

биологии и Белорусским государственным медицинским университетом (Минск).

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Gallo PM., Gallucci S. The dendritic cell response to classic, emerging, and homeostatic danger signals. Implications for autoimmunity // *Front Immunol.* 2013. V.4. P.138.
2. Blanco P., Palucka A.K., Pascual V., Banchereau J. Dendritic cells and cytokines in human inflammatory and autoimmune diseases // *Cytokine Growth Factor Rev.* 2008. V.19(1). P.41-52.
3. Elster J., Krishnadas D., Lucas K. Dendritic cell vaccines: A review of recent developments and their potential pediatric application // *Hum Vaccin Immunother.* 2016. V.12(9). P.2232-9.
4. Masterson A., Sombroek C., De Gruijl T. et al. MUTZ-3, a human cell line model for the cytokine-induced differentiation of dendritic cells from CD34+ precursors // *Blood.* 2002. V.100(2). P.701-3.
5. Ghiringhelli F., Puig P., Roux S. et al. Tumor cells convert immature myeloid dendritic cells into TGF-beta-secreting cells inducing CD4+CD25+ regulatory T cell proliferation // *J Exp Med.* 2005. V.202(7). P.919-29.
6. Lu W., Arraes L., Ferreira W. Andrieu J. Therapeutic dendritic-cell vaccine for chronic HIV-1 infection // *Nat Med.* 2004. V.10(12). P.1359-65.
7. Zabaleta A., D'Avola D., Echeverria I. et al. Clinical testing of a dendritic cell targeted therapeutic vaccine in patients with chronic hepatitis C virus infection // *Mol Ther Methods Clin Dev.* 2015. V.2:15006.
8. Van Brussel I., Lee W., Rombouts M. et al. Tolerogenic dendritic cell vaccines to treat autoimmune diseases: can the unattainable dream turn into reality? // *Autoimmun Rev.* 2014. V.13(2). P.138-50.
9. Hammerstrom A., Cauley D., Atkinson B., Sharma P. et al. Cancer immunotherapy: sipuleucel-T and beyond // *Pharmacotherapy.* 2011. V. 31(8). P.813-28.

Коньшев К.В., Сазонов С.В.

**РЕЦЕПТОРНЫЙ СТАТУС КЛЕТОК РАКА  
МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ИЗМЕНЯЕТСЯ  
ПРИ РЕГИОНАРНОМ  
МЕТАСТАЗИРОВАНИИ**

ГАУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий»,  
ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет МЗ»,  
г. Екатеринбург

**Введение**

Исчерпывающая фенотипическая и генотипическая характеристика опухолевой ткани в настоящее время является невозможной вследствие присущей опухолям гетерогенности. В настоящее время вопросы гетерогенности опухолей активно исследуются как для понимания ее биологических механизмов, так и для поиска учитывающих ее терапевтических подходов [1].

Вопросы различий экспрессии рецепторов к эстрогену (РЭ), рецепторов к прогестерону (РП), онкобелка Her2/neu и маркера пролиферации Ki67 между клетками первичной и метастатической опухоли при раке молочной железы привлекают внимание исследователей, поскольку учет этого варианта опухолевой гетерогенности является возможным путем повышения эффективности терапии и оценки прогноза заболевания [2]. До настоящего времени не существует единого мнения о природе и значении для клиники таких различий. Некоторые авторы отрицают биологическое происхождение гетерогенности экспрессии белков, выявляемых иммуногистохимическим методом, сводя их к артефактам [3]. Однако в большинстве работ, опубликованных в последние годы, существование биологически обуслов-

ленной иммунофенотипической гетерогенности ткани первичной опухоли и метастазов не подвергается сомнению, а рекомендация оценивать Her2/neu-статус метастазов включена в рекомендации ASCO/CAP в редакции 2013 года [4].

При этом до настоящего времени нет единой точки зрения на закономерности изменений экспрессии РЭ, РП, Her2/neu и Ki67 при метастазировании РМЖ.

### **Цель исследования**

Целью исследования стало оценить частоту изменений рецепторного статуса клеток карциномы молочной железы при регионарном метастазировании.

### **Материал и методы**

Операционный материал от 104 пациенток с диагнозом инвазивного неспецифицированного рака молочной железы, метастатическим поражением регионарных лимфатических узлов, не получавших неoadъювантную терапию, исследовался гистологическим и иммуногистохимическим (ИГХ) методами.

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

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

Результаты окрашивания опухолевых клеток антителами к стероидным гормонам оценивались в соответствии с системой оценки Allred, которая предполагает учет доли опухолевых клеток с окрашенными ядрами и интенсивности окрашивания ядер с последующим выставлением балльной оценки: 0 или 2 балла

– отрицательный гормонрецепторный статус опухоли, 3-8 баллов – положительный [5].

Результаты ИГХ-окрашивания ткани опухоли с антителами к Her2/neu оценивались в соответствии с рекомендациями ASCO/CAP 2013, которые предусматривают выставление оценки в баллах. При уровне экспрессии онкобелка Her2/neu на мембранах опухолевых клеток 0 или 1+ опухоль имеет отрицательный, при уровне экспрессии 3+ — положительный, при уровне оценки 2+ — неопределенный Her2/neu-статус [4].

Материал первичной опухоли в случаях с неопределенным уровнем экспрессии онкобелка Her2/neu исследовался методом SISH для оценки амплификации гена HER2 (INFORM HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail, Ventana, США) с использованием автостейнера Ventana Benchmark XT. Результаты SISH-исследования оценивались в соответствии с рекомендациями ASCO/CAP 2013 года, предполагающими положительный Her2/neu-статус опухоли при амплификации гена HER2 и отрицательный в случаях без амплификации данного гена [4].

Для каждого биомаркера вычисляли общую частоту изменений статуса при регионарном метастазировании, а также частоты изменения статуса с положительного на отрицательный и с отрицательного на положительный, которые затем сравнивались при помощи точного теста Фишера [6].

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

### **Результаты и обсуждение**

Изменение статуса рецепторов к эстрогену произошло в 10 случаях из 104 (9,6%, 95% ДИ 5,0-17,4%), при этом РЭ-статус опухолевых клеток при метастазировании изменился с положительного на отрицательный в 5 случаях из 73 (6,8%, 95% ДИ 2,5-15,9%), с отрицательного на положительный в 5 случаях из 31 (16,1%, 95% ДИ 6,1-34,5%). При сравнении частот случаев с изменением статуса рецепторов к эстрогену в опухолевых клетках с положительного на отрицательный и с отрицательного на

положительный не обнаружено значимых различий ( $p=0,16$ ).

Изменение статуса рецепторов к прогестерону произошло в 17 случаях из 104 (16,3%, 95% ДИ 10,1-25,2%), при этом РП-статус опухолевых клеток метастазов изменился с положительного на отрицательный в 7 случаях из 58 (12,1%, 95% ДИ 5,4-23,9%), с отрицательного на положительный в 10 случаях из 46 (21,7%, 95% ДИ 11,4-36,8%). При сравнении частот случаев с изменением статуса рецепторов к прогестерону в опухолевых клетках с положительного на отрицательный и с отрицательного на положительный не обнаружено значимых различий ( $p=0,28$ ). Из 17 случаев с изменением статуса рецепторов к прогестерону в 3 случаях наблюдалось изменение статуса рецепторов к эстрогену в опухолевых клетках метастазов при сравнении с клетками первичной опухоли.

Изменение статуса онкобелка Her2/neu произошло в 9 случаях из 104 (8,6%, 95% ДИ 4,3-16,2%). При этом Her2/neu-статус опухолевых клеток метастазов изменился с положительного на отрицательный в 5 случаях из 16 (31,2%, 95% ДИ 12,1-58,5%), с отрицательного на положительный в 4 случаях из 88 (4,6%, 95% ДИ 1,5-11,9%). При сравнении данных частот обнаружено достоверное преобладание частоты случаев с изменением статуса опухолевых клеток с положительного на отрицательный при регионарном метастазировании рака молочной железы ( $p=0,004$ ). Из 9 случаев с изменением Her2/neu-статуса рецепторов к прогестерону в 2 случаях наблюдалось изменение статуса рецепторов к эстрогену, в 4 случаях – рецепторов к прогестерону в опухолевых клетках метастазов при сравнении с клетками первичной опухоли.

В крупнейшем метаанализе, посвященном данной теме, приводятся частоты изменений статусов рецепторов к эстрогену, рецепторов к прогестерону и онкобелка Her2/neu на материале более 2000 пациентов. Частота изменения статусов рецепторов к эстрогену, рецепторов к прогестерону и Her2/neu при формировании регионарных метастазов составляла соответственно 16% (95% ДИ 11-22%), 26% (95% ДИ 21-32%) и 6% (95% ДИ 3-9%) [7]. При сравнении полученных в нашем исследовании

результатов с данными метаанализа не обнаружено достоверных различий ( $p=0,17$ ,  $p=0,09$ ,  $p=0,46$  соответственно).

### Выводы

1. Статусы рецепторов к эстрогену, рецепторов к прогестерону и онкобелка Her2/neu изменяются при регионарном метастазировании рака молочной железы с частотой 9,6%, 16,3%, 8,6% соответственно.

2. При регионарном метастазировании рака молочной железы отрицательный Her2/neu-статус клеток метастаза при положительном статусе клеток первичной опухоли наблюдается чаще (31,2%), чем положительный Her2/neu-статус клеток метастаза при отрицательном статусе клеток первичной опухоли (4,6%).

3. Частоты изменений статусов рецепторов к стероидным гормонам в опухолевых клетках с положительного на отрицательный и с отрицательного на положительный при регионарном метастазировании рака молочной железы не имеют достоверных различий.

4. Изменения статусов рецепторов к эстрогену, рецепторов к прогестерону и Her2/neu клеток опухоли при регионарном метастазировании рака молочной железы происходят независимо друг от друга.

5. Обнаруженные частоты изменений статусов рецепторов к эстрогену, рецепторов к прогестерону и онкобелка Her2/neu при регионарном метастазировании карциномы молочной железы соответствуют данным международных исследований.

### ЛИТЕРАТУРА

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

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

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

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

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

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

7. Aurilio G., Disalvatore D., Pruneri G., Bagnardi V., Viale G. A meta-analysis of oestrogen receptor, progesterone receptor and human epidermal growth factor receptor 2 discordance between primary breast cancer and metastases. *Eur. J. Cancer.* 2014; 50 (2): 277–289.

8. Засадкевич Ю.М., Бриллиант А.А., Сазонов С.В. Роль кадгеринов в норме и при развитии рака молочной железы. *Архив патологии.* 2015; 77(3): 57-64.

***Ветошкин К.А., Исаева Н.В., Минаева Н.В.,  
Зорина Н.А., Бутолина М.А.***

**ОПЫТ СТАНДАРТИЗАЦИИ ПОЛУЧЕНИЯ  
ПРЕПАРАТА, СОДЕРЖАЩЕГО  
МЕЗЕНХИМАЛЬНЫЕ СТВОЛОВЫЕ  
КЛЕТКИ, НА ОСНОВЕ  
ИММУНОФЕНОТИПИЧЕСКОГО АНАЛИЗА**

ФГБУН «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства»,  
г. Киров, kostyavetoshkin@yandex.ru

Трансплантация донорских гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) в ряде случаев является единственным методом лечения многих онкогематологических заболеваний. Несмотря на совершенствование методов определения антигенов гистосовместимости, частота развития такого осложнения аллогенных трансплантаций ГСК как «реакция трансплантат против хозяина» (РТПХ) остается достаточно высокой (25-50%). При этом медикаментозное лечение указанного осложнения зачастую оказывается малоэффективным. В качестве современного и перспективного подхода к профилактике и терапии РТПХ предложено системное введение мезенхимальных стволовых клеток (МСК) костного мозга [1].

МСК обладают уникальным свойством — способностью оказывать иммуномодулирующее воздействие при введении в организм реципиента. Кроме того, на поверхности МСК не экспрессируются антигены главного комплекса гистосовместимости (HLA — антигены), что исключает необходимость подбора совместимых пар «донор-реципиент».

МСК, отличающиеся иммунофенотипическими признаками и дифференцировочными способностями, обнаружены во мно-