

**ДИНАМИКА МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ
ПЕРВИЧНОЙ И ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ МЕТАСТАТИЧЕСКОЙ ОПУХОЛИ ПРИ РАКЕ
МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ.**

*Д.Р. Субботина¹, Д.А. Гуляев², Л.Б. Митрофанова², В.А. Мануковский¹, П.В. Красношлык²,
И.А. Курносов¹*

¹ФГБОУ ВО «Северо-западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова», Минздрава России

²ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова», Минздрава России, Санкт-Петербург.

Резюме. Прогрессия рака молочной железы зачастую ассоциируется с изменением биологических свойств опухоли. Изменение статуса ключевых рецепторов в опухоли (рецепторов эстрогена, прогестерона, эпидермального фактора роста человека типа 2) у пациентов с метастатическим поражением головного мозга, обусловленным раком молочной железы, активно дискутируются. Остается нерешенным вопрос о целесообразности биопсии и ретестирования биологического подтипа метастатической опухоли. Выбор химиопрепаратов основывается на исследовании молекулярно-биологических особенностей первичной опухоли. Однако в четверти случаев выявляется дискордантность церебральных метастазов и первичных опухолей, что дает возможность подобрать более эффективные режимы лекарственной терапии. Цель исследования: оценить динамику молекулярно-генетических маркеров в первичной и метастатической церебральной опухоли у больных раком молочной железы. Материалы и методы. В исследование включены 22 пациента, оперированных по поводу метастазов рака молочной железы в головной мозг. Выполнено иммуногистохимическое исследование (ИГХ) опухолевого материала с целью оценки экспрессии ER, PR, HER2. Полученные результаты сравнивали в парах с материалами от первичных опухолей. Результаты. У 50% больных рецепторный статус первичной опухоли и метастаза в головной мозг был постоянным, в то время как дискордантность по HR – статусу выявлена в 44% случаев. Наиболее редкими рецепторными преобразованиями были приобретение HER 2+ статуса - 6% (n=1) и утрата HER 2+ статуса – 11% (n=2). 67% пациенток с HR+ опухолями молочной железы, получавших адъювантную антиэстрогенную терапию, потеряли экспрессию целевого рецептора в метастазах.

Ключевые слова: рак молочной железы, церебральные метастазы, дискордантность, биологическая гетерогенность, рецепторный статус, статус HER2.

DYNAMICS OF MOLECULAR GENETIC MARKERS OF PRIMARY AND CEREBRAL METASTATIC TUMOR IN BREAST CANCER.

D.R. Subbotina¹, D. A. Gulyaev², L.B. Mitrofanova², V.A. Manukovsky¹, P.V. Krasnoshlyk², I.A. Kurnosov¹

¹North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Saint Petersburg

²Almazov National Medical Research Center, the Ministry of Health of the Russian Federation, Saint Petersburg

Abstract. Changes in the biological subtype of tumors, namely: the status of estrogen receptors (ER), progesterone (PR), human epidermal growth factor type 2 (HER2) in patients with metastatic brain tumors caused by breast cancer, remain poorly studied. The choice of chemotherapeutic agents is based on the study of the molecular-biological features of the primary tumor. However, in a quarter of cases, discordance of cerebral metastases and primary tumors is detected, which provides an opportunity to choose more effective regimens of drug therapy. Objective. To evaluate the dynamics of molecular-genetic markers in primary and metastatic brain tumor in patients with breast cancer. Materials and Methods. The study included 22 patients whose brain metastases from breast cancer were treated surgically. An immunohistochemical assay of tumoral samples was performed to assess the expression of ER, PR, HER2. The results obtained were compared in pairs with samples from primary tumors. Results. The receptor status of the primary tumor and brain metastasis was constant in 50% of patients, while discordance in HR status was detected in 44% of cases. The rarest receptor conversions were the acquisition of HER 2+ status at 6% (n=1) and the loss of HER 2+ status at 11% (n=2). 67% of patients with HR+ primary breast tumors, receiving adjuvant anti-estrogen therapy lost expression of the target receptor in brain metastases.

Keywords: breast cancer, cerebral metastases, discordance, biological heterogeneity, receptor status, HER2 status.

Введение.

Метастатическое поражение головного мозга при раке молочной железы обычно ассоциируется с неблагоприятным прогнозом и является актуальной клинической проблемой. Такая прогрессия основного заболевания значительно усложняет лечение, ограничивая возможности системной терапии. Выбор химиопрепаратов основывается на исследовании молекулярно-биологических особенностей первичной опухоли. Однако

зачастую метастазы демонстрируют различный уровень экспрессии рецепторов, что обуславливает необходимость изменения терапевтического агента. Изучение биологической гетерогенности первичной и метастатической опухолей может изменить системные подходы к лечению у конкретного пациента. В настоящее время знания о дискордантности рецепторного статуса (ER, PR, HER2) в церебральных метастатических опухолях малочисленны, а клинические особенности отдельных биологических подтипов рака молочной железы остаются малоизученными.

Цель.

Оценить динамику молекулярно-генетических маркеров в первичной и метастатической церебральной опухоли у больных раком молочной железы.

Материалы и методы исследования.

Проведен анализ комплексного обследования и хирургического лечения 22 пациентов с метастазами рака молочной железы в головной мозг, находившихся на лечении в нейрохирургическом отделении ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова». Средний возраст пациентов составил 51 год $\pm$ 12,4. В качестве основного метода нейровизуализации проводилась МРТ головного мозга с магнитной индукцией 1,5 и 3 Тс в режимах T1 и T2, FLAIR, DWI и внутривенным контрастированием парамагнетиками. Оценивали локализацию очагов и характер поражения головного мозга, мозговых оболочек и костей черепа. Проведено стандартное гистологическое исследование материала полученной метастатической опухоли методом световой микроскопии и окрашивания гематоксилин-эозином, а также иммуногистохимическое исследование с антителами к HER2, ER, PR. Определяли уровень экспрессии HR (процентное содержание ER⁺ и PR⁺ клеток и интенсивность их окрашивания), уровни экспрессии HER2 и Ki67 (Рис.1).

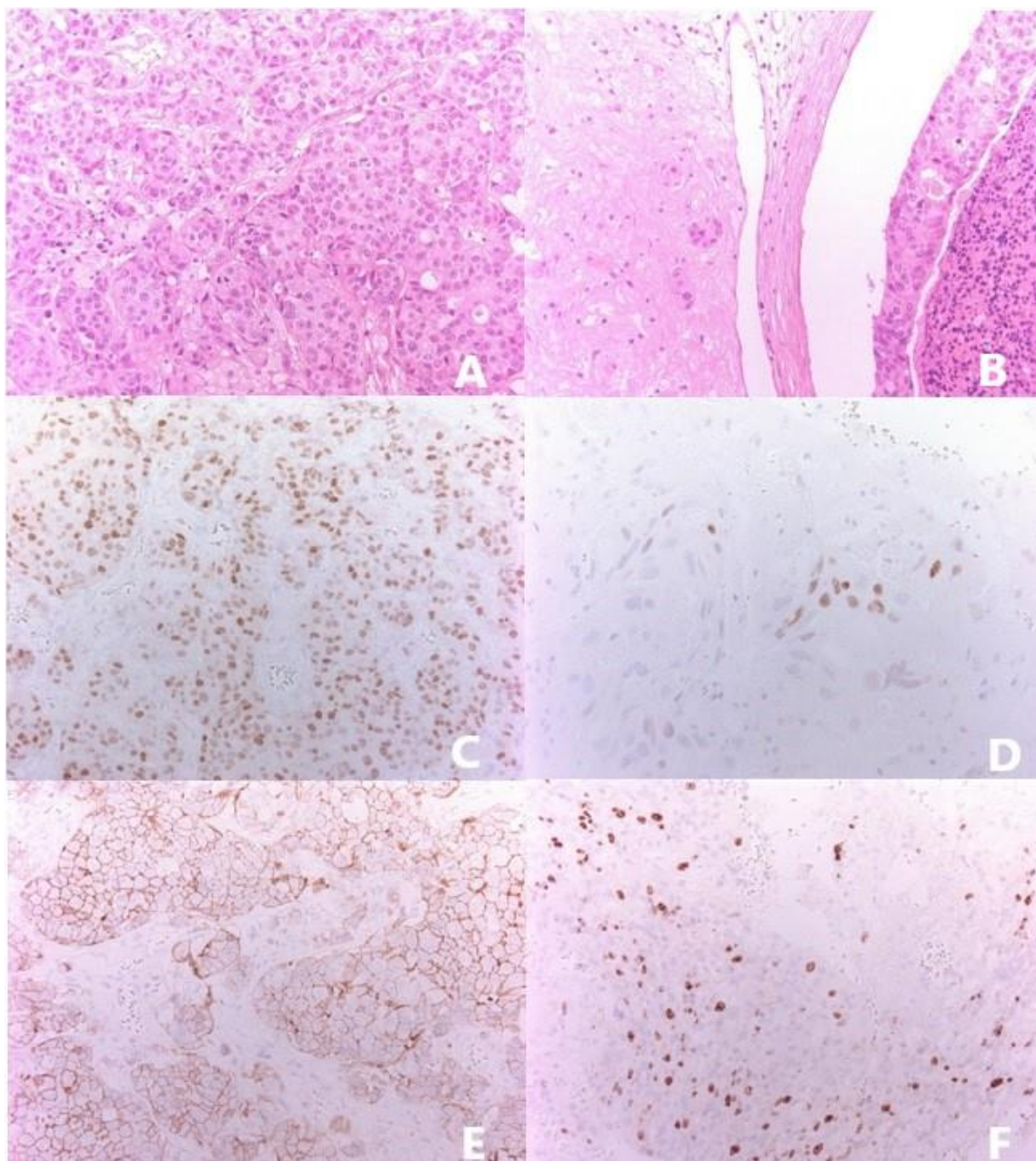


Рис. 1 - Морфологическая картина метастаза рака молочной железы в головной мозг. А) Эпителиальная злокачественная опухоль, формирующая протоковые структуры. Окрашивание Гематоксилином и эозином; x200. В) Опухолевые структуры в просвете сосуда. Окрашивание Гематоксилином и эозином; x200. С) Ядерное окрашивание рецепторов к эстрогену в клетках опухоли (коричневое окрашивание); x200. D) Ядерное окрашивание рецепторов к прогестерону в клетках опухоли (коричневое окрашивание); x200. E) Мембранное окрашивание рецепторов к HER2 в клетках опухоли (коричневое окрашивание); x200. F) Высокая пролиферативная активность в опухоли, ядерное окрашивание, ki-67 (коричневое окрашивание); x200.

В случае неопределенного статуса HER2 (2+) применялось определение амплификации гена HER2 методом *in situ* гибридизации (FISH). На основании медицинской документации проанализированы данные о молекулярно-биологических особенностях первичной опухоли (гистологический вариант, уровень экспрессии ER, PR, HER2), состоянии экстракраниального процесса, характере и объеме ранее проводимой системной терапии. Проведен сравнительный анализ молекулярно-биологических показателей первичной и метастатической опухоли с учетом базовых характеристик пациентов (Таб.1). Средний период наблюдения составил 12,6 мес. Катамнестические данные собраны у 18 (82%) пациентов.

Результаты исследования.

Медиана времени без прогрессирования в головной мозг составила 31,8 мес. Единичные метастазы диагностированы в 55% случаев ($n = 12$), олигометастазы в 27% ($n = 6$), множественные церебральные метастазы в 18% случаев ($n = 4$) [1]. Итраоссальное поражение выявлено у 1 пациента (6%), метастатическое поражение мозговых оболочек у 1 пациента. До хирургического лечения и гистологической верификации опухоли стереотаксическую лучевую терапию на интракраниальные очаги получили 3 пациента (14%). В послеоперационном периоде облучение ложа удаленной опухоли выполнено в 14 % случаев ($n=3$), облучение всего головного мозга (ОВГМ) в 5% ($n = 1$) случаев. Неoadьювантную химиотерапию (НАХТ) получали 12 пациентов (55%), адьювантную химиотерапию 14 пациентов (64%). Таргетную терапию, при наличии гиперэкспрессии HER2\neu в первичной опухоли, получали 7 пациенток (32%), эндокринотерапия HR+ рака молочной железы проводилась в 27% случаев ($n=6$) (Таб. 1).

Пациенты с HER2-положительный РМЖ имели более короткий период времени без прогрессирования в головной мозг, в сравнении с HER2-отрицательным статусом (32,1/39 месяцев). Анализ результатов морфологического исследования 22 пар опухолей показал высокий уровень конверсии рецепторного статуса (41%, $n=9$). Потеря положительного статуса ER была отмечена в 27% ($n=6$), статуса PR в 23% ($n=5$). В одном случае (5%) наблюдалось приобретение PR+ статуса. При этом дискордантность была связана с утратой положительного статуса рецепторов двух или одного из гормонов и коррелировала с проведением адьювантной эндокринотерапии. Расхождение по статусу HER 2 выявлено в 23% ($n=5$) случаев. У 11% ($n=2$) пациенток с HER2- позитивной первичной опухолью выявлены HER2-негативные метастазы в головном мозге. В трех случаях (14%) HER2-негативного рака молочной железы определялась гиперэкспрессия HER2-фактора в

церебральном метастазе. Таким образом, в половине случаев (n=9) выявлена дискордантность хотя бы по одному из показателей (ER, PR, HER2) биологической гетерогенности опухолей.

Обсуждение.

Рак молочной железы – гетерогенное заболевание, в этиопатогенезе которого решающую роль играет комплекс генетических, гормональных, метаболических и экзогенных факторов [2]. В структуре мировой онкопатологии рак молочной железы занимает лидирующее место как в отношении заболеваемости, так и смертности от злокачественных новообразований. До 23% всех случаев смерти женщин в постменопаузе от рака приходится именно на эту нозологическую форму. Несмотря на широкое внедрение новых методов ранней диагностики и активную пропаганду скрининговых программ, значительная доля впервые выявленного рака молочной железы приходится на стадию диссеминированного опухолевого процесса (IV стадия) [3]. Прогрессирование рака молочной железы характеризуется вторичным поражением костей - 50,7%, легких - 23,9%, печени - 19,7%, головного мозга - 5,7% [4]. Основным отличием процесса метастазирования рака молочной железы является биологический подтип опухоли, от которого в той или иной степени зависят длительность безрецидивного периода, органотропность, характер метастатического поражения.

Метастазы в головной мозг чаще всего диагностируется при HER-2 положительном и тройном негативном раке молочной железы, как наиболее агрессивных вариантах течения заболевания. Гиперэкспрессия HER-2 является неблагоприятным прогностическим фактором в отношении смерти от внутричерепной прогрессии [5]. Роль терапевтического агента в отношении лекарственной блокады Her-2 сигнального пути и его проникновения через гематоэнцефалический барьер – остается предметом дискуссий и исследований.

Определение рецепторного статуса не только первичной но и метастатической опухоли, позволяют оценить гетерогенность опухолей и выработать индивидуальный плана лечения. Интерес клиницистов к данному вопросу очевиден: детальное исследование метастатической опухоли и преобразование в ней HR/HER2-статуса могут влиять на тактику целевого лечения и, как следствие, на прогноз заболевания.

Биологическая гетерогенность первичной и церебральной метастатической опухоли изучается более 10 лет. В 2017 г. М. Timmer и соавт. продемонстрировали важность ретестирования биологического подтипа при прогрессировании РМЖ в головной мозг у 24 пациенток. Первичная опухоль имела статус ER+ и PR+ в 41,6% случаев, церебральные

метастазы имели гормоноположительный статус всего в 12,5 и 16,6% случаев соответственно; у 23,6% случаев HER2-негативного РМЖ выявлены HER2-положительные метастазы в головном мозге, что позволило использовать современную анти-HER2-терапию у данных больных [6]. В том же году были опубликованы результаты исследования, где показано, что анти-HER2 терапия, такая как лапатиниб или трастузумаб, после местного лечения имеет преимущество в отношении общей выживаемости пациентов с HER2-положительными церебральными метастазами рака молочной железы. Так же отмечено, что в отличие от трастузумаба (145 531,5 г/моль), лапатиниб имеет меньший молекулярный вес (581,1 г/моль) и может проникать через гематоэнцефалический барьер, обуславливая свою эффективность в отношении внутримозговых метастазов РМЖ [7]. В нашем исследовании чаще встречалась утрата HR+ статуса, что ассоциировалось с приемом антиэстрогенной терапии. Изменения статуса HER2 носили эпизодический характер и не были связаны с проводимой анти-HER2 терапией. Причинами таких биологических изменений могут быть генетическая нестабильность опухоли, приводящая к гетерогенности опухолевого пула, а также опухолевая селекция под действием противоопухолевого лечения и как исход — выживание наиболее агрессивных биологических клонов РМЖ [8]. Полученные нами результаты согласуются с данными мировой литературы (Таб 3).

Таблица 1 - Оценка биологической гетерогенности первичной и церебральной метастатической опухоли при раке молочной железы

Автор, ссылка	Год	Число больных	Уровень дискордантности между первичной и церебральной метастатической опухолью, %		
			ER	PR	HER 2
Bachmann C. и соавт. [9]	2013	107	18,4	28,6	18,0
Qi Shen. и соавт. [10]	2015	140	28,0	20,0	3,0
Joubert C. и соавт. [11]	2016	44	25,0	13,6	13,6
Jung J. и соавт. [12]	2018	21	9,5	38,1	23,8

Hulsbergen A. F. C. и соавт. [13]	2020	219	16,7	25,2	10,4
Jui-Yin Kao и соавт. [14]	2020	185	18,6	30,6	16,0
Kotecha R. и соавт. [15]	2021	1373	17,0	23,0	12,0

Таким образом, гетерогенность опухолей не только возможна, но и реализуется у значимого числа больных метастатическим раком молочной железы, что обуславливает необходимость смены целевого терапевтического агента для улучшения результатов лечения.

Немаловажно, что ИГХ исследование метастатической опухоли может быть весьма актуальным с точки зрения полинеоплазии как ассоциированной с известными генетическими мутациями, которые могут носить не только наследственный, но и спонтанный характер, обусловленный широко известными генетическими дефектами. При анализе данных, полученных за последние десятилетия, среди первично-множественных злокачественных новообразований наиболее распространен рак молочной железы в сочетании с другими злокачественными новообразованиями (вторая молочная железа, тело матки, яичники, желудок, толстая кишка, кожа) [16]. Среди всех видов полинеоплазий у женщин, особого внимания заслуживают первично-множественные опухоли репродуктивной системы, такие полинеоплазии являются гормонозависимыми. В современной литературе существует устойчивое представление о синхронном развитии гормонозависимых полинеоплазий, однако их диагностика зачастую весьма интервальна, что связано с разным темпом роста и началом клинических проявлений отдельных опухолей. Вышеизложенное подтверждает необходимость морфологического исследования метастатических опухолей с целью минимизации риска терапевтических ошибок.

Кроме этого, следует отметить, что стереотаксическая лучевая терапия, получившая в последние годы широкое применение в отношении метастатического поражения головного мозга, позволяет добиться удовлетворительных результатов в отношении локального контроля, однако нивелирует шансы на возможное проведение таргетной терапии у значительной доли пациенток ввиду отсутствия материала для морфологического исследования.

Заключение.

Метастатический рак молочной железы является высоко гетерогенным заболеванием, его лечение является сложной мультидисциплинарной проблемой, включающей не только обеспечение локального контроля за счет современных методов местного воздействия, но и адекватную терапевтическую поддержку, основанную на скрупулёзном изучении молекулярно-биологических особенностей метастатической и первичной опухоли.

Список литературы.

1. Pronin I.N., Dolgushin M.B., Kobyakova E.A. i dr. Klinicheskie rekomendacii. Vtorichnoe zlokachestvennoe novoobrazovanie golovnogogo mozga i mozgovykh obolochek "Rossijskoe obshchestvo klinicheskoy onkologii. 2020 Russian (Пронин И.Н., Долгушин М.Б., Кобякова Е.А. и др. Клинические рекомендации. Вторичное злокачественное новообразование головного мозга и мозговых оболочек "Российское общество клинической онкологии. - 2020).
2. Saribekyan, E.K. Epidemiologiya otechnoy i uzlovoy form raka molochnoy zhelezy / E.K. Saribekyan, D.D. Pak, M.V. Ermoshchenkova // Epidemiologiya i vaksinoprofilaktika. – 2011. – № 5. – S. 15–21. (Сарибекян, Э.К. Эпидемиология отечной и узловой форм рака молочной железы / Э.К. Сарибекян, Д.Д. Пак, М.В. Ермощенко // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2011. – № 5. – С. 15–21).
3. Kaprin AD, Starinskii VV, Petrova GV, eds. Zlokachestvennye novoobrazovaniya v Rossii v 2016 (zabolevaemost' i smertnost'). Moscow: MNIOI im. P.A. Gertsena — filial FGBU «NMITs radiologii» Minzdrava Rossii; 2018. (In Russ.). (Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В., ред. Злокачественные новообразования в России в 2016 г. (заболеваемость и смертность). М.: МНИОИ им. П.А. Герцена — филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России; 2018).
4. Wu Q, Breast cancer subtypes predict the preferential site of distant metastases: a SEER based study. / Li J, Zhu S, Wu J, Chen C, Liu Q, Wei W, Zhang Y, Sun S.// Oncotarget. 2017;8(17):27990-27996.
5. Witzel I. Breast cancer brain metastases: biology and new clinical perspectives / Oliveira -Ferrer L, Pantel K, Muller V, Wikman H. // Breast Cancer Res. 2016;18:8.
6. Timmer M. Discordance and Conversion Rates of Progesterone-, Estrogen- and HER2/neu-Receptor Status in Primary Breast Cancer and Brain Metastasis Mainly Triggered by Hormone Therapy / Werner J, Röhn G, Ortmann M, Blau T, Cramer C,

- Stavrinou P, Krschek B, Mallman P, Goldbrunner R // 2017 Sep;37(9):4859-4865. doi: 10.21873/anticancerres.11894.
7. Lin Y. Real-World Data of Pyrotinib-Based Therapy in Metastatic HER2-Positive Breast Cancer: Promising Efficacy in Lapatinib-Treated Patients and in Brain Metastasis / Lin M, Zhang J, Wang B, Tao Z, Du Y, Zhang S, Cao J, Wang L, Hu X // 2020 Oct;52(4):1059-1066.
8. Kolyadina I. V. Rol' biologicheskoy geterogennosti pri recidiviruyushchem i metastaticheskom rake molochnoj zhelezy / Andreeva YU. YU., Frank G. A., Poddubnaya I. V. // Arhiv patologii. 2018;80(6):62-67. Russian (Колядина И. В. Роль биологической гетерогенности при рецидивирующем и метастатическом раке молочной железы / Андреева Ю. Ю., Франк Г. А., Поддубная И. В. // Архив патологии. 2018;80(6):62-67).
9. Bachmann C. CNS metastases of breast cancer show discordant immunohistochemical phenotype compared to primary / Grischke E. M., Fehm T., Staebler A., Schittenhelm J., Wallwiener D. // Clin Oncol (2013) 139:551–556.
10. Qi Shen. Breast cancer with brain metastases: clinicopathologic features, survival, and paired biomarker analysis / Sahin A. A., Hess K. R., Suki D., Aldape K. D., Sawaya R., Ibrahim N. K. // Oncologist 2015 May; 20(5):466-73.
11. Joubert C. Immunohistochemical hormonal mismatch and human epidermal growth factor type 2 [HER2] phenotype of brain metastases in breast cancer carcinoma compared to primary tumors / Joubert C., Boissonneau S., Fina F., Figarella-Branger D., Ouafik L., Fuentes S., Dufour H., Goncalves A., Charaffe-Jauffret E., Metellus P. // Neurochirurgie 62 (2016) 151–156.
12. Jung J. Discordances in ER, PR, and HER2 between primary breast cancer and brain metastasis / Lee S.H., Park M., Youn J.H., Shin S.H., Gwak H.S., Yoo H. // Journal of Neuro-Oncology 2018 Apr;137(2):295-302.
13. Hulsbergen A. F. C. Subtype switching in breast cancer brain metastases: a multicenter analysis / Claes A., Kavouridis V.K., Ansaripour A., Nogaredo C., Hughes M.E., Smith T.R., Brastianos P.K., Verhoeff J.J.C., Lin N.U., Broekman M.L.D. // Neuro Oncol. 2020 Aug 17;22(8):1173-1181.
14. Jui-Yin Kao. Receptor discordance and phenotype change in metastatic breast cancer / Jui-Hung Tsai, Tzu-Yi Wu, Chien-Kuo Wang, Yao-Lung Kuo // Asian Journal of Surgery 2021 Jan;44(1):192-198.

15. Kotecha R. Systematic review and meta-analysis of breast cancer brain metastasis and primary tumor receptor expression discordance / Tonse R., Rubens M., McDermott M.W., Odia Y., Appel H., Mehta M.P. // Neurooncol Adv 2021 Jan 16;3(1): vdab010.
16. Pak D.D., Ablitsova N.V. Pervichno-mnozhestvennyy rak molochnoy zhelezy. Moskva, 2013 (Пак Д.Д., Аблицова Н.В. Первично-множественный рак молочной железы. Москва, 2013).