



Результаты иммуногистохимической диагностики рака молочной железы в Гродненской области с учетом мутации *BRCA1* в тройном негативном раке

Крылов А.Ю.¹ • Зубрицкий М.Г.² • Курстак И.А.³ • Ляликов С.А.³ • Басинский В.А.³

Крылов Андрей Юрьевич – канд. мед. наук, доцент, заведующий кафедрой судебной медицины¹
✉ 220024, г. Минск, ул. Кижеватова, 60/7, Республика Беларусь.
Тел.: +375 29 614 87 41.
E-mail: andrei_krilov@mail.ru

Зубрицкий Михаил Григорьевич – канд. мед. наук, начальник²

Курстак Ирина Андреевна – канд. мед. наук, ассистент кафедры клинической лабораторной диагностики и иммунологии³

Ляликов Сергей Александрович – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой клинической лабораторной диагностики и иммунологии³

Басинский Виктор Анатольевич – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой патологической анатомии³

Актуальность. Результаты иммуногистохимического (ИГХ) исследования при раке молочной железы (РМЖ) определяют не только прогноз заболевания, но и основные направления лекарственной противоопухолевой терапии. **Цель** – провести анализ данных ИГХ-диагностики РМЖ в Гродненской области в 2010–2015 гг., определить частоту выявления мутаций *BRCA1* в трижды негативном РМЖ. **Материал и методы.** По базе данных и журналам ИГХ-исследований Гродненского областного клинического патологоанатомического бюро проанализированы 2008 случаев РМЖ с экспрессией рецепторов эстрогена (ER) и прогестерона (PR) и 2445 – с экспрессией HER2/neu (использованы стандартные наборы фирмы DAKO, Дания). Молекулярно-генетическое исследование образцов ДНК на наличие мутаций в генах *BRCA* проводилось методом полимеразной цепной реакции у 449 пациенток с РМЖ. Наличие мутации *BRCA1* определяли в 39 случаях трижды негативного РМЖ. **Результаты.** Гиперэкспрессия (3+) HER2/neu отмечена в 25,5% (622 из 2445) случаев РМЖ, ER- и PR-позитивные опухоли – в 50,05% (1105 из 2008). Трижды негативный РМЖ диагностирован в 19,8% (398 из 2008) наблюдений, средний возраст больных на момент диагностики составил 56,2 года. Мутации *BRCA1* выявлены в 5 (12,8%) из 39 случаев трижды негативного РМЖ, что оказалось

статистически значимо ($\chi^2=4,87$, $p=0,0274$) чаще, чем у женщин с РМЖ без учета наследственной предрасположенности (17 (3,8%) случаев из 449). Гистологически опухоли с мутациями *BRCA1* были представлены в 3 наблюдениях инвазивным протоковым раком (1 – G2 и 2 – G3), в 1 – медуллярным и в 1 – недифференцированным раком G3. У 1 пациентки имело место метакхронное билатеральное поражение. **Заключение.** В Гродненской области 50% пациенток с РМЖ нуждаются в гормональной терапии, 25% – в лечении трастузумабом, 20% – цитостатиками. Частота мутации *BRCA1* при трижды негативном РМЖ выше по сравнению с таковой у больных РМЖ без учета наследственной предрасположенности.

Ключевые слова: иммуногистохимическое исследование, рак молочной железы, тройной негативный рак молочной железы, мутации *BRCA1*

Для цитирования: Крылов АЮ, Зубрицкий МГ, Курстак ИА, Ляликов СА, Басинский ВА. Результаты иммуногистохимической диагностики рака молочной железы в Гродненской области с учетом мутации *BRCA1* в тройном негативном раке. Альманах клинической медицины. 2017;45(4):302–8. doi: 10.18786/2072-0505-2017-45-4-302-308

Поступила 09.11.2016;
принята к публикации 28.04.2017

¹ ГУО «Институт повышения квалификации и переподготовки кадров Государственного комитета судебных экспертиз Республики Беларусь»; 220024, г. Минск, ул. Кижеватова, 60/7, Республика Беларусь

² Уз «Гродненское областное клиническое патологоанатомическое бюро»; 230030, г. Гродно, б-р Ленинского Комсомола, 52, Республика Беларусь

³ УО «Гродненский государственный медицинский университет»; 230009, г. Гродно, ул. Горького, 80, Республика Беларусь



Морфологические исследования при раке молочной железы (РМЖ), особенно с внедрением в практику иммуногистохимических (ИГХ) методов, приобрели решающее значение, так как их результаты позволяют не только дать прогноз, но и определить направление противоопухолевой лекарственной терапии.

В клинической практике используют классификацию подтипов РМЖ, предложенную в 2011 г. экспертами в St. Gallen [1] (последний пересмотр – в 2015 г.). Данный подход основывается на ИГХ-определении рецепторов эстрогена (ER), прогестерона (PR), эпидермального фактора роста человека 2-го типа (HER2/neu) и показателя пролиферации Ki-67. В соответствии с клинико-патоморфологическими критериями выделяют следующие подтипы РМЖ: «люминальный А» (ER и/или PR – положительный, Ki-67 низкий и HER2/neu – негативный); «люминальный В, HER2/neu-негативный» (ER и/или PR – положительный, Ki-67 высокий и HER2/neu – негативный); «люминальный В, HER2/neu-позитивный» (ER и/или PR – положительный, любой Ki-67 и HER2/neu – положительный); «HER2/neu-позитивный» (ER и PR отсутствуют, HER2/neu – положительный); «трижды негативный» (ER и PR отсутствуют, HER2/neu – негативный) [2]. Проведение исследований данных маркеров включено в алгоритмы диагностики и лечения пациенток с РМЖ в Республике Беларусь [3].

Трижды негативный РМЖ составляет от 11 до 22% всех вновь выявленных инвазивных опухолей молочной железы. Этот подтип обычно представлен инвазивными протоковыми карциномами с высокой степенью злокачественности и характеризуется плохим прогнозом [4, 5]. Риск его развития существенно увеличен у женщин с семейным анамнезом РМЖ [6].

Считается, что в 5–10% случаев РМЖ является наследственным [7]. В свою очередь, в 16–21% случаев наследственного РМЖ и рака яичников выявляются мутации *BRCA1* и *BRCA2* [8, 9]. Согласно результатам метаанализа, у женщин с трижды негативным РМЖ риск мутаций генов *BRCA1* в 5,65 раза выше, чем при других подтипах [10].

По результатам ИГХ-исследования определяется выбор направления лекарственной терапии прооперированных пациенток с РМЖ. Трастузумаб назначается в случае выявления гиперэкспрессии HER2/neu, гормональная терапия – экспрессии ER и PR. При трижды

негативном РМЖ применяется агрессивная терапия цитостатиками [11].

Цель – изучить результаты ИГХ-диагностики РМЖ в Гродненской области в 2010–2015 гг. и провести клинико-морфологический анализ выявления мутаций *BRCA1* в тройном негативном РМЖ.

Материал и методы

По базе данных и журналам ИГХ-исследований УЗ «Гродненское областное клиническое патологоанатомическое бюро» нами проанализированы результаты ИГХ-исследования гормонорецепторного статуса РМЖ за 2010–2015 гг.

Всего зарегистрировано 2008 случаев экспрессии ER и PR, 2445 – HER2/neu. Экспрессию ER и PR оценивали как положительную при увеличении объектива микроскопа в 10 раз в случае окрашивания ядер в инвазивных участках РМЖ более чем в 1% опухолевых клеток. Степень экспрессии HER2/neu определяли согласно современным рекомендациям на основании окрашивания мембран опухолевых клеток. В работе использованы стандартные наборы фирмы DAKO (Дания). Оценка результатов реакции проводилась с помощью балльной шкалы (0, 1+, 2+, 3+), разработанной производителем теста.

Молекулярно-генетическое исследование образцов ДНК на наличие мутаций в генах *BRCA* проводилось методом полимеразной цепной реакции в клинико-диагностической лаборатории Гродненской областной клинической больницы у 449 пациенток с РМЖ. При анализе базы данных установлено, что *BRCA1* исследовался в 39 случаях трижды негативного РМЖ. ИГХ-экспрессия виментина для оценки качества фиксации определена в 5 наблюдениях (стандартный набор фирмы DAKO, Дания).

Статистический анализ результатов исследования был выполнен с использованием аналитического пакета Statistica 7.0. Сравнение двух независимых выборок по количественному признаку производили с помощью теста Манна – Уитни, различия считали значимыми при $p < 0,05$. Для сравнения частот встречаемости признаков в различных группах использовали тест χ^2 .

Результаты и обсуждение

В Гродненской области ИГХ-исследованием HER2/neu охвачено 89,5% (2445 из 2731) женского населения, заболевшего РМЖ. При этом за шестилетний период наблюдения в среднем у четверти из них (25,5%) определена гиперэкспрессия (3+) онкобелка HER2/neu (табл. 1). Эти

**Таблица 1.** Степень экспрессии HER2/neu при инфильтрирующем раке молочной железы (по данным УЗ «Гродненское областное клиническое патологоанатомическое бюро» за период 2010–2015 гг.)

Степень экспрессии	Количество пациенток по годам, n (%)						Всего
	2010	2011	2012	2013	2014	2015	
0	50 (14)	81 (22)	48 (13)	105 (25,5)	92 (22,2)	218 (43,8)	594 (24,3)
1+	159 (42)	161 (44)	196 (51,5)	178 (43,2)	195 (41,7)	160 (32,1)	1049 (42,9)
2+	46 (12)	17 (5)	20 (5)	24 (5,8)	26 (6,3)	47 (9,4)	180 (7,3)
3+	122 (33)	105 (29)	116 (30,5)	105 (25,5)	101 (24,3)	73 (14,7)	622 (25,5)
Всего	377/460 (82)	364/429 (85)	380/413 (92)	412/441 (93)	414/457 (90,6)	498/531 (93,8)	2445/2731 (89,5)

Таблица 2. Результаты иммуногистохимической оценки экспрессии рецепторов эстрогена и прогестерона в Гродненской области в 2010–2015 гг.

Год	Количество пациенток, n (%)				Всего
	ER+ PR+	ER- PR-	ER+ PR-	PR+ ER-	
2010	112 (54)	65 (31,5)	19 (9)	11 (5,5)	207
2011	163 (49)	120 (36)	26 (7,5)	25 (7,5)	334
2012	150 (45)	127 (38,5)	39 (11,8)	11 (4,24)	330
2013	187 (60,7)	82 (26,7)	31 (10)	8 (2,6)	308
2014	192 (51)	119 (31)	35 (9)	34 (9)	380
2015	201 (44,8)	161 (35,8)	39 (8,7)	48 (10,7)	449
Среднее	167,5 (50,75)	112,3 (33,25)	31,5 (9,3)	22,8 (6,59)	2008

ER – рецепторы эстрогена, PR – рецепторы прогестерона, «+» – положительная реакция, «-» – отрицательная реакция

пациентки могут нуждаться в таргетной терапии трастузумабом.

Исследование ER и PR проводили, как правило, параллельно определению HER/neu. Результаты ежегодного определения рецепторов гормонов оказались приблизительно одинаковыми (табл. 2). Представляется чрезвычайно важным, что более чем в половине случаев (50,75%) РМЖ наблюдались ER- и PR-позитивные опухоли, подлежащие послеоперационной гормональной терапии.

Что касается трижды негативного РМЖ, за шестилетний период наблюдения его доля среди других ИГХ-вариантов составила в среднем 19% (табл. 3). При этом ежегодно данный показатель варьировал незначительно – от 16,4 до 21,6%. В целом это соответствует данным литературы: в большинстве исследований частота трижды

негативного РМЖ колеблется в пределах от 11 до 22% [12–15] и только в единичных работах – ниже (6,3%, Греция [16]). Процент выявления трижды негативного РМЖ во многом зависит от того, каких пороговых значений экспрессии рецепторов эстрогенов придерживаются исследователи. До сих пор нет единого мнения о том, что считать эстроген-положительными опухолями – новообразования, в которых при ИГХ-исследовании положительно окрашивается 10% [17, 18], 5% или 1% [19] ядер. Предположительно, это обусловлено отсутствием рационального обоснования пороговых значений частоты клеток, дающих положительную реакцию.

В этой связи нельзя не отметить еще один значимый аспект морфологической диагностики трижды негативного РМЖ – качество фиксации. Очевидно, что плохо фиксированный материал



по результатам ИГХ-исследования будет трижды негативным. Единственным надежным методом оценки качества фиксации признана окраска виментином, предложенная Н. Battifora (1991) [20]. Как известно, виментин присутствует практически во всех тканях. К тому же клон vimentin V9 взаимодействует с эпитопом, который частично изменяется при фиксации в формальдегиде и может быть принят как индикатор качества фиксации ткани. При правильной проводке реакция виментина в сосудах ткани и стромальных клетках должна быть одинаковой. Соответственно, равномерная окраска указывает на качественную фиксацию образца, неравномерная – на неоптимальную. Для анализа образца следует использовать только участки с выраженным равномерным окрашиванием. Логично, что перед ИГХ-исследованием препараты РМЖ, окрашенные гематоксилином и эозином, должны быть тщательно изучены на предмет качества фиксации, а в случае сомнения – окрашены виментином. В нашем исследовании при анализе 39 случаев трижды негативного РМЖ, в которых определялась мутация *BRCA1*, окраска виментином проведена в 5 наблюдениях. Случаев некачественной фиксации не обнаружено.

Трижды негативный РМЖ встречается преимущественно у молодых больных и в период пременопаузы. Он характерен для определенных этнических групп. Так, в США эта разновидность РМЖ встречается чаще у афроамериканок и женщин испанского происхождения [21]. По данным G.J. Moggis и соавт., частота трижды негативного РМЖ у афроамериканок и белых составляет 20,8 и 10,4% соответственно [22].

Пик заболеваемости РМЖ регистрируется у женщин в возрасте от 60 до 65 лет [23]. Средний возраст больных трижды негативным РМЖ в нашем исследовании был 56 лет. В литературе также есть свидетельства диагностики этого подтипа опухоли у более молодых пациенток: 50 лет [16], 55,6 года [24].

В наших предыдущих исследованиях частота выявления мутаций генов *BRCA1* у женского населения Гродненской области с диагнозом РМЖ (без учета наследственной отягощенности) составила 3,8%. Частота встречаемости мутаций у пациенток с первично-множественным РМЖ была 8,6% и оказалась статистически значимо выше, чем у пациенток без этого заболевания – 2,7% ($p < 0,02$). Процент выявления *BRCA1* не зависел от степени экспрессии ER, PR и HER2/neu [25–27].

В базе данных Гродненской лаборатории по определению *BRCA1* (449 случаев РМЖ)

Таблица 3. Частота выявления трижды негативного рака молочной железы в Гродненской области в период 2010–2015 гг.

Год	Количество случаев, n (%)	Средний возраст пациенток, годы
2010	34/207 (16,4)	52,8
2011	65/334 (19)	56,4
2012	67/330 (20)	57,2
2013	58/308 (17,4)	56,6
2014	77/380 (20)	56,5
2015	97/449 (21,6)	58,0
Среднее	66,3/334,6 (19)	56,25

Таблица 4. Сравнительный анализ частоты встречаемости мутации гена *BRCA1* у пациенток с трижды негативным раком молочной железы и у больных раком молочной железы без учета наследственной отягощенности

Показатель	Количество пациенток, n (%)		p (χ^2)
	рак молочной железы	трижды негативный рак молочной железы	
Мутации гена <i>BRCA1</i>	17 (3,8)	5 (12,8)	0,0274 (4,87)
Всего	449	39	–

выявлено 39 случаев трижды негативного РМЖ, диагностированного в 2010–2015 гг., средний возраст пациенток составил $54,8 \pm 11,7$ года [28]. По результатам морфологического исследования в 29 (74,4%) случаях диагностирована инвазивная протоковая карцинома G2–3, в 4 (10,3%) – инвазивная дольковая карцинома G2–3, в 4 (10,3%) – медулярный (G3) и в 2 (5%) – недифференцированный рак (G3).

Мутация гена *BRCA1* определена в 5 (12,8%) случаях трижды негативного РМЖ из 39 (табл. 4), средний возраст пациенток – $52,6 \pm 11,8$ года. Отметим: в этой группе больных процент выявления мутации *BRCA1* был статистически значимо ($\chi^2 = 4,87$, $p = 0,0274$) выше, чем в группе женщин без учета наследственной отягощенности с диагнозом РМЖ (3,8%, 17 из 449). Гистологически 3 случая трижды негативного РМЖ были оценены как инвазивный протоковый рак (1 – G2 и 2 – G3), 1 случай – как медулярный и 1 – недифференцированный рак (G3). У одной пациентки имело место метакронное билатеральное поражение.

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Финансирование

Работа проведена без привлечения дополнительного финансирования со стороны третьих лиц.



Выводы

1. ИГХ-диагностика РМЖ в Гродненской области позволила определить соотношение пациенток в зависимости от направлений противоопухолевой лекарственной терапии: приблизительно 50% из них нуждаются в гормональной терапии, 25% – в лечении трастузумабом и 20% – цитостатиками.

2. Трижды негативный РМЖ выявлен в 19% от всех случаев РМЖ, средний возраст пациенток на момент проведения диагностики составил 56,2 года.
3. Мутации *BRCA1* при трижды негативном РМЖ выявлены чаще, чем при РМЖ у женщин без наследственной предрасположенности, – в 12,8% (5 из 39) против 3,8% (17 из 449). ©

Литература

1. Goldhirsch A, Wood WC, Coates AS, Gelber RD, Thürlimann B, Senn HJ; Panel members. Strategies for subtypes – dealing with the diversity of breast cancer: highlights of the St. Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2011. *Ann Oncol.* 2011;22(8):1736–47. doi: 10.1093/annonc/mdr304.
2. Coates AS, Winer EP, Goldhirsch A, Gelber RD, Gnant M, Piccart-Gebhart M, Thürlimann B, Senn HJ; Panel Members. Tailoring therapies – improving the management of early breast cancer: St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2015. *Ann Oncol.* 2015;26(8):1533–46. doi: 10.1093/annonc/mdv221.
3. Суконко ОГ, Красный СА, ред. Алгоритмы диагностики и лечения злокачественных новообразований. Минск: Профессиональные издания; 2012. 508 с.
4. Foulkes WD, Smith IE, Reis-Filho JS. Triple-negative breast cancer. *N Engl J Med.* 2010;363(20):1938–48. doi: 10.1056/NEJMra1001389.
5. Podo F, Buydens LM, Degani H, Hillhorst R, Klipp E, Gribbestad IS, Van Huffel S, van Laarhoven HW, Luts J, Monleon D, Postma GJ, Schneiderhan-Marra N, Santoro F, Wouters H, Russnes HG, Sørliie T, Tagliabue E, Børresen-Dale AL; FEMME Consortium. Triple-negative breast cancer: present challenges and new perspectives. *Mol Oncol.* 2010;4(3):209–29. doi: 10.1016/j.molonc.2010.04.006.
6. Phipps AI, Buist DS, Malone KE, Barlow WE, Porter PL, Kerlikowske K, Li CI. Family history of breast cancer in first-degree relatives and triple-negative breast cancer risk. *Breast Cancer Res Treat.* 2011;126(3):671–8. doi: 10.1007/s10549-010-1148-9.
7. Claus EB, Risch N, Thompson WD. Genetic analysis of breast cancer in the cancer and steroid hormone study. *Am J Hum Genet.* 1991;48(2):232–42.
8. Miki Y, Swensen J, Shattuck-Eidens D, Futreal PA, Harshman K, Tavtigian S, Liu Q, Cochran C, Bennett LM, Ding W, Bell R, Rosenthal J, Hussey C, Tran T, McClure M, Frye C, Hattier T, Phelps R, Haugen-Strano A, Katcher H, Yakumo K, Gholami Z, Shaffer D, Stone S, Bayer S, Wray C, Bogden R, Dayananth P, Ward J, Tonin P, Narod S, Britton PK, Norris FH, Helvering L, Morrison P, Ros-teck P, Lai M, Barrett JC, Lewis C, Neuhausen S, Albright L, Goldgar D, Wiseman R, Kamb A, Skolnick MH. A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene *BRCA1*. *Science.* 1994;266(5182):66–71.
9. Wooster R, Bignell G, Lancaster J, Swift S, Seal S, Mangion J, Collins N, Gregory S, Gumbs C, Micklem G. Identification of the breast cancer susceptibility gene *BRCA2*. *Nature.* 1995;378(6559):789–92. doi: 10.1038/378789a0.
10. Tun NM, Villani G, Ong K, Yoe L, Bo ZM. Risk of having *BRCA1* mutation in high-risk women with triple-negative breast cancer: a meta-analysis. *Clin Genet.* 2014;85(1):43–8. doi: 10.1111/cge.12270.
11. Ягудина ПИ, Куликов АЮ, Нгуен Т. Обзор зарубежных фармакоэкономических исследований применения герцептина при лечении рака молочной железы. *Фармакоэкономика. Современная фармакоэкономика и фармакоэпидемиология.* 2009;2(2):28–35.
12. Dent R, Hanna WM, Trudeau M, Rawlinson E, Sun P, Narod SA. Pattern of metastatic spread in triple-negative breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2009;115(2):423–8. doi: 10.1007/s10549-008-0086-2.
13. Nishimura R, Arima N. Is triple negative a prognostic factor in breast cancer? *Breast Cancer.* 2008;15(4):303–8. doi: 10.1007/s12282-008-0042-3.
14. Cheang MC, Voduc D, Bajdik C, Leung S, McKinney S, Chia SK, Perou CM, Nielsen TO. Basal-like breast cancer defined by five biomarkers has superior prognostic value than triple-negative phenotype. *Clin Cancer Res.* 2008;14(5):1368–76. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-07-1658.
15. Hines SL, Vallow LA, Tan WW, McNeil RB, Perez EA, Jain A. Clinical outcomes after a diagnosis of brain metastases in patients with estrogen- and/or human epidermal growth factor receptor 2-positive versus triple-negative breast cancer. *Ann Oncol.* 2008;19(9):1561–5. doi: 10.1093/annonc/mdn283.
16. Panousis D, Ntasiou P, Grosomanidis D, Chatzopoulos K, Lagoudianakis E, Charitidou E, Xepapadakis G. Single center clinical study of a Greek patient population with triple-negative breast cancer. *Hellenic J Surg.* 2014;86(5):280–6. doi: 10.1007/s13126-014-0146-5.
17. Keam B, Im SA, Kim HJ, Oh DY, Kim JH, Lee SH, Chie EK, Han W, Kim DW, Moon WK, Kim TY, Park IA, Noh DY, Heo DS, Ha SW, Bang YJ. Prognostic impact of clinicopathologic parameters in stage II/III breast cancer treated with neoadjuvant docetaxel and doxorubicin chemotherapy: paradoxical features of the triple negative breast cancer. *BMC Cancer.* 2007;7:203. doi: 10.1186/1471-2407-7-203.
18. Bidard FC, Conforti R, Boulet T, Michiels S, Delaloge S, André F. Does triple-negative phenotype accurately identify basal-like tumour? An immunohistochemical analysis based on 143 'triple-negative' breast cancers. *Ann Oncol.* 2007;18(7):1285–6. doi: 10.1093/annonc/mdm360.
19. Kreike B, van Kouwenhove M, Horlings H, Weigelt B, Peterse H, Bartelink H, van de Vijver MJ. Gene expression profiling and histopathological characterization of triple-negative/basal-like breast carcinomas. *Breast Cancer Res.* 2007;9(5):R65. doi: 10.1186/bcr1771.
20. Battifora H. Assessment of antigen damage in immunohistochemistry. The vimentin internal control. *Am J Clin Pathol.* 1991;96(5):669–71.
21. Cleator S, Heller W, Coombes RC. Triple-negative breast cancer: therapeutic options. *Lancet Oncol.* 2007;8(3):235–44. doi: 10.1016/S1470-2045(07)70074-8.
22. Morris GJ, Naidu S, Topham AK, Guiles F, Xu Y, McCue P, Schwartz GF, Park PK, Rosenberg AL, Brill K, Mitchell EP. Differences in breast carcinoma characteristics in newly diagnosed African-American and Caucasian patients: a single-institution compilation compared with the National Cancer Institute's Surveillance, Epidemiology, and End Results database. *Cancer.* 2007;110(4):876–84. doi: 10.1002/cncr.22836.
23. Чиссов ВИ, Дарьялова СЛ, ред. Онкология: клинические рекомендации. 2-е изд., испр. и доп. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2009. 928 с.
24. Schmidt G, Meyberg-Solomayer G, Gerlinger C, Juhasz-Böss I, Herr D, Rody A, Liedtke C, Solomayer EF. Identification of prognostic different subgroups in triple negative breast cancer by Her2-neu protein expression. *Arch Gynecol Obstet.* 2014;290(6):1221–9. doi: 10.1007/s00404-014-3331-4.



25. Кузнецов ОЕ, Ляликов СА, Савицкий СЭ, Курстак ИА. Частота мутаций гена BRCA и клинический риск при наследственных опухолях женской репродуктивной системы. *Здравоохранение (Минск)*. 2011;(4):71–4.
26. Курстак ИА, Ляликов СА, Кузнецов ОЕ, Ершова МВ. Прогностическая значимость клинико-генетических признаков в диагностике предрасположенности к наследственному раку молочной железы и яичников у здоровых лиц в белорусской популяции. *Журнал Гродненского государственного медицинского университета*. 2013;(1):34–6.
27. Курстак ИА, Ляликов СА, Кузнецов ОЕ, Ершова МВ. Прогнозирование мутации в генах BRCA у пациенток с раком молочной железы. *Лабораторная диагностика. Восточная Европа*. 2014;(1):24–30.
28. Крылов АЮ, Крылов ЮВ, Зубрицкий МГ, Курстак ИА, Ляликов СА, Басинский ВА. Клинико-морфологический анализ выявления BRCA1 с иммуногистохимической оценкой экспрессии рецепторов андрогенов и C-kit (CD117) при тройном негативном раке молочной железы у женщин Гродненской области. *Проблемы здоровья и экологии*. 2016;(4):25–8.

References

1. Goldhirsch A, Wood WC, Coates AS, Gelber RD, Thürlimann B, Senn HJ; Panel members. Strategies for subtypes – dealing with the diversity of breast cancer: highlights of the St. Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2011. *Ann Oncol*. 2011;22(8):1736–47. doi: 10.1093/annonc/mdr304.
2. Coates AS, Winer EP, Goldhirsch A, Gelber RD, Gnant M, Piccart-Gebhart M, Thürlimann B, Senn HJ; Panel Members. Tailoring therapies – improving the management of early breast cancer: St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2015. *Ann Oncol*. 2015;26(8):1533–46. doi: 10.1093/annonc/mdv221.
3. Sukonko OG, Krasnyy SA, editors. Algorithms of diagnosis and treatment of malignant tumours. Minsk: Professional'nye izdaniya; 2012. 508 p. Russian.
4. Foulkes WD, Smith IE, Reis-Filho JS. Triple-negative breast cancer. *N Engl J Med*. 2010;363(20):1938–48. doi: 10.1056/NEJMra1001389.
5. Podo F, Buydens LM, Degani H, Hilhorst R, Klipp E, Gribbestad IS, Van Huffel S, van Laarhoven HW, Luts J, Monleon D, Postma GJ, Schneiderhan-Marra N, Santoro F, Wouters H, Russnes HG, Sørli T, Tagliabue E, Børresen-Dale AL; FEMME Consortium. Triple-negative breast cancer: present challenges and new perspectives. *Mol Oncol*. 2010;4(3):209–29. doi: 10.1016/j.molonc.2010.04.006.
6. Phipps AI, Buist DS, Malone KE, Barlow WE, Porter PL, Kerlikowske K, Li CI. Family history of breast cancer in first-degree relatives and triple-negative breast cancer risk. *Breast Cancer Res Treat*. 2011;126(3):671–8. doi: 10.1007/s10549-010-1148-9.
7. Claus EB, Risch N, Thompson WD. Genetic analysis of breast cancer in the cancer and steroid hormone study. *Am J Hum Genet*. 1991;48(2):232–42.
8. Miki Y, Swensen J, Shattuck-Eidens D, Futreal PA, Harshman K, Tavtigian S, Liu Q, Cochran C, Bennett LM, Ding W, Bell R, Rosenthal J, Hussey C, Tran T, McClure M, Frye C, Hattier T, Phelps R, Haugen-Strano A, Katcher H, Yakumo K, Gholami Z, Shaffer D, Stone S, Bayer S, Wray C, Bogden R, Dayananth P, Ward J, Tonin P, Narod S, Bristow PK, Norris FH, Helvering L, Morrison P, Rostek P, Lai M, Barrett JC, Neuhausen S, Albright L, Goldgar D, Wiseman R, Kamb A, Skolnick MH. A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene BRCA1. *Science*. 1994;266(5182):66–71.
9. Wooster R, Bignell G, Lancaster J, Swift S, Seal S, Mangion J, Collins N, Gregory S, Gumbs C, Micklem G. Identification of the breast cancer susceptibility gene BRCA2. *Nature*. 1995;378(6559):789–92. doi: 10.1038/378789a0.
10. Tun NM, Villani G, Ong K, Yoe L, Bo ZM. Risk of having BRCA1 mutation in high-risk women with triple-negative breast cancer: a meta-analysis. *Clin Genet*. 2014;85(1):43–8. doi: 10.1111/cge.12270.
11. Yagudina RI, Kulikov AY, Nguyen T. Pharmacoeconomic review of international studies of herceptin-based treatment for Her2-positive breast cancer. *Pharmacoeconomics and Pharmacoeconomics*. 2009;2(2):28–35. Russian.
12. Dent R, Hanna WM, Trudeau M, Rawlinson E, Sun P, Narod SA. Pattern of metastatic spread in triple-negative breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 2009;115(2):423–8. doi: 10.1007/s10549-008-0086-2.
13. Nishimura R, Arima N. Is triple negative a prognostic factor in breast cancer? *Breast Cancer*. 2008;15(4):303–8. doi: 10.1007/s12282-008-0042-3.
14. Cheang MC, Voduc D, Bajdik C, Leung S, McKinney S, Chia SK, Perou CM, Nielsen TO. Basal-like breast cancer defined by five biomarkers has superior prognostic value than triple-negative phenotype. *Clin Cancer Res*. 2008;14(5):1368–76. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-07-1658.
15. Hines SL, Vallow LA, Tan WW, McNeil RB, Perez EA, Jain A. Clinical outcomes after a diagnosis of brain metastases in patients with estrogen- and/or human epidermal growth factor receptor 2-positive versus triple-negative breast cancer. *Ann Oncol*. 2008;19(9):1561–5. doi: 10.1093/annonc/mdn283.
16. Panousis D, Ntasiou P, Grosomanidis D, Chatzopoulos K, Lagoudianakis E, Charitidou E, Xepapadakis G. Single centre clinical study of a Greek patient population with triple-negative breast cancer. *Hellenic J Surg*. 2014;86(5):280–6. doi: 10.1007/s13126-014-0146-5.
17. Keam B, Im SA, Kim HJ, Oh DY, Kim JH, Lee SH, Chie EK, Han W, Kim DW, Moon WK, Kim TY, Park IA, Noh DY, Heo DS, Ha SW, Bang YJ. Prognostic impact of clinicopathologic parameters in stage II/III breast cancer treated with neoadjuvant docetaxel and doxorubicin chemotherapy: paradoxical features of the triple negative breast cancer. *BMC Cancer*. 2007;7:203. doi: 10.1186/1471-2407-7-203.
18. Bidard FC, Conforti R, Boulet T, Michiels S, Delaloge S, André F. Does triple-negative phenotype accurately identify basal-like tumour? An immunohistochemical analysis based on 143 'triple-negative' breast cancers. *Ann Oncol*. 2007;18(7):1285–6. doi: 10.1093/annonc/mdm360.
19. Kreike B, van Kouwenhove M, Horlings H, Weigelt B, Peterse H, Bartelink H, van de Vijver MJ. Gene expression profiling and histopathological characterization of triple-negative/basal-like breast carcinomas. *Breast Cancer Res*. 2007;9(5):R65. doi: 10.1186/bcr1771.
20. Battifora H. Assessment of antigen damage in immunohistochemistry. The vimentin internal control. *Am J Clin Pathol*. 1991;96(5):669–71.
21. Cleator S, Heller W, Coombes RC. Triple-negative breast cancer: therapeutic options. *Lancet Oncol*. 2007;8(3):235–44. doi: 10.1016/S1470-2045(07)70074-8.
22. Morris GJ, Naidu S, Topham AK, Guiles F, Xu Y, McCue P, Schwartz GF, Park PK, Rosenberg AL, Brill K, Mitchell EP. Differences in breast carcinoma characteristics in newly diagnosed African-American and Caucasian patients: a single-institution compilation compared with the National Cancer Institute's Surveillance, Epidemiology, and End Results database. *Cancer*. 2007;110(4):876–84. doi: 10.1002/cncr.22836.
23. Chissov VI, Daryalova SL, editors. *Oncology. Clinical guidelines*. 2nd ed. Moscow: Geotar-Media; 2009. 928 p.
24. Schmidt G, Meyberg-Solomayer G, Gerlinger C, Juhasz-Böss I, Herr D, Rody A, Liedtke C, Solomayer EF. Identification of prognostic different subgroups in triple negative breast cancer by Her2-neu protein expression. *Arch Gynecol Obstet*. 2014;290(6):1221–9. doi: 10.1007/s00404-014-3331-4.
25. Kuznetsov OE, Lyalikov SA, Savitsky SE, Kurstak IA. BRCA gene mutation clinical risk and frequency under hereditary tumors of female reproductive system. *Healthcare (Minsk)*. 2011;(4):71–4. Russian.



26. Kurstak IA, Lialikau SA, Kuzniatsov AY, Yershova MV. Prognostic value of clinical and genetic signs in the diagnosis of predisposition to hereditary breast and ovarian cancer in healthy subjects in the Belarusian population. *Journal of the Grodno State Medical University*. 2013;(1):34–6. Russian.

27. Kurstak I, Lyalikov S, Kuznetsov O, Yarshova M. Forecasting BRCA genes mutations in patients with breast cancer. *Laboratory diagnostics. Eastern Europe*. 2014;(1):24–30. Russian.

28. Krylov AY, Krylov YV, Zubritsky MG, Kurstak IA, Lyalikov CA, Basinski VA. Clinical and morpho-

logical analysis of BRCA1 identification with immunohistochemical assessment of androgen receptor and C-kit (CD117) expression in triple-negative breast cancer in women of Grodno region. *Health and Environment Issues*. 2016;(4):25–8. Russian.

Results of immunohistochemistry diagnostics of breast cancer in the region of Grodno with consideration of the BRCA1 gene mutation in triple negative cancer

Krylov A.Yu.¹ • Zubritsky M.G.² • Kurstak I.A.³ • Lialikau S.A.³ • Basinski V.A.³

Background: The results of immunohistochemical (IHC) assessment in breast cancer may determine not only the outcome, but also the main directions of antitumor treatment. **Aim:** To study the results of IHC diagnosis of breast cancer in the Grodno region in 2010 to 2015, to determine the frequency of the BRCA1 gene mutations in triple-negative breast cancer. **Materials and methods:** 2008 cases of estrogen receptor and/or progesterone receptor positive and 2445 cases of HER2/neu expressing breast cancer were extracted from the database and IHC laboratory journals of the Grodno Regional Clinical Bureau for Pathological Anatomy. Standard DAKO kits (Denmark) were used for IHC. Molecular genetic studies of DNA samples for the presence of the BRCA genes mutations were done by polymerase chain reaction in 449 women with breast cancer. BRCA1 mutation was assessed in 39 cases of triple-negative breast cancer. **Results:** HER2/neu overexpression (3+) was found in 25.5% (622/2445) of all breast cancer cases, whereas of estrogen receptor and progesterone receptor positive tumors in 50.05% (1105/2008) of cases. Triple negative breast cancer was diagnosed in 19.8% (398/2008) of cases, and the mean age of the patients at the diagnosis was 56.2 years. The BRCA1 gene mutations were identified in 5 of 39 (12.8%) cases of triple negative breast cancer, which is significantly more often than in women with breast cancer without

consideration of their hereditary predisposition (17/449, or 3.8%; $\chi^2 = 4.87$, $p = 0.0274$). Histological examination showed that among the tumors with the BRCA1 mutations, there were 3 cases with invasive ductal cancer (one G2 and two G3), one with medullary and one with undifferentiated G3 cancer. One patient had a metachronous bilateral lesion. **Conclusion:** In the region of Grodno, 50% of breast cancer patients would need hormonal therapy, 25% would need treatment with trastuzumab, and 20% with cytostatic agents. The prevalence of the BRCA1 mutation in triple negative breast cancer is higher compared to that in breast cancer patients without consideration of their hereditary predisposition.

Key words: immunohistochemical study, breast cancer, triple negative breast cancer, BRCA1 mutation

For citation: Krylov AY, Zubritsky MG, Kurstak IA, Lialikau SA, Basinski VA. Results of immunohistochemistry diagnostics of breast cancer in the region of Grodno with consideration of the BRCA1 gene mutation in triple negative cancer. *Almanac of Clinical Medicine*. 2017;45(4):302–8. doi: 10.18786/2072-0505-2017-45-4-302-308

Received 09 November 2016;
Accepted 28 April 2017

Krylov Andrey Yu. – MD, PhD, Associate Professor, Head of the Chair of Forensic Medicine¹
✉ 60/7 Kizhevatova str., Minsk, 220024, Republic of Belarus. Tel.: +375 29 614 87 41.
E-mail: andrei_krilov@mail.ru

Zubritsky Mihail G. – MD, PhD, Head Officer²

Kurstak Iryna A. – MD, PhD, Assistant, Chair of Clinical Laboratory Diagnostics, Allergology and Immunology³

Lialikau Sjarhei A. – MD, PhD, Professor, Head of the Chair of Clinical Laboratory Diagnostics, Allergology and Immunology³

Basinski Viktor A. – MD, PhD, Professor, Head of the Chair of Anatomical Pathology and Forensic Medicine³

¹Institute of Further Training and Retraining of the Personnel of the State Forensic Examination Committee of the Republic of Belarus; 60/7 Kizhevatova str., Minsk, 220024, Republic of Belarus

²Grodno Regional Bureaus Mortem; 52 Leninskogo Komsomola blvd, Grodno, 230030, Republic of Belarus

³Grodno State Medical University; 80 Gorkogo str., Grodno, 230009, Republic of Belarus

Conflicts of Interest

The authors declare that they have no conflicts of interest.