О.М. Сулаєва, д. мед. н., професор, лікар-патологоанатом, медичний директор Медичної лабораторії CSD, м. Київ

Рак молочної залози: гістологія та молекулярна патологія

Рак молочної залози (РМЗ) – один із найпоширеніших типів раку у жінок, який утворюється з клітин молочної залози. Є також випадки виникнення цієї патології і у чоловіків. В основі розвитку захворювання лежить пухлинна трансформація епітеліальних клітин молочної залози на тлі різних варіантів генетичних порушень, що призводить до неконтрольованого поділу клітин. Згодом пухлинні клітини набувають здатності до інвазії (активного поширення тканинами та судинною стінкою) і можуть метастазувати в лімфатичні вузли або інші частини тіла.

РМЗ найчастіше розвивається у протоках (інвазивна протокова карцинома). Крім того, пухлинний ріст можливий і у залозистих структурах, які називають часточками (інвазивна часточкова карцинома), а також інших тканинах молочної залози.

Чому патогістологічне дослідження є обов'язковим елементом обстеження перед визначенням тактики лікування пацієнтів з РМЗ?

Не всі види раку молочної залози лікуються однаково. На основі результатів патоморфологічного й імуногістохімічного досліджень лікар-онколог разом з пацієнтом обирають оптимальний і прийнятний варіант лікування.

Патоморфологічне дослідження дозволяє:

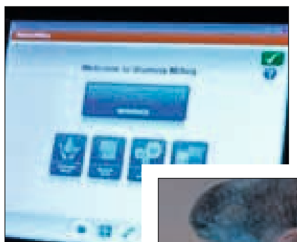
1) підтвердити наявність карциноми;
2) визначити гістологічний тип карциноми, рівень диференціювання та прогностичні показники. Ця інформація важлива, оскільки при пухлинах різних гістологічних типів і рівнів диференціювання прогноз і методи лікування різні;
3) провести імуногістохімічне дослідження для встановлення молекулярного підтипу РМЗ та індивідуалізації лікування.

При патогістологічному дослідженні операційного матеріалу також важливо:

- визначити наявність пухлинних клітин у краях резекції;
- виявити наявність метастатичного ураження при дослідженні лімфатичних вузлів;
- оцінити стадію пухлинного процесу.

Навіщо проводити імуногістохімічне дослідження?

РМЗ – гетерогенне захворювання. Вивчення геноміки РМЗ дозволило виявити його внутрішні молекулярні підтипи. Їх клінічна валідація та підбір надійних імуногістохімічних маркерів, що відображають специфіку генетичних порушень і біологічні аспекти пухлинного росту, дозволили впровадити в клінічну практику надійний та інформативний інструмент для визначення основних молекулярних підтипів на основі імуногістохімічного дослідження.



Імуногістохімічне дослідження слід проводити в **усіх** пацієнтів з підтвердженим діагнозом інвазивної карциноми молочної залози. Дослідження виконує виключно лікар-патолог, воно включає оцінювання 4 маркерів:

- рецептори естрогенів (ER);
- рецептори прогестерону (PgR);
- рецептори епідермального фактора росту (HER2);
- маркер проліферації (поділу) клітин (Ki-67).

Рецептори гормонів (ER і PgR). Якщо при імуногістохімічному дослідженні виявляють більше 1% клітин, що експресують ER і PgR, такий варіант раку вважають гормон-рецепторпозитивним (HR-позитивним). HR-позитивний рак чутливий до ендокринної терапії. Карциному з експресією ER 1-10% класифікують як слабкопозитивну, при ній потрібне більш ретельне спостереження, оскільки її перебіг може нагадувати як HR-позитивний, так і HR-негативний рак.

Якщо клітини РМЗ не експресують ER та/або PgR, такий рак називають HR-негативним. Прогноз при ньому гірший.

HER2 – рецептор епідермального фактора росту, який стимулює поділ клітин. Тобто збільшення кількості таких рецепторів змушує клітини рости і ділитися швидше. Нормальні клітини молочної залози мають дві копії гена *HER2.* При РМЗ в геномі пухлинних клітин можуть утворюватися численні копії цього гена (ампліфікація гена), це призводить до зростання кількості HER2 на мембрані клітини та посилення сигналізації, що стимулює поділ.

Для оцінювання експресії HER2 використовують:

- імуногістохімічне дослідження – дозволяє виявляти рецептори на поверхні пухлинних клітин за щільністю й інтенсивністю забарвлення. Якщо оцінка за параметрами цього методу становить 3+, рак вважається HER2-позитивним. Якщо показник дорівнює 0 або 1+, рак вважається негативним. Результат 2+ вважається сумнівним і потребує верифікації методом флуоресцентної гібридизації *in situ*;
- флуоресцентну гібридизацію *in situ* – дає змогу підрахувати кількість копій гена *HER2,* її використовують при сумнівних (2+) результатах імуногістохімічного дослідження.

Які молекулярні підтипи РМЗ виділяють сьогодні?

Експресія ER, PgR, HER2 і Ki-67 корелює із внутрішніми молекулярними підтипами РМЗ, які обґрунтовують різні варіанти перебігу хвороби, а відповідно потребують різних стратегій лікування.

На сьогодні виділяють п'ять основних молекулярних підтипів РМЗ (табл.), що відрізняються за експресією маркерів, біологічною поведінкою пухлини, прогнозом (імовірність рецидиву, безрецидивна та загальна виживаність) і підходами до лікування.

Навіщо проводити генетичне тестування при РМЗ?

Хоча молекулярна класифікація РМЗ допомагає у визначенні вектора лікування, насправді навіть у межах кожного молекулярного підтипу є варіації, оскільки рак – гетерогенне захворювання. Кожна пухлина є унікальною за генетичними альтераціями, відносинами з імунною системою організму пацієнта. Саме завдяки вивченню генетичного різноманіття раку та геномних сигнатур стало можливим впровадження різних варіантів таргетної та імунотерапії. Слід також зауважити, що пухлинні клітини змінюються (еволюціонують) з часом, у тому числі й під впливом лікування. Тому оцінювання генетики та геноміки РМЗ надає знання, що можуть допомогти у визначенні оптимального варіанта ведення пацієнтів.

Генетичне тестування дозволяє отримати відповіді на такі запитання:

1. Чи є людина носієм спадкових мутацій? Відповідь на це запитання дасть змогу оцінити персональні ризики для пацієнтів з обтяженим сімейним анамнезом і розробити превентивні дії (персоналізований скринінг, спрямований на ранню діагностику).

2. Якщо рак вже діагностовано, чи є він спадковим? Знання цього факту дозволить оцінити прогноз, прогнозувати чутливість до певних видів терапії, а також з'ясувати доцільність генетичного тестування у родичів.

3. Які генетичні зміни притаманні пухлині? Виявлення патогенних та умовно-патогенних мутацій є передумовою оцінювання ризиків і персоналізації лікування.

4. Наскільки ефективним є лікування? Чи є ознаки рецидиву або прогресування раку? Використання рідинної біопсії дозволить виявити молекулярні ознаки «повернення» раку задовго до появи клінічних симптомів.

Чи це означає, що всім пацієнтам з РМЗ потрібно проводити генетичне тестування?

Ні. Визначиться щодо доцільності генетичного тестування й оптимально підібрати варіант дослідження допоможе медичний генетик під час консультації.

Які діагностичні рішення пропонує Медична лабораторія CSD для персоналізації лікування пацієнтів з діагностованим РМЗ?

Рішення для гормоночутливого РМЗ (люмінальний тип А і В)

При ранніх стадіях HR-позитивного РМЗ (ER+, PgR+, HER2/neu-) у міжнародних настановах (Національної онкологічної мережі США, Американського та Європейського товариств клінічної онкології) рекомендоване проведення 21-генного тестування – **Oncotype DX**. Метод ґрунтується на оцінюванні експресії 16 пухлиноасоційованих і 5 референтних генів і має прогностичне та предиктивне значення. **Oncotype DX** показаний пацієнтам з **уперше виявленим** гормонопозитивним (ER+) Her2-негативним РМЗ на **ранній стадії (I, II, IIIA)** без або з метастазами в 1-3 регіонарних лімфатичних вузлах.

Результат тесту **Oncotype DX** надається у балах за шкалою від 0 до 100 (Recurrence Score). Кількість балів відображає індивідуальні біологічні особливості пухлини – чим вона більша, тим вища ймовірність віддаленого рецидиву та значно більшою є користь для пацієнта від застосування хіміотерапії.

Рішення для тричі негативного РМЗ

1. Тестування щодо мутацій *BRCA1/2* або мутацій у генах системи репарації ДНК шляхом гомологічної рекомбінації (HRR).

Майже у 70-80% випадків спадковий РМЗ, асоційований із мутаціями в гені *BRCA1*, є тричі-негативним. І близько 15% пацієнтів з тричі негативним РМЗ є носіями спадкових мутацій *BRCA1/2.* Окрім *BRCA*, доцільною є також оцінка інших генів

Таблиця. **Молекулярні підтипи РМЗ**

Внутрішній підтип	Клініко-патологічне (сурогатне) визначення
Люмінальний А	**Люмінальний А** ER- та PgR-позитивний, HER2-негативний Рівень Ki-67 низький (до 20%) Ризик рецидиву низький Пухлина чутлива до ендокринної терапії Вибір лікування залежить від стадії захворювання
Люмінальний В	**Люмінальний В HER2-негативний** ER-позитивний, HER2-негативний та є принаймні одна з таких ознак: • рівень Ki-67 високий (20% і вище) • експресія PR відсутня або низька • ризик рецидиву вищий При ранніх стадіях рішення щодо включення в схему лікування хіміотерапії ґрунтується на результатах **21-генного тесту (Oncotype Dx)**
	Люмінальний В HER2-позитивний ER-позитивний, надлишкова експресія або ампліфікація HER2, будь-який рівень Ki-67, будь який рівень PR
З надлишковою експресією Erb-B2	**HER2-позитивний** Надлишкова експресія або ампліфікація HER2 ER та PgR відсутні, будь який рівень Ki-67 Пухлина чутлива до анти-HER2 таргетної терапії
Тричі негативний	**Тричі негативний** Експресія ER та PgR відсутня, HER2-негативний, будь-який рівень Ki-67 Для виключення спадкового раку рекомендоване тестування щодо **мутацій *BRCA1/2* методом секвенування нового покоління (NGS)**

системи репарації ДНК шляхом HRR, оскільки мутації в цих генах можуть бути первинними факторами спадкового РМЗ або спричиняти епігенетичне пригнічення *BRCA1/2.* Виявлення мутацій у генах *BRCA1/2* або інших генах системи HRR є предиктором чутливості до PARP-інгібіторів і препаратів платини.

2. Тестування щодо експресії PD-L1.

Ліганд білка програмованої клітинної смерті 1 (PD-L1) – це білок, залучений до механізмів імунної толерантності. Його експресія на пухлинних клітинах визначає «статус недоторканості» з боку імунної системи, коли імунні клітини не розпізнають і відповідно ігнорують ракові клітини. Наслідком цього є пригнічення протипухлинної імунної відповіді. Така стратегія уникнення імунної відповіді характерна для тричі негативного РМЗ. Отже, у разі експресії раковими клітинами PD-L1 для подолання механізмів недоторканості від імунної системи може бути розглянутий варіант додавання до схеми лікування імунотерапії. Це дозволяє активувати імунну систему пацієнта та посилити боротьбу з раком.

3. Оцінка мікросателітної нестабільності (MMR/MSI).

В окремих випадках (у середньому 1,5%) при РМЗ з вираженою інфільтрацією лімфоцитами може спостерігатися дефіцит репарації помилок комплементарності ДНК (MMR). Розлад механізму MMR внаслідок епігенетичного пригнічення, соматичних мутацій та інших факторів порушує репарацію ДНК і призводить до накопичення помилок (мутацій) з утворенням неоантигенів. Дефіцит MMR (мікросателітної нестабільності) є одним із факторів, що можуть визначити чутливість пухлини до імунотерапії.

Молекулярне профілювання – рішення для поширених форм РМЗ

Пухлинний ріст супроводжується зростанням кількості та розширенням спектра мутацій у ракових клітинах, що впливає на ступінь їх атипії та посилення агресивної поведінки пухлини. Отже, у разі локально поширеного та метастатичного РМЗ для персоналізації лікування доцільним є проведення молекулярного профілювання пухлини методом NGS за допомогою мультигенних панелей. З цією метою можливе використання таких варіантів молекулярно-генетичних досліджень:

- **мультигенна NGS-панель MyAction True Sight Oncology500 на платформі Illumina** – комплексна панель на основі секвенування ДНК та РНК, визначає всі варіанти генетичних порушень в 500 клінічно значущих генах. Це дозволяє виявити молекулярні мішені для таргетного лікування та/або розглянути варіанти включення до клінічних досліджень. Цей вид тестування також дає змогу отримати інформацію про MMR/MSI та мутаційне навантаження пухлини (TMB) – біомаркери, важливі для визначення доцільності призначення імунотерапії;
- **Foundation Dx для солідних пухлин** – комплексне геномне секвенування від компанії Roche, затверджене Управлінням з контролю якості харчових продуктів і лікарських препаратів США, що дозволяє оцінити генетичні альтерації у 324 генах, а також визначити геномні сигнатури мікросателітної нестабільності та мутаційне навантаження пухлини й експресію PD-L1. Отримані результати дають змогу визначити молекулярні мішені та персоналізувати лікування хворих на РМЗ для поліпшення прогнозу та результату.

Вчасна і точна діагностика є запорукою ефективного лікування та підвищує шанси пацієнтів на одужання та тривалу ремісію.