© Коллектив авторов, 2018
УДК 616.613-003.7-089.879
DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2018.13124>
ISSN – 2073-8137

ОПЫТ ОПРЕДЕЛЕНИЯ HER2 СТАТУСА ЦИРКУЛИРУЮЩИХ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У БОЛЬНЫХ С МЕСТНО-РАСПРОСТРАНЕННЫМ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПРИ HER2-НЕГАТИВНОМ ПОДТИПЕ ОПУХОЛИ

Н. Ю. Саманева, Л. Ю. Владимирова, И. А. Новикова,
И. С. Миташок, Т. А. Снежко, И. С. Корнилова

Ростовский научно-исследовательский онкологический институт,
Ростов-на-Дону, Россия

EXPERIENCE OF DETECTION OF HER2 STATUS OF CIRCULATING TUMOR CELLS IN THE PERIPHERAL BLOOD OF PATIENTS WITH HER2-NEGATIVE LOCALLY ADVANCED BREAST CANCER

Samaneva N. Yu., Vladimirova L. Yu., Novikova I. A.,
Mitashok I. S., Snezhko T. A., Kornilova I. S.

Rostov Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don, Russia

Циркулирующие опухолевые клетки (ЦОК) в отличие от других злокачественных клеток, представленных в первичной опухоли, обладают высоким прогностическим потенциалом. Гиперэкспрессия рецептора HER2 в ткани опухоли при РМЖ ассоциирована с усилением пролиферации, ангиогенеза, нарушением апоптоза и более агрессивным течением болезни, повышенным метастатическим потенциалом, менее благоприятным прогнозом. Доказана гетерогенность ЦОК, которые могут иметь фенотипические и генотипические характеристики, отличающиеся от клеток первичной опухоли. Был проведен сравнительный анализ биологических характеристик первичных опухолей и ЦОК в зависимости от наличия экспрессии рецептора HER2/neu у пациенток с местно-распространенным раком молочной железы. Исследование показало, что ЦОК по биологическим характеристикам часто отличаются от клеток первичной опухоли, в частности возможно наличие экспрессии рецептора HER2/neu на ЦОК, полученных из периферической крови больных с HER2-негативным статусом первичной опухоли.

Ключевые слова: циркулирующие опухолевые клетки, рак молочной железы

The study of biological characteristics of CTCs, in contrast to other malignant cells in the primary tumor, suggests new tumor markers with a high predictive value. HER2 overexpression in the tumor leads to enhanced proliferation and angiogenesis and apoptosis regulation disorders. HER2 overexpression in BC was confirmed to be associated with a more aggressive disease course, increased metastatic tumor potential and less favorable prognosis. CTCs were proved to be heterogeneous, as their phenotypic and genotypic characteristics can differ from the primary tumor cells. Taking into account the data of numerous studies, we performed a comparative analysis of biological characteristics of primary tumors and CTCs depending on the presence of HER2/neu receptor expression in patients with locally advanced breast cancer. The study demonstrated that CTCs often differ from primary tumor cells in their biological characteristics; in particular, HER2/neu positive CTCs were obtained from the peripheral blood of patients with HER2-negative primary tumors.

Keywords: circulating tumor cells, breast cancer

Для цитирования: Саманева Н. Ю., Владимирова Л. Ю., Новикова И. А., Миташок И. С., Снежко Т. А., Корнилова И. С. ОПЫТ ОПРЕДЕЛЕНИЯ HER2 СТАТУСА ЦИРКУЛИРУЮЩИХ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У БОЛЬНЫХ С МЕСТНО-РАСПРОСТРАНЕННЫМ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПРИ HER2-НЕГАТИВНОМ ПОДТИПЕ ОПУХОЛИ. *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2018;13(4):634-637.

DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2018.13124>

For citation: Samaneva N. Yu., Vladimirova L. Yu., Novikova I. A., Mitashok I. S., Snezhko T. A., Kornilova I. S. EXPERIENCE OF DETECTION OF HER2 STATUS OF CIRCULATING TUMOR CELLS IN THE PERIPHERAL BLOOD OF PATIENTS WITH HER2-NEGATIVE LOCALLY ADVANCED BREAST CANCER. *Medical News of North Caucasus*. 2018;13(4):634-637. DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2018.13124> (In Russ.)

ЦОК – циркулирующие опухолевые клетки
РМЖ – рак молочной железы

CTCs – circulating tumor cells
BC – breast cancer

Исследование циркулирующих опухолевых клеток (ЦОК) у онкологических больных при различных локализациях опухоли считается перспективным направлением в современной онкологии. ЦОК происходят из клонов первичной опухоли и представляют собой клетки эпителиального происхождения, которые определяются в периферической крови больных различными формами солидного рака. Однако способностью к метастазированию обладают не все клетки первичной опухоли, а только определенная ее часть (клон), приобретая в результате накопления мутаций агрессивный фенотип и метастатический потенциал [1]. Изучение биологических характеристик ЦОК в отличие от множества других злокачественных клеток, представленных в первичной опухоли, позволило говорить о принципиально новых онкомаркерах, обладающих высоким прогностическим значением.

Как известно, HER2/neu – представитель семейства рецепторов эпидермального фактора роста человека. Гиперэкспрессия HER2 в опухоли ведет к усилению пролиферации и ангиогенеза, нарушению регуляции апоптоза (генетически запрограммированного самоуничтожения клеток). Доказано, что при раке молочной железы (РМЖ) гиперэкспрессия этого рецептора в ткани опухоли ассоциирована с более агрессивным течением болезни, повышенным метастатическим потенциалом опухоли и менее благоприятным прогнозом [2].

Многочисленные исследования доказали гетерогенность ЦОК, которые могут иметь фенотипические и генотипические характеристики, отличающиеся от основной массы клеток первичной опухоли. Из 37 больных метастатическим РМЖ с выявленными HER2-положительными ЦОК только 10 имели HER2-позитивный статус опухоли. У 6 пациентов метастатическая опухоль была HER2-положительной, и только у 2 больных с HER2-положительными ЦОК метастатическая опухоль также была HER2-позитивной. Соответствие наличия экспрессии HER2/neu на ЦОК и клетках первичной опухоли составило 69 %, на ЦОК и клетках, выделенных из метастатических очагов, – 74 % [3].

Имеются данные о влиянии HER2-статуса ЦОК на выживаемость больных. Так, у ЦОК-HER2-положительных пациенток выживаемость без прогрессирования была выше, чем у ЦОК-HER2-отрицательных (7,4 месяца против 4,34 месяца; $p=0,035$) [3].

В настоящее время известно, что ЦОК в крови у больных ранним (N0) раком молочной железы обнаруживаются в 30 % случаев, у больных местнораспространенным (N+) раком – в 36 %, у больных метастатическим раком – в 70 % случаев [4]. Современные технологии позволяют определять и их фенотип, который может отличаться от фенотипа клеток первичной опухоли и который необходимо учитывать при планировании схемы и режима противоопухолевой терапии [5].

С учетом данных многочисленных исследований был проведен сравнительный анализ биологических характеристик первичных опухолей и ЦОК в зависимости от наличия экспрессии рецептора HER2/neu у пациенток с местно-распространенным раком молочной железы.

Материал и методы. Объектом исследования являлась периферическая кровь 20 пациенток с местно-распространенным раком молочной железы, HER2-негативным подтипом опухоли. Для detec-

ции ЦОК в периферической крови был использован аппарат «CellSearch™ Veridex, Johnson & Johnson» (США). Кровь в объеме 8–10 мл забиралась в пробирки, содержащие антикоагулянт ЭДТА и реагент для сохранения жизнеспособности опухолевых клеток. Для отделения клеток крови и опухолевых клеток от плазмы кровь смешивалась с рабочим буфером из набора реагентов и центрифугировалась при 800 g в течение 10 минут. Образцы переносились в аппарат «CellTracks® AutoPrep® System», который в автоматическом режиме, удаляя плазму крови и форменные элементы, иммуномагнитно обогащал образец микрочастицами железа, покрытыми антителами к маркерам адгезии эпителиальных клеток EpCAM, CD45 и цитокератинам 8, 18, 19, HER2/neu. Качество работы системы оценивали с использованием стандартного контроля. Материал сканировался в анализаторе «CellTracks® Analyzer II®». С учетом морфологических характеристик и экспрессии маркеров регистрировались ЦОК. Общее число выявленных опухолевых клеток являлось конечным результатом [6, 7, 8].

Результаты и обсуждение. ЦОК выявлены в 100 % случаев исследования периферической крови – у 20 больных. В зависимости от количества обнаруженных клеток больные распределились следующим образом: образцы, содержащие от 1 до 5 ЦОК, встретились в 75 % случаев (15 больных), от 5 до 20 ЦОК – в 25 % случаев (5 пациентов) (рис. 1). ЦОК-HER2+ выявили в 25 % случаев – у 5 пациенток (рис. 2).

Рис. 1. Детекция ЦОК

Рис. 2. Детекция HER2

Клинический пример 1. Пациентка А., 42 года. Диагноз: рак левой молочной железы, отечно-инфильтративная форма (cT4N1M0, ст. III). Клиническая группа II.

Жалобы на увеличение в размерах и покраснение левой молочной железы.

Из анамнеза заболевания: больная наблюдается по поводу фиброзно-кистозной мастопатии с 1997 года. В 2016 году отметила увеличение уплотнения в левой молочной железе. При маммографии отмечено увеличение объема молочной железы, диффузное утолщение кожи, гиперваскуляризация. Спиральная рентгеновская компьютерная томография выявила аксиллярные лимфоузлы слева до 1,2 см, отек и инфильтрацию левой молочной железы.

Анамнез жизни: беременностей – 1, родов – 1, абортов – 0, менструации регулярные, с 12 лет. Кормила ребенка грудью до 12 месяцев. Наследственный анамнез не отягощен. Менструальный цикл регулярный. Сопутствующие заболевания: Хронический гастрит. Эссенциальный тремор. Соматический статус по шкале Карновского 90 %, ECOG-1.

При осмотре: левая молочная железа увеличена в объеме, отечна. Гиперемия кожи, симптом «лимонной корки», местная гипертермия, диффузное уплотнение ткани железы. Объемное образование не пальпируется, в левой подкрыльцовой области определяются лимфоузлы до 2 см в диаметре.

Патолого-гистологическое заключение: в биоптате инвазивная протоковая карцинома, неспецифического типа. Результаты иммуногистохимического исследования: экспрессия рецепторов эстрогена 90 %, экспрессия рецепторов прогестерона 80 %, экспрессия рецепторов андрогена 50 %, Ki67 30 %, экспрессия Her2/neu – негативный.

Определено количество ЦОК в периферической крови, выявлены 5 клеток в 7,5 мл, из них у 2 клеток выявлен положительный Her2 статус.

Клинический пример 2. Пациентка В., 60 лет. Диагноз: рак левой молочной железы (cT2N1-2M0, ст. III). Клиническая группа II.

Жалобы на плотное образование в левой молочной железе.

Из анамнеза заболевания: считает себя больной с лета 2015 года, когда заметила образование в левой молочной железе. В поликлинике по месту жительства при

дообследовании выявили опухоль левой молочной железы, что было подтверждено при маммографии: слева центральное узловое образование с четкими контурами до 1,5 см. Заключение спиральной рентгеновской компьютерной томографии органов грудной клетки: слева визуализируются аксиллярные лимфоузлы до 2,3 см. В ретроареолярной зоне левой молочной железы определяется узел 1,3х1,1 см в диаметре.

Анамнез жизни: беременностей 2, родов – 1, абортов – 1, менструации регулярные, с 11 лет. Кормила ребенка грудью до 2 лет. Наследственный анамнез отягощен (у матери – шваннома забрюшинного пространства, у отца – рак легких). Менопауза с 52 лет. Страдает гипертонической болезнью II ст., 3 ст., риск высокий. Соматический статус по шкале Карновского 90 %, ECOG-1.

При осмотре: в левой молочной железе на границе верхнего и нижне-внутреннего квадрантов определяется опухолевое образование около 2 см, плотное, бугристое, безболезненное. В левой подкрыльцовой области лимфоузлы до 3 см в диаметре, безболезненные, неподвижные.

Выполнена трепан-биопсия образования. Патолого-гистологическое заключение: в доставленном материале комплексы гиперхромных клеток – мелкие формы карциномы. Иммуногистохимическое исследование: экспрессия рецепторов эстрогена 100 %; экспрессия рецепторов прогестерона 15 %; экспрессия рецепторов андрогена 80 %, Ki67 25 %, экспрессия HER2/neu – негативный.

Определено количество ЦОК в периферической крови, выявлены 10 клеток в 7,5 мл, Her2 статус отрицательный.

Закключение. Исследование показало, что ЦОК по биологическим характеристикам часто отличаются от клеток первичной опухоли, в частности возможно наличие экспрессии рецептора HER2/neu на ЦОК, полученных из периферической крови больных с HER2-негативным статусом первичной опухоли. Представленные наблюдения нуждаются в конкретизации. Полученные в них данные могут быть использованы в будущем для выработки прогностических критериев течения заболевания, а следовательно – для индивидуализации лекарственной терапии больных раком молочной железы.

Литература/References

1. Hanahan D., Weinberg R. A. The hallmarks of cancer. *Cell*. 2000;100(1):57-70. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>
2. Park D. I., Yun J. W., Park J. H. Her2/neu amplification is an independent prognostic factor in gastric cancer. *Dis. Dis. Sci.* 2006;51:1371-1379. <https://doi.org/10.1007/s10620-005-9057-1>
3. Wallwiener M., Hartkopf A. D., Riethdorf S., Nees J., Sprick M. R. [et al.]. The impact of HER2 phenotype of circulating tumor cells in metastatic breast cancer: a retrospective study in 107 patients. *BMC Cancer*. 2015;15:403. <https://doi.org/10.1186/s12885-015-1423-6>
4. Саманева Н. Ю., Владимиров Л. Ю., Новикова И. А., Миташок И. С., Шатова Ю. С., Снежко Т. А., Ежова М. О., Селютин О. Н. Определение содержания циркулирующих опухолевых клеток в периферической крови у больных с первично-генерализованным раком молочной железы на этапах лечения. *Современные проблемы науки и образования*. 2015;6. Режим доступа: www.science-education.ru/ru/article/view?id=22788. Ссылка активна на 13.09.2018. [Samaneva N. Yu., Vladimirova L. Yu., Novikova I. A., Mitashok I. S., Shatova Yu. S., Snezhko T. A., Ezhova M. O., Selyutina O. N. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. – *Modern problems of science and education*. 2015;6. Available at: www.science-education.ru/ru/article/view?id=22788. Accessed September 13, 2018. (In Russ.)].
5. Alix-Panabieres C., Pantel K. Detection and characterization of disseminating cancer cells in patients with solid epithelial malignancies. *Haematopoiesis Immunology*. 2012;10(1):79-93. <https://doi.org/10.1007/s10555-012-9370-z>
6. Бжадуг О. Б., Гривцова Л. Ю., Тупицын Н. Н., Тюляндин С. А. Циркулирующие опухолевые клетки в крови больных местно-распространенным и диссеминированным раком молочной железы. *Вестник Российского онкологического научного центра имени Н. Н. Блохина РАМН*. 2007;3:19-22. [Bzhadug O. B., Grivtsova L. Yu., Tupitsyn N. N., Tyulyandin S. A. *Vestnik Rossiyskogo onkologicheskogo nauchnogo tsentra imeni N. N. Blokhina RAMN*. – *Bulletin of Blokhin Russian Cancer Research Center of RAMS*. 2007;3:19-22. (In Russ.)].
7. Кит О. И., Новикова И. А., Бахтин А. В., Никипелова Е. А., Шатова Ю. С., Габараева В. М., Нистрадова О. В. Первый опыт детекции циркулирующих опухолевых клеток в периферической крови. *Международный журнал экспериментального образования*. 2013;11:37-39. [Kit O. I., Novikova I. A., Bakhtin A. V., Nikipelova E. A., Shatova Yu. S., Gabaraeva V. M., Nistratova O. V. *Mezhdunarodnyy zhurnal eksperimental'nogo obrazovaniya*. – *International journal of experimental education*. 2013;11:37-39. (In Russ.)].
8. Budd G. T., Cristofanilli M., Ellis M. J. Circulating tumor cells versus imaging – predicting overall survival in metastatic breast cancer. *Clin. Cancer. Res.* 2006;12:6403-6409. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-05-1769>

Сведения об авторах:

Саманева Наталья Юрьевна, врач-онколог отделения противоопухолевой лекарственной терапии;
тел.: 89061850625; e-mail: prettyfairy19@rambler.ru (контактное лицо)

Владимирова Любовь Юрьевна, доктор медицинских наук, профессор, руководитель отдела лекарственного лечения опухолей;
тел.: 89185553933; e-mail: vlu@aanet.ru

Новикова Инна Арнольдовна, кандидат медицинских наук, руководитель лаборатории иммунофенотипирования опухолей;
тел.: 89064162909; e-mail: novikovainna@yahoo.com

Миташок Ирина Степановна, заведующая отделением противоопухолевой лекарственной терапии;
тел.: 89895197832; e-mail: imitashok@mail.ru

Снежко Татьяна Александровна, кандидат медицинских наук, врач-онколог; тел.: 89281975751;
e-mail: tatyana_snezhko@mail.ru

Корнилова Ирина Сергеевна, врач-онколог; тел.: 89198913993; e-mail: dawde@yandex.ru

© Коллектив авторов, 2018

УДК 616.314-74:616-018

DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2018.13125>

ISSN – 2073-8137

ЦИТОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ТКАНЕЙ ПОЛОСТИ РТА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ФОТОПОЛИМЕРНОГО МАТЕРИАЛА

В. И. Колодкина¹, А. В. Арутюнов¹, С. В. Сирак², В. А. Иващенко¹,
Л. А. Скоринова¹, Н. С. Андриуца³, О. В. Цымбалов¹, С. И. Рисованный¹

¹ Кубанский государственный медицинский университет, Краснодар, Россия

² Ставропольский государственный медицинский университет, Россия

³ Первый Московский государственный медицинский университет
им. И. М. Сеченова (Сеченовский Университет), Россия

CYTOLOGICAL CHARACTERISTICS OF ORAL CAVITY TISSUES OF EXPERIMENTAL ANIMALS WHEN USING PHOTOPOLYMERIC MATERIAL

Kolodkina V. I.¹, Arutyunov A. V.¹, Sirak S. V.², Ivashchenko V. A.¹,
Skorikova L. A.¹, Andriutsa N. S.³, Tsymbalov O. V.¹, Risovanniy S. I.¹

¹ Kuban State Medical University, Krasnodar, Russia

² Stavropol State Medical University, Russia

³ I. M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Russia

Изучена цитологическая картина тканей полости рта у экспериментальных животных при создании кариесогенной модели со сформированным искусственным дефектом твердых тканей (V класс по Блэку), запломбированным материалом «Реставрин» с покрытием герметиком «Easy Glaze» и без него. Выявлена интенсификация образования зубного налета и признаки воспалительного процесса в группе животных с дефектами, но без покрытия герметиком уже к 30-м суткам наблюдения. К данному сроку эксперимента резко возросло количество сегментоядерных нейтрофилов и слущенных клеток эпителия на фоне увеличения соотношения числа мертвых клеток к живым, что увеличивает степень кариесогенной опасности и интенсивности воспаления в зоне буккального эпителия, десен и пародонта. Рекомендуется обязательное покрытие фотокомпозиционной реставрации герметиком, защищающим пломбировочный материал, сохраняющим эстетические и механические качества композитных реставраций.

Ключевые слова: пломбировочный материал, герметик, экспериментальные животные, цитограмма

The cytological picture of oral tissues in experimental animals was studied when creating a cariogenic model with a formed artificial defect of hard tissues (Black class V), filled with a restorer filling material «Restavrin» coated with «Easy Glaze» sealant and without it. The intensification of the formation of plaque and the manifestation of the inflammatory process in a group of animals with defects, but without coating with sealant was revealed by the 30th day of observation. By this time of the experiment, the number of segmented neutrophils and desquamated epithelium cells sharply increased while the ratio of dead to live cells increased, which increases the degree of cariogenic danger and intensity of inflammation in the