

УДК 618.19-006.6-037

РОЛЬ СТРОМЫ ОПУХОЛИ В ПРОГНОЗИРОВАНИИ ТЯЖЕСТИ ТЕЧЕНИЯ РАКА ГРУДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У БОЛЬНЫХ ПРИ ГИПЕРЭКСПРЕССИИ P53

Н. Ф. Щуров

Запорожский государственный медицинский университет

THE ROLE OF TUMORAL STROMA IN PREDICTING OF THE SEVERITY COURSE IN PATIENTS, SUFFERING MAMMARY GLAND CANCER WITH P53 HYPEREXPRESSION

N. F. Shchurov

Важную роль в канцерогенезе играет микроокружение опухоли, включающее межклеточный матрикс, кровеносные сосуды, клетки воспалительного инфильтрата и фибробласты. Значительные усилия предпринимаются для изучения состояния стромы РГЖ и оценки ее роли в прогрессировании опухоли [1, 2]. Особо сложной задачей являются вопросы выбора адекватного лечения и прогнозирования исхода заболевания при наличии прогностически неблагоприятных факторов течения РГЖ.

Доказано прогностическое значение экспрессии мутантного белка p53. Мутация гена—супрессора TP53 является наиболее распространенным генетическим дефектом при злокачественных опухолях разной локализации [3, 4].

При РГЖ частота мутации значительно различается при sporadic и семейном раке (соответственно 20 и 50%). Ген TP53 локализуется в хромосоме 17 (17p13.1). Это антионкоген, продуцирующий транскрипционный белок p53, который регулирует клеточный цикл и апоптоз [5, 6]. При мутации гена TP53 образуется мутантный белок p53, что обуславливает нарушение регуляции клеточного цикла и апоптоза, при этом клетка опухоли (КО) становится устойчивой к повреждающему действию различных физических и химических агентов, как правило, приводящих к ее гибели [4]. Течение болезни стано-

вится более агрессивным из-за неустойчивости КО к внешнему повреждающему воздействию излучения и противоопухолевых агентов. Существуют данные о прогностическом значении экспрессии p53 при РГЖ для риска дальнейшего прогрессирования и смерти больных [1]. В такие исследования, как правило, включали пациенток в разных стадиях заболевания, в том числе с метастатическим поражением лимфатических узлов [1, 7]. Показана ассоциация экспрессии p53 с большими размерами опухолей, наличием метастазов в регионарных лимфатических узлах, негативной экспрессией эстрогенов и прогестерона, гиперэкспрессией HER2/neu [8]. Однако истинное прогностическое значение микроокружения опухоли (стромы) у женщин при наличии

неблагоприятного прогностического фактора — гиперэкспрессии p53 в опухоли РГЖ не установлено. Для оценки этой роли изучена защитная реакция стромы опухоли у таких больных, а также ее влияние на отдаленные результаты — показатели безрецидивной и общей выживаемости.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

С 2004 по 2009 г. в отделении патологии грудной железы Запорожского областного клинического онкологического диспансера лечили 116 больных по поводу РГЖ T1—4N0—1M0 с гиперэкспрессией p53. Пациентки проинформированы об исследовании и дали согласие на использование операционного материала.

Реферат

Показатели выживаемости пациентов при раке грудной железы (РГЖ) в одинаковой стадии заболевания, при одинаковой гистологической форме опухоли, гиперэкспрессии мутантного белка p53, которым проведено идентичное комплексное лечение, ритмичны, что свидетельствует о необходимости поиска дополнительных прогностических факторов. Изучена прогностическая роль стромы опухоли у больных РГЖ при гиперэкспрессии p53.

Ключевые слова: рак грудной железы; строма; паренхима опухоли; экспрессия p53 в опухоли.

Abstract

There was revealed, that the survival indices in mammary gland cancer (MGC) patients in similar stage of the disease, in the same tumor histology, and in a mutant gene p53 hyperexpression, to whom identical complex treatment was conducted, are rhythmic, what witnesses a necessity to search for additional predicting factors. Predicting role of tumoral stroma in patients, suffering MGC with p53 hyperexpression, was studied.

Key words: mammary gland cancer; stroma; tumoral parenchyma; expression of p53 in tumor.

Возраст пациенток от 34 до 66 лет, в среднем ($42,3 \pm 4,8$) года. В возрасте до 45 лет было 43 (37,1%) больных, от 46 до 55 лет — 57 (49,1%), старше 55 лет — 16 (13,8%). РГЖ в I стадии (T1N0M0) выявлен у 19 (16,4%) пациенток, IIa стадии (T2N0M0, T1N1M0) — у 32 (27,6%), IIb стадии (T2N1M0, T3N0M0) — у 59 (50,8%), IIIb стадии (T4N1M0) — у 6 (5,2%). Всем пациенткам проведено хирургическое лечение в объеме радикальной мастэктомии — у 84 (72,4%) или радикальной резекции грудной железы (ГЖ) — у 32 (27,6%) с последующим гистологическим исследованием микропрепаратов, окрашенных гематоксилином и эозином, для морфологической верифи-

кации диагноза — протокового инфильтрирующего РГЖ низкой степени дифференцировки (G3). Иммуногистохимическое (ИГХ) исследование проведено у всех пациенток в парафиновых срезах операционного материала с использованием моноклональных антител Mo.a—Hu.p53 Protein, Clone DO—7 (“Dako Cytomation Corporation”) к белку p53 в соответствии с рекомендациями фирмы—производителя, придерживались стандартных методов анализа [9]. Результаты реакции с антигенами, локализованными в ядре, оценивали по системе подсчета histochemical score (С. В. Петров, Н. Т. Райхлин, 2004). Система подсчета включала определение интенсивно-

сти иммуногистохимической окраски по 3—балльной шкале и доли окрашенных КО, представляла сумму произведения процентов, отражающих долю клеток с различной интенсивностью окраски, на балл, соответствующий интенсивности реакции. Позитивный результат отмечали при окрашивании ядер КО более 10%, слабое окрашивание ядер (+) — 10 — 30%, умеренное окрашивание (++) — 31 — 50%, интенсивное окрашивание — (+++) более 50%. Для расчета соотношения площади стромы—паренхимы использовали программу для анализа изображений “ВидеоТест мастер морфология”. Количественный анализ цифровых микрофотографий проводи-

Таблица 1. Связь экспрессии p53 с клинико-морфологическими характеристиками

Характеристика	Число больных		Частота выявления p53, %						Достоверность
	абс.	%	50 и более		70 и более		90 и более		
			абс.	%	абс.	%	абс.	%	
Возраст, лет									
до 45	43	37,1	6	13,9	18	41,9	19	44,2	r=0,3 p=0,01
46 - 55	57	49,1	19	33,3	25	43,9	13	22,8	
старше 55	16	13,8	8	50,0	5	31,3	3	18,7	
Локализация опухоли									
правая ГЖ	54	46,6	16	29,6	21	38,9	17	31,5	НД
левая ГЖ	62	53,4	17	27,4	27	43,5	18	29,1	
Локализация опухоли (квadrant)									
верхне-внутренний	28	24,1	10	35,7	11	39,3	7	25,0	НД
нижне-внутренний	7	6,1	1	14,3	4	57,1	2	28,6	
верхне-наружный	64	55,2	19	29,7	24	37,5	21	32,8	
нижне-наружный	8	6,9	1	12,5	4	50,0	3	37,5	
центральная зона	9	7,7	2	22,2	5	55,6	2	22,2	
Критерий T									
T1	23	19,8	12	52,2	7	30,4	4	17,4	r=0,33 p=0,0005
T2	81	69,8	19	23,5	38	46,9	24	29,6	
T3	6	5,2	1	16,7	2	33,3	3	50,0	
T4	6	5,2	1	16,7	1	16,7	4	66,6	
Критерий N									
N0	53	45,7	22	41,5	24	45,3	7	13,2	r=0,45 p=0,0006
N1	63	54,3	11	17,5	24	38,1	28	44,4	
Стадия заболевания									
I	19	16,4	13	68,4	4	21,1	2	10,5	r=0,44 p=0,00008
IIa	32	27,6	10	31,2	16	50,0	6	18,8	
IIb	59	50,8	9	15,3	27	45,8	23	38,9	
IIIb	6	5,2	1	16,7	1	16,7	4	66,6	
Размер опухоли(наибольший диаметр опухолевого узла,см)									
3 и менее	67	57,7	22	32,8	28	41,8	17	25,4	r=0,55 p=0,00001
3 и более	49	42,2	11	22,4	20	40,8	18	36,8	
<i>Примечание.</i>	НД — недостоверно.								

ли в программе "Видеотест—морфология" (версия 5.0), используя методику "Подсчет и измерение" в режиме обработки черно—белого изображения (режим "Gray"). Все абсолютные показатели измеряли в пикселях.

Всем пациенткам проведено комбинированное или комплексное лечение по показаниям в соответствии с существующими стандартами МЗ Украины (№554 от 17.09.07). Для оценки связи между экспрессией p53 и клинико—морфологическими параметрами использовали критерий χ^2 и тест Пирсона (коэффициент корреляции r). Показатели выживаемости пациенток определяли по методу Каплана — Мейера, их различия в группах анализировали с помощью log—rank теста. Критерий достоверной значимости определен как $p < 0,05$. Статистическая обработка полученных данных проведена с использованием программы Microsoft Office Excel 2007, Statistica 6.0, SPSS.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При исследовании корреляционных связей между уровнем экспрессии p53 и клинико—морфологическими характеристиками получены следующие данные (табл. 1). Связь между экспрессией p53 и локализацией опухоли как в органе, так и по квадрантам ГЖ не установлена.

В то же время, отмечена слабая корреляция с возрастом больных ($r=0,3$), достоверная — между количеством КО, экспрессирующих p53, стадией N ($p=0,0006$), размером опухоли ($p=0,00001$), а также стадией заболевания ($p=0,00008$).

Показатели выживаемости пациентов, у которых выявлены злокачественные новообразования, в том числе РГЖ, является наиболее важным критерием эффективности лечения, особенно при наличии неблагоприятных прогностических факторов заболевания.

На основании оценки показателей выживаемости возможно определение прогностической или предиктивной роли того или иного

Таблица 2. Характеристика пациенток, лечения и показателей выживаемости в начальных стадиях РГЖ (T1-2N0M0).

Показатель	Число больных	
	абс.	%
T1N0M0	19	40,4
T2N0M0	28	59,6
Возраст, лет		
моложе 45	16	34,0
от 46 до 55	22	46,8
старше 55	9	19,2
Вмешательство		
радикальная резекция ГЖ	26	55,3
радикальная мастэктомия	21	44,7
Локальное лечение		
радикальная мастэктомия без лучевой терапии	16	76,2
радикальная мастэктомия с лучевой терапией	5	23,8
радикальная резекция без лучевой терапии	4	15,4
радикальная резекция с лучевой терапией	22	84,6
Адьювантная системная терапия		
только эндокринотерапия	6	12,7
ПХТ	22	46,8
ПХТ и эндокринотерапия	8	17,0
системное лечение не проводили	11	23,4
Рецидивы болезни		
всего	12	25,5
локальные	5	10,6
отдаленные метастазы	7	14,8
Умерли	9	19,1

клинико—морфологического фактора.

Для изучения общей (ОВ) и безрецидивной (БРВ) выживаемости больных при гиперэкспрессии p53 в зависимости от соотношения строма—паренхима опухоли они распределены на 3 группы.

У 38 (32,7%) больных (1—я группа) строма опухоли составляла до 30%, у 48 (41,4%) больных (2—я группа), от 31 до 50%, у 30 (25,9%) больных (3—я группа) — соотношение—строма—паренхима превышало 50%.

Установлена прямая корреляционная зависимость показателей выживаемости больных при РГЖ от площади стромы ($r=0,66$). При анализе в подгруппах выявлено, что у пациенток при p53—положительных опухолях, которым не проводили какой—либо адьювантной лекарственной терапии в начальных стадиях РГЖ (T1—2N0M0), показатели ОВ

и БРВ хуже ($p < 0,05$), чем у тех, которым назначали адьювантную системную полихимиотерапию (ПХТ) (табл. 2). Продолжительность наблюдения от 12 до 84 мес, медиана 62 мес.

Следовательно, только у 63,8% пациенток в начальных стадиях заболевания (T1—2N0M0) проведена системная адьювантная ПХТ.

Таким образом, ядерная экспрессия p53 является негативным прогностически значимым фактором при РГЖ. Проведение адьювантной системной ПХТ у больных РГЖ в стадии T1—2N0M0 при гиперэкспрессии p53 способствовало улучшению показателей ОВ и БРВ ($p < 0,005$).

При соотношении строма—паренхима опухоли менее 50% и гиперэкспрессии p53 больные умирали в сроки до 1,5 года от начала лечения и позже чем через 4 года; при выраженной строма опухоли (более

50%) наблюдали достоверное ($p < 0,005$) увеличение показателей ОБ больных с 46,5 до 76,4,8%.

Ядерная экспрессия p53 достоверно ($p < 0,05$) коррелировала с такими важными прогностическими факторами, как возраст пациенток до 45 лет, гистологический тип инфильтративного протокового рака, высокая степень злокачественности опухоли (G3), наличие метастазов в регионарных лимфатических узлах, размеры опухолевого очага (диаметр более 3 см), стадия заболевания. При анализе показателей ОБ и БРВ в общей группе больных отмечено прогностическое влияние на них состояния стромы опухоли, наиболее существенные различия выявлены у больных при гиперэкспрессии p53 и наличии метастазов рака в лимфатических узлах — N + ($p < 0,005$).

ВЫВОДЫ

1. Прогноз у больных РГЖ связан не только с уровнем экспрессии p53 в КО, но и соотношением стромы—паренхима опухоли.

2. У больных при гиперэкспрессии белка p53 в КО выраженная стромальная реакция способствует увеличению показателей ОБ и БРВ в 2 раза. Уменьшение стромальной реакции обуславливает смерть больных в сроки до 1,5 года от начала лечения.

3. У больных при гиперэкспрессии p53 и выраженной строме опухоли (более 50%) установлена зависимость показателей выживаемости от возраста. Защитная функция стромы опухоли наиболее выражена у пациенток в возрасте до 45 лет, при сохраненной менструальной функции. Показатели ОБ и БРВ в этой группе на 25% больше, чем в остальных возрастных группах.

4. Установлена связь площади стромы опухоли со стадией заболевания (TNM) и размерами опухоли. При РГЖ II стадии и соотношении стромы—паренхима более 50% показатели ОБ и БРВ наилучшие. При увеличении площади стромы опухоли улучшался прогноз заболевания и в группе больных при наличии метастазов рака в лимфатических узлах на 17,7%.

5. Проведение адьювантной системной ПХТ в начальных стадиях заболевания (T1—2N0M0) при гиперэкспрессии p53 способствовало улучшению показателей ОБ — на 23,4 %, БРВ на — 18,9 %.

ЛИТЕРАТУРА

1. Завьялова М. В. Взаимосвязь морфологического фенотипа опухоли, лимфогенного и гематогенного метастазирования при инфильтрирующем протоковом раке молочной железы: автореф. дис. ... д—ра мед. наук / М. В. Завьялова. — Томск, 2009. — 41 с.
2. Осинский С. П. Микрофизиология опухолей / С. П. Осинский, П. Ваупель. — К.: Наук. думка, 2009. — 211 с.
3. Vousden K. H. p53 in health and disease / K. H. Vousden, D. P. Lane // *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* — 2009. — Vol. 8. — P. 275 — 283.
4. TP53 mutations in human cancers: functional selection and impact on cancer prognosis and outcomes / A. Petitjean, M. I. Achatz, A. L. Borresen—Dale [et al.] // *Oncogene*. — 2010. — Vol. 26. — P. 2157 — 2165.
5. Recent advances in p53 research: an interdisciplinary perspective / M. Olivier, A. Petitjean, V. Marcel [et al.] // *Cancer Gene Ther.* — 2009. — Vol. 16. — P. 1 — 12.
6. p53 mutation, deprivation and poor prognosis in primary breast cancer / Br. J. Cancer. — 2010. — Vol. 102. — P. 719 — 726.
7. Transcriptional regulation of estrogen receptor— α by p53 in human breast cancer cells / S. H. Shirley, J. E. Rundhaug, J. Tian [et al.] // *Cancer Res.* — 2011. — Vol. 69, N 8. — P. 3405 — 3414.
8. Combined effects of single nucleotide polymorphisms TP53 R72P and MDM2 SNP309, and p53 expression on survival of breast cancer patients / M. K. Schmidt, J. Tommiska, A. Broeks [et al.] // *Breast Cancer Res.* — 2011. — Vol. 11, N 6. — P. 89.
9. Eeles R. Multicentric breast cancer: clonality and prognostic studies / R. Eeles, G. Kneep // *Breast Cancer Res. Treat.* — 2011. — Vol. 129, N 3. — P. 703 — 716.

