

- персонал, выполняющий специальные задачи (например, тесты на загрязнение, некоторые тесты на контроль качества).

Для специалистов ядерной медицины, радиофармакологов, медицинских физиков, технологов ядерной медицины и сотрудников радиационной защиты типичные документальные свидетельства, т.е. квалификационные удостоверения, должны состоять из:

- степень, имеющая отношение к профессии, выданная компетентными органами образования и экспертизы в соответствии с требованиями страны, и аккредитация, требуемая в стране для осуществления профессиональной деятельности, выданная компетентными органами или другими учреждениями;

- курс по радиационной защите, содержание, методология и учебное заведение которого признаются или утверждаются регулирующим органом. Этот курс может быть включен в учебные планы профессионального образования при условии, что он соответствует критериям подготовки по радиационной защите, установленным регулирующим органом;

- обучение на рабочем месте под наблюдением аккредитованных специалистов с опытом работы до начала работы без надзора, как это требуется в стране.

Курсы и программы, используемые в профессиональном образовании и профессиональной подготовке, как правило, определяются органами здравоохранения и/или образования в стране в сотрудничестве с профессиональными органами. Подходящим подходом является подготовка критериев радиационной защиты для медицинского облучения, определенных регулирующим органом в консультации с соответствующими профессиональными организациями, которые должны быть включены в систему профессионального образования и профессиональной подготовки. В странах, в которых не существует национального профессионального органа, можно обратиться за консультацией к региональному органу или международным профессиональным организациям [2].

В работе были перечислены основные рекомендации по обеспечению радиационной безопасности персонала, пациентов, и других лиц; рекомендации по планированию помещений отделения ядерной медицины с целью оптимизировать рабочий процесс и сделать опасные помещения максимально удаленными от помещений длительного пребывания сотрудников и счетного оборудования.

ЛИТЕРАТУРА

1. International Atomic Energy Agency. Human Health Series. / No. 11. Planning a Clinical PET Center. Vienna: IAEA, 2010.

2. International Atomic Energy Agency. Quality Assurance Programme for Computed Tomography: Diagnostic and Therapy Applications. Human Health Series. / No. 19. – Vienna, 2012. – 171 p.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КАРЦИНОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

MOLECULAR GENETIC CHARACTERISTIC OF BREAST CARCINOMAS

А. И. Прокопук¹, Р. М. Смолякова¹, Е. М. Шпадарук¹, И. Н. Андреева²
A. Prokopuk¹, R. Smolyakova¹, K. Shpadaruk¹, I. Andreeva²

¹Белорусский государственный университет, МГЭИ им. А. Д. Сахарова БГУ,
г. Минск, Республика Беларусь

²Институт генетики и цитологии НАН Беларуси,
г. Минск, Республика Беларусь
prokopuk.anna@mail.ru

Belarusian State University, ISEI BSU, Minsk, Republic of Belarus
Institute of Genetics and Cytology, National Academy of Sciences of Belarus
Minsk, Republic of Belarus

В ходе проведенного иммуногистохимического исследования были установлены молекулярно-биологические подтипы опухоли по уровням экспрессии тканевых антигенов: рецепторов эстрогенов и прогестерона (ER/PR), пролиферативного антигена Ki-67 и рецептора эпидермального человеческого фактора 2-го типа (HER-2/neu). Люминальный А подтип диагностирован у 10 пациенток (22%), люминальный В (Her-2/neu отрицательный) подтип обнаружен у 7 пациенток (16%), люминальный В (Her-2/neu-позитивный) подтип детектирован у 14 пациенток (31%), Her-2/neu-позитивный (нелюминальный) подтип диагностирован у 5 пациенток (11%), а триплет-негативный подтип выявлен у 9 пациенток (22%). Определение молекулярно-генетического профиля карциномы молочной железы необходимо учитывать для оценки агрессивного потенциала опухоли, прогноза течения заболевания и подбора терапии в оптимальном объеме.

An immunohistochemical study revealed the molecular biological subtypes of the tumor according to the levels of expression of tissue antigens: estrogen and progesterone receptors (ER / PR), Ki-67 proliferative antigen and type 2 epidermal human factor receptor (HER-2 / neu). The luminal A subtype was diagnosed among 10 patients (22%), the luminal B (Her-2/neu negative) subtype was detected among 7 patients (16%), the luminal B (Her-2/neu positive) subtype was detected among 14 patients (31%), the Her-2/neu positive (non-luminal) subtype was diagnosed among 5 patients (11%), and the triplet-negative subtype detected among 9 patients (22%). The determination of the molecular genetic profile of breast carcinoma must be taken into account in order to assess the aggressive potential of the tumor, predict the course of the disease and to select the optimal amount of the therapy.

Ключевые слова: рак молочной железы, иммуногистохимический метод, молекулярные подтипы, тканевые антигены.

Key words: breast cancer, immunohistochemical method, molecular subtypes, tissue antigens.

<https://doi.org/10.46646/SAKH-2020-2-252-255>

Рак молочной железы (далее – РМЖ) является самым распространенным злокачественным новообразованием среди женщин в мире, при этом на слаборазвитые регионы приходится лишь немногим большее количество случаев (883 тыс.), чем на высокоразвитые (794 тыс.). Из 184 стран, охватываемых базой данных GLOBOCAN Международного агентства по изучению рака Всемирной организации здравоохранения, рак молочной железы является самым распространенным онкологическим диагнозом у женщин в 140 странах (76%) и самой частой причиной смерти от рака в 101 стране (55%). Заболеваемость рака молочной железы увеличивается с возрастом, начиная с 40 лет, и достигает пика в 60 – 65 лет [1, 2].

В 2017 году в Республике Беларусь зарегистрировано 51080 новых случаев заболевания злокачественными новообразованиями. Среди злокачественных заболеваний у женского населения рак молочной железы составляет 22,2% и до сих пор занимает лидирующую позицию. Средний возраст заболевших составил 53,5 года. Средний прирост заболеваемости населения Республики Беларуси раком молочной железы составил 28,7% за последние 10 лет. В последние годы увеличивается количество пациентов, у которых заболевание диагностировано в I–II стадиях. Так, в 2017 году этот показатель составил 95%, тогда как 10 лет назад равнялся 60,4 %. Количество женщин, состоящих на учете 5 и более лет, составило 26218, что в 1,5% больше, чем 10 лет назад. В структуре смертности женского населения РМЖ также находится на первом месте, составляя 16,3% [5].

В связи с этим, изучение гистологических и молекулярно-биологических особенностей опухоли, их влияние на непосредственные и отдаленные результаты лечения является актуальным.

Знание молекулярно-биологических маркеров, определяемых в опухолевой ткани, дает возможность охарактеризовать опухоль как в отношении чувствительности к лекарственному лечению, включая эндокринотерапию и таргетную терапию, так и большего потенциала к инвазии и метастазированию. Поиск и внедрение новых молекулярных маркеров в рутинную практику позволит в скором будущем: более точно выделять группу пациенток, с ранним РМЖ повышенного риска, подлежащих обязательной адъювантной химиотерапии; проводить индивидуальную оценку чувствительности к определенному виду системной терапии, а также разрабатывать новые современные препараты с биологической направленностью на конкретные маркеры-мишени [4].

На сегодняшний день для выбора оптимального метода терапии выделяют следующие клинические группы, соответствующие молекулярным подтипам РМЖ: **люминальный А** – рецепторы эстрогенов и прогестерона положительные, рецептор эпидермального фактора роста 2-го типа (HER-2/neu) – отрицательный. **Люминальный В тип** представлен 2 видами: Her-2/neu отрицательный и Her-2/neu положительный; **люминальный В (Her-2/neu отрицательный)** – рецепторы эстрогенов и прогестерона положительные, отсутствует гиперэкспрессия Her-2/neu; **люминальный В (Her-2/neu положительный)** – рецепторы эстрогенов и прогестерона положительные, Her-2/neu – положительный; **Her-2/neu-позитивный (нелюминальный)** – рецепторы эстрогенов и прогестерона отрицательные, Her-2/neu – положительный; **триплет-негативный (базальноподобный)** – рецепторы эстрогенов и прогестерона отрицательные, Her-2/neu – отрицательный, что необходимо учитывать для прогноза течения заболевания и выбора тактики лечения пациенток [3].

Молекулярно-генетическая классификация рака молочной железы на основе оценки экспрессии подтвердила тот факт, что разные подтипы РМЖ не просто имеют отличные друг от друга наборы молекулярных маркеров, но и характеризуются специфической биологией, прогнозом, а также предусматривают индивидуальный подбор терапии. Пациентки с люминальным А подтипом опухоли имеют самую высокую общую выживаемость; триплет-негативный и HER-2-позитивный подтип РМЖ характеризуется плохим прогнозом и наименьшей выживаемостью; люминальный В подтип опухоли занимает промежуточное место [3].

Цель исследования: выявление молекулярно-биологического профиля пациенток, страдающих раком молочной железы, на основе экспрессии тканеспецифических маркеров для оценки агрессивного потенциала опухоли и прогноза течения заболевания.

Материалом для исследования послужили клинические данные, и опухолевая ткань 45 пациенток, страдающих РМЖ, в возрасте от 33 до 79 лет, получавших лечение в ГУ «Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова». У большинства обследуемых пациенток возраст колебался в пределах от 40 до 69 лет. Средний возраст пациенток составил – 53,5±13,8 года.

У всех женщин, включенных в исследование получено письменное информированное согласие на проведение исследования.

Определение уровня экспрессии тканевых антигенов (ER, PR, Ki-67 и HER-2/neu) пациенткам, страдающих раком молочной железы, осуществлялось иммуногистохимическим методом (ИГХ) с применением реагентов DAKO (Дания) с системой визуализации (EnVision+).

Для выполнения иммуногистохимического исследования парафиновые блоки серийно нарезают (толщина срезов – 3 мкм) и помещают на силанизированные слайды (DAKO). Депарафинизацию срезов проводили в ксилоле с последующей регидратацией в батарее спиртов и промыванием в дистиллированной воде. Для демаскировки антигенов препараты помещали в соответствующие буферы. Демаскировку всех антигенов проводили при помощи водяной бани при $t = 96-99^{\circ}\text{C}$. В качестве блокатора эндогенной пероксидазы использовали 3% раствор H_2O_2 в течение 20 мин.

В работе использовали антитела к PR (клон PgR 636, DAKO); ER (клон 1D5, DAKO); Ki-67 (клон MIB-1, DAKO). Оценку результатов окрашивания проводили с применением светового микроскопа (увеличение $\times 40$, $\times 100$, $\times 200$). Для всех маркеров оценивали локализацию окрашивания в клетке (ядро, цитоплазма, мембрана), интенсивность пероксидазной метки (в области с максимальной экспрессией) и процент окрашенных клеток.

В исследовании применялись следующие критерии оценки маркеров:

– исследование пролиферативной активности опухолевых клеток проводили с помощью антител к ядерному антигену Ki-67. Ядерное окрашивание более, чем в 10% опухолевых клеток считали положительным, оценивали в области максимальной экспрессии маркера. Пролиферативную активность опухоли оценивали, как процент Ki-67 положительных клеток. Высокая пролиферативная активность соответствовала индексу $\text{Ki-67} \geq 50\%$, низкая пролиферативная активность опухоли соответствовала индексу $\text{Ki-67} < 20\%$;

– опухоль считали негативной по содержанию ER, PR менее чем в 10% положительных клеток (оценивали ядерное окрашивание). В 10–100% ответивших на реакцию клеток, опухоль считали позитивной, причем, слабопозитивной – при 10–40%, умеренно позитивной – при 40–85% и сильнопозитивной – при 85–100% клеток.

– опухоль считалась отрицательной по Her-2/neu при отсутствии мембранного окрашивания или при окрашивании менее 10% клеток;

– опухоль оценивалась: в 1 балл (1+) при неполном окрашивании мембран у более 10% клеток;

– в 2 балла (2+) при умеренной интенсивности окраски мембран у более 10% клеток;

– в 3 балла (3+) при полном окрашивании мембран более 10% клеток.

При анализе степени распространенности опухолевого процесса выявлено, что в анализируемых группах пациенток с РМЖ преобладает II стадия. Количество пациенток с раком молочной железы I ст. составило 18%, II ст. – 49%; III ст. – 24%; IV ст. – 9%.

При морфологической диагностике заболевания, наиболее часто встречающимся был инфильтративный протоковый рак молочной железы (62%), далее – инфильтративный дольковый (22%), остальные гистологические формы составили 16%.

Для определения молекулярно-биологического подтипа РМЖ было проведено иммуногистохимическое исследование уровня экспрессии тканевых маркеров (рецепторов эстрогенов и прогестерона, рецептора эпидермального фактора роста второго типа (HER-2/neu) и пролиферативного антигена Ki-67).

При оценке уровня экспрессии рецепторов эстрогенов из всех позитивных опухолей молочной железы установлено, что у 27% пациенток опухоль была положительной по рецепторам эстрогенов, что ассоциировано с благоприятным прогнозом. Рецептор-отрицательная экспрессия установлена в 40% случаев и сопровождается устойчивостью к гормональной терапии. У 33% пациенток отмечена слабоположительная опухоль по рецептору эстрогенов. Положительный уровень рецепторов прогестерона (PR) в опухоли отмечен в 24% случаях, у 60% пациенток опухоль была рецептор-отрицательной.

В проведенном исследовании отсутствие экспрессии Her-2/neu выявлено в 36% случаев, в 24% случаев наблюдался низкий уровень экспрессии (score 1+), в 16% – умеренный уровень экспрессии (score 2+), в 24% случаев детектирована гиперэкспрессия (score 3+) в опухолевых тканях пациенток.

Согласно литературным данным, избыточная экспрессия HER-2/neu свидетельствует о неблагоприятном прогнозе течения заболевания. При проведении исследования гиперэкспрессия (score 2+ и score 3+) была выявлена у 40% пациенток, страдающих РМЖ. В связи с этим, выявление HER-2/neu может служить независимым маркером неблагоприятного прогноза, повышенного риска рецидива заболевания [4].

В ходе проведенного исследования отсутствие экспрессии тканевого антигена Ki-67 установлено в 13% случаев, в 40% – низкий уровень экспрессии, в 22% – умеренный, в 24% случаев обнаружена гиперэкспрессия пролиферативного антигена в опухолевых тканях пациенток с раком молочной железы.

Таким образом, при определении иммунофенотипа опухоли у пациенток с раком молочной железы по оценке уровня экспрессии ER и PR установлено, что в 40% случаев выявлена эстроген-негативная и в 60% случаев прогестерон-независимая опухоль. Избыточная экспрессия HER-2/neu (score 2+, score 3+) обнаружена у 40% пациенток с раком молочной железы, и в 47% случаев выявлена гиперэкспрессия пролиферативного антигена Ki-67 ($>50\%$ клеток), что ассоциировано с агрессивным течением заболевания и риском прогнозирования раннего метастазирования.

У пациенток, страдающих раком молочной железы, на основе оценки экспрессии тканевых антигенов выявлены прогностически значимые молекулярно-биологические подтипы опухоли.

Результаты исследования показали, что *Люминальный А* подтип, характеризующийся высокой экспрессией рецепторов эстрогенов (РЭ) и рецепторов прогестерона (РП), отсутствием экспрессии Her-2/neu и низким уровнем экспрессии Ki-67 (<20%), детектирован у 10 пациенток (22%) и является наиболее благоприятной формой РМЖ. *Люминальный В (Her-2/neu отрицательный)* подтип, характеризующийся отсутствием экспрессии рецептора эпидермального фактора роста 2-го типа на фоне экспрессии РЭ и наличием одного из факторов: отсутствием экспрессии РП или повышенной экспрессией Ki-67 (>20%), обнаружен у 7 пациенток (16%). *Люминальный В (Her-2/neu-позитивный)* подтип, характеризующийся высоким уровнем экспрессии рецепторов эстрогенов и прогестерона, гиперэкспрессией рецептора эпидермального фактора роста 2-го типа и повышенной экспрессией Ki-67 (>20%), выявлен у 14 пациенток (31%). *Her-2/neu-позитивный (нелюминальный)* подтип, характеризующийся отсутствием экспрессии РЭ и РП (менее 20%), на поверхности опухолевых клеток присутствует избыток HER-2-рецепторов, детектируется экспрессия Ki-67>14%. Данный тип выявлен у 5 пациенток (11%) от всех исследуемых случаев РМЖ. *Триплет негативный* подтип, характеризуется отсутствием экспрессии рецепторов эстрогенов, прогестерона и HER-2/neu, обнаружен у 9 пациенток (20%) с РМЖ. Этот тип опухоли прогностически менее благоприятен и ассоциируется с агрессивным течением заболевания, а также высоким риском рецидива, быстрым метастазированием и снижением продолжительности жизни (рисунок).

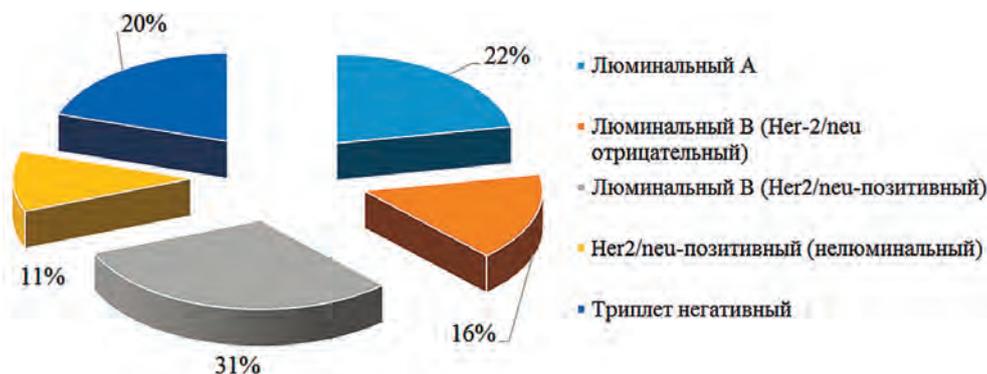


Рисунок – Распределение пациенток по молекулярно-генетическим подтипам РМЖ

Определение иммунофенотипа у пациенток, страдающих раком молочной железы, показало, что эстроген-негативная карцинома диагностирована у 40%, прогестерон-отрицательная в 60% случаев. Выявление гормоноотрицательных опухолей у пациенток с раком молочной железы сопряжено с высокой устойчивостью к эндокринной терапии и неблагоприятным прогнозом течения заболевания. Высокий уровень экспрессии HER-2/neu (score 2+, score 3+) выявлен у 40% пациенток с раком молочной железы, повышенная экспрессия пролиферативного антигена Ki-67 (>50% клеток) обнаружена у 47% пациенток, отражающих агрессивный инвазивный потенциал опухоли и прогрессирование заболевания со снижением бессобытийной и общей выживаемости.

У пациенток, страдающих раком молочной железы, на основе оценки экспрессии тканевых антигенов выявлены прогностически значимые молекулярно-биологические подтипы опухоли. Люминальный А подтип детектирован у 22% пациенток, люминальный В (негативный) подтип – у 16%, люминальный В (позитивный) подтип – у 31%, HER-2/neu позитивный подтип – 11%, триплет-негативный подтип диагностирован у 20% пациенток с РМЖ.

Таким образом, молекулярно-биологическая диагностика подтипов рака молочной железы является независимым прогностическим критерием и позволяет патогенетически обоснованно выбрать персонализированный объем противоопухолевой терапии у данной категории пациенток.

Работа выполнена при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (грант №М19М-015).

ЛИТЕРАТУРА

1. Лобанова, О. Е. Индивидуализированное лечение больных раком молочной железы с учетом клинических, морфологических и молекулярно-биологических предсказывающих факторов: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.01.07 / О. Е. Лобанова; Нац. институт рака. – Киев, 2009. – 20 с.
2. Биологическое обоснование планирования лечения рака молочной железы / В.Ф. Семиглазов [и др.] // Врач. – 2012. – № 11. – С. 3–4.
3. Иммуногистохимическое определение молекулярно-генетических подтипов рака молочной железы / А. Ч. Дубровский // Материалы IV съезда онкологов Республики Беларусь, Минск, 3-5 ноября 2011 г. / Респ. науч.-практ. центр дет. онкологии и гематологии. – [Опубл. в журн.] Онкол. журнал. – 2011. – Т. 5, № 3. – С. 84–85.
4. Тканевые маркеры как факторы прогноза при раке молочной железы / Е.С. Герштейн [и др.] // Практическая онкология / под ред. С.А. Тюляндина, В.М. Моисеенко. – СПб: Центр ТОММ, 2004. – С. 41–50.
5. Молекулярная онкология: клинические аспекты / Е.Н. Имянитов, К.П. Хансон//. – СПб., 2007. – 211 с.