

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования  
«Сибирский государственный Медицинский университет»  
министерства здравоохранения Российской Федерации  
кафедра патологической анатомии

Доклад по результатам научно-квалификационной работы на тему:  
«Изучение факторов транскрипции в эффективности гормонотерапии у  
пациенток с люминальным раком молочной железы»

14.03.02 – патологическая анатомия  
Васильченко Дмитрий Владимирович

Научный руководитель:  
доктор медицинских наук, доцент  
Вторушин Сергей Владимирович

Рак молочной железы (РМЖ) занимает первое место в структуре онкологической заболеваемости у женщин. В мире ежегодно регистрируют более 1 млн. случаев с впервые выявленным РМЖ, и каждый год более 600 тыс. больных погибают от этого заболевания (Youlden D.R. et al., 2012). Определение субтипа РМЖ легло в основу классификации (Perou S.M. et al., 2001). Регуляция процессов взаимодействия, активированного ER- $\alpha$  с ДНК происходит за счёт так называемых факторов транскрипции, наибольшее значение придают следующим: GATA-3, FOXA-1 и ELF-5 (Bernardo G.M. et al., 2010; Augello M.A. et al., 2011).

GATA-3 представляет собой фактор транскрипции, который координирует профили экспрессии генов в процессе эмбриогенеза разнообразных тканей организма человека, в том числе кроветворных клеток, кожи, почек, молочной железы и центральной нервной системы (Usary J. et al., 2004). Ряд авторов указывает, что GATA-3 может быть использован в качестве клинического маркера для определения потенциального ответа на гормональную терапию (Sandy H. Fang et al., 2009). FOXA1 является членом семейства ДНК-связывающих белков, известный также как гепатоцитарный ядерный фактор 3-альфа (HNF-3A), который у человека кодируется геном *FOXA1*. Данные гепатоцитарные ядерные факторы являются активаторами транскрипции в печени для альбумина и трансферритина. Транскрипционный регулятор E74-подобный фактор 5 типа (ELF5) относится к семейству ETS-транскрипционных факторов (ET-26) и в норме связан с плацентацией (Hemberger M. et al., 2010; Hurtado A., Holmes K.A. et al., 2011), альвеологенезом, процессами дифференцировки ацинусов молочной железы во время беременности и лактации (Gutierrez-Hartmann A. et al., 2007; Lee H., Ormandy C.J., 2012). В исследованиях было показано, что наибольший уровень экспрессии ELF5 обнаруживается в карциномах молочной железы базального типа, «нормально-подобном» субтипе и в нормальной ткани молочной железы, в то время как в других молекулярных подтипах РМЖ его экспрессия была значительно ниже (Kalyuga M., Gallego-Ortega D. et al., 2013). В ряде исследований также было показано, что данный транскрипционный фактор сопряжен с процессами неоангиогенеза, эпителиально-мезенхимального перехода в опухоли (Gallego-Ortega et D. et al., 2015, Chakrabarti R. et al., 2012) и сопряжен с процессами инвазии и метастазирования (Sinha S. et al., 2013).

Таким образом, отсутствие эффекта от гормонотерапии может быть связано активацией различных транскрипционных факторов. Несмотря на достаточное число исследований направленных на изучение роли транскрипционных факторов в развитии резистентности к антиэстрогеновой терапии РМЖ имеющиеся результаты не позволяют использовать в клинической практике, поскольку были получены на различных клеточных линиях. Недостаточно данных об уровнях экспрессии и взаимодействии ELF5, FOXA1 и GATA3 у пациенток с люминальными субтипами РМЖ.

Изучение данных механизмов, позволит повысить информативность иммуноморфологического исследования опухоли, с большей долей

вероятности предполагать ожидаемую эффективность гормонотерапии, а, следовательно, строить адекватную тактику лечения, что является весьма актуальным научным направлением.

### **Научная новизна**

Впервые будет изучена взаимосвязь транскрипционных факторов FOXA1, GATA3, ELF5 с экспрессией рецепторов половых гормонов, с клинико-морфологическими параметрами люминального рака молочной железы, с эффективностью антиэстрогенной терапии.

Будет проанализирована роль различных вариантов сочетания параметров экспрессии транскрипционных факторов FOXA1, GATA3, ELF5 в оценке чувствительности к гормонотерапии у больных раком молочной железы.

Будут выявлены значимые молекулярно-генетические параметры опухоли, сопряженные с эффективностью гормонотерапии и создана математическая модель, позволяющая определять подходы к проведению гормонотерапии у пациенток с люминальным типом рака молочной железы.

### **Практическая значимость**

Будут выявлены дополнительные параметры определения возможной эффективности гормонотерапии и сформулированы показания к её выбору с целью индивидуализации подходов лечения.

### **Материалы и методы исследования**

В исследование были включены 101 больная инвазивным раком молочной железы стадии T1–4N1–3M0, получавших лечение в отделении общей онкологии НИИ онкологии Томского НИМЦ. Средний возраст пациенток составил  $54,0 \pm 9,9$  года. У 33 (32,7%) больной менструальная функция была сохранена, у 68 (67,3%) пациенток определялось состояние менопаузы. Распространенность процесса определялась согласно международной классификации по системе TNM (6 издание, принято в 2002 году, рекомендовано к использованию с 2003 года). Чаще выявлялись I (у 52 (51,4 %) пациенток) и IIА (у 17 (16,8 %) пациенток) стадии заболевания. Неoadьювантное лечение не проводилось. Операция выполнялась в объеме радикальной мастэктомии или секторальной резекции молочной железы. Морфологическое исследование ткани первичной опухоли проводилось согласно следующему алгоритму:

1. Определение гистологического типа опухоли;
2. Оценка степени злокачественности ткани новообразования;
3. Оценка характера роста опухоли (уницентрическая форма роста/ мультицентрическая форма роста);
4. Оценка стромального компонента опухоли:
  - а) оценка степени выраженности стромы опухоли
  - б) оценка наличия и выраженности гиалиноза стромы опухоли

- в) оценка наличия и выраженности воспалительной инфильтрации стромы опухоли
- 5. Определение наличия и выраженности феномена краудинга в разных структурах инфильтративного компонента опухоли;
- 6. Определение наличия, выраженности и характера ретракции вокруг разных структур инфильтративного компонента опухоли;
- 7. Исследование рецепторного статуса новообразования;
- 8. Оценка HER2/neu статуса опухоли;
- 9. Определение пролиферативной активности (Ki67).

Гистологический тип опухоли устанавливался согласно рекомендациям Всемирной Организации Здравоохранения, принятым в Женеве (WHO, 2012). В исследование были включены только случаи с инвазивной карциномой неспецифического типа.

С помощью иммуногистохимического метода проводили оценку экспрессии транскрипционных факторов ткани опухоли инвазивной карциномы неспецифического типа молочной железы. С этой целью применяли следующие антитела: Anti-human transcription factor GATA-3 Antibody (GATA3) (rabbit polyclonal; 1:20; Flarebio), Anti-human FOXA1 Antibody (rabbit polyclonal; 1:100; Flarebio), ELF5 Antibody (rabbit polyclonal; 1:150; Flarebio) (рис. 11-17). Иммуногистохимическое исследование проводилось согласно соответствующим протоколам. Обработка полученных данных выполнялась с использованием пакета программ Statistica 10. Применялся дисперсионный анализ и критерий  $\chi^2$ .

### Результаты исследования

Экспрессия транскрипционных белков (GATA3, FOXA1 и ELF5) в карциноме молочной железы была исследована у 101 больной раком молочной железы. При оценке рецепторного профиля опухоли было обнаружено, что экспрессия GATA3 была позитивной у 95 (95%), а негативной у 5 (5%) пациентов.

Анализ экспрессии транскрипционных факторов и частоты развития лимфогенных метастазов у больных с раком молочной железы

В нашем исследовании изучался такой параметр как поражение лимфатических узлов, который играет важное значение в прогнозе течения РМЖ. Проведена оценка частоты метастазирования, количества пораженных лимфатических узлов и их процент от общего числа пациентов.

Большой интерес представляла оценка зависимости лимфогенного метастазирования от экспрессии белков GATA3, FOXA1 и ELF5.

Таблица 1 – Взаимосвязь характера экспрессии GATA-3 от феномена ретракции у больных инвазивным раком молочной железы

Феномен ретракции	Характер экспрессии (а.ч.%)	
	Гомогенный	Гетерогенный
Отсутствует (n=28)	24 (86%)	4 (14%)

Присутствует (n=67)	42 (63%)	25 (27%)
		$\chi^2=4,93760, p=,026281$

Как показано в таблице, при гомогенном или гетерогенном характере экспрессии GATA3 у пациенток отмечалось поражение лимфатических узлов метастазами. При этом из 67 пациенток у 42 (63%) отмечалась гомогенная экспрессия.

Таблица 2 – Частота лимфогенного метастазирования в зависимости от характера экспрессии GATA-3 у больных инвазивным раком молочной железы.

Характер экспрессии GATA-3	Состояние регионарных лимфатических узлов (а.ч.%)	
	N0	N+
Гомогенный (n=66)	38 (58%)	28 (42%)
Гетерогенный (n=29)	24 (83%)	5 (17%)
		$\chi^2=5,63599, p=,017597$

Отмечается достоверная взаимосвязь характера экспрессии белка в опухолевой ткани карциномы молочной железы с наличием метастазов в лимфатических узлах, при этом видно, что 42% случаев, гомогенная экспрессия сопряжена с наличием метастазов.

### Выводы

1. Частота лимфогенного метастазирования зависит от характера экспрессии транскрипционных факторов GATA3 в опухолевых клетках инвазивной карциномы молочной железы неспецифического типа (p=0,01).

2. Феномен ретракции стромы вокруг опухолевых структур взаимосвязан с характером экспрессии GATA-3 (p=0,03).