

УДК 618.19-006

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ РЕЦЕПТОРОВ ЭСТРОГЕНА И ПРОГЕСТЕРОНА В КЛЕТКАХ КАРЦИНОМЫ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У ЖЕНЩИН РАЗЛИЧНЫХ ВОЗРАСТНЫХ ГРУПП

Медведев Артем Андреевич, Сазонов Сергей Владимирович, Дерюгин Михаил Игоревич
Кафедра гистологии

ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России
ГАУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий»

Екатеринбург, Россия

Аннотация

Введение. РМЖ занимает лидирующую позицию среди онкологических заболеваний у женщин. Именно рецепторный аппарат имеет немаловажное значение в развитии онкологических заболеваний. Рецепторы стероидных гормонов играют важную роль не только в функционировании молочных желез, но также считается, что экспрессия эстрогена и прогестерона влияет на развитие КМЖ. Так с возрастом возрастает выраженность рецепторов к этим гормонам, что увеличивает вероятность развития КМЖ. **Цель работы** – сравнить характер экспрессии рецепторов эстрогена и прогестерона в различных возрастных группах. **Материал и методы.** В работе проводился анализ материала, полученного от 1499 пациентов. Проведена оценка выраженности рецепторов эстрогена и прогестерона. Все случаи были разделены на возрастные группы. **Результаты.** Проведено исследование образцов КМЖ, полученных от 1499 пациентов в возрасте от 19 до 95 лет. Пациенты были распределены по возрастным группам. По итогу самая многочисленная группа — пациенты от 61 года до 70 лет, самая малочисленная — от 19 до 30 лет. При анализе была установлена прямая связь между возрастом и выраженностью стероидных гормонов. Положительная экспрессия рецепторов эстрогена выявлена в 76,1% случаев, прогестерона в 47,9%. Возраст влияет на гормональный статус КМЖ: есть связь между уровнем стероидных гормонов и возрастом пациентов. Уровень эстрогена не всегда соответствует уровню прогестерона, что указывает на гетерогенность РМЖ. Рецепторы к эстрогену и прогестерону встречаются во всех возрастных группах. **Выводы.** Максимальный уровень экспрессии стероидных гормонов встречается в группе пациентов в возрасте 61-70 лет и составляет для Er 22,5% в 337 случаях из 446, для Pr 12,9% в 193 случаях из 446, после 70 лет наблюдается активный спад эстрогена и прогестерона.

Ключевые слова: карцинома молочной железы, эстроген, прогестерон.

DETERMINATION OF EXPRESSION OF ESTROGEN AND PROGESTERONE RECEPTORS IN BREAST CARCINOMA CELLS IN WOMEN OF DIFFERENT AGE GROUPS

Medvedev Artem Andreevich, Sazonov Sergey Vladimirovich, Deryugin Mikhail Igorevich

Department of Histology

Ural State Medical University

Institute of Medical Cell Technologies

Yekaterinburg, Russia

Abstract

Introduction. BC is the leading cancer among women. It is the receptor apparatus that plays a significant role in the development of cancer. Steroid hormone receptors play an important role not only in the functioning of the mammary glands, but it is also believed that the expression of estrogen and progesterone affects the development of breast cancer. Thus, with age, the expression of receptors to these hormones increases, which increases the likelihood of developing breast cancer. **The aim of the study** to compare the expression pattern of estrogen and progesterone receptors in different age groups. **Material and methods.** The work involved analyzing material obtained from 1499 patients. An assessment of the expression of estrogen and progesterone receptors was made. All cases were divided into age groups. **Results.** A study was conducted of BM samples obtained from 1,499 patients aged 19 to 95 years. The patients were divided into age groups. As a result, the largest group was patients aged 61 to 70 years, the smallest - from 19 to 30 years. The analysis established a direct relationship between age and the expression of steroid hormones. Positive expression of estrogen receptors was detected in 76.1% of cases, progesterone in 47.9%. Age affects the hormonal status of breast cancer: there is a relationship between the level of steroid hormones and the age of patients. The level of estrogen does not always correspond to the level of progesterone, which indicates the heterogeneity of breast cancer. Estrogen and progesterone receptors are found in all age groups. **Conclusions.** The maximum high expression level of steroid hormones is found in the group of patients aged 61-70 years and is for Er 22.5% in 337 out of 446 cases, for Pr 12.9% in 193 out of 446 cases, after the age of 70 years there is an active decline in estrogen and progesterone.

Keywords: breast carcinoma, estrogen, progesterone.

ВВЕДЕНИЕ

РМЖ занимает лидирующую позицию среди онкологических заболеваний у женщин. [1, 4, 5]. В структуре заболеваемости злокачественными новообразованиями РМЖ занимает 1-е место, что составляет на 2021 год 22,1%, причем заболеваемость с каждым годом растет [1]. Именно рецепторный аппарат имеет немаловажное значение в развитии онкологических заболеваний [2]. Рецепторы стероидных гормонов играют важную роль не только в функционировании молочных желез, но также считается, что экспрессия эстрогена и прогестерона влияет на развитие КМЖ [3, 5]. Так с возрастом возрастает выраженность рецепторов к этим гормонам, что увеличивает вероятность развития КМЖ [6].

Цель работы – сравнить характер экспрессии рецепторов эстрогена и прогестерона в различных возрастных группах.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Материал был получен в ходе хирургического вмешательства от 1499 пациентов в возрасте от 19 до 95 лет с диагнозом «карцинома молочной железы». Наличие клинического диагноза, отсутствие терапии перед операцией и добровольное согласие пациенток послужили критерием включения образцов в исследование. Биопсийный материал фиксировали в 10% растворе нейтрального формальдегида. Была выполнена проводка по ксилолам и спиртам, заливка в парафин и формирование парафиновых блоков. С парафиновых блоков срезались гистологические срезы толщиной 4мкм с помощью ротационного микротомы Microm HM340 и помещались на положительно заряженные стекла Superfrost Plus (Thermo Scientific, Германия). После удаления парафина со срезов были проведены иммуногистохимические реакции, осуществляющиеся в автостейнере DAKO, Дания. Для определения экспрессии к рецепторам срезы окрашивали моноклональными антителами к рецепторам эстрогенов (клон 1D5, Dako, Дания) и рецепторам прогестерона (клон PgR636, Dako, Дания). Ядра клеток докрашивали гематоксилином. Контроль осуществлялся с помощью микроскопа Meiji Techno MT4200L. Уровень экспрессии ER и PR определяли по шкале Allred от 0 до 8 баллов, который основывается на одновременном выделении количества окрашенных ядер опухолевых клеток и интенсивности окрашивания этих ядер. Для статистической обработки использовался непараметрический коэффициент корреляции Спирмена.

РЕЗУЛЬТАТЫ

По итогам исследования образцов КМЖ, полученных от 1499 пациентов в возрасте от 19 до 95 лет в период с 2017 по 2022 года, больные были распределены по возрастным группам. В группе от 19 до 30 лет 16 пациенток, что составляет 1,1%, в группе от 31 года до 40 лет 145 пациенток, что составляет 9,7%, в группе от 41 года до 50 лет 304 пациентки, что составляет 20,3%, в группе от 51 года до 60 лет 357 пациенток, что составляет 23,8%, в группе от 61 года до 70 лет 446 пациенток, что составляет 29,8%, в группе от 71 года до 80 лет 190 пациенток, что составляет 12,7% и в группе от 81 года до 90 и более лет 41 пациентка, что составляет 2,7% (Рис. 1). По итогу самой многочисленной возрастной группой оказались пациенты в возрасте от 61 года до 70 лет, а самой малочисленной от 19 до 30 лет. При этом в ходе анализа была установлена прямая связь между возрастными группами и выраженностью стероидных гормонов. При оценке Коэффициента корреляции Спирмена выявлено значение $p < 0,05$, корреляция между признаками статистически значима.

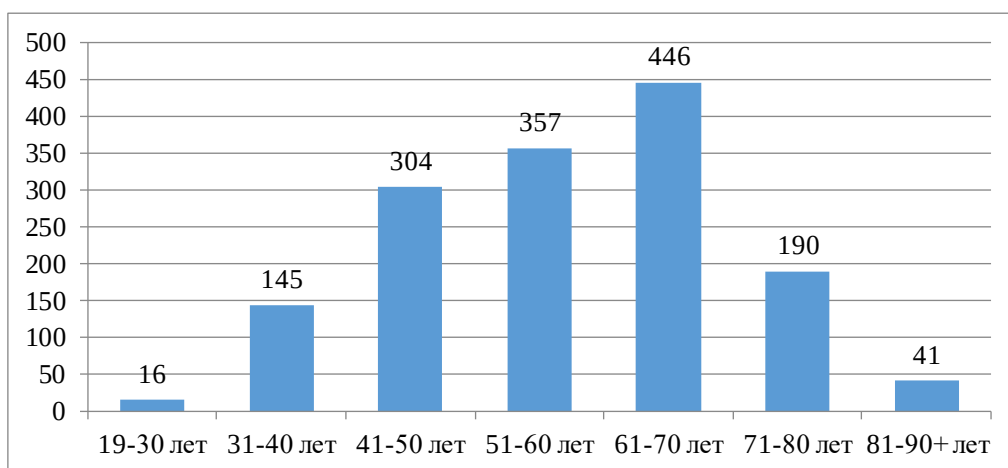


Рис. 1. Распределение количества пациентов по возрастным группам

Для иммуногистохимического определения эстрогенового или прогестеронового статусов используют бальную шкалу Allred. Согласно которой позитивным будет тот случай, в котором при окрашивании набирается 3 балла (Рис. 2) [7]. На этом основывается дальнейшее распределение по группам.

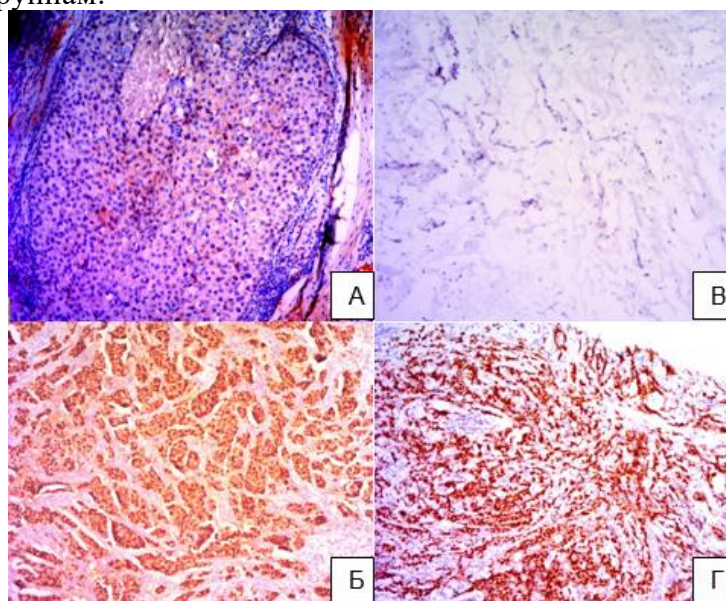


Рис. 2. Уровень экспрессии стероидных гормонов в клетках РМЖ в баллах по шкале Allred на уровне 0 Ег (А), 8 Ег (Б), 0 Пр (В), 8 Пр (Г) x10.

При анализе гормонального статуса КМЖ методом иммуногистохимии положительная экспрессия рецепторов эстрогена была выявлена в 76,1 % случаев, рецептора прогестерона в 47,9 %.

ОБСУЖДЕНИЕ

Данное исследование демонстрирует возрастные особенности гормонального статуса КМЖ. При оценке полученных данных можно сказать, что отмечена тенденция к постепенному увеличению экспрессии стероидных гормонов с возрастом, она достигает пика в группе от 61 года до 70 лет, затем происходит резкий спад выраженности рецепторов эстрогена и прогестерона в обозреваемых группах. Максимально низкий уровень экспрессии гормонов был отмечен в возрастных группах от 19 до 30 лет (Ег «+» 0,9%; Пр «+» 0,5%) и от 81 года до 90 и более лет (Ег «+» 1,9%; Пр «+» 1,3%).

Наблюдается эксплицитная взаимосвязь между стероидными гормонами и возрастными группами (Рис. 3).

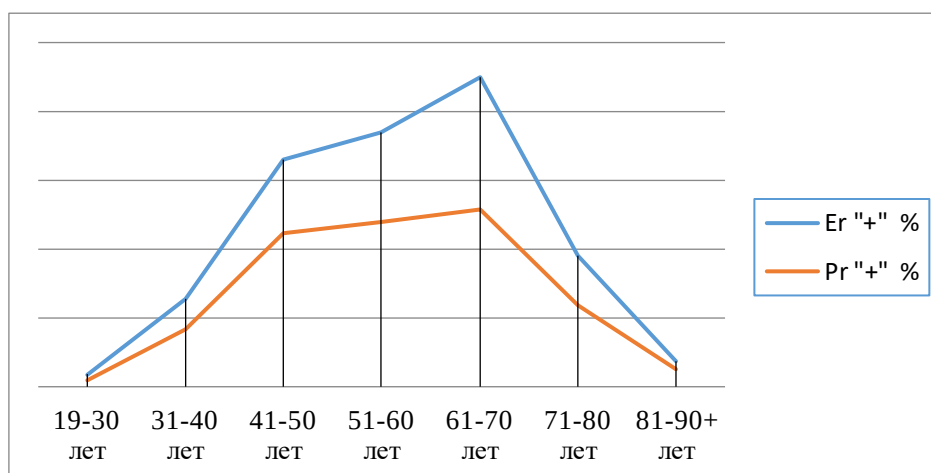


Рис. 3. Соотношение экспрессии рецепторов эстрогена и прогестерона

Есть данные, показывающие несоответствие уровни эстрогена и прогестерона, что говорит о выраженной гетерогенности КМЖ и необходимости индивидуального подхода к пациентам. В группе пациентов в возрасте от 61 года до 70 лет наибольшая разница экспрессии между рецепторами эстрогена и прогестерона; наименьшая разница экспрессии в группе пациентов в возрасте от 19 до 30 лет. Важно отметить, что могут встречаться как гомогенные рецепторпозитивные варианты (Er+, Pr+) и рецепторнегативные (Er-, Pr-) так и гетерогенные варианты (Er+, Pr-). При анализе полученных данных установлено, что рецепторы к эстрогену и прогестерону встречаются во всех возрастных группах. Их выраженность зависит от возраста пациентов. Поэтому можно сказать, что возраст является значимым фактором, влияющим на гормональный статус КМЖ.

ВЫВОДЫ

1. На основе полученных образцов от 1499 пациентов в возрасте от 19 до 95 лет в период с 2017 по 2022 годы, все материалы были распределены на 7 возрастных групп.
2. Самой многочисленной возрастной группой - пациенты в возрасте от 61 года до 70 лет в количестве 446 человек, а самой малочисленной от 19 до 30 лет в количестве 16 человек.
3. Максимально высокий уровень экспрессии стероидных гормонов встречается в группе пациентов в возрасте 61-70 лет и составляет для Er 22,5% в 337 случаях из 446, для Pr 12,9% в 193 случаях из 446.
4. После 70 лет наблюдается активный спад выраженности эстрогена и прогестерона.
5. Рецепторы стероидных гормонов присутствуют во всех возрастных группах, однако их экспрессия зависит напрямую от возраста.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Злокачественные Новообразования В России В 2021 Году (заболеваемость и смертность) / Под ред. Каприна А.Д., Старинского В.В., Шахзадовой А.О. – Москва: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2022. – 252 с.
2. Сазонов, С.В. Связь состояния пролиферативных процессов и особенностей рецепторного аппарата опухолевых клеток карциномы молочной железы / Сазонов С.В., Бриллиант А.А., Бриллиант Ю.М. // Гены и Клетки. - 2017. – Т.12(4). – С. 76–81.
3. Пак, Д.Д. Подтипы рака молочной железы / Пак Д.Д., Рассказова Е.А., Данилова Т.В. // Маммология 2012. – 3-4. С. 13-18.
4. Пак, Д.Д. Рак молочной железы / Пак Д.Д., Рассказова Е.А. // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2012 - №3-4. – С.13-18.
5. Deepika, S. Estrogen alpha receptor antagonists for the treatment of breast cancer / Deepika S., Sanjiv K. // Chemistry Central Journal. – 2018. – Vol.12, №1. – P.107.
6. Makiko, O. Prognostic Significance of Progesterone Receptor Expression in Estrogen-Receptor Positive, HER2-Negative, Node-Negative Invasive Breast Cancer with a Low Ki-67 Labeling Index / O. Makiko // Clin Breast Cancer. - 2017 – Vol. 17, №1. - P. 41-47.
7. Сазонов, С.В. Обеспечение качества молекулярно-биологических исследований при диагностике инвазивного рака молочной железы / С.В. Сазонов – Екатеринбург: ВУМАН, 2018. – 156 с.

Сведения об авторах

А.А. Медведев* – ассистент кафедры
С.В. Сазонов – доктор медицинских наук, профессор
М.И. Дерюгин – ассистент кафедры

Information about the authors

A.A. Medvedev – Department Assistant

S.V. Sazonov – Doctor of Sciences (Medicine), Professor

M.I. Deryugin – Department Assistant

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

medvedevarteym.m@yandex.ru

УДК 618.19-006

К ВОПРОСУ ОБ ОПРЕДЕЛЕНИИ ЭПИТЕЛИАЛЬНОЙ ПРИРОДЫ КЛЕТОК И ЭКСПРЕССИИ РЕЦЕПТОРОВ ЭСТРОГЕНА В ПЕРВИЧНЫХ КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУРАХ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Могиленских Анна Сергеевна^{1,2}, Дерюгин Михаил Игоревич^{1,2}, Мадиярова Оксана Владимировна², Сазонов Сергей Владимирович^{1,2}

¹ Кафедра гистологии

ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России

² ГАУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий»

Екатеринбург, Россия

Аннотация

Введение. В качестве модели для изучения процессов внутриопухолевой гетерогенности и лекарственной резистентности могут являться первичные клеточные культуры, полученные из образцов рака молочной железы (РМЖ) Люминального А подтипа. **Цель исследования** – изучить изменение количества эпителиальных клеток и клеток с экспрессией рецепторов эстрогена при пересеве культур, полученных из образцов РМЖ, с нулевого до пятого пассажа. **Материал и методы.** В ходе исследования получены первичные клеточные культуры из образцов Люминального А подтипа. Подтип определен с помощью ИГХ-метода. Количество клеток с экспрессией цитокератина и эстрогена исследовано методом проточной цитометрии. **Результаты.** В состав выборки вошло 8 культур, у которых на нулевом пассаже выявлено небольшое количество клеток с экспрессией панцитокератина - 10-20%. Наибольшая медиана по количеству клеток с экспрессией панцитокератина и эстрогена обнаружена на p2 и составила 1165/5000 [777;1892] и 1062/5000 [490; 1888] соответственно. **Выводы.** В первичных клеточных культурах рака молочной железы, полученных от Люминального А подтипа, количество клеток эпителиальной природы и экспрессирующих рецепторы эстрогена значительно увеличивается на втором пассаже, по сравнению с предыдущими. Клетки, экспрессирующие эстроген в клеточной культуре, являются эпителиальными.

Ключевые слова: РМЖ, ИГХ-метод, рецепторы эстрогена.

ON THE ISSUE OF DETERMINING THE EPITHELIAL NATURE OF CELLS AND THE EXPRESSION OF ESTROGEN RECEPTORS IN PRIMARY BREAST CANCER CELL CULTURES

Mogilenskikh Anna Sergeevna^{1,2}, Deryugin Mikhail Igorevich^{1,2}, Madiyarova Oksana Vladimirovna², Sazonov Sergey Vladimirovich^{1,2}

¹Department of Histology

Ural State Medical University

²Institute of Medical Cell Technologies

Yekaterinburg, Russia

Abstract

Introduction. Primary cell cultures obtained from breast cancer (BC) samples of the Luminal A subtype used as a model for studying the processes of intra-tumor heterogeneity and drug resistance. **The aim of the study** is to research the change in the number of epithelial cells and cells with estrogen receptor expression during culture transfer from breast cancer samples from the p0-p5 passage. **Material and methods.** In the course of the study, primary cell cultures obtained from samples of the Luminal A subtype. The subtype is determined using the IHC method. The number of cells expressing cytokeratin and estrogen studied by flow cytometry. **Results.** The sample included eight cultures, in which a small number of cells with pancytokeratin expression - 10-20% - detected at the zero passage. The highest median in terms of the number of cells with pancytokeratin and estrogen expression was found on p2 and amounted to 1165/5000 [777; 1892] and 1062/5000 [490; 1888], respectively. **Conclusions.** In cell cultures primary breast cancer obtained from the Luminal A subtype, the number of epithelial cells expressing estrogen receptors increases significantly in the second passage, compared with the previous ones. The cells expressing estrogen in cell culture are epithelial.

Keywords: breast cancer, IHC method, estrogen receptors.