

Оригинални научни рад

ЗНАЧАЈ СТЕРОИДНИХ РЕЦЕПТОРА И HER 2 ПРОТЕИНА КАРЦИНОМА ХУМАНЕ ДОЈКЕ У КЛИНИЧКОЈ ПРАКСИ

¹ Слободанка Вујчић, ² Смиљана Параш, ³ Радослав Гајанин, ² Живојин Ерић

¹ Факултет за екологију Универзитета за пословне студије у Бањој Луци,

² Природно-математички факултет Универзитета у Бањој Луци

³ Завод за патологију Клиничко болничког центра Бања Лука

Abstract

VUJČIĆ, Slobodanka, Smiljana PARAŠ, R. GAJANIN, Ž. ERIĆ : STATUS STEROID RECEPTORS EXPRESSION AND HER 2 PROTEIN IN BREAST CANCER. [Faculty of Ecology, University of Business Studies Banja Luka, Clinical Hospital Centre, Department of Pathology, Banja Luka, Faculty of Natural Sciences and Mathematics of Banja Luka University]

Based on the results immunohistochemical analysis for tumor samples in a breast tissue can be concluded breast cancer rarely occurs before the 25th age. He usually around and after menopause, or in age from 50 to 75 year of life. In the examined sample of 232 patients were determined ER in 120 cases (51.72%) and PR in 81 cases (34.91%). Their presence points to the greater success of hormonal therapy and better prognosis. Negative HER 2 protein expression was determined at 154 patients (66.37%), while the positive value had patients 46 (19.82%). Relation analysis of steroid receptors and HER 2 protein was determined that 21% patient has a positive concordant receptor status and negative expression of the protein HER 2.

Key words: steroid receptors, hormones, HER 2 protein, malignant tumors

Сажетак

На основу резултата добијених имунохистохемијском анализом узорака туморског ткива дојки потврђено је да рак дојке ријетко настаје прије 25. године живота. Најчешће се јавља око и након менопаузе, односно у старосној доби од 50. до 75. године живота. У испитиваном узорку од 232 пацијентке утврђени су естрогени рецептори (ЕР) у 120 случајева (51.72%) и прогестеронски рецептори (ПР) у 81 случај (34.91%). Њихово присуство указује и на успјех хормонске терапије и бољу прогнозу. Негативна експресија протеина HER 2 је утврђена код 154 пацијентке (66.37%), док је позитивну вриједност имало 46 (19.82%). Анализом односа стероидних рецептора и HER 2 протеина утврђено је да 21% пацијентке има позитивно конкордантан статус рецептора и негативну експресију протеина HER 2. Овај проценат представља туморе који су мањи и добро диференцирани а то индицира на повољнију прогнозу за исход болести.

Кључне ријечи: стероидни рецептори, хормони, HER 2 протеини, малигни тумори

УВОД

Карцином дојке представља једну од најчесталијих болести у жена и у многим земљама је водећи узрок смрти. Према подацима Свјетске здравствене организације у свијету се годишње региструје 1,2 милиона случајева карцинома дојке, при чему од ове

опаке болести годишње умре више од 700 хиљада жена (Дамјанов, Јукић, 2004). Сматра се да је ризик развоја рака дојке у жена 1 према 8, што значи да свака осма жена оболијева од те болести. Откривање болести у раној фази постиже се редовним самопрегледом дојки, редовним прегледом код љекара, ултразвучним прегледом као и мамографијом. Увођењем програма раног откривања карцинома дојке и нових модалитета лијечења знатно би била смањена стопа смртности (Gyton, 1999). Због улоге коју рецептори за естроген (EP) и рецептори за прогестрон (PP), као и HER 2 протеин, имају у хормонски осјетљивом ткиву дојке и ткиву малигнух тумора дојке они се користе као маркери за идентификацију болесница које имају шансу за контролисање тока болести и дуже преживљавање. Из тих разлога одређивање статуса наведених рецептора и HER 2 протеина у ткиву тумора (биохемијским и/или имуноцитохемијским методама) се одавно користе у клиничкој пракси у одређивању терапије и прогнози исхода болести жена обољелих од карцинома дојке (Domagala и сар., 1990; Kommoss и сар., 1994; Dowsett и сар., 2006; Francis и сар., 2007). У овом раду смо одређивали фенотипску експресију стероидних рецептора (EP и PP) и HER 2 протеина у ткиву карцинома дојке, анализирали однос између статуса ових рецептора и старости пацијенткица, те анализирали однос између фенотипске експресије поменутих рецептора и HER 2 протеина да бисмо утврдили да ли постоји њихова међусобна корелација. Проведена истраживања требало би да дају допринос како тачној карактеризацији тумора тако и одређивању адекватне терапије.

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

Сви тумори обухваћени овом анализом у испитиваном узорку од 232 пацијенткиње су инвазивни карциноми женских дојки које су ампутиране у периоду од 2005 - 2007 године на хируршким клиникама КБЦ Бањалука и општинских болница у Приједору, Добоју и Требињу. Старост пацијенткиња је у интервалу од 24 до 81 година, а средња доб 58 год. "Ex tempore" биопсија, која дефинише патохистолошку дијагнозу карцинома, урађена је у заводима за патологију здравствених установа у којим је рађена хируршка интервенција. Ради третмана пацијенткиња и циљно вођење терапије за све узорке карцинома су у лабораторији за имунохистохемију Завода за патологију КБЦ Бањалука одређени статус стероидних рецептора и статус HER2 протеина. Имунохистохемијска анализа је рађена на узорцима туморског ткива које је фиксирано у неутралном пуферованом формалину и укалупљено у парафин по стандардном хистопатолошком протоколу. Са парафинских калупа за сваки узорак тумора резани су исјечци дебљине 4 до 5 микрометара; по 3 исјечка за сваки тумор. На једном исјечку су одређивани рецептори за естрогене, на другом рецептори за прогестерон а на трећем је одређиван ниво експресије (оверекспресија) HER 2 протеина.

За имунохистохемијску детекцију су кориштена специфична моноклонална и поликлонална RTU (ready-to-use) антитијела фирме Дако (Dako Cytomation). Антигена специфичност за HER 2 протеин је доказивана зечијим поликлоналним антитијелима, за EP мишијим моноклоналним антитијелима, клон 1D5, а за PP мишијим моноклоналним антитијелима, клон PgR 636. Визуализација антиген - антитијело депозита је рађена Dakovim EnVision полимером, а бојење депозита Даковим DAB+ хромогеном. Након визуелног прегледа препарата на свјетлосном микроскопу при повећању објектива 20X и 40X специјалиста патолог је извршио бодовање (скорирање) карцинома за статус стероидних рецептора и статус HER 2 протеина. Бодовање је вршено на основу присуства или одсуства специфичног бојења препарата које се представља смеђом бојом и јачином тј. интензитетом обојености ћелијских структура.

По систему бодовања или семиквантитативном приступу процјене, статус стероидних рецептора је исказан као:

- негативан, ако није дошло до имунохистохемијског бојења тј. нема појаве смеђе боје нуклеуса у туморским ћелијама,
- слабо позитиван, ако је обојено мање од 50 туморских једара,
- умјерено позитиван, ако је обојено између 50 и 100 једара и
- јако позитиван, ако је обојено преко 100 једара у 300 прегледаних ћелија у видном пољу микроскопа.

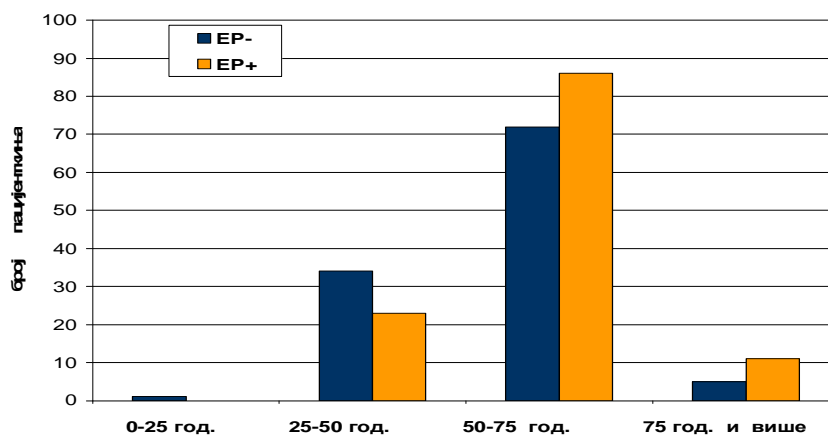
Тест за дијагностиковање HER2 протеина је сматран као:

- негативан, ако није дошло до имунохистохемијског бојења ћелијских мембрана или ако је то бојење примјећено у мање од 10% туморских ћелија (скор: 0 или 1+),
- слабо позитиван, ако је тестирањем обојено слабо и/или умјерено више од 10% туморских ћелија (скор 2+) и
- јако позитиван, ако су се врло интензивно обојиле комплетне мембране више од 50% ћелија (скор 3+)

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

На основу података добијених анализом статуса ER у зависности од старосне доби пацијенткиња може се видјети да се највећи број карцинома јавља у старосној доби од 50 до 75 година, у 158 случајева од укупно 232. У овој групи старосне доби (од 50 до 75 година) проценат ER+ карцинома је нижи (54,43%) у односу на групу пацијенткиња старосне доби преко 75 година (68,75%) гдје је од 16 карцинома њих 11 показало позитиван статус ER, а виши у односу на пацијенткиње старосне доби 25 до 50 година (40,35%), (Слика 1). Заступљеност ER+ тумора у односу на укупан број узорака у свим старосним категоријама је 51,70%.

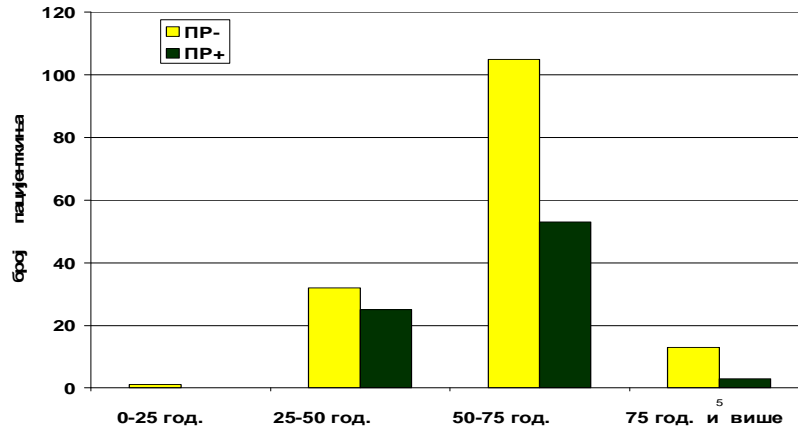
Досадашња истраживања проведена на великом броју инвазивних карцинома дојке су показала да су ER позитивни у 50-75% случајева (Nadjji и сар., 2005, Diaz и Sneige, 2005). У лабораторији Завода за општу патолошку физиологију КБЦ у Загребу Ромић-Стојковић (1981) је утврдила заступљеност ER+ тумора у 52,00 % случајева што се подудара са резултатима добијеним у нашим истраживањима.



Слика 1. Приказ статуса ER+ и ER- у зависности од старосне доби пацијенткиња

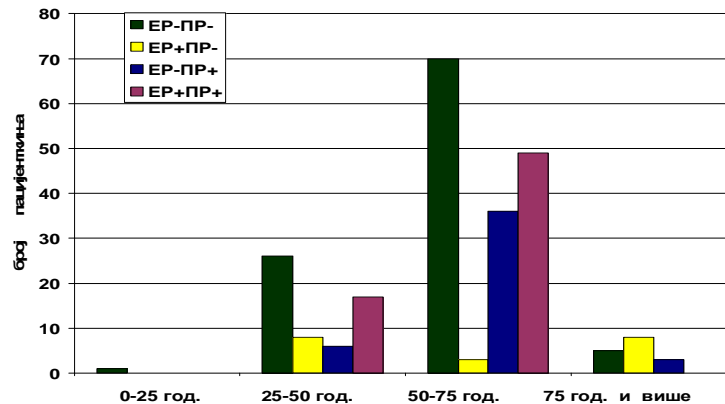
Анализом статуса PR у зависности од старосне доби пацијенткиња такође може се видјети да је највећи број карцинома у старосној доби од 50 до 75 година. У овој групи позитивни PR су присутни код 33,54% пацијенткиња што је за око два пута више у односу на пацијенткиње старосне доби преко 75 година (18,75%), а ниже у односу на пацијенткиње старосне доби од 25 до 50 година (43,85%), (Слика 2). Заступљеност PR+ тумора у односу на укупан број узорака у свим старосним категоријама је 34,92%. Ови се проценти као и преходни слажу са резултатима добијеним у лабораторији Завода за

општу патолошку физиологију КБЦ у Загребу. У овој лабораторији утврђена је заступљеност ПР+ тумора, у односу на укупан број узорака у свим старосним категоријама, са 34,48% (Ромић-Стојковић, 1981).



Слика 2. Приказ статуса ПР+ и ПР- у зависности од старосне доби пацијенткиња

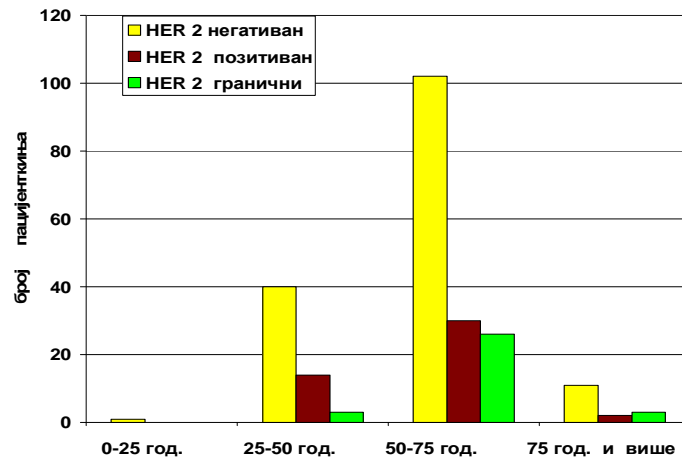
На слици 3 се види да се у старосној доби од 50 до 75 година налази највећи број карцинома. У истој групи налази се и највећи број карцинома са позитивно конкордантним статусом ЕР/ПР (21.12%) и негативно конкордантним статусом ЕР/ПР (30.17%). Клиничка опажања указују на позитивну корелацију између успеха хормонске терапије и концентрације рецептора (Гамулин, 1975, Ракић и сар., 1999, Икић и сар., 1989, Balleine и сар., 1999, Dowsett и сар., 2006).



Слика 3. Дистрибуција конкордантног статуса ЕР и ПР у анализираној групи карцинома

У групи с високом концентрацијом ЕР+ и ПР+ и позитивно конкордантним рецепторским статусом (ЕР+ПР+), успех хормонске терапије, која се укључује након урађене хирургије, патологије и имуноцитохемије достиже 80% пацијенткиња, док у групи ЕР-ПР- износи 10%. Запажено је да се већи успјех хормонским терапијама постиже у случајевима ЕР-ПР+ тумора (40%) него у ЕР+ПР- тумора.

На основу података о експресији HER 2 протеина у ткиву карцинома дојке може се видјети да је позитивну вриједност HER 2 протеина имало 46 пацијенткиња (19,82%) а негативни у 154 (66,39%), (Слика 4), што је у складу са подацима Свјетске здравствене организације који говоре да је HER 2 амплификован код 15 до 20% инвазивних карцинома (Гамулин, 1981, Ракић и сар., 1997). Клиничка посматрања су показала да HER 2 позитивни тумори расту брже и раније метастазирају од HER 2 негативних тумора.



Слика 4. Експресија HER 2 протеина у анализираној групи карцинома у зависности од старости пацијенткиња

На основу сумарне анализе статуса стероидних рецептора и експресије HER 2 протеина може се видјети да се у анализираном узорку налази 21% карцинома са позитивним статусом ЕР/ПР и негативним статусом HER 2 протеина и 14% карцинома са негативним статусом ЕР/ПР и позитивним статусом HER 2 протеина, што показује да су рецептори и HER 2 код већине пацијенткиња у обрнутој корелацији. Запажено је да су тумори код којих је утврђен позитиван статус стероидних рецептора, а негативан HER 2 мањи и добро диференцирани, те се хируршки могу успјешно одстранити.

ЗАКЉУЧЦИ

На основу резултата проведених истраживања може се закључити слиједеће:

- Карцином дојке код жена може се јавити у било којој животној доби, али је најчешћи од 50-те до 75-те године живота.
- Учесталост појединих рецепторских фенотипова у рецептор позитивним карциномима зависи од старосне доби жене.
- Сходно статусу стероидних рецептора и HER 2 протеина може се предвидјети успјех хормоналне терапије.
- HER 2 позитивни тумори расту брже и раније метастазирају од HER 2 негативних тумора.
- Рано откривање карцинома дојке и адекватно лијечење обољелих је могуће обавити у КБЦ Бања Лука на задовољавајућем нивоу.

ЛИТЕРАТУРА

1. Balleine, R. L., S. M. N. Hunt, C. L. Clarke (1999): Coexpression of alternatively spliced estrogen and progesterone receptor transcript in human breast cancer. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 84 (4): 1370-1377.
2. Дамјанов, И., С. Јукић (2004): Специјална патологија. Медицинска наклада, Загреб.
3. Diaz, L. K., N. Sneige (2005): Estrogen receptor analysis for breast cancer, current issue and keys increasing testing accuracy. *Adv. Anat. Pathol.* 12: 10-19.
4. Domagala, W., J. Lasota, J. Bartkowiak, K. Weber, M. Osborn (1990): Vimentin is preferentially expressed in human breast carcinomas with low estrogen receptor and high Ki-67 growth fraction. *Am. J. Pathol.* 136 (1):219-227.

5. Dowsett, M., J. Houghton, C. Iden, J. Salter, J. Farndon, R. A'hern, R. Saainsbury, M. Baum (2006): Benefit from adjuvant tamoxifen therapy in primary breast cancer patients according estrogen receptor, progesterone receptor, EGF receptor and HER 2 status. *Ann. Onc.* 17 (5): 818-826.
6. Гамулин, С. (1975): Молекуларни механизми дјеловања стероидних хормона. Клиничке импликације. Медицински факултет, Загреб, 97:679-682.
7. Гамулин, С. (1981): Механизми хормонске овисности рака дојке и избор системске терапије. *Libri oncol.*, 10/2-3:159-162, Загреб.
8. Guyton, A. C. (1999): Медицинска физиологија. Савремена администрација, Београд.
9. Francis, G. D., M. Dimech, L. Giles, A. Hopkins (2007): Frequency and reliability of estrogen receptor, progesterone receptor and HER 2 in breast carcinoma determined by immunohistochemistry. *J. Clin. Pathol.* 60 (11): 1277-1283.
10. Икић, Д., К. Павелић, Р. Спавенти (1989): Онкогени фактори раста. Глобус, Загреб.
11. Kommos, F., J. Pfisterer, T. Idris, E. Giese, W. Sauerbrei, W. Schafer, M. Thome, A. Pflaiderer (1994): Steroid receptors in carcinoma of the breast. *Anal Quant. Cytolol. Histol.* 16 (3): 203-210.
12. Nadji, M., C. Gomez-Fernandez, P. Ganjei-Azar, A. R. Morales (2005): Immunohistochemistry of estrogen and progesterone receptors reconsired. Experience with 5993 breast cancer. *Am. J. Clin. Pathol.* 123: 21-27 .
13. Ракић, Љ., Н. Рибарац-Степић, Д. Симић (1997): Molecular mechanisms of cell function. Научна књига, Београд .
14. Ромић-Стојковић, Р. (1981): Стероидни рецептори у раку дојке. *Libri Oncol.*, 10/2-3:313-316. Загреб.

Примљено: 29. 12. 2010.

Одобрено: 12. 07. 2011.