

Н.Ф. Щуров

Запорожский государственный
медицинский университет,
Запорожье, Украина

Ключевые слова: рак молочной
железы, p53, регионарные
лимфатические узлы, общая
выживаемость, безрецидивная
выживаемость.

СВЯЗЬ МЕЖДУ ЭКСПРЕССИЕЙ p53 В КЛЕТКАХ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И МЕТАСТАЗИРОВАНИЕМ В РЕГИОНАРНЫЕ ЛИМФАТИЧЕСКИЕ УЗЛЫ

Цель: изучить связь экспрессии белка p53 в клетках опухоли у больных раком молочной железы (РМЖ) и метастазированием в регионарные лимфатические узлы (РЛУ). **Объект и методы:** в исследование включены 216 пациенток с РМЖ: в стадии T1–2N0M0 — 124 больных, T1–2N1M0 — 92. Экспрессию p53 в опухолевых клетках определяли иммуногистохимически по стандартной методике. Статистическую обработку данных провели с использованием программы Microsoft Office Excel 2007, Statistics 6.0, SPSS. **Результаты:** установлено, что чем выше в опухоли экспрессия мутантного p53, тем больше процент больных с пораженными метастазами РЛУ. Общая и безрецидивная выживаемость больных РМЖ была достоверно ниже при высокой экспрессии p53. **Вывод:** оценка экспрессии белка p53 в ядрах опухолевых клеток может быть использована как дополнительный прогностический фактор у больных РМЖ в стадии T1–2N0–1M0.

Рак молочной железы (РМЖ) прочно удерживает первое место в структуре онкологической заболеваемости у женщин. Благодаря широкому внедрению в патологоанатомическую практику иммуногистохимического метода исследования появилась возможность углубить диагностику заболевания и индивидуализировать методы лечения больных РМЖ [1, 5, 6]. Иммуногистохимические маркеры, отражающие фундаментальные биологические свойства и функциональное состояние опухолевых клеток, играют важную роль в оценке особенностей течения и исхода онкологических заболеваний [2, 3, 6]. Тем не менее из-за большого количества потенциально значимых молекулярно-биологических факторов и существенных расхождений представленных в литературе данных об их прогностической ценности выбор определенного типа терапии, основанный на биологических характеристиках опухоли, остается затруднительным и неопределенным для врача [2].

Одним из таких маркеров является белок p53 [1, 4, 7]. Мутация p53 представляет собой наиболее распространенный генетический дефект при раке многих локализаций и возникает примерно в 20% «спорадических» случаев и в половине случаев семейного РМЖ. Лабораторными исследованиями установлено, что клетки с мутацией белка p53 устойчивы к воздействию излучения и химиотерапевтических препаратов, обычно вызывающих апоптоз [8]. Есть сообщения об отрицательном влиянии мутантного белка p53 на безрецидивную и общую выживаемость (БРВ, ОВ) больных РМЖ [5, 9]. Однако вопрос о связи экспрессии мутантного p53 с дина-

микой опухолевого прогрессирования на ранних стадиях заболевания, в частности с развитием метастазов РМЖ в регионарных лимфатических узлах (РЛУ), исследован недостаточно.

Цель работы — изучить связь экспрессии мутантного белка p53 в клетках опухоли больных РМЖ в начальных стадиях заболевания и различия метастазов в РЛУ, оценить влияние экспрессии p53 на ОВ и БРВ.

ОБЪЕКТ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследование включены 216 пациенток с РМЖ в стадии T1–2N0–1M0, которые получали лечение в Запорожском областном клиническом онкологическом диспансере с 2006 по 2011 г. Все пациентки дали информированное согласие на использование истории болезни и операционного материала в исследовательских целях. Данные о гистологическом типе исследованных опухолей приведены в табл. 1. В зависимости от наличия метастазов в РЛУ больные были распределены в 2 группы: T1–2N0M0 — 124 пациентки (1-я группа), T1–2N1M0 — 92 (2-я группа).

Таблица 1

| Гистологический тип РМЖ | Количество больных | |
|----------------------------|--------------------|------|
| | n | % |
| Дольковый инфильтрирующий | 44 | 20,4 |
| Протоковый инфильтрирующий | 172 | 79,6 |

Фиксацию операционного материала осуществляли с использованием нейтрального 10% забуференного формалина. Срезы толщиной 4–5 мкм наносили на стекла, обработанные адгезивной жидкостью. Демаскировку антигенов производили путем

нагрева срезом в цитратном буфере ($pH = 6,0$) путем автоклавирования в течение 10 мин при достижении в буфере температуры $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ при давлении 1 атм. Дальнейшую процедуру осуществляли согласно технологии и требованиям спецификации фирмы-производителя МКАТ (p53, клон DO-7, «ДАКО», Дания). После удаления первичных антител использовали систему визуализации LSAB2 (биотинилированные антитела и пероксидазный комплекс), а в качестве хромогена — DAB (диаминобензидин). После проведения иммуногистохимических реакций срезы дополнительно окрашивали гематоксилином Майера. Антигенные детерминанты p53 располагаются интрануклеарно, поэтому положительными считали только те клетки, в которых были получены интенсивные ядерные реакции. Были использованы рекомендации американской научно-исследовательской лаборатории (ARUP), в соответствии с которыми интенсивность окрашивания ядер оценивается (аналогично стероидным рецепторам) по 3 степеням. Положительный результат отмечали при окрашивании ядер 10% опухолевых клеток, слабое окрашивание ядер (+) — 10–30%, (++) — 31–50%, (+++) — > 50%.

Все пациентки получили комбинированное или комплексное лечение по показаниям согласно существующим стандартам диагностики и лечения больных онкологического профиля, утвержденным приказом Министерства здравоохранения Украины «Об утверждении протоколов оказания медицинской помощи по специальности «Онкология» от 17.09.2007 г. № 554. Статистическая обработка полученных данных выполнена с использованием коэффициента корреляции по Пирсону, программы Microsoft Office Excel 2007, Statistica 6.0, SPSS.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Экспрессия белка p53 выявлена более чем в половине исследованных образцов РМЖ, что соответствует данным литературы о высокой частоте мутаций гена p53 в опухолях различных локализаций, включая и злокачественные новообразования молочной железы [4, 9]. Все пациентки в зависимости от уровня экспрессии p53 были распределены на четыре подгруппы: 1-я — больные, у которых уровень экспрессии составил 0–10%, 2-я — 11–30%, 3-я — 31–50% и 4-я группа пациенток, у которых исследуемый показатель составил > 50%, согласно интерпретации результатов иммуногистохимической лаборатории (табл. 2).

Таблица 2

Иммуногистохимический уровень экспрессии белка p53 в опухолевых клетках РМЖ

| Экспрессия белка p53 в опухоли, % | Количество больных | |
|-----------------------------------|--------------------|------------|
| | n | % |
| 0–10 | 34 | 15,7 ± 5,2 |
| 11–30 | 50 | 23,1 ± 4,8 |
| 31–50 | 79 | 36,6 ± 4,4 |
| > 50 | 53 | 24,6 ± 6,2 |

Результаты изучения зависимости между наличием метастазов РМЖ в РЛУ и уровнем экспрессии белка p53 в клетках опухоли представлены на рис. 1.

Как видно, при наиболее высокой экспрессии белка p53 (> 50% опухолевых клеток) метастазы в РЛУ были выявлены у 77,9% больных, не отмечены — у 22,1% ($p < 0,05$). При экспрессии p53 в 31–50% клеток РМЖ частота наличия метастазов в РЛУ имела выраженную тенденцию к повышению ($0,1 > p > 0,05$), при экспрессии p53 в 11–30% опухолевых клеток частота РМЖ N0 и N1 была практически одинаковой. Наконец, при экспрессии p53 в < 10% опухолевых клеток больные распределялись следующим образом: без метастазов РЛУ — 72,2%, с метастазами — 27,8% ($p < 0,05$).

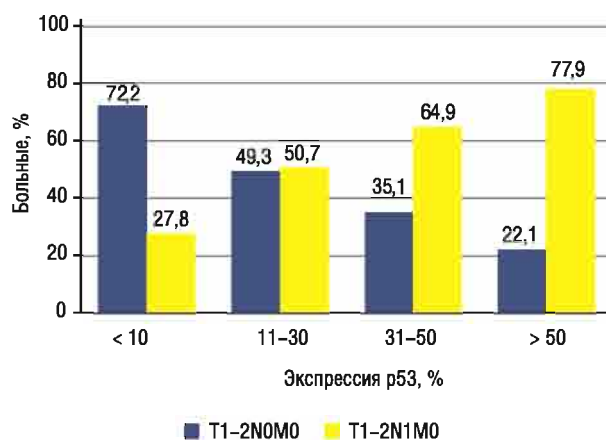


Рис. 1. Экспрессия белка p53 в группах больных РМЖ в зависимости от наличия метастазов в РЛУ

Анализ 3- и 5-летней ОВ и БРВ пациенток в зависимости от уровня экспрессии p53 в опухоли показал, что при экспрессии белка p53 в < 10% клеток ОВ и БРВ больных РМЖ в стадии T1–2N0M0 не отличалась и составила в обеих группах 100% (рис. 2). При повышении экспрессии p53 отмечали постепенное снижение как ОВ, так и БРВ. В группе больных, в которой экспрессия p53 была самой высокой (> 50% опухолевых клеток), выживаемость — наиболее низкая: ОВ — 50%, БРВ — 20% ($p < 0,05$; $p < 0,05$) (см. рис. 2).

У больных РМЖ в стадии T1–2N1M0 при наиболее низкой экспрессии p53 (< 10%) ОВ достигла 100%, БРВ — 88%; в подгруппах с экспрессией p53 в 11–30% и 31–50% опухолевых клеток эти показатели были в диапазоне 58–47% и 37–31% соответственно. У пациенток с наиболее высокой экспрессией p53 (> 50%) ОВ составила 31,4%, БРВ — 18,6% ($p < 0,05$ по сравнению с аналогичными показателями у пациенток с экспрессией p53 в < 10% опухолевых клеток) (рис. 3).

По результатам нашего исследования выявлена сильная корреляция между экспрессией белка p53 у больных РМЖ и наличием метастазов в РЛУ ($r = 0,85$). Отмечена также корреляционная связь между ОВ, БРВ и степенью экспрессии белка p53 в опухоли ($r = -0,56$).

В целом, суммируя вышеизложенные данные, можно заключить, что степень агрессивности кли-

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

нического течения РМЖ зависит, наряду со многими клиническими и молекулярно-биологическими характеристиками опухоли, и от экспрессии мутантного белка p53, что подтверждают данные литературы [1, 2, 4, 6]. Таким образом, экспрессия белка p53 в клетках РМЖ может быть прогностическим фактором, свидетельствующим о высоком метастатическом потенциале опухоли.

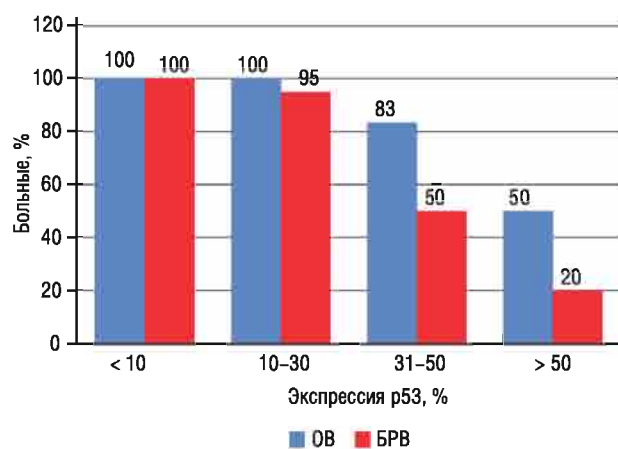


Рис. 2. 5-летняя ОВ и БРВ у больных РМЖ T1–2N0M0 в зависимости от уровня экспрессии белка p53 в опухоли

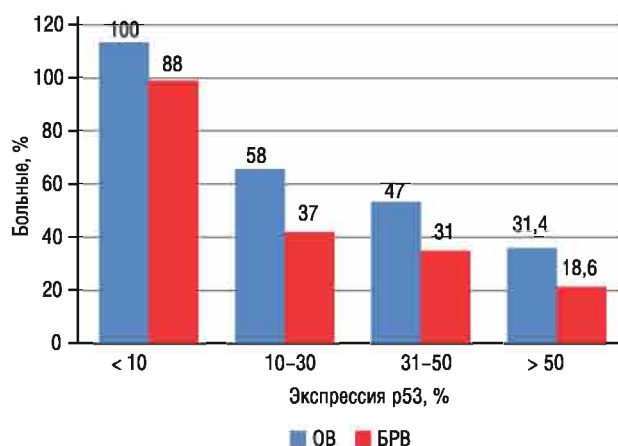


Рис. 3. 5-летняя ОВ и БРВ у больных РМЖ T1–2N1M0 в зависимости от уровня экспрессии белка p53 в опухоли

ВЫВОДЫ

1. Экспрессия мутантного белка p53 в ядрах опухолевых клеток РМЖ взаимосвязана с развитием метастазов в РЛУ: при экспрессии белка p53 в > 50% опухолевых клеток метастазы в РЛУ определяли у 77,9% больных, а при низкой экспрессии p53 (< 10% опухолевых клеток) метастатическое поражение РЛУ выявлено лишь у 27,8% ($p < 0,05$).

2. Наиболее неблагоприятный прогноз заболевания отмечен при РМЖ с экспрессией мутантного белка p53 в ядрах > 50% опухолевых клеток: в таких случаях 5-летняя ОВ составила 31,4%, а БРВ — 18,6% ($p < 0,05$ для обоих показателей).

1. Бондарева ВА. Значение прогностических маркеров опухолевой прогрессии Ki-67 и p53 в опухолях молочной железы. Морфология 2007; 1: 40–44.

2. Кулигина ЕП. Эпидемиологические и молекулярные аспекты рака молочной железы. Практик онкол 2010; 11 (4): 203–4.

3. Пожарисский КМ. Значение иммуногистохимических методик для определения характера лечения и прогноза опухолевых заболеваний. Арх Патологии 2010; Вып. 5: 3–11.

4. Щепотин ИБ. Клиническое значение мутаций p53 при раке грудной железы. Клин онкол 2012; 8 (4): 46–50.

5. Bonnefoi H, Diebold-Berger S, Therasse P, et al. Locally-advanced/inflammatory breast cancers treated with intensive epirubicin-based neoadjuvant chemotherapy: are there molecular markers in the primary tumour that predict for 5-year clinical outcome? Ann Oncol 2010; 14 (3): 406–13.

6. Esteva F, Hortobagyi G. Prognostic markers in early breast cancer. Breast Cancer Res 2008; 6 (3): 109–118.

7. King SA, Adas AA, LiVolsi VA. Expression and mutation analysis of the p53 gene in uterine papillary serous carcinoma. Cancer 2010; 75: 2700–5.

8. Lowe SW, Ruley HE, Jacks T, et al. p53-dependent apoptosis modulates the cytotoxicity of anticancer agents. Cell 2009; 74: 957–67.

9. McLaughlin R, O'Hanlon D, McHale T, et al. Prognostic implications of p53 and bcl-2 expression in 108 women with stage two breast cancer. Int J Med Sci 2011; 170 (1): 11–3.

DEPENDENCE OF BREAST CANCER METASTASIS TO REGIONAL LYMPH NODES OF THE LEVEL OF p53 EXPRESSION IN THE TUMOR

N.F. Shchurov

Summary. Aim: the association of cancer metastasis to regional lymph nodes with the expression of p53 in tumor cells in patients with breast cancer (BC). **Object and methods:** in the study 216 patients with BC are included (T1–2N0M0 — 124 patients, T1–2N1M0 — 92). The p53 expression in tumor cells was determined using standard immunohistochemical method. Statistical analysis was performed using program Microsoft Office Excel 2007, Statistics 6.0 SPSS. **Results:** found that overall and disease-free survival of BC patients was worse at high p53 expression. The higher the expression of tumor mutant type p53 oncoprotein, the greater the percentage of patients with metastatic lymph nodes affected. **Conclusion:** evaluation of p53 protein in the nuclei of tumor cells can be used as a prognostic factor in BC in stage T1–2N0–1M0.

Key Words: breast cancer, p53, regional lymph nodes, overall survival, disease-free survival.

Адрес для переписки:

Шуров Н.Ф.

69040, Запорожье, ул. Культурная, 177А

Запорожский государственный медицинский университет

Тел.: (050) 620-59-76

E-mail: schurov03@gmail.com

Получено: 18.04.2014