

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

М.П. Кириллина, К.С. Лоскутова, Е.Л. Лушникова,
Л.М. Непомнящих

ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ КЛЕТОК МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПРИ ОПУХОЛЕВОМ РОСТЕ В УСЛОВИЯХ РЕСПУБЛИКИ САХА (ЯКУТИЯ)

УДК 618.19-006.6-091.8(571.56)

Проведен анализ результатов гистологического исследования операционного материала рака молочной железы от 294 женщин с последующим иммуногистохимическим (ИГХ) определением эстроген (ER)- и прогестерон (PgR)-рецепторов, пролиферативной активности (Ki-67), экспрессии мутантного гена-супрессора (p53) и гена-ингибитора апоптоза (bcl-2). Полученные данные свидетельствуют, что ИГХ-исследование маркеров опухолевой прогрессии является определяющим звеном в прогнозе течения, оптимизации терапевтических подходов с индивидуализацией химио-, гормональной и лучевой терапии у больных раком молочной железы, решении вопроса о медикаментозном и/или хирургическом выключении функции яичников, основанных на результатах исследования маркеров биологической активности опухоли.

Ключевые слова: молочная железа, рак, иммуногистохимия.

The analysis of results of histological research of operational materials from 294 women with the breast cancer with the subsequent immunohistochemistry (IHC) definition of estrogen (ER) – and progesterone (PgR) – receptors, proliferative activity (Ki-67) expression of mutation suppressor gene (p53) and gene-inhibitor of apoptosis (bcl-2) was carried out. The obtained data testify that IHC-research of the tumor progression markers is a defining part in the forecast of course, optimization of therapeutic approaches with an individualization of chemo-, hormonal and beam therapy of mammary cancer, the decision of a question of medicamentous and/or surgical shutdown of the ovaries, based on the research results of the biological activity markers of the tumor.

Keywords: breast, cancer, immunohistochemistry.

Актуальность. В настоящее время одной из актуальнейших проблем не только онкологии, но и здравоохранения в целом является профилактика рака молочной железы (РМЖ), что обусловлено быстрым, неуклонным и повсеместным ростом заболеваемости данной формой рака, вышедшей на первое место в структуре заболеваемости женщин злокачественными новообразованиями [1].

Иммуногистохимия (ИГХ) – метод выявления точной локализации того или иного клеточного или тканевого антигена, позволяющий проводить иммунологический анализ срезов тканей в условиях сохранения морфологии клеток. При этом к наиболее важным биологическим характеристикам опухолей, имеющим значение в прогнозе болезни, относят пролиферативную активность (ПА) (по антигену Ki-67)

опухолевых клеток, уровень их дифференцировки, гормонально-рецепторный статус, интенсивность апоптоза (по маркерам bcl-2 и p53), которые определяются с помощью ИГХ-методов [2].

Несмотря на широкое внедрение иммуногистохимических методик в диагностику онкозаболеваний, следует отметить, что в данной области все еще происходит накопление знаний об изменении экспрессии тех или иных маркеров пролиферации, дифференцировки и гибели клеток. В большинстве исследований оценивается экспрессия ограниченного числа маркеров, что не позволяет выделить наиболее информативные предикторы усиления малигнизации. Важно также отметить необходимость проведения диагностических исследований с учетом этнической принадлежности, поскольку для многих видов злокачественных опухолей, в том числе и для рака молочной железы, установлена существенная роль этнических и генетических факторов [3].

Цель исследования – изучить особенности экспрессии молекулярно-биологических маркеров при раке молочной железы в зависимости от возраста и этнической принадлежности на примере Республики Саха (Якутия).

Материалы и методы исследования. Исследован операционный материал от 294 женщин, которым были проведены оперативное лечение

и/или пункционные биопсии в Якутском республиканском онкологическом диспансере и 2-м в хирургическом отделении Клинического центра ГБУ РС(Я) «Республиканская больница №1-Национальный центр медицины». В проводимом исследовании коренными жителями считали якутов, эвенов и эвенок, некоренными – всех лиц других национальностей, в различные сроки прибывших из регионов России и стран СНГ. По этнической принадлежности женщин коренных национальностей было 118 (40,1%), некоренных – 176 (59,9%). Все исследования проведены с одобрения Локального комитета по биомедицинской этике ФГБУ «Якутский научный центр комплексных медицинских проблем» СО РАМН.

Гистологическая обработка материала проводилась по общепринятым методикам. Иммуногистохимическое исследование проводили на серийных парафиновых срезах. После демаскировки антигенных детерминант окрашивание проводили непрямым иммунопероксидазным методом. Срезы инкубировали 40–60 мин с первичными моноклональными антителами к антигенам эстрогена (ER), прогестерона (PgR), Ki-67, p53, bcl-2 (использованы RTU-ER-6F11, RTU-PGR-312, RTU-Ki-67-MM1, RTU-p53-DO7, RTU-bcl-2/100/D5, «Novocastra», Великобритания). Окрашивание выполняли в соответствии с инструкцией фирмы-производителя.

При оценке результатов исследова-

КИРИЛЛИНА Мария Петровна – к.б.н., зав. лаб. Медицинского института СВФУ им. М.К. Аммосова, м.н.с. ЯНЦ КМП СО РАМН, kirillinamp@mail.ru; **ЛОСКУТОВА Ксения Саввична** – к.м.н., зав. лаб. ЯНЦ КМП СО РАМН, врач патологоанатом высшей категории, зав. ПАО РБ №1-НЦМ, гл.внестат. патологоанатом МЗ РС(Я); **ЛУШНИКОВА Елена Леонидовна** – д.б.н., проф., акад. РАЕН, зав. лаб. НИИ региональной патологии и патоморфологии СО РАМН, г. Новосибирск; **НЕПОМНЯЩИХ Лев Моисеевич** – д.м.н., член-кор. РАМН, проф., директор НИИ региональной патологии и патоморфологии СО РАМН, г. Новосибирск.

ния для ER и PgR проводили определение доли окрашенных клеток в баллах [4,5]: 0 – полное отсутствие ядерного окрашивания, 1 – окрашивание до 10% клеток в исследуемом препарате, 2 – до 1/3 клеток, 3 – от 1/3 до 1/2 клеток, 4 – от 1/2 до 2/3 клеток, 5 – от 2/3 до 100% клеток с ядерным окрашиванием. Определение интенсивности экспрессии антител также выполняли в баллах: 0 – полное отсутствие экспрессии в ядрах клеток опухоли, 1 – слабое ядерное окрашивание, 2 – умеренное, 3 – сильное. При получении суммарного результата, который был меньше или равен 2, реакция считалась негативной (-), 3 и более – позитивной (+).

Индекс Ki-67-положительных клеток (пролиферативную активность – ПА) определяли при анализе не менее 100 ядер по формуле:

$$ПА = ((\text{число Ki-67 положительных клеток}) \times 100) / \text{общее количество клеток}.$$

Низкая ПА соответствовала индексу Ki-67 менее или равному 15%, высокая ПА – индексу Ki-67 более 15%.

Низкая экспрессия p53 регистрировалась при наличии экспрессии в менее чем 25% клеток, высокая экспрессия p53 – при её наличии в более чем 25% ядер опухолевых клеток (ядерное окрашивание).

Низкая экспрессия bcl-2 так же регистрировалась при её наличии в менее чем 25%, высокая экспрессия – в более чем 25% опухолевых клеток (цитоплазматическое окрашивание).

Статистический анализ данных проводили с помощью статистического пакета SPSS STATISTICS 17.0 (SPSS Inc.).

Результаты и обсуждение. Средний возраст прооперированных женщин составил 54,2±12,1 года, большую часть составили женщины старше 50 лет – 96 чел. (32,6%), 60 – 69 лет – 64 (21,8), 40–49 лет – 60 (20,4), до 39 лет – 37 (12,6), 70 лет и старше – 37 женщин (12,6%) (таблица).

Следует отметить, что РМЖ, который традиционно считался болезнью женщин старше 50 лет, сегодня заметно «помолодел» – нередки случаи заболевания сорока-, тридцати- и даже двадцатилетних женщин [6]. Эта тенденция прослеживается и в нашем исследовании. Так, женщин в возрасте старше 50 лет было в 2 раза больше, чем до 50 лет (197 против 97), причем достоверно чаще наибольшее количество зарегистрировано в возрастной группе 50–59 лет (96 случаев, или 32,6% от общего числа исследо-

Распределение материала по возрасту и этнической принадлежности

Возрастная группа	Коренные жители		Некоренные жители		Всего	
	кол-во абс./отн.	средний возраст	кол-во абс./отн.	средний возраст	кол-во абс./отн.	средний возраст
До 39 лет	15/12,7	33,7±5,3	22/12,5	33,8±3,6	37/12,6	33,7±4,3
40–49 лет	28/23,7	45,3±2,9	32/18,2	45,0±2,8	60/20,4	45,1±2,9
50–59 лет	31/26,3	54,8±2,7	65/37,0	54,1±2,9	96/32,6	54,3±2,9
60–69 лет	25/21,2	63,4±2,6	39/22,1	62,9±3,1	64/21,8	63,1±2,9
Старше 70 лет	19/16,1	74,2±2,9	18/10,2	73,3±3,3	37/12,6	73,8±3,2
Всего	118/100	54,8±12,9	176/100	53,8±11,5	294/100	54,2±12,1

ванных). На втором месте по частоте исследований была возрастная группа 40–49 лет (60/20 или 4%). Также были проведены исследования среди женщин в возрасте до 39 лет (37/12, или 6%) и старше 70 лет (37/12, или 6%). Эти результаты сопоставимы с показателями экономически развитых стран, где до 75% случаев РМЖ приходится на женщин в постменопаузе [7].

Было проведено ИГХ-определение ER и PgR (рис.1, а, б) и выделены 4 группы с различной комбинацией стероидных рецепторов в опухолевых клетках: ER+/PGR- (7,8%), ER-/PGR+ (5,4%), ER-/PGR- (35%), ER+/PGR+ (51,7%).

В совокупности рецептор-положительных опухолевых клеток при РМЖ было достоверно больше, чем рецептор-отрицательных ($p < 0,05$) – 191 случай (64,9%) от общего числа исследований: в возрастной группе до 50 лет – 60 случаев (31,4%), старше 50 лет – 131 (68,6%). Анализ динамики изменения рецепторного статуса РМЖ в зависимости от возраста не выявил статистически достоверных различий ($p = 0,14$), но установлена тенденция к увеличению частоты (доли) рецептор-положительных РМЖ с увеличением возраста (рис.2). Так, в группе до 39 лет они составили 56,7%, а в группе старше 70 лет – 75,6%. При этом в обеих группах преобладал рецептор-положительный профиль РМЖ (соответственно 48,3 и 54% случаев у коренных и некоренных жительниц); рецептор-отрицательный профиль РМЖ встречался реже (соответственно 38,1 и 32,9% случаев).

Установлена связь между возрастом пациенток и экспрессией ER ($p = 0,03$). Если в возрасте до 39 лет средний суммарный балл оценки доли положительных клеток и интенсивности уровня экспрессии ER был равен 3,2, то в последующих воз-

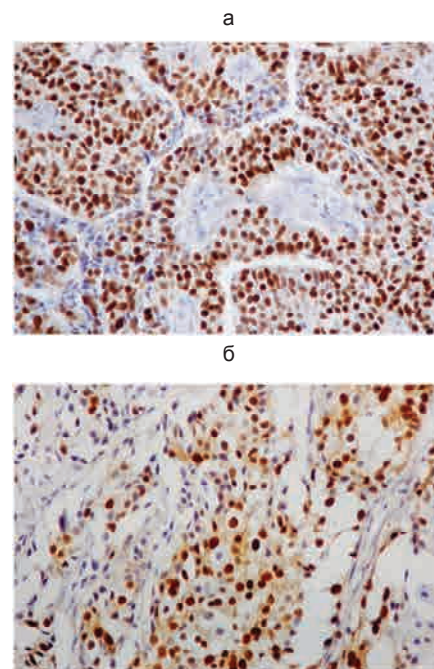


Рис.1. Инфильтративный протоковый рак молочной железы x200. Иммуногистохимическая реакция с моноклональными антителами: а – к ER. Доля окрашенных клеток в баллах = 5 (от 2/3 до 100% клеток с ядерным окрашиванием), интенсивность экспрессии в баллах = 3 (сильное ядерное окрашивание), сумма баллов = 8. Результат: ER-позитивный рак молочной железы; б – к PgR. Доля окрашенных клеток в баллах = 4 (от 1/2 до 2/3 клеток с ядерным окрашиванием), интенсивность экспрессии в баллах = 3 (сильное ядерное окрашивание), сумма баллов = 7. Результат: PgR-позитивный рак молочной железы

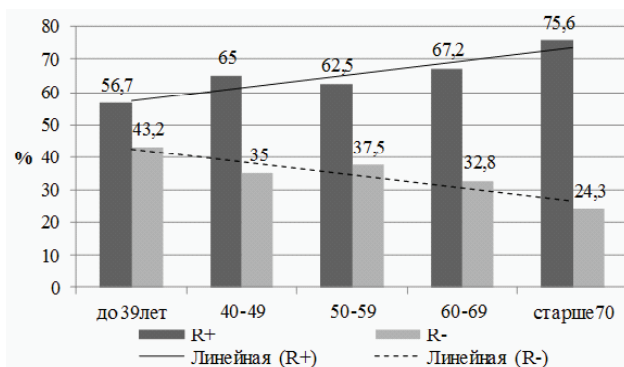


Рис.2. Динамика изменения рецепторного статуса РМЖ в зависимости от возраста

растных группах отмечено неуклонное повышение этих показателей до 3,7 баллов у больных РМЖ старше 70 лет. При оценке изменений уровня экспрессии PgR подобной линейной связи не выявлено ($p=0,54$).

При статистическом анализе данных в соответствии с этнической принадлежностью нами выявлены различия среди женщин коренной и некоренной национальностей. У коренных женщин с возрастом наблюдалась тенденция к незначительному увеличению уровня экспрессии ER, в то время как у женщин некоренных национальностей повышение уровня экспрессии ER было статистически достоверным ($r=0,20$, $p=0,01$). Другие авторы также отмечали различия в содержании гормонов в крови у женщин разных этнических групп в регионах Сибири, в частности более высокий уровень эстрадиола у представительниц коренных народов (тувинок, хакасов, буряток) при меньшей частоте заболеваемости РМЖ [8].

Проведено сопоставление степени злокачественности опухолей с наличием ER и PgR (рис.3).

Полученные данные демонстрируют определенную зависимость гистологической степени злокачественности РМЖ от рецепторного профиля клеток опухоли ($\chi^2=20,40$, $df=6$, $p=0,002$). Так, G1 при рецептор-положительных опухолях регистрировался в 2 раза чаще (40,8% от всех опухолей данной группы), чем при рецептор-отрицательных (21,3%) и только ER-положительных (26,1%) и PgR-положительных опухолях (37,5%). G2 встречался одинаково часто при рецептор-положительных и рецептор-отрицательных РМЖ (48 и 49,5% соответственно), в то время как он составлял подавляющее большинство среди опухолей с только ER-положительным (56,5%) и только PgR-положительным (56,2%) профилем. G3 при том, что он в общей совокупности диагностировался более чем в 2 раза реже остальных степеней, составил 29,1% опухолей с рецептор-отрицательным и 11,2% с рецептор-положительным профилем и был установлен в 17,4% только с ER-положительным и 6,2% случаев с PgR-положительным профилем.

Таким образом, при увеличении степени злокачественности статистически значимо чаще наблюдаются рецептор-отрицательные опухоли ($p<0,05$), а частота рецептор-положительных снижается.

Пролиферативная активность опухолевых клеток молочной железы определялась с помощью универсального

маркера пролиферации Ki-67, который экспрессируется практически во всех фазах митотического цикла и отражает величину пролиферативного пула опухоли [10]. В нашем исследовании в 272 случаях (92,5%) экспрессия Ki-67 была выявлена в менее чем 15% опухолевых клеток (низкая ПА), в более чем 15% опухолевых клеток (высокая ПА) мы наблюдали её у 22 женщин (7,5%) (рис. 4, а, б).

Анализ характера экспрессии Ki-67 в зависимости от возраста показал, что уровень экспрессии антигена Ki-67 не зависел от возраста ($\chi^2=4,1$, $df=4$, $p=0,39$). Высокая ПА опухолевых клеток встречалась как у пациенток пожилого, так и более молодого возраста. В совокупных показателях в группах коренного и некоренного населения с РМЖ статистически значимых корреляций ПА с этнической принадлежностью установлено не было ($\chi^2=1,6$, $df=1$, $p=0,20$). Многочисленные исследования показали, что ПА опухолевых клеток при РМЖ прямо коррелирует с гистологической степенью злокачественности [11,14]. Полученные в нашем исследовании результаты свидетельствуют, что уровень экспрессии антигена Ki-67 статистически значимо различался при разных гистологических вариантах РМЖ ($\chi^2=3,58$, $df=1$, $p=0,05$): наблюдалась тенденция к увеличению гистологической степени злокачественности при увеличении экспрессии Ki-67 (рис.5).

Эти результаты не противоречат данным литературы об антигене Ki-67 как маркере неблагоприятного исхода заболевания [12,13,17]. Важно отметить, что ПА опухолевых клеток служит независимым прогностическим показателем возникновения рецидива, общей и безрецидивной выживаемости [15], а также предсказательным фактором для определения чувствительности к лучевой и химиотерапии [16,18]. Проведенный нами анализ подтвердил зависимость между степенью гистологической злокачествен-

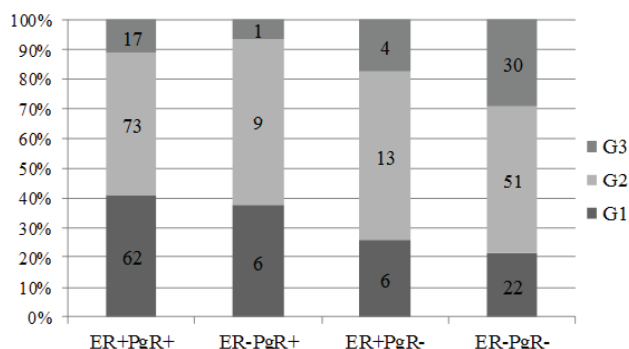


Рис. 3. Распределение степеней злокачественности (по Elston&Ellis) при различном гормональном профиле РМЖ

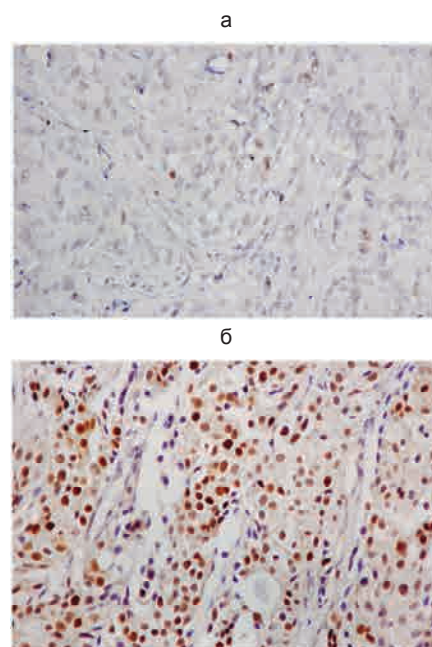


Рис. 4. Инфильтративный протоковый рак молочной железы x200. Иммуногистохимическая реакция с моноклональными антителами к Ki-67. Экспрессия а – 20%, б – 90%

ности и пролиферативной активностью опухолей, что доказывает необходимость учета ПА опухолевых клеток в оценке злокачественного потенциала и прогноза РМЖ.

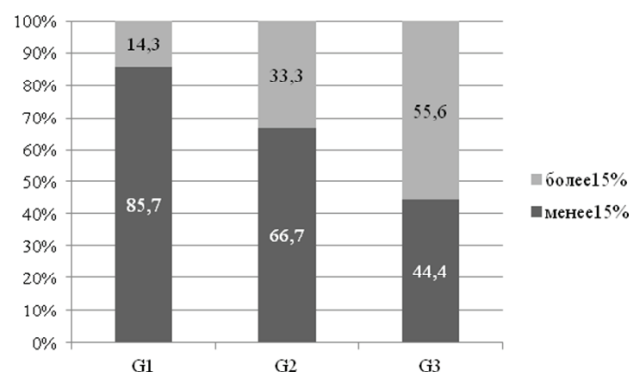


Рис. 5. Зависимость гистологической степени злокачественности от уровня экспрессии Ki-67

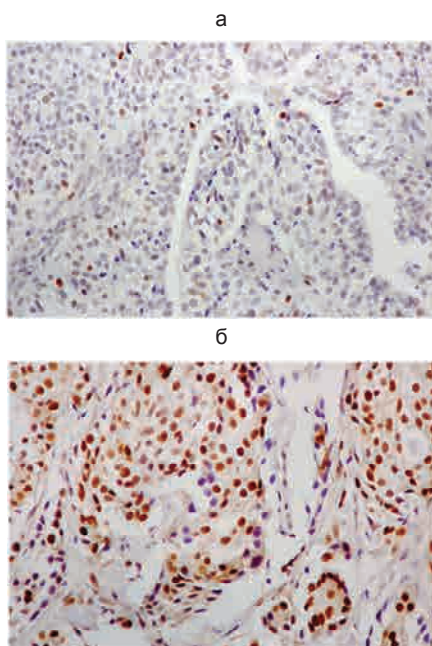


Рис. 6. Инвазивный (а) и инфильтративный протоковый (б) рак молочной железы x200. Иммуногистохимическая реакция с моноклональными антителами к p53. Экспрессия а – 15%, б – 100%

При ИГХ-исследовании мутантного гена-супрессора p53 его низкая экспрессия (в менее чем 25% опухолевых клеток) наблюдалась в 197 (67,0%) случаях, в то время как высокая экспрессия (более 25% опухолевых клеток) – в 97 (33,0%) случаях (рис.6, а, б).

При анализе данного показателя с учетом этнической принадлежности нами установлено, что у коренных женщин существует статистически значимая слабая положительная корреляция ($r=0,21$, $p=0,02$) между возрастом и экспрессией p53. Низкая экспрессия p53 у представительниц коренного населения наблюдалась в возрасте 40 – 49 лет (27,2%), а у некоренных – в возрасте 50 – 59 лет (36,7%). В совокупных показателях в обеих группах статистически значимых возрастных различий не выявлено ($\chi^2=1,8$, $df=4$, $p=0,76$). Установлена положительная зависимость между уровнем экспрессии p53 и увеличением гистологической степени злокачественности опухоли ($\chi^2=7,9$, $df=2$, $p=0,01$), что доказывает необходимость учета выраженности процесса апоптоза клеток в оценке злокачественного потенциала опухоли и прогноза РМЖ (рис.7).

При иммуногистохимическом исследовании экспрессии антиапоптотического гена-супрессора bcl-2 нами выявлена низкая экспрессия bcl-2 в 142 (48,3%), высокая – в 152 случаях (51,7%) (рис.8).

Анализ данных с учетом этнической

принадлежности не выявил различий в частоте встречаемости случаев с низкой и высокой экспрессией bcl-2 ($\chi^2=0,23$, $df=1$, $p=0,64$). Низкая экспрессия bcl-2 у коренных и некоренных женщин наиболее часто регистрировалась в возрасте 50–59 лет (соответственно 33,9 и 36,1%). Высокая экспрессия bcl-2 у коренных наблюдалась чаще в возрасте 60–69 лет (27,1%), у некоренных – в возрасте 50–59 лет (37,6%).

По данным литературы, bcl-2 является опухолевым геном-супрессором, влияющим на механизмы клеточной смерти, подавляя апоптоз [9]. Как считают многие авторы, повышенная экспрессия bcl-2 ассоциируется с увеличением выживаемости пациенток после проведения адъювантной терапии. Возможно, это объясняется тесной связью между экспрессией bcl-2 и экспрессией ER и PgR, а также низкой ПА. Однако bcl-2 не является независимым прогностическим фактором [15]. Нами установлена отрицательная корреляция между экспрессией антигена bcl-2 и степенью гистологической злокачественности опухолей ($r=-12,9$, $p=0,03$), т.е. опухоли с высокой степенью злокачественности характеризовались низкой экспрессией bcl-2, которая характеризует сохранение регуляции апоптоза на уровне нормы (рис.9).

Таким образом, представленные нами данные сравнительного иммуногистохимического исследования некоторых молекулярно-биологических маркеров РМЖ на предмет анализа уровней их экспрессии показали:

- по данным клинко-морфологического анализа, рак молочной железы развивается чаще у представительниц некоренных национальностей Республики Саха (Якутия) (60%, у коренных – 40%). С наибольшей частотой регистрируется у женщин коренных и некоренных национальностей в возрастных группах РМЖ 50–59 (32,6%) и 60–69 лет (21,8%);

- при РМЖ преобладают опухоли с

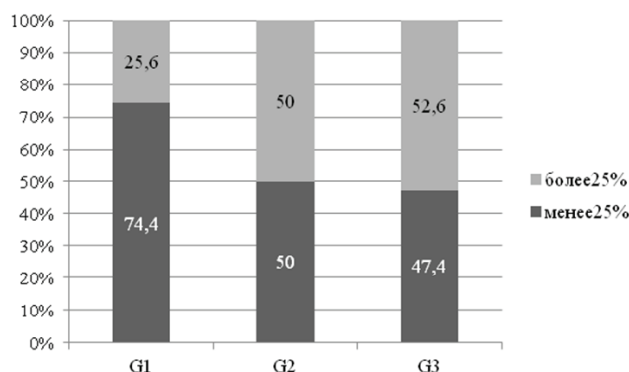


Рис. 7. Зависимость гистологической степени злокачественности от уровня экспрессии p53

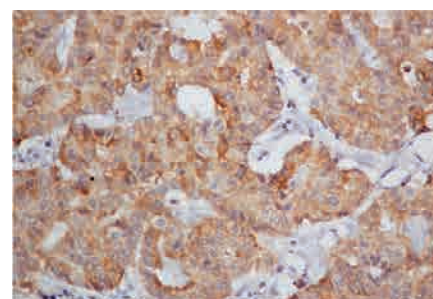


Рис. 8. Инвазивный папиллярный рак молочной железы x200. Иммуногистохимическая реакция с моноклональными антителами к bcl-2. Экспрессия 98%

наличием рецепторов стероидных гормонов (65%);

- с увеличением возраста в опухолевых клетках РМЖ растет уровень экспрессии ER ($p=0,03$);

- опухоли с высокой степенью злокачественности характеризуются низкой экспрессией рецепторов эстрогена и прогестерона ($p<0,05$);

- установлена тенденция увеличения степени злокачественности опухоли при увеличении экспрессии p53 и Ki-67;

- уровень экспрессии антигена bcl-2 и его распространенность положительно коррелируют с наличием рецепто-

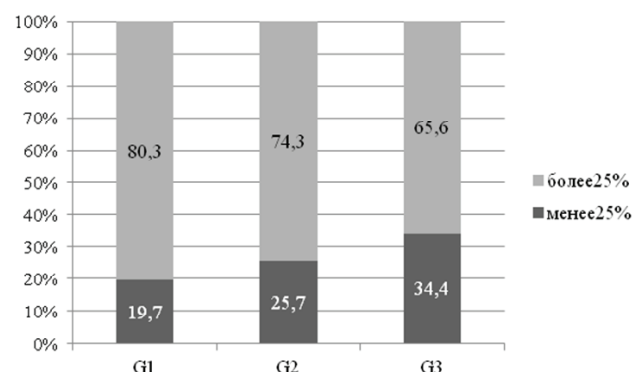


Рис. 9. Зависимость экспрессии bcl-2 от степени злокачественности

ров ER и PgR на опухолевых клетках и низкой степенью злокачественности опухолей;

– наиболее информативными критериями повышения злокачественности опухолей молочной железы являются понижение экспрессии рецепторов эстрогена и прогестерона, повышение экспрессии Ki-67 и p53 и уменьшение экспрессии bcl-2.

Литература

1. Берштейн Л.М. Современная эндокринология гормонзависимых опухолей / Л.М. Берштейн // Вопросы онкологии. – 2002. – Т.48, № 4. – С. 496 – 503.
2. Berstein L.M. Modern endocrinology of hormone-depended tumors / / Problems of Oncology. - 2002. - V.48, № 4. - P. 496 - 503.
3. Лоскутова К.С. Иммуноморфологическая характеристика гормонального статуса первичного рака молочной железы в Республике Саха (Якутия) / К.С. Лоскутова, В.А. Аргунов // Якутский медицинский журнал. – 2009. – № 1. – С. 46 – 49.
4. Loskutova K.S. Immunomorphological characteristics of the hormonal status of primary breast cancer in the Republic of Sakha (Yakutia) / K.S. Loskutova, V.A. Argunov // Yakut Medical Journal. - 2009. - № 1. - P. 46 - 49.
5. Пожарисский К.М. Значение иммуногистохимических методик для определения характера лечения и прогноза опухолевых заболеваний / К.М. Пожарисский, Е.Е. Леенман // Архив патологии. – 2000. – № 5. – С. 3 – 11.
6. Pozharissky K.M. Value of immunohistochemical techniques to determine the nature of the treatment and prognosis of tumor diseases / K.M. Pozharissky, E.E. Leenman // Archives of Pathology. - 2000. - № 5. - P. 3 - 11.
7. Петров С.В. Руководство по иммуногистохимической диагностике опухолей человека. / С.В. Петров, Н.Т. Райхлин. – Казань, 2004. – 452 с.
8. Petrov S.V. Guidelines for immunohistochemical diagnosis of human tumors / S.V. Petrov, N.T. Reichlin - Kazan, 2004. – P. 452
9. Писарева Л.Ф. Эпидемиологические особенности злокачественных новообразований молочной железы в регионе Сибири и Дальнего Востока. / Л.Ф. Писарева, И.Н. Одинцова, А.А. Шивит-оол, А.К. Сиразитдинова. – Томск: Изд-во Том.ун-та, 2006. – 10 с.
10. Pisareva L.F. Epidemiological features of breast cancers in the region of Siberia and the Far East / L.F. Pisareva, I.N. Odintsov, A.A. Shivitool, A.K. Sirazitdinova. - Tomsk Univ. University Press, - 2006. – P. 10.
11. Писарева Л.Ф. Гормональный статус женщин различных национальностей региона Сибири и Дальнего Востока / Л.Ф. Писарева, И.Н. Одинцова, О.А. Ананина // Сибирский онкологический журнал. – 2011. – № 2 (44). – С. 5 – 10.
12. Pisareva L.F. Hormonal status of women of different ethnicities in the region of Siberia and the Far East. / L.F. Pisareva, I.N. Odintsov, O.A. Ananina // Siberian Journal of Oncology. - 2011. - № 2 (44). - P. 5 - 10.
13. Упоров А.В. Иммуногистохимическое изучение клеток рака молочной железы с использованием разных маркеров пролиферации / А.В. Упоров, В.Ф. Семиглазов, К.М. Пожарисский // Архив патологии. – 2000. – №2. – С. 26-30.
14. Anderson W.F. Estrogen receptor breast cancer phenotypes in the Surveillance, Epidemiology, and the Results database / W.F. Anderson, N. Chatterjee, W.B. Ershler // Brawley Breast cancer Res. Treat. – 2002. – Vol. 76. – P. 27-36.
15. Bcl-2 blocks apoptosis in cells lacking mitochondrial DNA / M.D. Jacobson, J.F. Burne, M.P. King [et al.] // Nature. – 1993. – Vol. 361. – P. 365 – 368.
16. Chemotherapy-induced apoptosis and bcl-2 levels correlate with breast cancer response to chemotherapy / T.A. Buchholtz, D.W. David, D.J. McConcey [et al.] // Cancer. – 2003. – Vol. 91/ - P. 33-41.
17. Costarelli L. Hormone-dependence and C-ERBB2: relationship between estrogen receptor expression, estrogen-regulated proteins, and C-ERBB2 in breast carcinoma / L. Costarelli, F.R. Piro, L. Fortunato // Suppl Tumori. - 2005. - Vol. 4. - P. 171.
18. Ferrara N. The role vascular endothelial growth factor in pathological angiogenesis / N. Ferrara // Breast Cancer Res. Treat. - 1995. - Vol. 36, № 36, № 2. - P. 127-137.
19. Hoonkop A.H. Prognostic role of clinical, pathological and biological characteristics in patients with locally advanced breast cancer/ A.H. Hoonkop, P.J. van-Diest // Br. J. Cancer. – 1998. – Vol. 77. – P. 621 – 626.
20. Immunohistochemical biomarkers in patients with early-onset breast carcinoma by tissue microarray / D.H. Choi, S. Kim, D.L. Rimm [et al.] // Cancer J. - 2005. - Vol. 11(5). - P. 404-411.
21. Keshgegian A. Proliferation markers in breast carcinoma: mitotic figure count, S-phase fraction, proliferating cell nuclear antigen, Ki-67 and MIB-1 / A. Keshgegian, A. Cnaan // Am. J. Clin. Pathol. – 1995. – Vol. 104. – P. 42 – 49.
22. Kronqvist P. Predicting aggressive outcome in T1N0 breast cancer / P. Kronqvist, T. Kuopio, M. Nykanen, H. Helenius // Br. J. Cancer. – 2004. – Vol. 91 (2). – P. 277 – 281.
23. MIB 1 determined proliferative activity in intraductal components and prognosis of invasive ductal breast carcinoma / H. Imamura, S. Haga, T. Shimizu [et al.] // Jpn. J. Cancer Res. – 1997. – Vol. 88. – P. 1017 – 1023.
24. No significant predictive value of c-erbB-2 or p53 expression regarding / S. Rozan, A. Vincent-Salomon, B. Zafrani [et al.] // Int. J. Cancer. – 1998. – Vol. 79. – P. 27-33.

Е.П. Борисова, Е.С. Кылбанова

КЛИНИКО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ СОЧЕТАННОГО ТЕЧЕНИЯ ХРОНИЧЕСКОГО БРОНХИТА И ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ С МЕТАБОЛИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ В ЯКУТСКОЙ ЭТНИЧЕСКОЙ ГРУППЕ

УДК 616.223 – 022:616 – 008.9

Изучены особенности клинических проявлений, функции внешнего дыхания у больных с сочетанным течением хронического бронхита и хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) с метаболическим синдромом в якутской этнической группе. В ходе исследования установлено, что при сочетанном течении хронического бронхита и ХОБЛ с метаболическим синдромом для лиц якутской национальности характерны более тяжелые клинические проявления. Показатели функции внешнего дыхания при сочетанном течении указанных заболеваний в якутской этнической группе в сравнении с их изолированным течением статистически значимо не различаются. Однако при сочетанном течении наблюдаются более выраженные нарушения функции внешнего дыхания в виде снижения форсированной жизненной емкости легких (ФЖЕЛ), снижения объема форсированного выдоха за первую секунду (ОФВ1) и повышения отношения ОФВ1/ФЖЕЛ >70 %.

БОРИСОВА Екатерина Петровна – аспирант МИ СВФУ им. М.К. Аммосова, врач терапевт ГБУ РБН2 – Центр экстренной медицинской помощи, borisovaer75@mail.ru;
КЫЛБАНОВА Елена Семеновна – д.м.н., зав. кафедрой МИ СВФУ им. М.К. Аммосова, kyles@list.ru.

Ключевые слова: метаболический синдром, хронический бронхит, хроническая обструктивная болезнь легких, функция внешнего дыхания.

We have studied the clinical manifestations, respiratory function in patients with combined

course of chronic bronchitis and chronic obstructive pulmonary disease (COPD) and metabolic syndrome in Yakut ethnic group. We found more severe clinical manifestations in the combined course of CB/COPD and MS in Yakut ethnic group, in comparison with the group without metabolic syndrome. We also found that in the combined course of the diseases in Yakut ethnic group lung function compared with isolated course were not significantly different. However, in the combined course more pronounced disorders of respiratory function in the form of reduced forced vital capacity (FVC), decline in forced expiratory volume in one second FEV₁, FEV₁/FVC ratio increase > 70% were observed in our research.

Keywords: metabolic syndrome, chronic bronchitis, chronic obstructive pulmonary disease, respiratory function.

Болезни органов дыхания в Республике Саха (Якутия) занимают одно из ведущих мест в структуре заболеваемости и определяют в значительной мере уровень временной утраты трудоспособности, инвалидности и смертности населения.

По данным ВОЗ, хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) является одним из наиболее распространенных заболеваний, ожидается, что она станет третьей ведущей причиной смертности в 2020 г. В течение последнего десятилетия получила признание концепция ХОБЛ как заболевания с системными проявлениями, включающими в себя сердечно-сосудистую патологию, кахексию, мышечную дисфункцию, остеопороз, анемию, клиническую депрессию, метаболические нарушения и эндотелиальную дисфункцию [9].

В настоящее время метаболический синдром (МС) экспертами ВОЗ рассматривается как «пандемия XXI века». Его распространенность среди взрослого населения России, по данным ВНОК 2009 г., составляет 20-40%, и чаще он встречается у лиц среднего и старшего возраста. Показатель распространенности МС, по критериям Международной диабетической федерации, среди аборигенного населения Якутии составляет 8,8% [1].

Однако на сегодняшний день особенностям сочетанного течения хронического бронхита (ХБ) и ХОБЛ с МС в отечественной науке посвящены единичные исследования, а в доступной нам литературе мы не обнаружили данных о сочетании ХБ и ХОБЛ с МС в якутской этнической группе.

Целью исследования явилось изучение клинико-функциональных особенностей сочетанного течения хронического бронхита и хронической обструктивной болезни легких с метаболическим синдромом в якутской этнической группе.

Материалы и методы исследования. Проведено комплексное клинико-функциональное, инструментальное обследование 148 пациентов на базе отделения неотложной терапии Республиканской больницы №2 - Центра экстренной медицинской помощи г. Якутска с 2009 по 2013 г. Всеми паци-

ентами подписано информированное согласие на участие в обследовании. Исследование проведено в рамках научно-исследовательского проекта «Метаболический синдром и хронические неинфекционные заболевания среди жителей Якутии» (Регистрационный номер ЯГУ: 11-01М.2009).

Основную группу составили 88 пациентов якутской национальности с метаболическим синдромом в сочетании с хроническим бронхитом и хронической обструктивной болезнью легких. Средний возраст составил 50,9±0,91 года, женщин было 69,3%, мужчин – 30,7%. Пациентов с диагнозом ХОБЛ было 44,3%, с диагнозом хронический бронхит – 55,7%.

Группу сравнения составили 60 пациентов якутской национальности с хроническим бронхитом и ХОБЛ без метаболического синдрома. Средний возраст (48,9±1,35 года) соответствовал возрасту основной группы, по половому составу женщин было 80%, мужчин – 20, пациентов с диагнозом ХОБЛ – 41,7, с диагнозом хронический бронхит – 58,3%. При проведении статистического анализа установлено, что исследуемые группы достоверно не различались по возрасту, половому составу и соотношению диагнозов ХБ и ХОБЛ. Регулярными курильщиками в соответствующих группах оказались 28,4, и 28,3% из числа обследованных нами пациентов (p=0,644). Анализ индекса курения показал, что значение данного показателя в группе больных с сочетанной патологией выше и составляет 8,89±1,51 пачка-лет, в сравнении с 4,5±1,01 пачка-лет у пациентов с изолированным течением ХБ/ХОБЛ (p=0,003).

Диагнозы хронический бронхит и ХОБЛ устанавливали на основании жалоб, анамнеза заболевания, объективного обследования, данных спирометрии, в соответствии с международными согласительными документами: определение экспертов ВОЗ, «Глобальная стратегия диагностики, лечения и профилактики хронической обструктивной болезни легких» пересмотр 2011 г. (Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease), международная классификация болезней X пересмотра. Метаболический синдром устанавливали

на основании рекомендаций ВНОК от 2009 г.

Опрос пациентов проводился с учетом разработанной анкеты, одобренной этическим комитетом, которая содержала вопросы по блокам: социально-демографическая характеристика, анамнестические данные, исследование наследственности, поведение и здоровье, валидизированный опросник по оценке респираторных симптомов, а также шкалу симптомов больных ХОБЛ (PL Paggiaro), шкалу тяжести одышки Medical Research Council Dyspnea Scale (MRCDS). Спирометрию проводили на аппаратно-программном комплексе для проведения функциональных исследований «Валента» (г. Санкт-Петербург). Рассчитывались следующие постбронходилатационные объемные и скоростные показатели функции внешнего дыхания (ФВД): форсированная жизненная емкость легких (ФЖЕЛ), объем форсированного выдоха за первую секунду (ОФВ1), а также отношение этих двух показателей (ОФВ1/ФЖЕЛ). Статистическую обработку и анализ данных проводили с помощью пакета статистических программ SPSS для Windows. Количественные показатели в группах исследования описывали с помощью средних значений (M) и стандартной ошибкой (m). Проверку законов распределения количественных показателей проводили с помощью критерия Колмогорова-Смирнова. Результаты проверки показали, что распределение многих количественных показателей не подчиняется нормальному закону. Поэтому для сравнительного анализа количественных показателей применяли непараметрический критерий Манна-Уитни. Исследование взаимосвязей качественных признаков проводили с помощью классического критерия Хи-квадрат Пирсона. За пороговый уровень значимости всех использованных статистических критериев принимали значение p < 0,05.

Результаты и обсуждение. С целью изучения особенностей клинических проявлений нозологической синтропии хронического бронхита/хронической обструктивной болезни легких и метаболического синдрома нами были проанализированы клинические данные в основной группе сочетанно-

Таблица 1

Характеристика кашлевого синдрома в изучаемых группах, %

Признак		ХБ/ХОБЛ +МС, якуты n=88	ХБ/ХОБЛ, якуты n=60	P ¹
Кашель в зимнее время		86,4	68,3	0,008
Усиление кашля и мокроты за 3 года		60,2	28,3	0,000
Интенсивность кашля	нет	8,0	23,8	0,003
	легкий	46,6	48,3	NS
	умеренный	37,5	18,3	0,003
	выраженный	8,0	5,0	NS

Примечание. В табл. 1–3 ¹p – достоверность различий критерий хи-квадрат Пирсона.

Таблица 2

Характер отделения мокроты в изучаемых группах, %

Признак		ХБ/ХОБЛ +МС, якуты n=88	ХБ/ХОБЛ, якуты n=60	P ¹
Продукция мокроты	нет	20,5	65,0	0,000
	малая	60,2	30,0	0,000
	умеренная	18,2	5,0	0,000
	большая	1,1	0,0	NS
Цвет мокроты	бесцветная	3,4	21,7	0,001
	бело-серая	60,2	63,3	NS
	светло-желтая	18,2	8,3	NS
	зеленая	18,2	6,7	0,001

Таблица 3

Синдром одышки и количество обострений в изучаемых группах, %

Признак		ХБ/ХОБЛ +МС, якуты n=88	ХБ/ХОБЛ, якуты n=60	P
Хрипы и свист в грудной клетке		38,6	23,3	0,050
Одышка с наличием хрипов		28,4	15,0	0,050
Интенсивность одышки	нет	7,8	32,8	0,000
	при умеренной нагрузке	77,3	65,0	NS
	при легкой нагрузке	13,6	1,7	0,000
	при минимальной нагрузке	2,3	0,0	NS
Количество обострений в год	до 1 раза	33,0	66,7	0,000
	до 2 раз	51,1	28,3	0,000
	3 и более	15,9	5,0	0,000

го течения ХБ/ХОБЛ и МС (n=88) и в группе изолированного течения ХБ/ХОБЛ (n=60). Выявлены статистически достоверные различия по многим клиническим проявлениям.

Так, в группе сочетанного течения ХБ/ХОБЛ и МС в сравнении с группой изолированного течения ХБ/ХОБЛ достоверно чаще больные жаловались на кашель в зимнее время: 86,4% vs 68,3, p=0,008 (табл. 1). При этом интенсивность кашля при сочетании ХБ/ХОБЛ и МС была выраженнее, чем при изолированном ХБ/ХОБЛ. Как легкий кашель характеризовали 46,6% пациентов основной группы, в то время как в группе сравнения - 48,3% больных. Усиление интенсивности кашля до среднего регистрировалось у 37,5% лиц в группе сочетанного течения против 18,3% у пациентов с изолированным ХБ/ХОБЛ (p=0,003). Выраженный кашель отмечали 8,0% пациентов основной группы и лишь 5% в группе сравнения без МС. При этом усиление кашля и отделения мокроты за последние 3 года определялось у 60,2% в случае нозологической синтропии ХБ/ХОБЛ и МС и лишь у 28,3% пациентов с изолированным течением ХБ/ХОБЛ (p=0,000). Таким образом, при сочетанном течении ХБ/ХОБЛ и МС нами выявлен более тяжелый кашлевой синдром. Полученные нами данные согласуются с литературными, согласно которым абдоминальное ожирение вызывает усиление продуктивного кашля [8].

По интенсивности отделения мокроты нами также выявлены статистически значимые различия. Так, отсутствие мокроты отмечали лишь 20,5% пациентов сочетанного течения ХБ/ХОБЛ и МС против 65% пациентов из группы сравнения, p=0,000 (табл. 2). На малое количество мокроты жаловались 60,2% пациентов основной группы против 30,0% пациентов группы изолированного течения ХБ/ХОБЛ. Умеренное отделение мокроты отмечали 18,2% больных с ХБ/ХОБЛ и МС и только 5% пациентов из группы сравнения (p=0,000). По цвету мокроты, отражающему интенсивность воспалительных изменений бронхолегочной системы, нами также зарегистрированы статистически значимые различия. Большая интенсивность воспаления наблюдалась при сочетании ХБ/ХОБЛ и МС – светло-желтая мокрота у 18,2% лиц в основной группе vs 8,3 в группе сравнения; зеленая мокрота 18,2 vs 6,7% соответственно, p=0,001. Таким образом, для ассоциированного течения ХБ/ХОБЛ и МС характерны усиление

отделения мокроты и изменение её характера за счет более выраженной интенсивности воспалительных изменений в бронхолегочной системе.

Абдоминальное ожирение, главный компонент МС, вызывает усиление одышки при физической нагрузке, снижает функциональные возможности организма [8]. Анализ синдрома нехватки воздуха показал (табл. 3), что при ассоциации ХБ/ХОБЛ и МС достоверно чаще отмечались хрипы и свист в грудной клетке (38,6% vs 23,3, p=0,05), одышка с наличием хрипов (28,4% vs 15,0, p=0,05). При сочетанном течении ХБ/ХОБЛ и МС отсутствие одышки отмечали лишь 7,8% пациентов, тогда как при ХБ/ХОБЛ без МС аналогичный показатель был выше и составил 32,8%, одышка при легкой нагрузке наблюдалась в 13,6% случаев в основной группе и лишь в 1,7%

случаев в группе сравнения (p=0,000). Таким образом, синдром нехватки воздуха более выраженный в случае сочетанного течения ХБ/ХОБЛ и МС.

Выявлены достоверные различия и в частоте возникновения обострений в сравниваемых группах. У больных с изолированным ХБ/ХОБЛ в более чем половине случаев (66,7%) выявлены обострения только 1 раз в год, тогда как при сопряженной патологии 2 раза в год в 51,1 и 3 и более – в 15,9% случаев, p=0,000 (табл. 3).

Таким образом, при ассоциированном течении ХБ/ХОБЛ и МС нами выявлена более тяжелая клиническая картина в сравнении с изолированным течением заболевания за счет более выраженной интенсивности воспалительных изменений в бронхолегочной системе вследствие присоединения МС, что соответствует литературным

Таблица 4

Показатели спирографии

Показатель ФВД (% от должного)	ХБ/ХОБЛ +МС, якуты n=88	ХБ/ХОБЛ, якуты n=60	p ¹
	M±m	M±m	
ФЖЕЛ	77,53±1,88	78,50±2,38	0,857
ОФВ ₁	80,3±2,09	84,71±2,62	0,196
ОФВ ₁ /ФЖЕЛ	106,8±1,51	110,0±1,24	0,250

Примечание. ¹p – достоверность различий критерий Манна-Уитни.

данным, согласно которым ХОБЛ характеризуется хронической обструкцией дыхательных путей и связанные с ней эндокринные и метаболические расстройства ухудшают клиническое течение и прогноз пациентов [4]. Абдоминальное ожирение связано с появлением респираторных симптомов и является еще одним источником системного воспаления при ХОБЛ [5].

Ожирение также влияет на функцию легких и легочных объемов и связано с уменьшением резервных объемов выдоха и функциональной остаточной емкости из-за его внелегочных ограничительных компонентов [6,7]. При исследовании функции внешнего дыхания нами выявлено, что ОФВ₁ в основной группе был ниже, чем в группе сравнения, и составил 80,3±2,09% против 84,71±2,62 соответственно (табл. 4). Похожие ассоциации между центральным ожирением и обструкцией дыхательных путей описаны также в ряде исследований. Так, К.-В.Н. Lam и соавт. показали, что абдоминальное ожирение было связано с обструкцией дыхательных путей, независимо от статуса курения: ОШ 1,43, 95% ДИ 1,09-1,88 [3]. В исследовании N. Leone МС и абдоминальное ожирение тесно связаны с низким ОФВ₁ и ФЖЕЛ, независимо от возможных вмешивающихся факторов [7]. Ожирение связано с ограничением дыхательной экскурсии легких со снижением ЖЕЛ и повышением отношения ОФВ₁/ФЖЕЛ >70% [2]. В нашем исследовании ФЖЕЛ в ос-

новной группе составил 77,53±1,88%, что несколько меньше в сравнении с изолированным течением ХБ/ХОБЛ, где данный параметр – 78,50±2,38%. Отношение ОФВ₁/ФЖЕЛ у пациентов с ассоциацией ХБ/ХОБЛ и МС равно 106,8±1,51%, что также несколько ниже аналогичного показателя у пациентов ХБ/ХОБЛ без наличия МС – 110,05±1,24%. Однако выявленные различия по параметрам ФВД были статистически незначимы.

Таким образом, в случае сочетанной патологии ХБ/ХОБЛ и МС нами выявлены более тяжелые клинические проявления. А также полученные нами данные свидетельствуют о наличии более выраженных изменений функции внешнего дыхания у пациентов с ассоциированным течением ХБ/ХОБЛ и МС.

Выводы

1. При сочетанном течении ХБ/ХОБЛ и МС у лиц якутской национальности наблюдается более тяжелое клиническое течение в сравнении с группой без метаболического синдрома в виде более тяжелого кашлевого синдрома, более выраженной одышки, усиления отделения мокроты и изменения ее характера, увеличения частоты обострений.

2. Показатели функции внешнего дыхания при ассоциированном течении хронического бронхита и хронической обструктивной болезни легких с метаболическим синдромом в якутской этнической группе в сравнении с

изолированным течением данных заболеваний статистически значимо не различаются. Однако при сочетанном течении наблюдаются более выраженные нарушения функции внешнего дыхания в виде снижения ЖЕЛ, снижения ОФВ₁ и повышения отношения ОФВ₁/ФЖЕЛ >70 %.

Литература

1. Метаболический синдром у аборигеного населения Якутии / В.Л. Осаковский [и др.] // Якутский медицинский журнал. – 2010. – №2. – С. 98-102.
2. The metabolic syndrome in the indigenous population of Yakutia / V.L. Osakovsky [et al.] // Yakut medical journal. – 2010. – №2. – P. 103-107.
3. A possible association between suspected restrictive pattern as assessed by ordinary pulmonary function test and the metabolic syndrome / K. Nakajima [et al.] // Chest. – 2008. – Vol. 134. – P. 712-718.
4. Airflow obstruction and metabolic syndrome: the Guangzhou Biobank Cohort Study / K.-B.H. Lam [et al.] // European Respiratory Journal. – 2010. – Vol. 35. – P. 317-323.
5. Endocrinometabolic disorders in chronic obstructive pulmonary disease / I. Torres-Sánchez [et al.] // Nutr. Hosp. – 2013. – Vol. 28. – P. 1022-1030.
6. Furutate R. Excessive visceral fat accumulation in advanced chronic obstructive pulmonary disease / R. Furutate, T. Ishii, R. Wakabayashi // J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis. – 2011. – Vol. 6. – P. 423-430.
7. Gifford A.H. Respiratory function in an obese patient with sleep-disordered breathing / A.H. Gifford, J.C. Leiter, H.L. Manning // Chest. – 2010. – Vol. 138. – P. 704-715.
8. Leone N. Lung function impairment and metabolic syndrome the critical role of abdominal obesity / N. Leone // American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine. – 2009. – Vol. 179. – P. 509-516.
9. Obesity, but not undiagnosed airflow obstruction, is linked to respiratory symptoms and decreased functional capacity in adults without established COPD / M. Zutler [et al.] // Prim. Care Respir. J. – 2012. – Vol. 21. – P. 194-201.
10. Tkacova R. Systemic Inflammation in Chronic Obstructive Pulmonary Disease: May Adipose Tissue Play a Role? Review of the Literature and Future Perspectives / R. Tkacova // Mediators Inflamm. – 2010. – Vol. 5. – P. 859-889.