

Статус генов рецептора эпидермального фактора роста и топоизомеразы II α в клетках тройного негативного рака молочной железы

Д.А. Карселадзе¹, И.В. Поддубная², А.И. Карселадзе³

¹ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН; ²кафедра онкологии ГОУ ДПО РМАПО Росздрава;

³отдел патологической анатомии опухолей человека ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

Контакты: Дмитрий Аполлонович Карселадзе dima_karseladze@mail.ru

Приведены результаты изучения генов рецептора эпидермального фактора роста (EGFR) и топоизомеразы II α (ТОП II α) у больных тройным негативным раком молочной железы (РМЖ). Выдвинуто предположение о том, что отсутствие амплификации гена EGFR может служить фактором благоприятного прогноза. Амплификация гена ТОП II α обычно встречается в опухолях, проявляющих чувствительность к химиотерапии с включением препаратов антрациклинового ряда. Изменение статуса указанных генов следует интерпретировать в контексте анеусомии хромосом 7 и 17, на которых они расположены. Не выявлено взаимосвязи между характером нарушений генов EGFR и ТОП II α и базалоидным фенотипом РМЖ.

Ключевые слова: тройной негативный рак молочной железы, топоизомераза II α , рецептор эпидермального фактора роста, анеусомия хромосом 7 и 17

The status of epidermal growth factor receptor and topoisomerase II α genes in triple-negative breast cancer cells

D.A. Karseladze¹, I.V. Poddubnaya², A.I. Karseladze³

¹N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Russian Academy of Medical Sciences; ²Department of Oncology, Russian Medical Academy of Postgraduate Education, Russian Agency for Health Care; ³Department for Pathological Anatomy of Human Tumors, N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow

The paper gives the results of studying the genes of epidermal growth factor receptor (EGFR) and topoisomerase II α (TOP II α) in patients with triple-negative breast cancer (BC). It is suggested that the lack of EGFR gene amplification might serve as a factor of good prognosis. TOP II α gene amplification usually occurs in the tumors responsive to chemotherapy including anthracycline drugs. The altered status of the above genes should be interpreted in the context of aneusomy of chromosomes 7 and 17, on which they are located. No association was found between the pattern of EGFR and TOP II α gene abnormalities and the basaloid phenotype of BC.

Key words: triple-negative breast cancer, topoisomerase II α , epidermal growth factor receptor, aneusomy of chromosomes 7 and 17

Введение

Тройной негативный рак молочной железы (ТНРМЖ), при котором опухолевые клетки не экспрессируют рецепторы эстрогенов и прогестерона и не содержат участки амплификации гена Her-2/neu, в последние годы привлекает внимание все более широких слоев исследователей в области как клинической, так и теоретической онкологии, и это неудивительно. Данный вариант рака молочной железы (РМЖ) помимо своеобразия клинического поведения и отсутствия чувствительности к традиционно применяемым схемам химиотерапии (ХТ) обладает рядом молекулярно-биологических особенностей, изучение которых привело к появлению многих плодотворно изучаемых гипотез, касающихся общих вопросов возникновения и развития злокачественного роста в молочной железе [1, 2].

С учетом своеобразия статуса гена Her-2/neu логичным казалось предположение о наличии возможных нарушений и в регуляции гена рецептора эпидермального фактора роста (epidermal growth factor receptor — EGFR) Her-1, являющегося представителем одного семейства рецепторов с Her-2/neu, и гена топоизомеразы II α (ТОП II α), находящегося рядом с указанным геном на хромосоме 17.

EGFR (ErbB-1, Her-1 у человека) является рецептором клеточной поверхности для членов семейства эпидермального фактора роста (EGF), внеклеточных белковых лигандов. Это семейство представлено 4 тесно связанными тирозинкиназами: EGFR (ErbB-1), Her-2/c-neu (ErbB-2), Her-3 (ErbB-3) и Her-4 (ErbB-4).

Ген, кодирующий EGFR, локализуется на коротком плече 7-й хромосомы в локусе 7p12. При нали-

тии опухолевой патологии данный ген подвергается многообразным изменениям, в том числе амплификации и мутации в различных экзонах. Большинство авторов сходятся во мнении, что экспрессия EGFR у больных РМЖ выражается по-разному. R. Bhargava и соавт. [3] исследовали состояние гена EGFR и его продукта в клетках РМЖ с помощью иммуногистохимии у 175 больных. Амплификация гена и гиперэкспрессия продукта были выявлены в 6 и 7% случаев соответственно. При этом авторами не выявлено мутаций в экзонах 19 и 21, часто определяемых в раке легкого.

C. Kersting и соавт. [4] сопоставили различные сочетания числа копий гена EGFR с гиперэкспрессией его продукта и установили, что полной амплификации всех участков гена EGFR в РМЖ не происходит. Амплификация же определенных участков не всегда приводит к повышению количества продукта этого гена.

Общее мнение авторов из разных стран в целом сводится к тому, что гиперэкспрессия EGFR — отрицательный прогностический фактор, встречающийся в самых разнообразных группах: как у больных с непораженными лимфатическими узлами (ЛУ) [5], так и у пациенток в группе местнораспространенного РМЖ, получивших лечение антрациклинами. У больных с положительным статусом EGFR показатели 5-летней выживаемости были почти в 2 раза ниже, чем у пациенток с отрицательным статусом гена [6].

Взаимосвязь состояния гена EGFR и его продукта при ТНРМЖ рассмотрена во многих литературных источниках [7–11]. Результаты, полученные при исследовании EGFR, касаются как диагностики ТНРМЖ, так и возможности использования различных терапевтических подходов и установления прогноза. Все авторы подтверждают наличие гиперэкспрессии EGFR при ТНРМЖ [6, 8, 12]. Большинство исследователей считают, что гиперэкспрессия EGFR является прогностически неблагоприятным фактором [11, 12].

Ген Her-2/neu локализован на хромосоме 17, рядом расположен ген ТОП Па. Теоретически существует серьезное основание предполагать, что изменение структуры каждого из этих генов не может не оказывать взаимного влияния на их функцию. Данные V. Durbescq и соавт. [13], полученные ими при исследовании гена ТОП Па у 29 больных РМЖ, свидетельствуют о том, что существуют самые разнообразные сочетания статуса этих генов у каждой пациентки. В связи с тем что уровень высокой амплификации гена ТОП Па в метастатических очагах РМЖ сохраняется, сопоставление характеристик обоих генов может пролить свет на механизм прогрессирования опухоли и послужить основанием для составления индивидуального прогноза.

ДНК ТОП Па — энзим, который кодируется одноименным геном, находящимся на длинном плече 17-й хромосомы (17 q21–q22). Функция продукта этого гена — контроль и последующие изменения, происходящие в топологии молекулы ДНК в процессе транскрипции. Он задействован в таких процессах, как конденсация хромосом, разделение хроматид и смягчение явлений перекрута, возникающих при транскрипции и репликации. Существует 2 формы этого энзима. Ген, кодирующий α -форму, находится на хромосоме 17, α -форму — на хромосоме 3.

Наиболее пристальное внимание ученых привлекают изменения, происходящие при злокачественных новообразованиях человека, особенно изменения, связанные с ТОП Па. В литературе описано 2 типа изменений, возникающих в области этого гена — повышение числа его копий (амплификация) и потери различных участков (делеции) [14]. Наибольшее число исследований посвящено определению роли и значения нарушений функции гена при РМЖ. Основная направленность проводимых исследований — установление прогностического значения и роли ТОП Па в отношении чувствительности к ХТ РМЖ. До настоящего времени исследователи, за редким исключением, не придавали значения различным типам геномных нарушений в области гена ТОП Па. Имеются единичные работы, в которых предпринята попытка проанализировать прогноз при РМЖ отдельно для больных с делециями и амплификацией ТОП Па. Так, K. Park и соавт. [15] отметили более высокую частоту развития рецидивов и генерализации процесса у пациенток с делециями, чем у больных с амплификацией данного гена.

Большинство авторов стараются оценить значение нарушений в области гена ТОП Па в комплексе с состоянием гена Her-2. L. Usha и соавт. [16] установили, что делеция гена ТОП Па у пациенток с амплифицированным Her-2 имеет плохое прогностическое значение: у таких больных наблюдается резкое сокращение длительности безрецидивного периода. K.V. Nielsen и соавт. [17] обнаружили самые разнообразные сочетания обоих генов с помощью реакции флюоресцентной *in situ* гибридизации (FISH). Амплификация Her-2/neu с нормальным статусом ТОП Па выявлена у 15% пациенток. Одномоментная амплификация обоих генов определялась у 12% больных. Сочетание делеции ТОП Па и амплификации Her-2/neu зафиксировано в 8% случаев. У небольшой части больных имела место амплификация ТОП Па (4% случаев) или делеция (6%) без одновременного изменения гена Her-2/neu. Авторы не смогли предложить какой-либо обоснованной гипотезы относительно

взаимосвязи указанных генов [18]. Считается, что химиопрепараты определенной структуры, например эпирубицин, оказывают свое терапевтическое действие через ТОП IIa, посредством разрыва цепи ДНК, а при мутации BRCA-1 не происходит репарации молекулы ДНК, что способствует достижению более высокого эффекта применения химиопрепарата. У больных с амплификацией ТОП IIa и мутацией BRCA-1 отмечена более высокая чувствительность к лечению эпирубицином. A. Rody и соавт. [19] установили, что ТОП IIa как прогностический фактор имеет гораздо большее значение у пациенток с положительным статусом рецепторов эстрогена, чем в группе эстроген-отрицательных больных. Прогностическому значению ТОП IIa посвящено значительное число исследований. J.A. Sparano и соавт. [20] продемонстрировали, что повышенный риск развития рецидива РМЖ тесно связан с экспрессией ТОП IIa в клетках рака, однако прогностическое значение этого фактора в основном оценивается с позиции влияния статуса данного гена на чувствительность больных РМЖ к химиотерапевтическим препаратам, в частности к препаратам антрациклинового ряда [21]. Однако следует отметить, что при оценке состояния гена ТОП IIa необходимо проявлять осторожность, поскольку существуют определенные методические сложности. В частности, не всегда наблюдается параллелизм между результатами FISH-реакции и иммуногистохимическим определением продукта этого гена [22].

Цель исследования — изучение особенностей статуса генов EGFR и ТОП IIa в клетках ТНРМЖ и возможностей использования полученных данных в клинико-диагностическом аспекте.

Материалы и методы

В соответствии с общепринятой методикой было проведено исследование состояния генов EGFR и ТОП IIa с помощью FISH-реакции у 60 больных. Пациентки, у которых наблюдались выраженные признаки терапевтического патоморфоза после проведения им предоперационной ХТ, в исследование включены не были, поскольку резкие дистрофические изменения в ядрах могли привести к появлению артефактов при оценке результатов FISH-реакции.

Для установления нарушений в области гена EGFR использовали пробу LSI EGFR Dual Color Probe-Hyb Set фирмы «Abbott-Vysis». Состояние гена ТОП IIa оценивали с помощью пробы LSI TOP IIa SpectrumOrange / CEP 17 SpectrumGreen («Abbott-Vysis»).

Подготовку FISH-пробы осуществляли по общепринятой методике [23]. Оценка результатов

проводили с использованием флюоресцентного микроскопа Axioscop2Plus («Zeiss»).

Результаты

Результаты гибридизации пробы на ген EGFR (рис. 1а,б) имеют вид 2 зеленых (исходящих от центромеры хромосомы 7) и 2 красных сигналов, связанных с последовательностями нуклеотидов в области гена EGFR. Ядер с 3 сигналами в нормальной ткани молочной железы, эпидермисе кожного покрова органа или очагах пролиферативной фиброзно-кистозной болезни мы не наблюдали. Иногда встречались ядра с удвоенным числом сигналов (по 4 зеленых и красных). Появление подобных ядер можно объяснить наличием в S-фазе клеток с удвоением генетического материала перед делением клетки. Для подтверждения этого предположения в каждом конкретном наблюдении фиксировали признаки аналогичного типа удвоения сигналов в препаратах FISH-реакции на ген ТОП IIa той же больной.

Нами были сопоставлены результаты FISH-реакции, проведенной в различных микроскопических структурах РМЖ: клетках, выстилающих железы и кистозные полости, покрывающие сосочки, и солидных структурах. При этом внутриопухолевой гетерогенности, по результатам гибридизации, не обнаружено. Общая тенденция изменений числа центромерных сигналов и состояния гена EGFR была однотипной в самых разнообразных структурах в пределах одной и той же опухоли.

Абсолютно нормальный характер результатов FISH-реакции отмечен у 10 больных. Пациентки данной группы имели следующие клинико-морфологические параметры. За исключением 1 больной никто из них не получал предоперационной терапии. Микроскопическая структура опухолей у 9 пациенток соответствовала протоковому раку различной степени дифференцировки, у 1 больной опухоль имела строение медуллярного рака. Базалоидный иммунофенотип определялся в 4 случаях. У 6 пациенток отсутствовали нарушения в области гена ТОП IIa или анеусомия хромосомы 17. У остальных 3 больных выявлена моносомия, а у 1 пациентки — полисомия хромосомы 17.

Частота амплификации гена EGFR в нашем исследовании невысока. Если принять за амплификацию наличие >4 лишних сигналов гена по сравнению с числом центромерных (рис. 1в), то таких больных было 3. Все они ранее не получали лечения. Микроскопическая структура их опухолей соответствовала солидному недифференцированному раку с выраженным полиморфизмом опухолевых клеток. У 1 из этих пациенток был установлен базалоидный иммунофенотип, у 1 — экспрессия

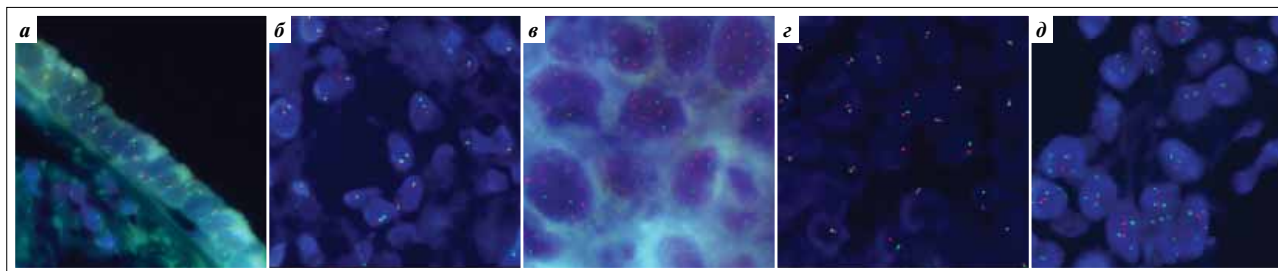


Рис. 1. Состояние гена EGFR и хромосомы 7 в ТНРМЖ: а — нормальное соотношение гена EGFR и центромеры хромосомы 7 в выстилке кисты; б — нормальное соотношение гена EGFR и центромеры хромосомы 7 в клетках рака; в — амплификация гена EGFR; з — моносомия хромосомы 7; д — полисомия хромосомы 7

продукта гена ПТЕН и еще у 1 — моносомия хромосомы 17.

Наряду с больными, имеющими такое резкое преобладание копий гена EGFR, встречались и пациентки ($n=4$), в опухоли которых определялись клетки, содержащие до 3 лишних копий данного гена. Две больные из этой группы получили предоперационную ХТ, что сопровождалось возникновением слабовыраженных признаков терапевтического патоморфоза. У всех пациенток данной группы опухоли имели строение протокового рака, в 2 случаях — со слабоположительными маркерами базалоидного иммунофенотипа. У 3 больных была выявлена полисомия хромосомы 17, у 1 — на фоне наличия полисомных ядер еще и делеция гена ТОП Па.

Отдельно учитывали клетки с полисомными ядрами, т.е. с сочетанным увеличением как числа копий гена EGFR, так и числа копий самой хромосомы 7. Полисомия (рис. 1д) — довольно распространенный феномен ($n=15$). В большинстве случаев полисомия наблюдалась у пациенток, получивших лечение и имеющих (почти поровну) базалоидный и небазалоидный фенотипы. Результаты гибридизации гена ТОП Па в этой группе больных были различными. Встречались как пациентки с нормальными результатами, так и больные с амплификацией на 3–4 копии данного гена ($n=3$) и моносомией хромосомы 17.

Особого внимания заслуживают феномен потери хромосомы 7 (рис. 1з) и/или трисомия этой хромосомы. В изолированном виде патология подоб-

ного рода встречается редко, однако она довольно распространена в качестве преобладающего компонента общей анеупloidии.

Больные с трисомией хромосомы 7 также представляли собой в некотором роде гетерогенную группу. Только 4 из 15 пациенток была проведена предоперационная терапия. Микроскопическая структура опухолей в 2 случаях соответствовала дольковому раку, еще в 2 — метapластическому, в остальных — недифференцированному протоковому раку с преобладанием ($n=8$) базалоидного иммунофенотипа. Результаты FISH-реакции на ТОП Па варьировали от нормы до слабой амплификации этого гена. Трисомия хромосомы 17 была выявлена только у 2 больных.

Все пациентки с моносомией хромосомы 7 ($n=7$) до выполнения оперативного вмешательства лечения не получали. Во всех случаях, за исключением 1 больной, у которой новообразование имело структуру долькового рака, отмечен протоковый гистотип опухоли. Отсутствие базального фенотипа наблюдалось у 2 больных. При проведении FISH-реакции на ген ТОП Па были выявлены моносомия и трисомия хромосомы 17 (по 1 случаю).

В норме результаты FISH-реакции, полученные при изучении гена ТОП Па с помощью пробы фирмы «Abbott-Vysis» (рис. 2а), имеют вид 4 отдельных сигналов (2 красных и 2 зеленых), источником которых являются центромера хромосомы 17 (зеленый сигнал) и нуклеотидные последовательности в области гена ТОП Па (красный сигнал) со-

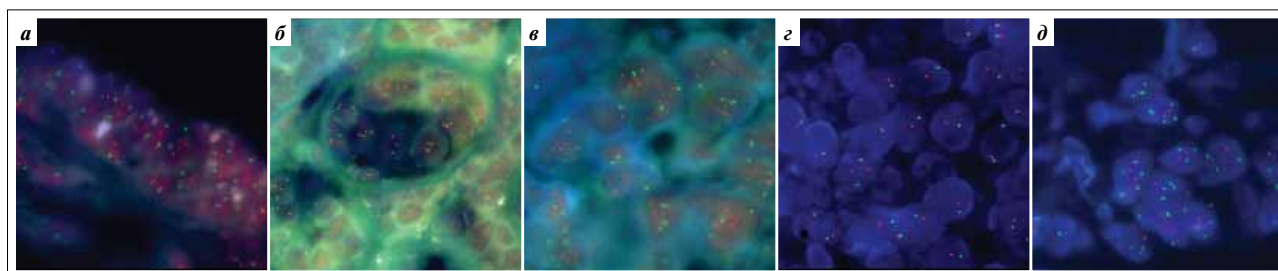


Рис. 2. Состояние гена ТОП Па в ТНРМЖ: а — нормальное число сигналов в выстилке кистозной полости; б — нормальное число сигналов в клетках рака (2:2); в — амплификация гена ТОП Па в клетках ТНРМЖ; з — моносомия хромосомы 17; д — полисомия хромосомы 17

ответственно на длинном плече этой хромосомы. Вариации числа и формы сигналов в нормальных, неопухолевых структурах молочной железы, окружающих узел рака или эпидермального покрова, в случае наличия инвазии раком кожи практически отсутствовали.

Анализ характера реакции в разных структурах показал, что как солидные, так и железистокистозные или сосочковые структуры не отличались друг от друга по каким-либо параметрам в пределах материала одной и той же больной.

Характер и число сигналов центромеры хромосомы 17 и гена ТОП IIa в нашем исследовании имели следующий вид. Нормальный набор сигналов (2 зеленых и 2 красных) был обнаружен у 11 больных (рис. 2б). При сравнении этих данных с результатами группы пациенток с нормальной картиной распределения сигналов, выявленной при изучении гена EGFR, отмечено, что общими в указанных группах являются только 3 больные.

По разным клинико-морфологическим параметрам указанная группа представлена больными, не получившими предоперационного лечения, за исключением 1 пациентки, прошедшей курс лучевой терапии и имевшей патоморфоз II степени. Только у 1 больной новообразование имело строение долькового рака, у остальных пациенток опухоли по структуре соответствовали протоковому раку различной степени дифференцировки. У всех больных, за исключением 1 пациентки, опухоли имели базалоидный иммунофенотип. В 4 случаях нарушений в области гена EGFR или анеусомии хромосомы 7 не обнаружено. У остальных больных отмечены моносомия ($n=4$), трисомия ($n=1$) и тетрасомия ($n=1$) хромосомы 7, а также амплификация гена EGFR ($n=1$).

Частота амплификации генов ТОП IIa и EGFR в изучаемой группе больных была невысокой (рис. 2в). Резкое увеличение числа сигналов (почти в 2 раза) зафиксировано нами в 2 наблюдениях, на 3–4 сигнала больше центромерного — в 6.

Значительная степень амплификации была характерной для пациенток, получивших предоперационные курсы ХТ. Опухоли имели строение рака низкой степени дифференцировки, небазалоидного иммунофенотипа. У 1 больной отсутствовали нарушения в области гена EGFR, у другой была обнаружена полисомия хромосомы 7.

Пациентки, у которых была выявлена амплификация гена ТОП IIa на небольшое (3–4) число копий, наоборот, составили группу не леченных до операции (за исключением 1 больной). Опухоли имели строение низкодифференцированного солидного рака (в 1 случае — метастатического). У 2 пациенток отмечен базалоидный иммунофенотип,

во всех случаях имела место полисомия хромосомы 7 с соответствующим увеличением числа копий гена EGFR вплоть до 6.

Другой вид зарегистрированного нарушения — делеция гена ТОП IIa ($n=2$). У одной больной 25% ядер были лишены 1 копии гена, в то время как у другой процесс носил более распространенный характер с вовлечением до 80% клеточной популяции. Одна из пациенток получила курс предоперационной ХТ. У обеих больных опухоли имели строение протокового рака, не обладающего базалоидным иммунофенотипом. В обоих случаях помимо опухолевых клеток наблюдалась трисомия хромосомы 7.

Хромосома 17, на которой локализован ген ТОП IIa, так же как и хромосома 7, у пациенток с ТНРМЖ подвержена количественным изменениям в сторону уменьшения — моносомии (рис. 2г) и увеличения — полисомии (рис. 2д).

Четко выраженная моносомия (>20% ядер) была установлена у 10 больных. У 1 пациентки доля моносомных ядер составила 80%. При этом не определялся сигнал от самого гена ТОП IIa. Три больные с моносомией хромосомы 17 получили дооперационную ХТ. У 2 пациенток опухоли имели структуру долькового, у остальных — низкодифференцированного протокового рака. У 4 больных опухолевые клетки характеризовались базалоидным иммунофенотипом. Нарушений копийности гена EGFR не зафиксировано, в то время как анеусомия хромосомы 7 была обычным явлением: моносомия определялась у 5, три- и тетрасомия — у 2 пациенток.

Трисомия хромосомы 17 встречалась в 5 случаях, доля анеусомных ядер при этом составляла 10–80%. Данные больные также формировали гетерогенную группу. Две пациентки получали предоперационную ХТ. У одной больной был метастатический, у другой — дольковый рак. В остальных 3 случаях диагностирован низкодифференцированный протоковый рак. Клетки всех опухолей давали положительные реакции на базалоидные маркеры той или иной степени интенсивности и диапазона. Ген EGFR не был изменен, однако полисомия хромосомы 7 имела место у 4 больных, а у 1 пациентки с дольковым раком определялась моносомия этой хромосомы.

Полисомные ядра (до 4–6 центромерных сигналов) были выявлены нами только у 3 больных. В целом этот феномен встречается реже, чем аналогичные изменения с центромерой хромосомы 7. Могут ли результаты исследования FISH-реакции EGFR и ТОП IIa лечь в основу каких-либо прогностических факторов? Для получения однозначного ответа на этот вопрос сроков наблюдений и материала в каждой группе сравнительно мало,

но тем ни менее вырисовываются определенные перспективные тенденции. В частности, все больные, у которых отсутствовали нарушения в области гена EGFR и анеусомия хромосомы 7, оказались в прогностически благоприятной группе. Половина (50%) этих больных пережили 5-летний срок, остальные пациентки живы на протяжении 3–4 лет после постановки диагноза. Это можно объяснить тем, что у одних больных отсутствовало поражение регионарных ЛУ и размер первичной опухоли соответствовал группе T1–T2, а другие уже имели метастазы в регионарных ЛУ (в 1 случае отмечена даже опухоль большего размера – T4N1M0).

Пациентки с амплификацией гена EGFR умерли в период от 1 до 3 лет, несмотря на то что они не имели далеко зашедших стадий (относились к группам T2N1M0, T2N2M0, T2N0M0). Тем не менее в связи с малочисленностью данной группы пациентов окончательные выводы делать пока рано.

Полисомия, в том числе и трисомия хромосомы 7, встречалась среди больных с различными клиническими параметрами и стадиями. Обращает на себя внимание факт отсутствия в этой группе пациенток со стадией T1. В прогностическом плане больные данной группы несопоставимы.

Пациентки с моносомией хромосомы 7, за исключением 1 больной, имели небольшие опухоли, без поражения регионарных ЛУ.

Группа больных с отсутствием нарушений в области гена TOP IIa и анеусомии хромосомы 17 более гетерогенна по составу, чем группа пациенток с отсутствием нарушений в области гена EGFR и анеусомии хромосомы 17. В целом преобладали больные с крупными опухолевыми узлами и наличием метастазов в регионарных ЛУ. Правда, отдаленных метастазов в данной группе пациенток изначально не было. В 3 случаях имел место двусторонний процесс. Умерла только 1 больная через год после начала лечения.

Пациентки с моносомией хромосомы 17 находились на различных клинических стадиях и, по видимому, имели если и не хороший прогноз, то, по крайней мере, не отягощенный потерей данной хромосомы. В этой группе умерли только 2 больные: одна со стадией T4N3M0 – через год, а другая со стадией T1N0M0 – через 4 года после начала терапии.

Делеция гена TOP IIa зарегистрирована у 2 пациенток, имевших 20 и 80% частоту встречаемости ядер с нарушениями. Амплификация TOP IIa наблюдалась у больных с разными стадиями и, насколько можно судить по данным этой небольшой группы, была связана с хорошей чувствительностью к схеме FAC (5-фторурацил, доксорубин, циклофосфамид). У всех пациенток отмечен длительный безрецидивный период.

Заключение

Результатов, полученных нами при изучении функции генов EGFR и TOP IIa, на данном этапе состояния проработки вопроса недостаточно для применения в клинической практике. В литературе наметились 2 тенденции трактовки результатов исследований названных генов. С одной стороны, происходит однозначная переоценка их гипер- или гипоекспрессии, а с другой – намечается, на наш взгляд, более правомерная тенденция связывать изменения, возникающие в структуре этих генов, с изменениями хромосом, на которых они локализованы [24, 25].

По нашим данным, изменения числа копий генов EGFR и TOP IIa наряду с сопряженными явлениями анеусомии соответствующих хромосом присущи всей клеточной популяции ТНРМЖ. Нами не обнаружено связи возникновения указанных нарушений со структурами какого-либо типа, так же как и связи их со стадией процесса. Последнее обстоятельство полностью исключает вторичный характер геномных и хромосомных нарушений, возникающих в результате прогрессирующей структурной дезорганизации опухолевых клеток. У нас не было возможности подтвердить определенную закономерность, описанную в литературе [24], когда прослеживается трансформация от моносомии хромосомы 17 в фоновых процессах РМЖ до полисомии этой же хромосомы в инвазивных участках, из-за некоторых особенностей предварительной подготовки материала.

Однако сам факт наличия анеусомии ряда хромосом в ТРМЖ нами убедительно документирован. Тем не менее существует мнение, что полисомия хромосомы 17 – на самом деле редкий феномен, выявляемый в клетках РМЖ при ужесточении условий подсчета хромосом и применении для этого более точного метода сравнительной геномной гибридизации [25].

Таким же образом исключается наведенный характер указанных изменений в результате ХТ-патоморфоза. Такое впечатление может возникнуть, например, при констатации факта наличия анеусомии хромосомы 7 у больных, получавших лечение. Однако отсутствие подобных изменений хромосомы 17 у этих же пациенток дает определенное основание считать их первичными, не зависящими от проведенной ХТ.

На частоту изменения числа копии генов EGFR и TOP IIa и хромосом 7 и 17 малое влияние оказывают не только гистотип опухоли, но и ее иммунофенотип. Нам не удалось установить связи изучаемых нарушений со специфическим базалоидным вариантом ТНРМЖ.

В дальнейшем необходимо исследовать роль амплификации гена ТОП 2а в повышении чувствительности к ХТ-схемам, содержащим препараты антрациклинового ряда, поскольку по нашим (пока еще предварительным) данным, клиническая непосредственная эффективность при таком сочетании является очевидной.

Безусловно, в ходе дальнейшего изучения вопроса требуется расширение спектра приведенных выше исследований в сочетании с анализом статуса изученных генов при различных вариантах РМЖ для формирования сопоставимых клинических групп, что, вероятно, позволит выработать рациональные прогностические факторы и маркеры для выбора схем таргетной терапии.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Sotiriou C., Neo S.Y., McShane L.M. et al. Breast cancer classification and prognosis based on gene expression profiles from a population-based study. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100(18):10393–8.
2. Reis-Filho J.S., Tutt A.N. Triple negative tumours: a critical review. *Histopathology* 2008;52(1):108–18.
3. Bhargava R., Gerald W.L., Li A.R. et al. EGFR gene amplification in breast cancer: correlation with epidermal growth factor receptor mRNA and protein expression and Her-2 status and absence of EGFR-activating mutations. *Mod Pathol* 2005;18(8):1027–33.
4. Kersting C., Tidow N., Schmidt H. et al. Gene dosage PCR and fluorescence in situ hybridization reveal low frequency of egfr amplifications despite protein overexpression in invasive breast carcinoma. *Lab Invest* 2004;84(5):582–7.
5. Nicholson S., Richard J., Sainsbury C. et al. Epidermal growth factor receptor (EGFR); results of a 6 year follow-up study in operable breast cancer with emphasis on the node negative subgroup. *Br J Cancer* 1991;63(1):146–50.
6. Buchholz T.A., Tu X., Ang K.K. et al. Epidermal growth factor receptor expression correlates with poor survival in patients who have breast carcinoma treated with doxorubicin-based neoadjuvant chemotherapy. *Cancer* 2005;104(4):676–81.
7. Collins L.C., Martyniak A.J., Kandel M.J. et al. Basal cytokeratin and epidermal growth factor receptor expression are not predictive of BRCA1 mutation status in women with triple-negative breast cancers. *Am J Surg Pathol* 2009;33(7):1093–7.
8. Kobayashi S. Basal-like subtype of breast cancer: a review of its unique characteristics and their clinical significance. *Breast Cancer* 2008;15(2):153–8.
9. Oliveras-Ferreras C., Vazquez-Martin A., López-Bonet E. et al. Growth and molecular interactions of the anti-EGFR antibody cetuximab and the DNA cross-linking agent cisplatin in gefitinib-resistant MDA-MB-468 cells: new prospects in the treatment of triple-negative/basal-like breast cancer. *Int J Oncol* 2008;33(6):1165–76.
10. Sasa M., Bando Y., Takahashi M. et al. Screening for basal marker expression is necessary for decision of therapeutic strategy for triple-negative breast cancer. *J Surg Oncol* 2008;97(1):30–4.
11. Viale G., Rotmensz N., Maisonneuve P. et al. Invasive ductal carcinoma of the breast with the "triple-negative" phenotype: prognostic implications of EGFR immunoreactivity. *Breast Cancer Res Treat* 2009;116(2):317–28.
12. Tischkowitz M., Brunet J.C., Begin R.L. et al. Use of immunohistochemical markers can refine prognosis in triple negative breast cancer. *BMC Cancer* 2007;7:134.
13. Durbecq V., Di Leo A., Cardoso F. et al. Comparison of topoisomerase-II alpha gene status between primary breast cancer and corresponding distant metastatic sites. *Breast Cancer Res Treat* 2003;77(3):199–204.
14. Järvinen T.A., Liu E.T. Topoisomerase II alpha gene (TOP2a) amplification and deletion in cancer – more common than anticipated. *Cytopathology* 2003;14(6):309–13.
15. Park K., Han S., Gwak G.H. et al. Topoisomerase II-alpha gene deletion is not frequent as its amplification in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2006;98(3):337–42.
16. Usha L., Tabesh B., Morrison L.E. et al. Topoisomerase II alpha gene copy loss has adverse prognostic significance in ERBB2-amplified breast cancer: a retrospective study of paraffin-embedded tumor specimens and medical charts. *J Hematol Oncol* 2008;14;1:12.
17. Nielsen K.V., Ejlersen B., Müller S. et al. The value of TOP2A gene copy number variation as a biomarker in breast cancer: update of DBCG trial 89D. *Acta Oncol* 2008;47(4):725–34.
18. Nielsen K.V., Müller S., Ejlersen B. et al. Aberrations of ERBB2 and TOP2A genes in breast cancer. *Mol Oncol* 2010;4(2):161–8.
19. Rody A., Kam T., Ruckhäberle E. et al. Gene expression of topoisomerase II alpha (TOP2A) by microarray analysis is highly prognostic in estrogen receptor (ER) positive breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2009;113(3):457–66.
20. Sparano J.A., Goldstein L.J., Childs B.H. et al. Relationship between topoisomerase 2A RNA expression and recurrence after adjuvant chemotherapy for breast cancer. *Clin Cancer Res* 2009;15(24):7693–700.
21. O'Malley F.P., Chia S., Tu D. et al. Topoisomerase II alpha and responsiveness of breast cancer to adjuvant chemotherapy. *J Natl Cancer Inst* 2009;101(9):644–50.
22. Mueller R.E., Parkes R.K., Andrulis I., O'Malley F.P. Amplification of the TOP2A gene does not predict high levels of topoisomerase II alpha protein in human breast tumor samples. *Genes Chromosomes Cancer* 2004;39(4):288–97.
23. Карселадзе А.И. Реакция флуоресцентной гибридизации в диагностике онкологических заболеваний. М., 2009; с. 31–3.
24. Mendelin J., Grayson M., Wallis T., Visscher D.W. Analysis of chromosome aneuploidy in breast carcinoma progression by using fluorescence in situ hybridization. *Lab Invest* 1999;79(4):387–93.
25. Yeh I.T., Martin M.A., Robetorye R.S. et al. Clinical validation of an array CGH test for HER2 status in breast cancer reveals that polysomy 17 is a rare event. *Mod Pathol* 2009;22(9):1169–75.