

С.М. Грибач^{1, 2}
 Н.Ю. Лук'янова¹
 Л.З. Поліщук¹
 В.Ф. Чехун¹

¹Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України

²КЗ КОР «Київський обласний онкологічний диспансер», Київ, Україна

Ключові слова: рак молочної залози, метаболічний синдром, менопауза, CD44, Ki-67.

ЕКСПРЕСІЯ CD44 ЗА ПРОГРЕСІЇ ПУХЛИННОГО ПРОЦЕСУ У ХВОРИХ НА РАК МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ З МЕТАБОЛІЧНИМ СИНДРОМОМ

Мета: визначення особливостей експресії CD44 у пухлинних клітинах хворих на рак молочної залози (РМЗ) I–II стадії залежно від клінічних, структурних та молекулярно-біологічних особливостей за наявності або відсутності ознак метаболічного синдрому (МС). **Об'єкт і методи:** 82 хворі на РМЗ I–II стадії в постменопаузі. Використано загальноклінічні, інструментальні, біохімічні, гістологічні, імуногістохімічні, статистичні методи. **Результати:** за комплексом міжнародних критеріїв визначення МС обстежені пацієнтки були розподілені на дві групи: МС⁺ (n = 40; 48,8%) та МС⁻ (n = 42; 51,2%). Встановлено достовірно вищу частоту CD44⁺ пухлин у хворих на РМЗ з МС⁺, II стадії, з метастазами раку в 1–3 лімфатичні вузли. Виявлено позитивну високу і помірну експресію маркера проліферації Ki-67 і молекули CD44 у більшості (відповідно у 75,0 і 86,2%) хворих на РМЗ з МС⁺ та помірний асоціативний зв'язок між експресією Ki-67 і CD44. **Висновок:** отримані результати свідчать про тенденцію до підвищення експресії CD44 при прогресуванні РМЗ у хворих з МС.

Відомо, що молекула CD44 є рецептором компонента екстрацелюлярного матриксу (ЕЦМ) — гіалуронану (ГУ). CD44 — трансмембранний глікопротеїн, через взаємодію з яким реалізуються біологічні ефекти ГУ, що в свою чергу залежить від активності факторів росту, вмісту колагеназ, металопротеїназ, гіалуронідаз в ЕЦМ. Як свідчать дані літератури, взаємодія між вказаними факторами впливає на морфогенез тканин у нормі та при патології, у тому числі при виникненні та розвитку неопластичних процесів [1–3]. При пухлинному рості CD44 відіграє важливу роль у механізмах порушення міжклітинної адгезії та метастазування; залучається у клітинно-матриксні взаємодії, проліферацію пухлинних клітин (ПК) в межах органа, їх міграцію у віддалені органи і тканини [4, 5]. В останні роки доведено, що експресія CD44 асоційована з більшою злоякісністю ПК, а фенотип CD44⁺CD24⁻ є характерною ознакою стовбурових ПК у хворих на рак молочної залози (РМЗ) і молекулярним маркером більш злоякісного фенотипу, агресивного перебігу пухлинного процесу та терапевтичною мішенню [6–9]. Крім того, показано, що на такі функції ПК, як самовідновлення, епігенетична регуляція, клоновість та диференціювання, може впливати взаємодія CD44 з ГУ. Зокрема, така взаємодія підвищує онкогенний потенціал клітин, функції мікроРНК, хіміорезистентність і радіорезистентність ракових стовбурових клітин. Взаємодія CD44v3-ГУ сприяє активації цитоскелета ПК і матриксних металопротеїназ, активуючи

таким чином проліферацію клітин і пухлинну прогресію. Треба відзначити, що підвищена експресія CD44 модулює також активність циклооксигеназ та фактор росту ендотелію судин VEGF і характерна не лише для злоякісного росту, але і для хронічного запалення та аутоімунних дисфункцій, які діагностуються у пацієнтів з онкологічними та імунними захворюваннями [10–14].

Якщо CD44 розглядається деякими авторами у якості потенціального діагностичного маркера як злоякісності пухлинного процесу, так і прогнозу його перебігу, то особливості цього маркера у хворих на РМЗ з метаболічним синдромом (МС) досліджені недостатньо.

МС був описаний G.M. Reaven у 1988 р. як «Syndrome X» або синдром інсулінової резистентності у хворих з абдомінальним ожирінням і толерантністю до глюкози [15]. МС являє собою комплексну соматичну патологію, яка характеризується ожирінням, порушенням ліпідного обміну, артеріальною гіпертензією, гіперглікемією натщесерце та пов'язаних між собою змін, які асоційовані з ліпідним статусом організму, розвитком ліпідемій та низкою інших патологічних процесів в організмі. Відзначена асоціація МС з дисфункцією ендотелію та атеросклерозом, що є причиною підвищеного ризику виникнення кардіоваскулярних хвороб і цукрового діабету 2-го типу, а також злоякісних новоутворень, в тому числі РМЗ. Цей синдром найчастіше проявляється у постменопаузальному віці, що стало підставою для виділення окремих форм РМЗ,

зокрема постменопаузальних [16], клінічні та біологічні особливості яких досліджені недостатньо, особливо враховуючи їх поліморфізм і структурну та молекулярно-біологічну гетерогенність РМЗ.

Дослідженнями останнього 10-річчя підтверджено значення таких ознак МС, як ожиріння та високий індекс маси тіла (ІМТ) у жінок постменопаузального віку. Визначена роль метаболічних порушень в організмі жінок у якості факторів ризику виникнення РМЗ: зі збільшенням маси тіла у дорослих на кожні 5 кг відносний ризик виникнення постменопаузального РМЗ становить 1,39 (95% довірчий інтервал 1,29–1,49) незалежно від того, проводиться гормональна замісна терапія чи ні [17, 18]. Доцільність і нагальність подальшого вивчення МС та пов'язаних із ним клінічних і біологічних особливостей пухлинного росту ґрунтується на даних Національного канцер-реєстру, згідно з якими в Україні найвища захворюваність жінок на РМЗ фіксується у віковому інтервалі старше 60 років [19].

Таким чином, наведені дані літератури свідчать, що експресія CD44 асоційована з туморогенезом і станом ГУ ЕЦМ, але як змінюється функціональний стан цієї молекули у хворих на РМЗ постменопаузального віку за наявності МС, залишається остаточно не визначеним. Це обґрунтовує актуальність подальших досліджень молекулярного маркера CD44 для оцінки його фундаментального та практичного значення при пухлинному рості у молочній залозі.

Мета дослідження: визначення особливостей експресії CD44 у ПК хворих на РМЗ I–II стадії залежно від клінічних, структурних та молекулярно-біологічних особливостей за наявності/відсутності ознак МС.

ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

У дослідження включено 82 хворі на РМЗ I–II стадії. Вік хворих коливався від 48 (хворі з постхірургічною менопаузою) до 83 років, тобто всі пацієнтки були у стані менопаузи. Всі жінки, включені у дослідження, проходили стаціонарне лікування протягом 2011–2016 рр. на базі мамологічного відділення Комунального закладу Київської обласної ради «Київський обласний онкологічний диспансер». Стадію пухлинного процесу визначали згідно з міжнародною класифікацією пухлин (TNM, 6-ге (2002) та 7-ме (2009) видання). Усі пацієнтки були проінформовані і дали письмову згоду на залучення у дослідження і використання їх біологічних матеріалів у наукових цілях, згідно з Гельсінською декларацією. Усім хворим проведено фізикальне обстеження; виконано загальноклінічні, біохімічні лабораторні обстеження; застосовано інструментальні методи, спрямовані на уточнення розповсюдження пухлини: рентгенівську та ультразвукову мамографію, тонкоіглову або аспіраційну трепан-біопсію, рентгенографію органів грудної клітки, ультрасонографію органів черевної порожнини, заочеревинно-

го простору, малого таза (за стандартами діагностики і лікування онкологічних хворих, затверджених наказами МОЗ України від 27.07.1998 р. № 140, від 17.09.2007 р. № 554, від 30.07.2010 р. № 645 та від 30.06.2015 р. № 396). Поряд з вищеперерахованими методами застосовувалися дослідження для виявлення МС: визначали зріст, масу тіла, окружність талії (ОТ), рівень артеріального тиску (АТ), наявність ішемічної хвороби серця та/або гіпертонічної хвороби, цукрового діабету. Рівень глікемії натщесерце, дослідження показників ліпідного обміну (рівень тригліцеридів (ТГ), ліпопротеїдів високої щільності (ЛПВЩ)) проводили з використанням стандартних біохімічних методів.

Залежно від клінічних показань хворим були проведені органозберігаючі операції або радикальні мастектомії за Мадденом і ад'ювантна поліхіміотерапія згідно зі стандартами лікування, затвердженими в Україні, за схемами CMF (циклофосфамід + метотрексат + флуороурацил) або CAF (циклофосфамід + доксорубіцин + флуороурацил), 4–6 курсів. У післяопераційний період хворим призначали променеву терапію у сумарній дозі 42–44 Гр на післяопераційний рубець та зони регіонарного метастазування. Хворим із позитивною експресією рецепторів естрогену (ER) та прогестерону (PR) у видаленій пухлині призначали гормональну терапію (тамоксифен, інгібітори ароматази).

Патогістологічне дослідження операційного матеріалу проводили за стандартним методом. Визначали морфологічну будову та ступінь диференціювання пухлини, метастатичне ураження регіонарних лімфатичних вузлів (ЛВ). Експресію молекулярно-біологічних маркерів (CD44, Ki-67, ER, PR, HER2/neu) вивчали на гістологічних зрізах (4–5 мкм) шляхом проведення імуногістохімічних реакцій з відповідними антитілами та дозобарвленням гематоксилином Майєра. Застосовували MkAT, специфічні до: CD44 (clone DF 1485, «Dako Cytomation», Данія), Ki-67 (MIB-1 «Dako Cytomation», Данія), ER (клон 1D5, «Dako Cytomation», Данія), PR (клон PgR636, «Dako Cytomation», Данія), HER2/neu (клон c-erbB-2, «Dako Cytomation», Данія). Для візуалізації результатів використовували набір реактивів EnVision+ та 3,3-діамінобензидин («DakoLSAB2 system», Данія). Результати оцінювали при збільшенні світлового мікроскопа × 200–400.

Експресію CD44 і Ki-67 більше як у 20% клітин при дослідженні 3–4 гістологічних зрізів вважали позитивною.

Статистичну обробку результатів проводили з використанням методів варіаційної статистики із застосуванням програми Statistica 6.0. Для оцінки достовірності відмінностей показників експресії досліджених маркерів та інших клініко-патологічних параметрів використовували t-критерій Стюдента. Кореляційний аналіз проводили за допомогою розрахунку коефіцієнта кореляції Пірсона. Достовірними вважали розбіжності при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Загальна клінічна характеристика обстежених хворих, а також клінічні, морфологічні та молекулярно-біологічні особливості пухлин представлено в табл. 1. РМЗ I стадії діагностували у 40,3%, II стадії — у 59,7% пацієнток. Метастази у регіонарних ЛВ у кількості N1–N3 виявлено у 65,8%. У більшості хворих (73,2%) видалені пухлини мали гістологічну будову інфільтративного протокового раку, у 26,8% — інфільтративного часточкового раку. Оцінка рівня диференціювання пухлин показала перевагу пухлин помірного (46,3%) та низького (31,7%) ступеня диференціювання. Молекулярний підтип РМЗ також був різним з перевагою люмінального А підтипу (40,2%), тоді як частка люмінального Б та базальноподібного молекулярного підтипу була майже однакова, відповідно 29,3 та 30,5%.

Таблиця 1

Загальна клініко-патологічна характеристика пухлинного процесу у хворих на РМЗ постменопаузального віку

Показники	Кількість хворих	
	п	%
Загальна кількість хворих	82	100,0
Менопауза	82	100,0
Стадія I РМЗ	33	40,3
Стадія II РМЗ	49	59,7
Без метастазів (N0)	28	34,1
З метастазами (N1–N3)	54	65,8
Гістологічний тип пухлин:		
інфільтративний протоковий рак	60	73,2
інфільтративний часточковий рак	22	26,8
Ступінь диференціювання пухлин:		
G1 (високий)	18	22,0
G2 (помірний)	38	46,3
G3 (низький)	26	31,7
Молекулярний підтип пухлин:		
люмінальний А (ER ⁺ , PR ⁺ , HER2/neu ⁻)	33	40,2
люмінальний Б (ER ⁺ , PR ⁺ , HER2/neu ⁻)	24	29,3
базальноподібний (ER ⁻ , PR ⁻ , HER2/neu ⁻)	25	30,5

Як відомо, МС включає в себе центральне ожиріння, цукровий діабет, порушення ліпідного обміну, артеріальну гіпертензію. У квітні 2005 р. International Diabetes Federation (IDF) визначила єдині критерії встановлення діагнозу «метаболічний синдром» [20]. Згідно рекомендаціям IDF обов'язковим критерієм МС є центральне (абдомінальне) ожиріння (ОТ > 80 см для жінок) в поєднанні як мінімум з двома з таких 4 чинників: підвищенням ТГ > 1,7 ммоль/л або специфічним лікуванням дисліпідемії; зниженням ЛПВЩ < 1,29 ммоль/л або специфічним лікуванням; підвищенням АТ: систолічного — > 130 мм рт. ст. або діастолічного — > 85 мм рт. ст., або антигіпертензивною терапією; підвищенням рівня глюкози венозної плазми натщесерце > 5,6 ммоль/л або раніше виявленим цукровим діабетом 2-го типу. Крім загальних клінічних даних, ми також визначали частоту ознак за індексом Кетле (ІМТ, кг/м²): ІМТ ≤ 16 — дефіцит маси тіла, 16,0–18,5 — недостатня, 18,5–24,9 — нормальна, 25,0–30,0 — зайва маса тіла (передожиріння), 30,0–35,0 — ожиріння I ступеня, 35,0–40,0 — ожиріння II ступеня, ≥ 40 — ожиріння III ступеня.

Виявилося, що нормальна або надлишкова маса тіла (ІМТ 18,5–29,9 кг/м²) була лише у 31 (37,8%) хворої, тоді як у решти (62,2%) ІМТ коливався від 30,0 до > 39,9 кг/м², що свідчило про ожиріння I–III ступеня (рис. 1). ОТ (ще один показник МС) також був варіабельним і коливався від 89,3 до 109,3 см (табл. 2). За переліченими вище критеріями пацієнток було поділено на 2 групи — з МС (40 хворих) та з відсутністю МС (42 хворих) (див. табл. 2, рис. 1).

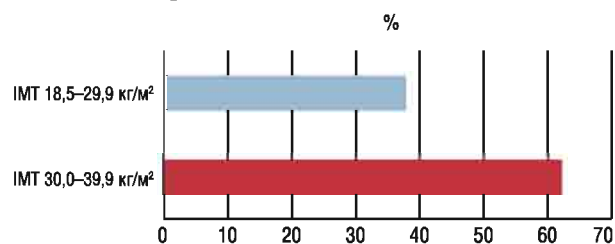


Рис. 1. Розподіл хворих (%) залежно від ІМТ

Таблиця 2

Розподіл і характеристика хворих на РМЗ згідно з критеріями МС

Групи	ОТ, см	Рівень в крові, ммоль/л			Систолічний АТ, мм рт. ст.
		ТГ	ЛПВЩ	глікемії натщесерце	
МС ⁺ (n = 40)	99,3 ± 10*	1,83 ± 0,21*	1,26 ± 0,42	5,96 ± 1,76	149 ± 28
МС ⁻ (n = 42)	78,1 ± 6,0	1,45 ± 0,14	1,29 ± 0,16	4,67 ± 1,01	129 ± 19

*p < 0,05 при порівнянні з показниками хворих з відсутністю МС.

У подальшому ми проаналізували клінічні особливості та характеристику пухлинного процесу у хворих цих груп (табл. 3).

Таблиця 3

Загальна клініко-патологічна характеристика пухлинного процесу у хворих на РМЗ залежно від наявності/відсутності МС

Показники	Хворі з МС ⁻		Хворі з МС ⁺	
	п	%	п	%
Загальна кількість хворих	42	100,0	40	100,0
Коливання віку, роки	48–78		48–83	
Менопауза	42	100,0	40	100,0
Стадія I РМЗ (n = 33; 40,3%)	18	42,9	15	37,5
Стадія II РМЗ (n = 49; 59,7%)	24	57,1	25	62,5
Без метастазів (N0)	14	33,3	14	35,0
З метастазами (N1–N3)	28	66,7	26	65,0
Гістологічний тип пухлин:				
інфільтративний протоковий рак	30	71,4	30	75,0
інфільтративний часточковий рак	12	28,6	10	25,0
Ступінь диференціювання пухлин:				
G1 (високий)	10	23,8	8	20,0
G2 (помірний)	18	42,9	20	50,0
G3 (низький)	14	33,3	12	30,0
Молекулярний підтип пухлин:				
люмінальний А (ER ⁺ , PR ⁺ , HER2/neu ⁻)	16	38,1	17	42,5
люмінальний Б (ER ⁺ , PR ⁺ , HER2/neu ⁻)	13	30,95	11	27,5
базальний (ER ⁻ , PR ⁻ , HER2/neu ⁻)	13	30,95	12	30,0

Як свідчать дані, наведені в табл. 3, в обох групах переважала II стадія пухлинного процесу, але частота хворих з такою стадією РМЗ в групі МС⁺ мала тенденцію до підвищення порівняно з групою МС⁻. Аналіз гістологічних особливостей досліджених пухлин показав, що у більшості хворих з МС⁺ і МС⁻ був інфільтративний протоковий рак (75,0 та 71,4% відповідно) помірного ступеня диференціювання (50,0

та 42,9% відповідно). Не відзначено достовірної різниці між групами MC^+ і MC^- за гістологічними особливостями та частотою різного ступеня диференціювання пухлин. Що стосується молекулярних підтипів РМЗ, то в обох групах було визначено люмінальний А, люмінальний Б і базальноподібний підтипи з перевагою люмінального А, достовірної різниці не встановлено.

Показано достовірні зміни розподілу хворих залежно від віку. Встановлено різну частоту хворих з MC^+ у межах виділених вікових інтервалів (рис. 2). У хворих до 50 років частота MC^+ була найменшою (10%), вона достовірно ($p < 0,05$) збільшувалася у вікових періодах 51–55 (45,2%) та 56–60 років (42,5%), зменшуючись у 2 рази у жінок старше 60 років.

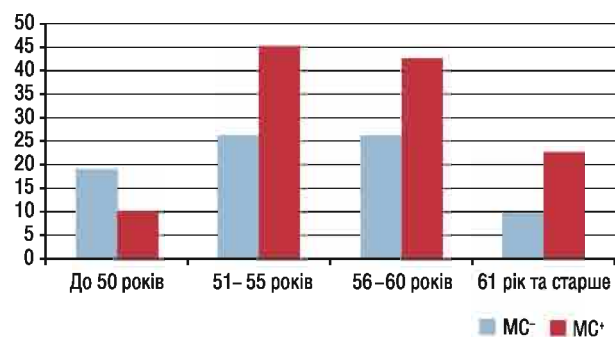


Рис. 2. Розподіл хворих (%) за частотою MC^+ та MC^- залежно від віку

Аналіз експресії CD44 показав її достовірні зміни ($p < 0,05$) у хворих залежно від наявності MC : частота CD44⁺ пухлин у хворих з MC^+ становила 57,5%, що на 10% перевищувало частоту CD44⁺ пухлин у хворих з MC^- (47,6%) (рис. 3).

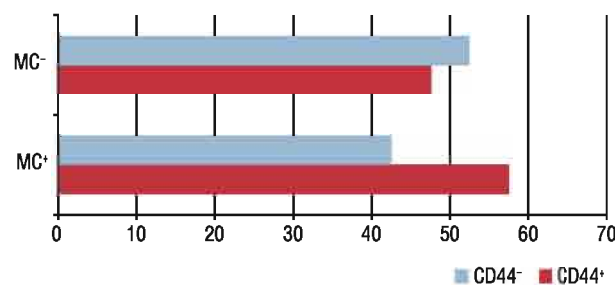


Рис. 3. Розподіл ПК хворих на РМЗ з MC^+ і MC^- за експресією CD44

Стосовно експресії CD44 залежно від стадії РМЗ (без поділу на групи MC^+/MC^-) отримано наступні дані: пухлини CD44⁺ визначені у 16 з 33 (48,5%) хворих I стадії та у 27 із 49 (55,1%) — II стадії. Тобто визначено тенденцію до зростання частоти CD44⁺ пухлин зі збільшенням стадії РМЗ у хворих у постменопаузі (рис. 4).

Оцінюючи таку клінічну особливість, як метастазування РМЗ у регіонарні ЛВ, ми встановили, що частота метастатичного ураження практично не залежала від наявності/відсутності MC : 66,7% — у групі MC^- і 65,0% — у групі MC^+ . В обох групах переважав інфільтративний протоковий рак: 75,0% (MC^+) та 71,4% (MC^-) ($p > 0,05$). Виявлено тенден-

цію до підвищення частоти РМЗ G2 (до 50,0%) у групі MC^+ порівняно з групою MC^- (42,9%; $p > 0,05$). За молекулярними особливостями РМЗ достовірної різниці між групами MC^+/MC^- не встановлено (див. табл. 3).

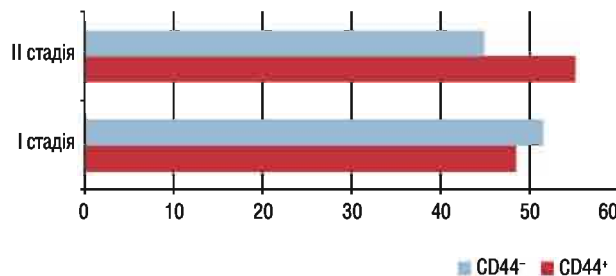


Рис. 4. Розподіл хворих (%) за експресією CD44 у РМЗ залежно від стадії пухлинного процесу

Визначено розподіл хворих залежно від комплексу факторів, до яких ми віднесли MC^+/MC^- , розповсюдженість (стадію) пухлинного процесу та експресію CD44 у ПК. Як свідчать дані, представлені на рис. 5, кількість хворих на РМЗ з позитивною експресією CD44 була більшою лише за умови MC^+ у пацієнток з II стадією, проте не досягала достовірних змін.

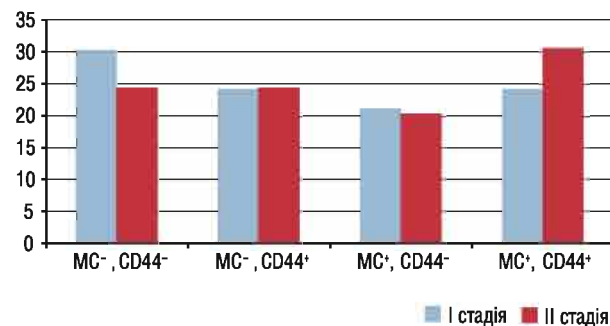


Рис. 5. Розподіл хворих (%) за стадією РМЗ, MC^+/MC^- та фенотипом пухлини CD44⁺/CD44⁻

Проведений у подальшому аналіз експресії CD44 залежно від кількості уражених метастазами ЛВ показав, що кількість CD44⁺ пухлин була найбільшою ($p < 0,05$) в групі MC^+ за ураження N1–N3 (рис. 6). Слід відзначити, що за умови MC^+ відмічали пухлини і без експресії CD44 (хоча і з найменшою з усіх підгруп частотою), що свідчить про існування інших факторів, які можуть впливати на регіонарне метастазування.

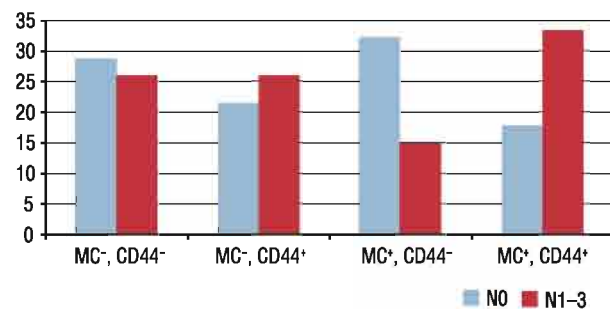


Рис. 6. Розподіл хворих за експресією CD44, MC^+/MC^- та кількістю метастатично уражених регіонарних ЛВ

Розподіл кількості метастазів залежно від наявності МС показав, що в групі МС⁺ (порівняно з групою МС⁻) була меншою частка хворих з ураженням N1 та достовірно більшою частка хворих з N3 ($p < 0,05$), що може вказувати на більш агресивний перебіг пухлинного процесу у хворих з МС⁺ (табл. 4).

Таблиця 4

Розподіл хворих груп МС⁺ та МС⁻ відповідно до кількості уражених ЛВ

Ураження ЛВ	Хворі з МС ⁻ (n = 42; 100%)		Хворі з МС ⁺ (n = 40; 100%)	
	n	%	n	%
N0	14	33,3	14	35,0
N1	9	21,4	5	12,5
N2	15	35,7	12	30,0
N3	4	9,6	9	22,5*

* $p < 0,05$ при порівнянні з показниками хворих групи МС⁻.

Досить важливим фрагментом дослідження стало визначення проліферативної активності ПК та експресії CD44 у пухлинах 40 хворих на РМЗ з МС⁺ (рис. 7). Були враховані всі рівні експресії Ki-67 і CD44 (табл. 5). Різні рівні експресії маркера проліферації визначено у всіх 40 пацієнтів, експресію CD44 — у 29 з 40 (72,5%) (див. табл. 5). При цьому відмічено значні коливання рівня експресії даних маркерів (від 10 до 80% імунопозитивних клітин), що свідчить про індивідуальні особливості пухлинних процесів в молочній залозі. Нами не встановлено статистичного взаємозв'язку між показниками експресії досліджених маркерів, що можна пояснити варіабельністю біологічних особливостей РМЗ. У цьому сенсі має значення той факт, що молекула CD44 знаходиться під багатофакторним контролем з боку багатьох систем [20]. Загалом, отримані результати можуть свідчити про сумарний ефект взаємодії зазначених молекулярних маркерів за умов МС⁺, що може сприяти прогресії пухлинного росту, але ці питання потребують подальших досліджень.

Таблиця 5

Розподіл хворих на РМЗ (%) з МС⁺ за експресією Ki-67 та CD44 у ПК

Рівень експресії маркера	Кількість хворих (n = 40; 100%)			
	Експресія Ki-67		Експресія CD44	
	Наявність (n = 40; 100%)	Відсутність (n = 0)	Наявність (n = 29; 100%)	Відсутність (n = 11; 100%)
Високий	13/32,5	0	11/37,9	2/18,2
Помірний	17/42,5	0	14/48,3	3/27,3
Низький	10/25,0	0	4/13,8	6/54,5

На підставі одержаних результатів нами проведено статистичний аналіз якісних ознак (експресія/відсутність експресії маркерів у гістологічних препаратах одних і тих самих пухлин) шляхом розрахунку коефіцієнта асоціації, який виявився рівним 0,45, що вказує на помірний зв'язок між експресією Ki-67 і CD44 в РМЗ. У пухлинах іншого генезу, зокрема при раку шлунка, також зареєстровано певний зв'язок між експресією CD44 і Ki-67, при цьому позитивна експресія CD44 відзначена у 27% хворих, експресія Ki-67 — у 55%, що асоціювалося з експресією p53 [21].

Таким чином, отримані результати підтверджують біологічне значення CD44 як маркера туморо-

генності. Одержані результати збігаються з даними літератури, згідно з якими молекула CD44 задіяна у багатьох процесах і може функціонувати як ланка гіалуронанзумовленого сигналіну. Молекула CD44 бере участь також у процесах епігенетичної регуляції та у взаємодії з молекулою міжклітинної адгезії E-кадгерином, а разом з маркерами CD24^{-low} і ALDH1⁺ може застосовуватися для діагностики пухлинного процесу та ракових стовбурових клітин у пухлинах молочної залози різного ступеня диференціювання [8].

Виходячи з наведеного, вважаємо, що МС може накладати певний відбиток на перебіг пухлинних процесів. Тому зростає інтерес до CD44 як до мультифункціонального рецептора за умов МС у хворих на РМЗ [22, 23]. Відомо, що у процесах метастазування та формування метастазів у специфічних місцях (наприклад у регіонарних ЛВ) значення має і міграція клітин, яка, на думку деяких авторів [24], може підсилюватися за рахунок зв'язку CD44 з остеопонтином. Останній задіяний у прогресії та метастазуванні РМЗ, активується макрофагами і може слугувати як рецептор-ліганд. Тобто, згідно з думкою, висловленою у кінці ХХ століття, метастазування асоціюється з агрегацією ПК між собою, при цьому взаємодія між CD44 та остеопонтином може становити потенційну основу для формування метастазів, але це потребує подальших досліджень.

ВИСНОВКИ

1. Аналіз дослідженої когорти менопаузальних хворих на РМЗ за індексом Кетле (ІМТ) виявив нормальну і надлишкову масу тіла (ІМТ 18,5–29,9 кг/м²) у 37,8%, у решти 62,2% пацієток ІМТ коливався від 30,0 до >39,9 кг/м², що свідчило про ожиріння І–ІІІ ступеня.

2. За комплексом міжнародних критеріїв визначення МС, які включають, крім ожиріння, підвищення в крові рівня ТГ, зниження ЛПВЩ, підвищення глікемії натщесерце, підвищення АТ, обстежених пацієток з РМЗ І–ІІ стадії розподілили на дві групи: МС⁺ (n = 40; 48,8%) та МС⁻ (n = 42; 51,2%).

3. У хворих на РМЗ до 50 років частота МС⁺ була найменшою (10%), вона достовірно ($p < 0,05$) збільшувалася у вікових періодах 51–55 років (45,2%) та 56–60 років (42,5%).

4. Встановлено достовірно вищу частоту CD44⁺ пухлин у хворих на РМЗ з МС⁺ порівняно з їх частотою у хворих з МС⁻ ($p < 0,05$). Визначено тенденцію до додаткового зростання частоти CD44⁺ пухлин зі збільшенням стадії РМЗ.

5. Частота CD44⁺ пухлин у хворих із метастазами в ЛВ достовірно вища ($p < 0,01$), ніж у хворих без метастатичного ураження. Серед хворих з метастазами раку в 1–3 регіонарні ЛВ за умов МС⁺ частка хворих з CD44⁺ пухлинами достовірно вища, ніж у групі хворих за відсутності ознак МС ($p < 0,05$).

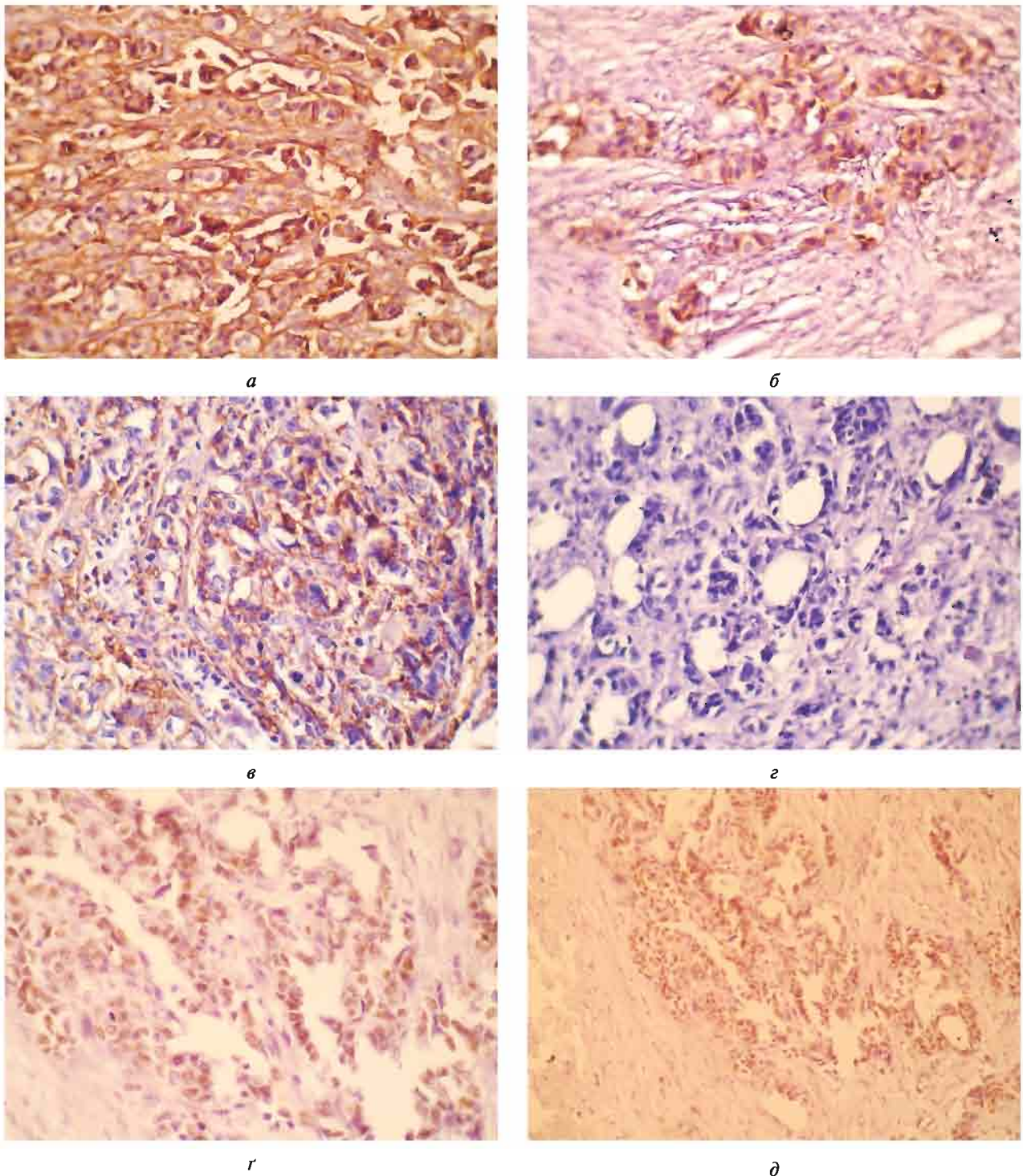


Рис. 7. Гістологічні препарати РМЗ після імуногістохімічної детекції маркерів CD44 (*a, б, в, з*); Ki-67 (*г, д*): *a* — високий рівень дифузної експресії CD44 у ПК залозистих структур раку та на їх кордоні зі стромою, осередки раку з дисоціацією CD44⁺ ПК, $\times 400$; *б* — високий рівень експресії CD44 у ПК мікрозалозистих пухлинних структурах, відсутність експресії маркера в навколишній стромі з ознаками набряку, $\times 200$; *в* — значна варіабельність позитивної експресії CD44 у різко поліморфних ПК і сполучнотканинних структурах, $\times 400$; *з* — негативна експресія CD44 у ПК РМЗ, $\times 200$; *г, д* — високі рівні експресії Ki-67 у клітинах РМЗ, *г* ($\times 400$), *д* ($\times 100$)

6. Не відзначено достовірної різниці між хворими з MC^+ і MC^- за гістологічними особливостями РМЗ та частотою різних ступенів диференціювання пухлин. Що стосується молекулярних підтипів, то в обох групах визначено люмінальний А, люмінальний Б і базальноподібний підти-

пи з перевагою люмінального А, достовірної різниці не встановлено.

7. При імуногістохімічному дослідженні встановлено позитивну високу і помірну експресію маркера проліферації Ki-67 у пухлинах 75% пацієнтів і молекули CD44 у 86,2% хворих на РМЗ з MC^+ та відзна-

чено індивідуальну варіабельність експресії даних маркерів. Виявлено помірний асоціативний зв'язок між експресією Ki-67 і CD44 в РМЗ.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Olsson E, Honeth G, Bendahl PO, *et al.* Role of CD44s and CD44v6 on human breast cancer cell adhesion, migration, and invasion. *Exp Mol Pathol* 2009; **86**: 95–100.
2. Gruvberger-Saal S, Ringné M. CD44 isoforms are heterogeneously expressed in breast cancer and correlate with tumor subtypes and cancer stem cell markers. *BMC Cancer* 2011; **11**: 418.
3. Chekhun SV, Zadovny TV, Tymovska YuV, *et al.* CD44+/CD44-markers of stem cells in patients with breast cancer of different molecular subtypes. *Exp Oncol* 2015; **37** (1): 58–63.
4. Polishchuk LZ, Ryabtseva OD, Luk'yanova NYu, Chekhun VF. Progression of the cancer of the ureter is the role of adhesion molecules in the processes of metastasis. *Women's Health* 2011; **8** (64): 184–90 (in Russian).
5. Zheng Z, Shao N, Weng H, *et al.* Correlation between epidermal growth factor receptor and tumor stem cell markers CD44/CD24 and their relationship with prognosis in breast invasive ductal carcinoma. *Med Oncol* 2015; **32** (1): 275–8.
6. Thapa R, Wilson GD. The importance of CD44 as a stem cell biomarker and therapeutic target in cancer. *Stem Cells Int* 2016; **2016**: ID 2087204. doi: 10.1155/2016/2087204.
7. Bourguignon LYW, Earle C, Shiina M. Activation of matrix hyaluronan-mediated CD44 signaling, epigenetic regulation and chemoresistance in head and neck cancer stem cells. *Int J Mol Sci* 2017; **18** (9): 136–41.
8. Chekhun VF, Lukianova NY, Chekhun SV, *et al.* Association of CD44⁺CD24^{-/low} with markers of aggressiveness and plasticity of cell lines and tumors of patients with breast cancer. *Exp Oncol* 2017; **39** (3): 203–11.
9. Murphy JF, Lennon F, Steele Ch, *et al.* Engagement of CD44 modulates cyclooxygenase induction, VEGF generation, and proliferation in human vascular endothelial cells. *Exp Biol* 2005; **19** (3): 446–8.
10. Bourguignon LY, Shiina M, Li JJ. Hyaluronan-CD44 interaction promotes oncogenic signaling, microRNA functions, chemoresistance, and radiation resistance in cancer stem cells leading to tumor progression. *Adv Cancer Res* 2014; **123**: 255–75.
11. Guo W, Frenette PS. Alternative CD44 splicing in intestinal stem cells and tumorigenesis. *Oncogene* 2014; **33**: 537–8.
12. Basakran NS. CD44 as a potential diagnostic tumor marker. *Saudi Med J* 2015; **36** (3): 273–9.
13. Jang MH, Kang HJ, Jang KS, *et al.* Clinicopathological analysis of CD44 and CD24 expression in invasive breast cancer. *Oncol Lett* 2016; **12** (4): 2728–33.
14. Desouza C, Gilling L, Fonseca V. Management of the insulin resistance syndrome. *Current Diabetes Reports* 2001; **1** (2): 140–7.
15. Keum N, Greenwood DC, Lee DH, *et al.* Adult weight gain and adiposity-related cancers: a dose-response meta-analysis of prospective observational studies. *J Natl Cancer Inst* 2015; **107** (2): 284–91.
16. Healy LA, Ryan AM, Carroll P, *et al.* Metabolic syndrome, central obesity and insulin resistance are associated with adverse pathological features in postmenopausal breast cancer. *Clin Oncol (R Coll Radiol)* 2010; **22** (4): 281–8.
17. World Health Organization: Report of a WHO Consultation: Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and its Complications. Geneva, World Health Organization, 2006; 81.
18. Sanaat Z, Halimi M, Morteza Ghojzadeh M, *et al.* Immunohistochemical analysis of p53, Ki-67, CD44, HER-2/neu expression patterns in gastric cancer, and their association with one year survival in North-West of Iran. *Int J Hematol Oncol Stem Cell Res* 2013; **7** (3): 15–20.
19. Cancer in Ukraine, 2016–2017. Morbidity, mortality, indicators of the oncology service activity. *Bull Natl Cancer Register Ukr.* Kyiv, 2018; **19**: 136 p. (in Ukrainian).

20. Louhichi T, Ziadi S, Saad H, *et al.* Clinicopathological significance of cancer stem cell markers CD44 and ALDH1 expression in breast cancer. *Breast Cancer* 2018; **29**: 75–83.

21. Mao M, Zheng X, Jin B, Zhang F, *et al.* Effects of CD44 and E-cadherin overexpression on the proliferation, adhesion and invasion of ovarian cancer cells. *Exp Ther Med* 2017; **14** (6): 5557–63.

22. Mostafa RR, Khairy RA. CD44 expression in meningioma and its correlation with proliferation indices. *J Clin Diagn Res* 2017; **11** (8): 12–15.

23. Jang MH, Kang HJ, Ki Seok Jang KS, *et al.* Clinicopathological analysis of CD44 and CD24 expression in invasive breast cancer. *Oncol Lett* 2016; **12** (4): 2728–33.

24. Weber GF, Ashkar S, Cantor H. Interaction between CD44 and osteopontin as a potential basis for metastasis formation. *Proc Assoc Am Physicians* 1997; **109** (1): 1–9.

EXPRESSION OF CD44 WITH THE PROGRESSION OF THE TUMOR PROCESS OF BREAST CANCER PATIENTS WITH METABOLIC SYNDROME

S.M. Grybach^{1, 2}, N.Yu. Lukianova¹,
L.Z. Polishchuk¹, V.F. Chekhun¹

¹R.E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology, NAS of Ukraine

²Kyiv Regional Oncology Center, Kyiv, Ukraine

Summary. *Aims: to determine of the features of CD44 expression in tumor cells of patients with breast cancer (BC) at the I–II stage depending on clinical, structural and molecular biological characteristics in the presence or absence of signs of metabolic syndrome (MS). Object and methods: 82 patients with BC at the I–II stage in postmenopausal. General clinical, instrumental, biochemical, histological, immunohistochemical, statistical methods was used. Results: according to the international criteria for determining the MS, the examined patients were divided into two groups: MS⁺ (n = 40, 48.8%) and MS (n = 42, 51.2%). There is a significantly higher frequency of CD44⁺ tumors in patients with BC with MS⁺, II stage, with cancer metastases in 1–3 lymph nodes. Positive high and moderate expression of the Ki-67 proliferation marker and the CD44 molecule in the overwhelming majority (75.0 and 86.2%, respectively) of patients with MS⁺ was established. A moderate associative association between the expression Ki-67 and CD44 was revealed. Conclusions: the obtained results indicate a tendency to increase the expression of CD44 in the progression of BC in patients with MS.*

Key Words: breast cancer, metabolic syndrome, menopause, CD44, Ki-67.

Адреса для листування:

Грибач С.М.

03022, Київ, вул. Васильківська, 45

Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України

E-mail: sergadoc1975@ukr.net

Одержано: 19.09.2018