

С.Н. Пащенко

Н.А. Волошин

Н.Н. Левик

Запорожский государственный институт усовершенствования врачей

Запорожский государственный медицинский университет, Запорожье, Украина

Ключевые слова: рак молочной железы, лектины, рецепторы, метастазирование.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ РЕЦЕПТОРОВ К ЛЕКТИНАМ В ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЯХ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Резюме. У больных раком молочной железы (РМЖ) в железистом эпителии и коллагеновых волокнах соединительной ткани опухоли изучено содержание рецепторов лектинов арахиса (PNA), завязи пшеницы (WGA) и гороха (PSA). Для больных РМЖ в стадии T1–2N0–1M0 характерно повышение содержания рецепторов PNA и WGA в паренхиме опухоли. В стадии T3–4N0M0 опухолевые клетки часто содержали рецепторы PNA и PSA и редко WGA. При РМЖ T3–4N1M0, а также в тех случаях, когда после радикального лечения появлялись отдаленные метастазы, опухолевые клетки содержали рецепторы WGA. В строме РМЖ рецепторы к лектинам PNA и PSA выявляли реже по сравнению с нормальной тканью молочной железы. Наиболее выражено уменьшалось количество рецепторов к лектинам в коллагеновых волокнах соединительной ткани опухолей у пациенток с лимфогенными и гематогенными метастазами. В клетках РМЖ, в отличие от интактной ткани, появлялись эндоцитоплазматические PNA⁺-, WGA⁺- и PSA⁺-включения.

ВВЕДЕНИЕ

Существует множество методов лечения рака молочной железы (РМЖ), однако эта патология остается одной из основных причин смерти женщин. Эффективность лечения РМЖ в значительной степени зависит от биологических особенностей опухолевых клеток, в первую очередь, способности к инвазивному росту и их метастатического потенциала. Последние в свою очередь определяются адгезивными свойствами эпителия. Во взаимодействии и функционировании клеток чрезвычайно важны механизмы лектин-рецепторного узнавания [1, 9, 10]. Концевые нередуцируемые моносахаридные остатки регулируют также процессы взаимодействия клеток с элементами микроокружения [7, 8]. Результаты исследований лектинов и рецепторов к ним свидетельствуют о возможности дифференцировать доброкачественные и злокачественные новообразования, прогнозировать опухолевую инвазию, эффективность лечения ряда опухолей [3, 5, 6], однако в отношении опухолей молочной железы данные такого рода недостаточны.

Цель работы — изучение особенностей распределения и содержания рецепторов лектинов арахиса (PNA), завязи пшеницы (WGA) и гороха (PSA) в карциномах молочной железы.

ОБЪЕКТ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проанализированы результаты исследования опухолей 195 больных РМЖ различных стадий. У 85 больных установлен РМЖ в стадии T1–2N0M0 (1-я группа), у 45 — T1–2N1M0 (2-я группа), у 29 — T3–4N0M0 (3-я группа), у 36 — T3–4N1M0 (4-я группа). Пятую группу (M1) составили 11 пациентов, у которых в течение 3 лет после радикального лечения

были обнаружены отдаленные метастазы. В возрасте до 35 лет было 17 больных, 36–55 лет — 133, старше 56 лет — 45. Всем больным были проведены хирургическое лечение, лучевая терапия, химиотерапия и гормонотерапия по стандартным методикам и схемам. Удаленные хирургическим путем опухоли фиксировали в растворе Буэна, готовили парафиновые срезы. Контролем служила нормальная ткань молочной железы 7 женщин в возрасте от 29 до 56 лет, скончавшихся вследствие несчастья случаев. В исследовании использовали лектины разной специфичности: PNA — к β-D-галактозе; WGA — к N-ацетил-D-глюкозамину и сиаловой кислоте; PSA — к α-D-маннозе («Лектинотест», Украина). Определение содержания рецепторов лектинов в опухоли производили с помощью гистохимической реакции связывания рецепторов лектина с конъюгатом агглютинина, меченным пероксидазой хрена [2]. Препараты микроскопировали в проходящем свете при увеличении х280. В паренхиме опухоли выявляли опухолевые клетки, содержащие рецепторы PNA, WGA и PSA (pPNA, pWGA, pPSA) на плазмолемме, в цитоплазме, а также в виде эндоцитоплазматических включений. Оценку содержания рецепторов лектинов в строме опухоли проводили с помощью полуколичественного метода по интенсивности окраски бензидиновой метки. Статистическую обработку результатов проводили по методу Фишера—Стьюдента. Достоверными считали результаты при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В здоровой ткани молочной железы pPNA и pWGA определяли исключительно на апикальной поверхности эпителиоцитов, в базальной мембра-

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

не ацинусов и коллагеновых волокнах соединительной ткани; рPSA в норме обнаруживали в базальной мембране ацинусов и в соединительной ткани. В клетках РМЖ рецепторы лектинов выявлялись на всей поверхности мембраны и диффузно — в цитоплазме. Отмечали полиморфизм содержания концевых остатков β -D-галактозы, α -D-маннозы, N-ацетил-D-глюкозамина и сиаловой кислоты в клетках опухоли. Коллагеновые волокна стромы опухолей окрашивались менее интенсивно по сравнению со здоровой тканью молочной железы.

В паренхиме опухоли у больных 1-й группы (Т1–2N0M0) рPNA выявляли в $78,2 \pm 4,5\%$, рWGA — в $55,6 \pm 5,4\%$, рPSA — в $22,4 \pm 4,5\%$ случаев (рис. 1); во 2-й группе (Т1–2N1M0) рWGA и рPSA в опухолевых клетках обнаруживали почти в 2 раза чаще ($p < 0,05$). В 3-й группе (Т3–4N0M0) количество карцином с рWGA⁺-опухолевыми клетками было существенно меньше по сравнению с таковым в 1-й и 2-й группах ($p < 0,05$); рPSA выявляли в $70,0 \pm 9,5\%$ случаев ($p < 0,05$ по сравнению с 1-й группой). В 4-й группе (Т3–4N1M0) рPNA⁺-клетки обнаружены только у $41,7 \pm 8,1\%$ больных ($p < 0,05$ по сравнению с 1-й, 2-й и 3-й группами); рWGA определяли достоверно чаще ($p < 0,05$), чем в 1-й и 3-й группах, а рPSA — реже, чем во всех предыдущих группах (у $15,4 \pm 6,0\%$, $p < 0,05$ по сравнению со 2-й и 3-й группами). Для больных 5-й группы, у которых после радикального лечения в течение 3 лет обнаружены отдаленные метастазы, наиболее редко обнаруживали рPNA в клетках первичной опухоли (по сравнению с 1-й, 2-й и 3-й группами $p < 0,05$), в то время как рWGA были отмечены у $85,0 \pm 10,7\%$ больных ($p < 0,05$ по сравнению с 1-й и 3-й группами, а также по сравнению с частотой обнаружения рPNA).

Во многих карциномах обнаруживали клетки с PNA⁺, WGA⁺ и PSA⁺ эндоцитоплазматическими включениями размером 4–10 мкм. Отмечена зависимость между распространением опухоли и наличием таких клеток (рис. 2). У больных 1-й, 2-й и 5-й групп PNA⁺-эндоцитоплазматические включения выявляли в клетках РМЖ чаще, чем WGA⁺ и PSA⁺-включения ($p < 0,05$). У больных 1-й группы (Т1–2N0M0) в $65,6 \pm 5,1\%$ случаев обнаружены PNA⁺-включения в цитоплазме опухолевых клеток, WGA⁺-включения — в $42,0 \pm 5,3\%$, PSA⁺ — в $21,4 \pm 4,4\%$ случаев. В цито-

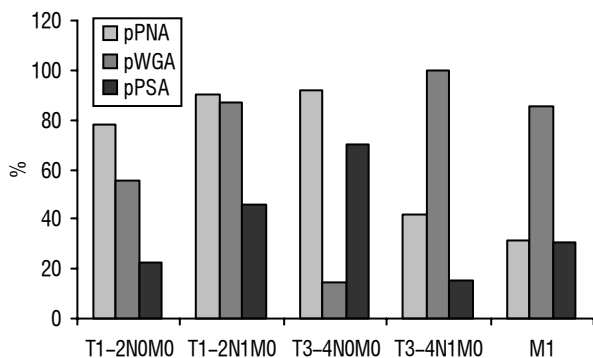


Рис. 1. Выявление рецепторов лектинов на опухолевых клетках в зависимости от стадии РМЖ

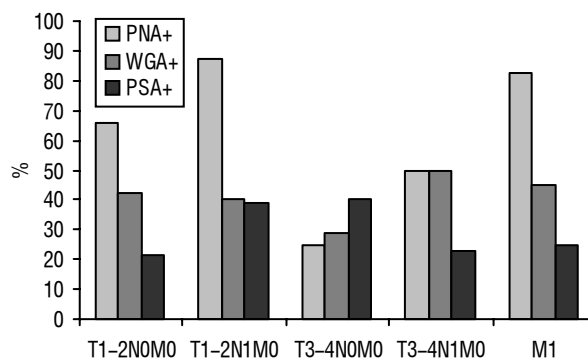


Рис. 2. Выявление эндоплазматических включений в опухолевых клетках в зависимости от стадии РМЖ

плазме клеток опухоли Т1–2N1M0 (2-я группа) PNA⁺-включения определяли чаще, чем у больных 1-й группы ($p < 0,05$), в 3-й группе (Т3–4N0M0) — только у $25,0 \pm 8,1\%$ больных ($p < 0,05$ по сравнению с 1-й и 2-й группами). У пациенток 5-й группы PNA⁺-включения в цитоплазме опухолевых клеток определяли в $82,3 \pm 11,6\%$ случаев ($p < 0,05$ по сравнению с 1-й, 3-й и 4-й группами).

Существенных различий между группами по частоте выявления WGA⁺-включений не обнаружено. Содержание PSA⁺-включений было повышено во 2-й и 3-й группах (см. рис. 2).

Изучение распределения рецепторов лектинов в строме опухоли также показало зависимость их количества от потенциальной способности карциномы к инвазивному росту и метастазированию. При РМЖ Т1–2N0M0 рPNA были выявлены в коллагеновых волокнах опухоли в $65,4 \pm 5,1\%$, рWGA — в $85,4 \pm 4,1\%$, рPSA — в $75,9 \pm 4,9\%$ случаев. При РМЖ Т1–2N1M0 стадии существенно снижалась частота выявления рPNA — до $43,1 \pm 7,4\%$ ($p < 0,05$). При РМЖ Т3–4N0M0 рPNA в строме определяли у $75,0 \pm 9,4\%$ больных ($p < 0,05$ по сравнению со 2-й группой), а рWGA — у $57,1 \pm 6,5\%$ ($p < 0,05$ по сравнению с 1-й и 2-й группами). В тех случаях, когда после радикального лечения возникали отдаленные метастазы (M1), строма опухоли содержала лишь следы рPNA у $50,0 \pm 15,1\%$ больных ($p < 0,05$ по сравнению с 1-й и 3-й группами), рWGA — в $99,5 \pm 7,8\%$ случаев ($p < 0,05$ по сравнению с 3-й и 4-й группами) (рис. 3).

Известно, что наличие D-галактозы определяет высокую avidность клеток [11]. Возможно, повышение содержания рPNA в опухолевых клетках способствует улучшению адгезивных свойств. Следует подчеркнуть, что адгезия определяет связь не только между соседними опухолевыми клетками, но и их взаимоотношение со стромой. Поэтому представляет интерес выявленное различие содержания рPNA в строме опухоли стадий Т1–2N0M0 и Т1–2N1M0. Частота обнаружения рPNA в клетках этих опухолей существенно не отличалась, однако в коллагеновых волокнах соединительной ткани РМЖ Т1–2N1M0 рPNA выявляли в 1,5 раза реже по сравнению с 1-й группой. Аналогичная закономерность прослежена при сравнении результатов опре-

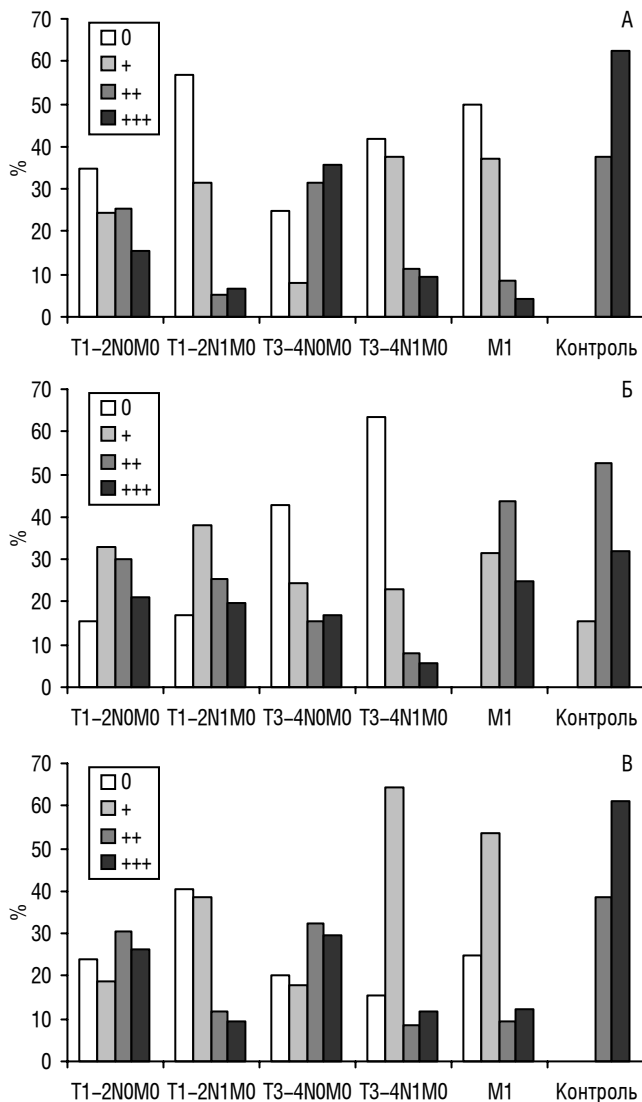


Рис. 3. Частота выявления рецепторов PNA (А), WGA (Б) и PSA (В) в коллагеновых волокнах РМЖ разных стадий и нормальной ткани молочной железы

деления содержания рPNA в строме опухолей больных 3-й и 4-й групп (см. рис. 3). У больных 5-й группы рPNA в паренхиме и в строме опухоли обнаруживали наиболее редко.

Некоторые авторы метастизирование опухоли связывают с гиперсиалированием поверхности опухолевых клеток [11]. В наших исследованиях у больных с поражением регионарных лимфатических узлов, а также в случае возникновения метастазов после радикального лечения рWGA в цитоплазме и на мембране опухолевых клеток обнаруживали наиболее часто. WGA селективно выявляет как N-ацетил-D-глюкозамин, так и нейраминовую (сиаловую) кислоту. Появление в опухолевых клетках рWGA, возможно, приводит к ухудшению адгезивных свойств и обуславливает их способность к миграции.

По данным анализа содержания рPSA установлено, что концевые функциональные группы α -D-Ман чаще определяются в опухолевых клетках у больных 1-й, 2-й и 3-й групп по сравнению с 4-й и 5-й ($p < 0,05$ при сравнении 2-й и 3-й групп с 4-й и 5-й). Известно,

что количество функциональных групп α -D-Ман увеличивается при дифференцировке клеток, что обеспечивает сцепление мембран и межклеточное взаимодействие [4]. Отмечено, что выявление в опухолевых клетках концевых α -D-Ман коррелирует со способностью карцином к раннему локальному рецидивированию [6]. На основании полученных нами данных можно предположить, что наличие концевого остатка α -D-Ман повышает сцепление опухолевых клеток, в результате чего снижается их способность к регионарному и отдаленному метастазированию.

Представляет интерес и природа эндоцитоплазматических включений в опухолевых клетках. По своей структуре это вакуоли, заполненные углеводсодержащими соединениями, накопление которых, по-видимому, связано с нарушением процесса их сialiрования и дальнейшего транспорта к поверхностной клеточной мембране. Предположение подтверждается тем, что эндоцитоплазматические включения определяют в цитоплазме клеток, которые не содержат рецепторов к исследованным лектинам на мембране, и часто обнаруживают в опухолевых клетках РМЖ больных с гематогенными и лимфогенными метастазами.

ВЫВОДЫ

1. У больных РМЖ содержание рPNA, рWGA и рPSA в паренхиме и строме опухоли зависело от стадии опухолевого процесса и, очевидно, отражало биологические особенности опухоли.

2. При наличии гематогенных и лимфогенных метастазов на мембране опухолевых клеток отмечали повышение содержания рWGA, а рPNA и рPSA выявляли редко.

3. У больных с местно-распространенной опухолью и отсутствием регионарных и отдаленных метастазов рPSA в клетках опухоли выделяли наиболее часто. Вероятно, наличие α -D-маннозы в опухоли повышает сцепление клеток и снижает их способность к метастазированию.

4. В клетках РМЖ в отличие от нормальной ткани молочной железы появляются эндоцитоплазматические PNA⁺-, WGA⁺- и PSA⁺-включения, что, вероятно, отражает нарушение процессов синтеза и транспорта к мембране углеводсодержащих соединений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Глузман ДФ, Бовин НВ, Абраменко ИВ, Скляренко ЛМ. Эндогенные лектины клеток опухолей и некоторые аспекты метастазирования. Эксперим онкол 1992; 14: 3–9.
2. Луцки АД, Биров ВВ, Дмитрук ИМ. Рецепторы лектинов в молочной железе и ее опухолях. Арх патологии 1986; 7: 9–14.
3. Скляренко ЛМ. Рецепторы лектинов поверхностных мембран пухлинных клѣтин (гематобластоци, первинні новоутворення епітеліального походження, метастази) і їх роль в діагностиці [Автореф дис ... д-ра мед наук]. Київ: Інститут проблем онкології та радіобіології, 1997. 38 с.
4. Яхшибаева ЮР, Виницкий ВВ. Влияние простых сахаров, их ацетилированных производных и дисахаридов на миграцию и агрегацию опухолевых клеток *in vitro*. Эксперим онкол 2001; 23: 162–5.

5. **Bur M, Franklin W.** Lectin binding to human gastric adenocarcinomas and adjacent tissues. *Am J Pathol* 1985; **119**: 279–87.
6. **Furmanski P, Kirkland WL, Gargala T, Rich MA.** Prognostic value of concanavalin a reactivity of primary human breast cancer cells. *Cancer Res.* 1984; **41**: 4087–92.
7. **Hakomori S.** Tumor malignancy defined by aberrant glycosylation and sphingo(glyco)lipid metabolism. *Cancer Res* 1996; **56**: 5309–18.
8. **Kieda C.** Role of lectin-glycoconjugate recognitions in cell-cell interaction leading to tissue invasion. *Adv Exp Med Biol* 1998; **435**: 75–82.
9. **Kim YJ, Borsig L, Varki NM, Varki A.** P-selectin deficiency attenuates tumor growth and metastasis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; **95**: 9325–30.
10. **Lawrence JA, Steeg PS.** Mechanisms of tumor invasion and metastasis. *World J Urol* 1996; **14**: 124–30.
11. **Macartney JC.** Lectin histochemistry of galactose and N-acetyl-galactosamine glycoconjugates in normal gastric mucosa, gastric cancer and the relationship with ABO and secretor status. *J. Pathol.* 1986; **150**: 135–44.

DETECTION OF RECEPTORS TO LECTINS IN MALIGNANT TUMORS OF THE BREAST

S.N. Paschenko, N.A. Voloshyn, N.N. Levik

Summary. *In the glandular epithelium and collagen fibrils of the conjunctive tissue of patients with breast cancer*

(BC), the levels of receptors to peanut lectins (PNA), wheat germ lectins (WGA), and pea lectins (PSA) were measured. BC at stage T1–2N0–1M0 feature increased levels of receptors to PNA and WGA in the tumor parenchyma. At stage T3–4N1M0, tumor cells frequently contained PNA and PSA receptors and rarely WGA receptors. In BC at stage T3–4N1M0, as well as in the cases where remote metastases appeared after radical treatment, tumor cells contained receptors to WGA. In the BC stroma, receptors to PNA and PSA were less frequent compared to normal tissue of the breast. Patients with lymphogenic and hematogenic metastases featured the lowest levels of receptors to lectins in collagen fibrils of the conjunctive tissue. Unlike intact tissue, BC cells contained endoplasmatic PNA⁺-, WGA⁺- u PSA⁺ inclusions.

Key Words: breast cancer, lectins, receptors, metastasizing.

Адрес для переписки:

Пашенко С.Н.

69000, г. Запорожье,

бульв. Центральный, 16, кв. 53