

## ЛОКАЛЬНЫЙ ГОРМОНАЛЬНЫЙ ФОН ОПУХОЛИ И ПЕРИФОКАЛЬНОЙ ЗОНЫ У БОЛЬНЫХ В ПОСТМЕНОПАУЗЕ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ БИОТИПАХ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Кит О. И., Франциянц Е. М., Вашенко Л. Н., Шатова Ю. С., Владимирова Л. Ю., Новикова И. А., Бандовкина В. А., Хугаева А. Н., Токмаков В. В., Верескунова М. И.

*ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Ростов-на-Дону, e-mail: shat5@rambler.ru*

У 91 больной различными подтипами рака молочной железы без предоперационной терапии в постменопаузе исследован уровень эстрадиола, эстрона, тестостерона, 2ОНЕ/16ОНЕ метаболитов эстрогенов в ткани опухоли и перифокальной зоны и у 144 больных определена экспрессия рецепторов андрогенов в опухоли. Только у больных люминальным А РМЖ в постменопаузе ведущим фактором в формировании локального эндокринного фона являлся эстрадиол. В остальных случаях у женщин в постменопаузе для эстрогенового фона было характерно преобладание эстрона (в 1,3–5,3 раза) и 16гидроксиметаболитов (в 1,3–2,3 раз) ( $p < 0,05$ ). Эстрогеново-андрогеновое равновесие зависело от биотипа рака молочной железы: в случае люминальных типов и HER2neu+ РМЖ в тканях превалировали эстрогены (в 1,5–2,5 раза), а в случае тройного негативного рака – андрогены (в 2 раза) ( $p < 0,05$ ). При этом в постменопаузе только при тройном негативном раке относительная локальная гиперандрогения сочеталась с относительно низким уровнем экспрессии рецепторов андрогенов.

Ключевые слова: рак молочной железы, постменопауза, половые гормоны, рецепторы андрогенов.

## THE LOCAL HORMONE STATE OF THE TUMOR AND SURROUNDING TISSUES IN THE DIFFERENT BREAST CANCER BIOLOGICAL TYPES AMONG THE POSTMENOPAUSAL PATIENTS

Kit O. I., Frantsiyants E. M., Vashenko L. N., Shatova Y. S., Vladimirova L. Y., Novikova I. A., Bandovkina V. A., Khugaeva A. N., Tokmakov V. V., Vereskunova M. I.

*«Rostov Cancer Research Institute» of the Russian Federation Ministry of Health, Rostov-on-Don, e-mail: shat5@rambler.ru*

The estradiol, estrone, testosterone, 2ОНЕ/16ОНЕ estrogens metabolites levels in the tumor and surrounding tissues of 91 patients and androgen receptors expression in the tumor of 144 patients with different breast cancer subtypes were investigated. Estradiol was the main factor in the local hormone state in the cases of the postmenopausal luminal A breast cancer only. In the other cases of the breast cancer in the postmenopause estrone and 16-hydroxymetabolites prevailed (in 1,3–5,3 times and in 1,3–2,3 times, respectively). The estrogen-androgen balance was depended of the breast cancer subtype: estrogen prevailed in the cases of luminal and HER2neu-positive (in 1,5–2,5 times), androgen – in the cases of triple-negative breast cancer (in 2 times) ( $p < 0,05$ ). At that, in triple-negative postmenopausal breast cancer relative local hyperandrogenism was connected with relative low level of the androgen receptors expression.

Keyword: breast cancer, postmenopause, sex hormones, androgen receptor.

Большое влияние на возникновение и развитие рака молочной железы (РМЖ), а также способы лечения и прогноз исхода заболевания, оказывает насыщенность тканей молочной железы гормонами. Поэтому вопрос о гормональном обеспечении основных подтипов РМЖ, ассоциированных с возрастом, этнической принадлежностью и некоторыми особенностями менструальной и репродуктивной функции [6] привлекает к себе все большее и большее внимание [3]. Несомненная важность данных о связи половых гормонов с отдельными подтипами карцином и их относительная немногочисленность свидетельствуют о

необходимости дальнейшего анализа этого вопроса в сопоставлении, как с прикладными, так и с фундаментальными аспектами проблемы. До настоящего времени интенсивность биосинтеза эстрогенов в ткани различных подтипов РМЖ редко бывала предметом изучения, хотя подобное развернутое исследование могло бы представить несомненный и значимый интерес [2]. В настоящем исследовании особое внимание было уделено исследованию насыщенности метаболитами эстрогенов ткани молочной железы. Кроме эстрогенов и прогестинов на репродуктивные ткани воздействуют андрогены. Предполагают, что тестостерон способен индуцировать усиление синтеза ароматазы в ткани РМЖ [1]. По некоторым данным уровень андрогенов и эстрогенов тесно связан с риском возникновения люминальных опухолей [7]. В то же время по другим данным, более высокая тестостеронемия является фактором риска как HER2neu+, так и HER2neu- новообразований, тогда как более высокая концентрация эстрадиола в сыворотке крови ассоциирована с повышенным риском развития HER2neu-, но не HER2neu+ опухолей [8]. Чувствительность опухолевых клеток к регуляторному воздействию гормонов также может оказывать влияние на тип ее биологического поведения. Экспрессия рецепторов эстрогенов (РЭ) и рецепторов прогестерона (РП) лежит в основе разделения РМЖ на биологические подтипы, однако экспрессия рецепторов андрогенов (РА) при этом не учитывается.

**Цель:** изучить локальный гормональный фон опухоли и перифокальной зоны у женщин с различным биологическим подтипом РМЖ и уровнем экспрессии рецепторов андрогенов.

**Материалы, методы:** отобраны образцы опухоли и перифокальной зоны 91 больной различными подтипами РМЖ без предоперационной терапии в постменопаузе. Средний возраст больных составил  $62,1 \pm 2,36$  лет, длительность менопаузы  $11,8 \pm 1,3$  года. У 20 больных был люминальный А РМЖ, у 25 – люминальный В РМЖ, у 15 HER2neu+ РМЖ и у 15 тройной негативный РМЖ (ТНР). В качестве интактной использовали ткань молочной железы (n=16), полученную во время операций по поводу редукции молочных желез. Уровень эстрадиола, эстрона, тестостерона, 2ОНЕ/16ОНЕ метаболитов эстрогенов определяли в 10 % цитозольных фракциях тканей молочной железы, приготовленных на 0,1 М калий-фосфатном буфере pH 7,4, содержащем 0,1 % Твин-20 и 1 % БСА, стандартными ИФА методами (наборы ХЕМА, «Биохиммак», «АлкорБио» Россия; DBC Канада). Экспрессию РА определяли иммуногистохимическим (ИГХ) методом (AR 441 DAKO в разведении 1:100, буфер 10 мМ Tris, 1 мМ EDTA (pH 9,0)) у 144 больных различными подтипами РМЖ без предоперационной терапии в постменопаузе. Оценивали количество опухолевых клеток, положительных по ядерной экспрессии данных маркеров, подсчитывали количество окрашенных ядер на 100 ядер в 3 полях зрения. Средний возраст больных

составил  $63,5 \pm 1,89$  лет, длительность менопаузы  $11,5 \pm 1,1$  года. У 36 больных был люминальный А РМЖ, у 57 – люминальный В РМЖ, у 21 HER2neu+ РМЖ и у 30 ТНР. Статистический анализ результатов исследования проводился с помощью программы STATISTICA 7.0 (StatSoftInc., США) и MedCalc (версия 9.3.5.0).

**Результаты:** показатели насыщенности опухоли и перифокальной зоны эстрогенами, их метаболитами и тестостероном в зависимости от биологического типа РМЖ представлены в таблице. Установлено, что у пациенток, находящихся в постменопаузе, для люминальных типов РМЖ было характерно равнозначное повышение уровня эстрадиола ( $E_2$ ) в 1,5–1,9 раз, как в опухоли, так и в перифокальной зоне. При нелюминальных опухолях ситуация с насыщенностью тканей  $E_2$  сложилась следующая. Только при HER2neu+ РМЖ в опухолевой ткани уровень  $E_2$  был повышен в 1,6 раза по сравнению с показателями в интактной молочной железе. В перифокальной зоне при HER2neu+РМЖ, а также в опухоли и перифокальной зоне ТНР насыщенность тканей  $E_2$  оказалась сниженной в 2,1–3 раза. Что касается эстрона ( $E_1$ ), то его содержание в опухоли и перифокальной зоне при люминальном А РМЖ, превышало показатели в интактной ткани в 1,6 раз и 1,8 раза, а при люминальном В – в 4,2 раза и в 1,7 раз соответственно. Исследование нелюминальных типов РМЖ выявило повышение насыщенности  $E_1$  только тканей опухоли: в 3 раза при HER2neu+РМЖ и в 1,7 раз – при ТНР. Однако перифокальная зона при этих подтипах была либо обеднена в 2 раза – HER2neu+РМЖ, либо не отличалась по уровню содержания  $E_1$  от интактной ткани молочной железы – ТНР. При сопоставлении уровня эстрадиола к эстрону установлено, что только при люминальном А РМЖ соотношение  $E_2/E_1$  соответствует показателям в интактной молочной железе. В остальных случаях наблюдается превалирование эстрона в опухоли, снижение  $E_2/E_1$  в 2,5 раза – люминальный В и в 1,3 раза HER2neu+РМЖ, со значительным усилением данного эффекта в тканях ТНР, в 6,7 раза в опухоли и в 2,7 раза в перифокальной зоне. Установлено снижение уровня 2ОНЕ метаболитов эстрогенов как в опухоли, так и в перифокальной зоне при всех биологических подтипах в среднем в 2,1 раза, за исключением ТНР, в тканях которого снижение 2ОНЕ-эстрогенов было в 1,5 раза меньше по сравнению с показателями в интактной молочной железе. В то же время концентрация 16ОНЕ в тканях опухоли была повышена в 1,3–1,8 раз вне зависимости от типа рака, а в перифокальной зоне уровень 16ОНЕ повышался только при люминальном А подтипе, в остальных случаях насыщенность перифокальной зоны не отличалась от показателей в интактной ткани молочной железы. В результате изменения концентраций 2ОНЕ и 16ОНЕ метаболитов коэффициент соотношения 2ОНЕ/16ОНЕ снизился в опухоли и перифокальной зоне вне зависимости от биологического типа рака в 1,9–3,2 раза. При этом минимальное снижение коэффициента 2ОНЕ/16ОНЕ было отмечено в опухоли и перифокальной зоне при ТНР: в

среднем коэффициент соотношения 2ОНЕ/16ОНЕ в 2 раза снижен по сравнению с показателями в интактной молочной железе.

Уровень эстрогенов, их метаболитов и тестостерона в опухоли и перифокальной зоне у больных различными биологическими подтипами РМЖ в постменопаузе

Образец ткани	Эстрадиол нМ/гТК	Эстрон пМ/гТК	E2/E1*100	2ОНЕ нг/гТК	16ОНЕ нг/гТК	2ОНЕ/16ОНЕ	Тестостерон нМ/гТК
<b>Люминальный А (n=20)</b>							
Опухоль	11,24±1,0 <sup>1</sup>	418,1±32,4 <sup>1</sup>	2,7±0,19	6,5±0,3 <sup>1</sup>	10,2±0,5 <sup>1</sup>	0,63±0,04 <sup>1</sup>	117,3±3,5 <sup>1</sup>
Перифокальная зона	9,65±0,7 <sup>1</sup>	488±27,6 <sup>1</sup>	2,0±0,18	6,7±0,23 <sup>1</sup>	11,5±0,7 <sup>1</sup>	0,58±0,03 <sup>1</sup>	115,4±7,1 <sup>1</sup>
<b>Люминальный В (n=25)</b>							
Опухоль	9,8±0,9 <sup>1</sup>	1118,3±97,8 <sup>1</sup>	0,88±0,07 <sup>1</sup>	6,4±0,4 <sup>1</sup>	11,5±0,65 <sup>1</sup>	0,55±0,02 <sup>1</sup>	115,2±2,6 <sup>1</sup>
Перифокальная зона	8,8±0,5 <sup>1</sup>	458,1±32 <sup>1</sup>	1,9±0,11	6,5±0,34 <sup>1</sup>	8,9±0,2	0,73±0,04 <sup>1</sup>	119,1±8,5 <sup>1</sup>
<b>HER2neu+РМЖ (n=15)</b>							
Опухоль	9,1±0,5 <sup>1</sup>	521±42 <sup>1</sup>	1,7±0,10	6,7±0,27 <sup>1</sup>	13,8±0,7 <sup>1</sup>	0,48±0,01 <sup>1</sup>	156,1±12
Перифокальная зона	1,8±0,1 <sup>1</sup>	122,7±11 <sup>1</sup>	1,9±0,15	5,7±0,21 <sup>1</sup>	9±0,4	0,63±0,02 <sup>1</sup>	102±9,8 <sup>1</sup>
<b>ТНР (n=15)</b>							
Опухоль	2,7±0,19 <sup>1</sup>	804±32,1 <sup>1</sup>	0,33±0,02 <sup>1</sup>	9,4±0,2 <sup>1</sup>	10,7±0,7 <sup>1</sup>	0,87±0,03 <sup>1</sup>	138,9±10,1
Перифокальная зона	2,5±0,2 <sup>1</sup>	307,6±21	0,81±0,03 <sup>1</sup>	9,6±0,3 <sup>1</sup>	9,9±0,5 <sup>1</sup>	0,96±0,04 <sup>1</sup>	143,6±9,8
<b>Интактная молочная железа (n=16)</b>							
	5,8±0,2	267,3±21,3	2,2±0,18	14,4±1,1	7,8±0,6	1,85±0,5	170,1±8,6

Примечание – <sup>1</sup> – достоверное отличие от показателей в интактной молочной железе (p<0,05).

При люминальных подтипах уровень общего тестостерона в опухоли и перифокальной зоне оказался снижен в 1,5 раза, по сравнению с показателями в интактной молочной железе. Однако в случае HER2neu+РМЖ и ТНР насыщенность тканей тестостероном оказалась в норме, за исключением снижения в 1,7 раз в перифокальной зоне при HER2neu+ РМЖ.

Нами отмечено положительное окрашивание ядер опухолевых клеток к РА в 135 (93,8 %) опухолях женщин в постменопаузе, в 100 % (36 из 36) случаев люминальным А РМЖ, в среднем составив 7±1,7 % (разброс от 3 до 10 % ядер опухолевых клеток). При люминальном В и Her2neu+РМЖ также в большинстве случаев были экспрессированы РА

(94,7 % и 100 %, соответственно), демонстрируя позитивное окрашивание. Среднее содержание положительно окрашенных ядер опухолевых клеток при люминальном В подтипе составило  $50 \pm 9,6$  % с широкой вариабельностью от 5 до 95 %, при Her2neu+ подтипе –  $31,7 \pm 10,9$  % с разбросом от 10 до 45 % (отличия показателей достоверны по отношению к люминальному А подтипу ( $p \leq 0,05$ )). В 80 % случаев отмечено положительное окрашивание ядер опухолевых клеток к РА (24 из 30) при ТНР, в среднем составив  $6,5 \pm 3,5$  % позитивных ядер (от 3 до 10 %). В 3 случаях отмечено интенсивное окрашивание ядер эпителия нормальных протоков молочной железы (отличия показателей достоверны по отношению к люминальному В и Her2neu+ РМЖ ( $p \leq 0,05$ )). Таким образом, частота экспрессии РА по нашим данным превосходит литературные [9]. При этом экспрессия РА, как и РЭ и РП, максимальна при люминальных подтипах. Полученные результаты подтверждают взаимосвязь рецепторного статуса ко всем половым гормонам в опухоли [10]. Однако клетки опухолей, негативных по РЭ и РП, оказались во многих случаях позитивными по экспрессии РА. Учитывая ранее описанные данные [4], можно предположить, что по мере угасания репродуктивной и менструальной функции, происходит снижение экспрессии РЭ и РП, а экспрессия РА возрастает. Это, в свою очередь, может объяснять особенности стероидогенеза у больных РМЖ в постменопаузе. Только в репродуктивном периоде локальная гиперандрогения вне зависимости от подтипа опухоли сочеталась с низким уровнем экспрессии рецепторов андрогенов. По мере угасания репродуктивной функции уровень экспрессии рецепторов андрогенов возрастал, и уже в перименопаузе относительная гиперандрогения в опухоли сочеталась с их высоким уровнем экспрессии [5].

**Выводы:** только у больных люминальным А РМЖ в постменопаузе ведущим фактором в формировании локального эндокринного фона является эстрадиол. В остальных случаях у женщин в постменопаузе для эстрогенового фона характерно преобладание эстрогена (в 1,3–5,3 раза) и 16 гидроксиметаболитов (в 1,3–2,3 раз) ( $p < 0,05$ ). В постменопаузе эстрогеново-андрогеновое равновесие зависит от биотипа РМЖ: в случае люминальных типов и HER2neu+ РМЖ в тканях превалировали эстрогены (в 1,5–2,5 раза), а в случае ТНР – андрогены (в 2 раза) ( $p < 0,05$ ). При этом в постменопаузе только при ТНР относительная локальная гиперандрогения сочетается с относительно низким уровнем экспрессии рецепторов андрогенов, так же как и у больных с сохранной менструальной функцией вне зависимости от биологического подтипа опухоли, что было показано в ранее проведенных исследованиях [5]. Таким образом, выявленные закономерности демонстрируют, что локальный гормональный статус опухоли зависит не только от репродуктивного статуса больной, но и от биологического подтипа РМЖ. А учет уровня экспрессии РА наряду с РП и РЭ открывает перспективы разработки новых путей таргетной терапии данной патологии.

## Список литературы

1. Берштейн Л. М. Гормональный канцерогенез / Л. М. Берштейн. – СПб.: Наука, 2000. – 199 с.
2. Берштейн Л. М. Подтипы рака молочной железы и их гормонально-метаболическое «обеспечение»: прикладной аспект / Л. М. Берштейн, В. Ф. Семиглазов // Вопросы онкологии. – 2011. – Т. 57, № 5. – С. 559–566.
3. Берштейн Л. М. Эндокринология рака молочной железы как гетерогенного заболевания: десятилетие после миллениума / Л. М. Берштейн. // Вопросы онкологии. – 2013. – Т.59, № 3. – С. 292–298.
4. Кит О. И., Франциянц Е. М., Бандовкина В. А., Шатова Ю. С., Комарова Е. Ф., Верескунова М. И., Кучкина Л. П. Уровень половых гормонов и пролактина в ткани злокачественных опухолей молочной железы у больных разного возраста. // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 7. – С. 560–564.
5. Шатова Ю. С. Клинико-эпидемиологические и гормонально-метаболические закономерности развития рака молочной железы у женщин в различные репродуктивные периоды жизни: автореф. дис. ... д-ра мед. наук: 14.01.12 / Шатова Юлиана Сергеевна. – Ростов н/Д, 2015. – 45 с.
6. Kurian A. W. Lifetime risks of specific breast cancer subtypes among women in four racial/ethnic groups / A. W. Kurian, K. Fish, S. J. Shema, C. A. Clarke // Breast Cancer Res. – 2010. – Vol.12. – R99.
7. Missmer S. A. Endogenous Estrogen, Androgen, and Progesterone Concentrations and Breast Cancer Risk Among Postmenopausal Women / S. A. Missmer, A. H. Eliassen, R. L. Barbieri, S. E. Hankinson // J. Natl. Cancer Inst. – 2004. – Vol. 96. – P.1856–1865.
8. Sieri S. Sex hormone levels, breast cancer risk, and cancer receptor status in postmenopausal women: the ORDET Cohort / S. Sieri, V. Krogh, G. Gianfranco Bolelli et al. // Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. – 2009. – Vol.18. – P.169–176.
9. Thike A. A. Loss of androgen receptor expression predicts early recurrence in triple-negative and basal-like breast cancer / A. A. Thike, L. Yong-Zheng Chong, P. Y. Cheok et al. // Mod. Pathol. – 2014 Mar; 27(3); 352–60.
10. Tsang J. Y. Androgen Receptor Expression Shows Distinctive Significance in ER Positive and Negative Breast Cancers / J. Y. Tsang, Y. B. Ni, S. K. Chan, M. M. Shao, B. K. Law, P. H. Tan, G. M. Tse // Ann SurgOncol. – 2014 Jul; 21(7):2218–28. doi: 10.1245/s10434-014-3629-2. Epub 2014 Mar 18.