация TOP2A (>2,0), p=0,029, табл.1.

Аналогичные данные отмечены при анализе стадий заболевания: при нарастании стадии заболевания увеличивалась частота выявления нарушений статуса TOP2A. Так, у пациенток с IА стадией (T2N0M0) в 2 случаях (100%) была выявлена делеция гена TOP2A, у больных с IВ стадией (T2N1M0) амплификация отсутствовала, а у пациенток с III стадией (IIIА-С) в 16-25% случаев обнаруживалась амплификация гена. Табл.1. Таким образом, отмечена тенденция увеличения числа копий гена TOP2A при увеличении размера опухоли.

HER2+ статус в 87,1% случаев соответствовал первой категории критериев ASCO/CAP 2018 для HER2-положительного РМЖ (≥4 сигналов на клетку, 6), кластерная амплификация гена HER2 выявлена в 30,1% случаев (рис. 2).

Анализ коампликации HER2 и TOP2A, нарушений статуса TOP2A и полисомии 17 хромосомы не дал статистически значимых результатов. Общее число генетических нарушений TOP2A в HER2-положительном РМЖ составило 23,8%, что соотносится с данными других авторов (5).

Полный регресс первичной опухоли молочной железы (bpCR) был отмечен у 57,4% больных, полный регресс как первичной опухоли молочной железы, так и метастазов в лимфатических узлах (tpCR) - в 48,9% случаев. Частота достижения bpCR значимо зависела от возраста женщин, режима химиотерапии, добавления Пертузумаба и количества копий гена HER2 и не зависела от выявленных нарушений TOP2A. Частота достижения bpCR у женщин до 35 лет, 36-50 и старше 50 лет составила 22,2%, 57,7% и 71,9%, соответственно, p=0,026. Максимальная частота bpCR отмечена при применении режима TCH±P – 80,0%, при безантрациклиновых режимах - 52,8%, p=0,045, а добавление пертузумаба увеличивала частоту полных ответов до 88,9% (при применении Трастузумаба - 54,2%, p=0,049). Высоко достоверной оказалась зависимость частоты bpCR от обнаружения кластерной амплификации HER2 (81% при ее наличии и 48,9% - при отсут-

Таблица 1. Амплификация TOP2A в зависимости от размера и стадии рака молочной железы.

Размер опухоли, T	Значение TOP2A			P
	<0,8	0,8-2,0	>2,0	
T1	2 (50%)	2 (50%)	0	0,029
T2	0	4 (100%)	0	
T3	0	2 (100%)	0	
T4	0	9 (81,8%)	2 (18,2%)	
Стадия				0,005
IIA	2 (100%)	0	0	
IIB	0	3 (100%)	0	
IIIA	0	3 (75%)	1 (25%)	
IIIB	0	5 (83,1%)	1 (16,7%)	
IIIC	0	5 (83,1%)	1 (16,7%)	

ствии,  $p=0,013$ ). Кроме того, кластерная амплификация гена HER2 оказалась единственным значимым фактором-предиктором достижения полного регресса в первичной опухоли и лимфоузлах: при ее наличии частота  $trCR$  достигла 68,8% против 38,7%.

Отсутствие зависимости эффективности проведенного лечения от статуса TOP2A отмечают и другие авторы. Так, L.Rep с соавт., по результатам проведенного метаанализа не выявили значимой корреляции между генетическим статусом TOP2A и общей или безрецидивной выживаемостью больных РМЖ. При этом авторы отмечают, что генетические нарушения TOP2A (делеции или амплификации) ассоциированы с меньшей продолжительностью жизни пациентов с раком других локализаций. S. Norimura с соавт. показали потенциальную значимость оценки иммуногистохимического статуса TOP2A в РМЖ: опухоли с высоким уровнем экспрессии TOP2A лучше отвечали на терапию таксанами и антрациклинами (7).

## Заключение

Проведенное исследование подтвердило опубликованные ранее данные о статусе амплификации TOP2A в раке молочной железы. Амплификация или делеция гена TOP2A отмечена в 23,8% исследованных случаев у больных с HER2+ РМЖ. Выявлена тенденция увеличения копийности гена TOP2A при увеличении размера первичной опухоли ( $p<0,05$ ). Роли гена TOP2A для определения чувствительности к анти-HER2 терапии не отмечено. Наличие кластерной амплификации гена HER2 является наиболее значимым фактором чувствительности к анти-

HER2 терапии при РМЖ II-III стадии, ассоциируется с максимальной частотой достижения полного лечебного патоморфоза как в молочной железе, так и в регионарных метастазах.

Несмотря на отсутствие зависимости достижения полного морфологического регресса и генетического статуса TOP2A в нашем исследовании, целесообразно продолжить оценку прогностического статуса TOP2A в раках разных локализаций. ■

**Колядина Ирина Владимировна** – д.м.н., ведущий научный сотрудник научно-исследовательского центра, профессор кафедры онкологии ФГБОУ ДПО РМАНПО МЗ РФ на базе ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н.Блохина» Минздрава России. **Завалишина Лариса Эдуардовна** – доктор биологических наук, профессор кафедры патологической анатомии ФГБОУ ДПО РМАНПО МЗ РФ, эксперт центра контроля качества иммуногистохимических исследований. **Андреева Юлия Юрьевна** – доктор медицинских наук, профессор кафедры патологической анатомии ФГБОУ ДПО РМАНПО МЗ РФ, ведущий научный сотрудник научно-исследовательского центра. **Савёлов Никита Александрович** – заведующий отделением, врач-патологоанатом высшей квалификационной категории, патологоанатомическое отделение ГБУЗ ГМ «Московская городская онкологическая больница № 62 ДЗМ». **Тузова Елена Анатольевна** – врач-патологоанатом высшей квалификационной категории патологоанатомического отделения ГБУЗ ГМ «Московская городская онкологическая больница № 62 ДЗМ».

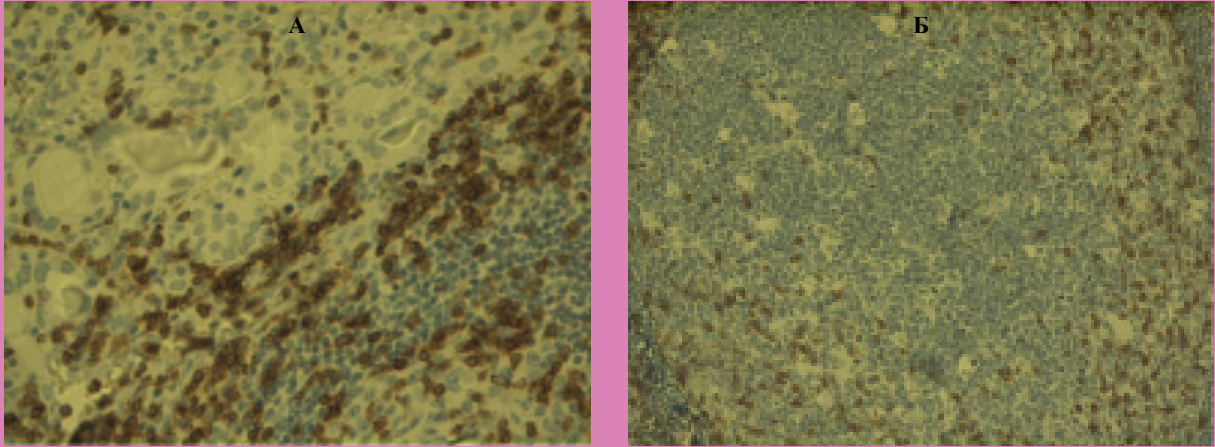
## Литература:

1. O'Malley FP, Chia S, Tu D, Shepherd LE, Levine MN, Bramwell VH, Andrulis IL, Pritchard KI. Topoisomerase II alpha and responsiveness of breast cancer to adjuvant chemotherapy. *J Natl Cancer Inst.* 2009;101:644–650. doi: 10.1093/jnci/djp067.
2. Bartlett JM, Munro A, Cameron DA, Thomas J, Prescott R, Twelves CJ. Type I receptor tyrosine kinase profiles identify patients with enhanced benefit from anthracyclines in the BR9601 adjuvant breast cancer chemotherapy trial. *Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology.* 2008;26:5027–5035. doi: 10.1200/JCO.2007.14.6597.
3. Bartlett JM, Munro AF, Dunn JA, McConkey C, Jordan S, Twelves CJ, Cameron DA, Thomas J, Campbell FM, Rea DW. et al. Predictive markers of anthracycline benefit: a prospectively planned analysis of the UK National Epirubicin Adjuvant Trial (NEAT/BR9601) *Lancet Oncol.* 2010;11:266–274. doi: 10.1016/S1470-

- 2045(10)70006-1.
4. Di Leo A, Desmedt C, Bartlett JM, Piette F, Ejlertsen B, Pritchard KI, Larsimont D, Poole C, Isola J, Earl H. et al. HER2 and TOP2A as predictive markers for anthracycline-containing chemotherapy regimens as adjuvant treatment of breast cancer: a meta-analysis of individual patient data. *Lancet Oncol.* 2011;12:1134–1142. doi: 10.1016/S1470-2045(11)70231-5.
  5. Ling Ren#, Jingwei Liu#, Kaihua Gou, Chengzhong Xing Copy number variation and high expression of DNA topoisomerase II alpha predict worse prognosis of cancer: a meta-analysis *J Cancer* 2018; 9(12):2082-2092. doi:10.7150/jca.23681
  6. Wolff et al (College of American Pathologists). ASCO/CAP HER2 Testing in Breast Cancer Update. *Arch Pathol Lab Med* 2018. doi: 10.5858/arpa.2018-0902-SA.
  7. Norimura S, Kontani K, Kubo T, Hashimoto SI, Murazawa C, Kenzaki K, Liu D, Tamaki M, Aki F, Miura K, Yoshizawa K, Tangoku A, Yokomise H. Candidate biomarkers predictive of anthracycline and taxane efficacy against breast cancer. *J Cancer Res Ther.* 2018 Jan-Mar;14(2):409-415. doi: 10.4103/jcrt.JCRT\_1053\_16.

Казачков Е.Л., Пастернак И.А., Пастернак А.Е.

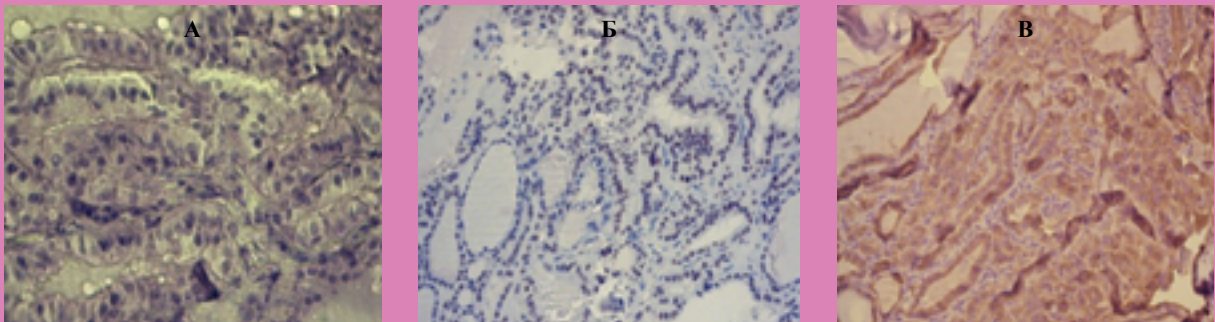
**Иммуноморфологическая характеристика интратиреоидных инфильтратов при папиллярной карциноме и узловом коллоидном зобе у детей**



**Рисунок 3.** Экспрессия CD3+ в инфильтратах узлового коллоидного зоба (А) и CD8+ лимфоцитов папиллярного рака щитовидной железы (Б) Иммуногистохимический метод, А – х 400, Б – х 200.

Казачков Е.Л., Пастернак И.А., Пастернак А.Е.

**Папиллярный рак щитовидной железы из высоких клеток**



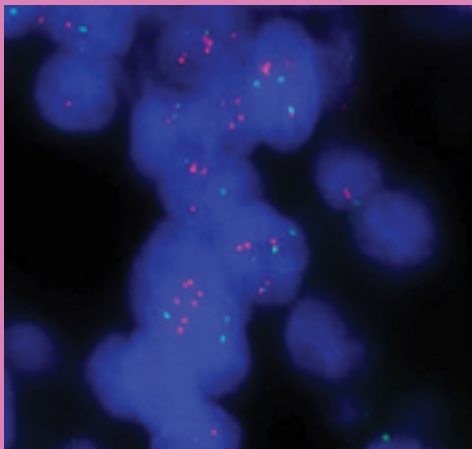
**Рисунок 1.** Морфологическая характеристика папиллярной карциномы из высоких клеток

а) окраска гематоксилином и эозином; б) экспрессия TTF-1; в) экспрессия EGFR-384.

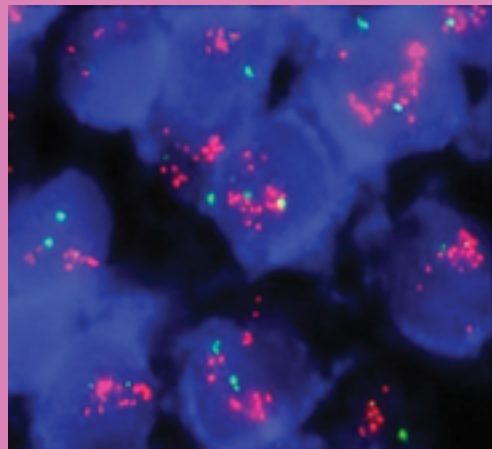
Иммуногистохимический метод; а -×400, б-в-×200.

Колядина И.В., Завалишина Л.Э., Андреева Ю.Ю., Савёлов Н.А., Тузова Е.А.

**Прогностическая значимость генетического статуса TOP2A в HER2-положительном раке молочной железы при неoadьювантной химиотерапии**



**Рисунок 1.** Амплификация TOP2A в клетках рака молочной железы.



**Рисунок 2.** Кластерная амплификация HER2 в клетках рака молочной железы.