

## ТЕОРЕТИЧНА І ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА МЕДИЦИНА

<https://doi.org/10.35339/msz.2020.87.02.01>

УДК 616-006.04:611-018

*О.П. Лукашова<sup>1</sup>, О.М. Білий<sup>1,2</sup>, В.С. Пахомов<sup>1</sup>, С.В. Шутов<sup>1</sup>, І.М. Тесленко<sup>1</sup>*

*<sup>1</sup>ДУ «Інститут медичної радіології і онкології ім. С.П. Григор'єва  
НАМН України», м. Харків, Україна*

*<sup>2</sup>Харківський національний університет ім. В.Н. Каразіна, Україна*

### СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН КЛІТИН РАКУ ГРУДНОЇ ЗАЛОЗИ З РІЗНИМ РЕЦЕПТОРНИМ СТАТУСОМ

Вивчено особливості структурно-функціонального стану пухлинних клітин (ПК) раку грудної залози (РГЗ) у групах первинних хворих із різними молекулярними підтипами раку. У 75 первинних хворих на РГЗ імуногістохімічним методом визначали рецепторний статус пухлин, за яким хворих розподілили на шість груп: тричі негативний рак, HER-2, RE, RE + RP, RE + HER-2-позитивні підтипи раку та тричі позитивний рак. Стандартними методами електронної мікроскопії досліджено ультраструктуру ПК. Установлено, що ультраструктурі ПК нелюмінальних субтипів притаманні переважно великі (можливо, поліплоїдні) недиференційовані форми ПК із великими, часто плейоморфними ядрами (ПМЯ), функцією яких є ріст та ділення, чому відповідає найвищий рівень Ki-67, а також висока частота випадків із ПМЯ і фагосомами. Для пухлин з експресією гормональних рецепторів найбільш характерною ознакою є наявність у цитоплазмі внутрішньоклітинних просвітків, що свідчить про помітну білково-синтетичну й секреторну активність. RE-позитивні пухлини мають найнижчі показники частоти ПМЯ і фагосом, а також рівня Ki-67 та високий показник частоти внутрішньоклітинних просвітків. Пухлини комбінованих субтипів не мають будь-яких специфічних ультраструктурних особливостей, і в них спостерігається взаємний вплив гормональних рецепторів та HER-2 на рівень процесів ділення, частота ПМЯ та співвідношення ядер різного розміру, очевидно, внаслідок конкуренції гормональних рецепторів та HER-2 за мішені, які переключають функціональну діяльність клітини на процеси або синтезу, або ділення. Загальним для всіх досліджених груп є висока гетерогенність клітинних популяцій, у яких, крім характерних для кожної з них ПК, наявні форми, притаманні іншим підтипам. Установлено, що кожному дослідженому молекулярному підтипу притаманні характерні ультраструктурні ознаки, пов'язані з особливостями рецепторного стану пухлин. Виявлено тісний кореляційний зв'язок ультраструктурних показників із проліферативною активністю. Спостерігається гетерогенність популяції пухлинних клітин у кожному дослідженому випадку. Ко-експресія двох-трьох рецепторів значно модифікує досліджені параметри. Проілюстровано етапи утворення внутрішньоклітинних просвітків у ПК.

**Ключові слова:** рак грудної залози, ультраструктура, рецепторні субтипи.

#### Вступ

Рак грудної залози (РГЗ) є найбільш поширеним онкологічним захворюванням серед жінок в усьому світі. Щорічно реєструється понад мільйон нових випадків РГЗ, причому

найвища захворюваність спостерігається в розвинених країнах (США, Канада, Франція та ін.) [1]. Показники захворюваності та смертності на 100 тис. населення в Україні становлять 54,5 та 25,1 відповідно [2]. Відда-

© О.П. Лукашова, О.М. Білий, В.С. Пахомов та ін., 2020

лені метастази виявляються у 20–30 % хворих, з яких приблизно 90 % вмирають унаслідок ускладнень від рецидивів і метастазів [3]. На розвиток РГЗ впливають численні фактори: генетичні, конституційні, соціально-економічні, а також стан гормональної системи та супутні захворювання. Сьогодні основна увага приділяється вивченню механізмів онкогенезу різних форм РГЗ, на основі чого вже розроблено багато сучасних методів діагностики, прогнозу та лікування з вираженим акцентом на персональний підхід до кожного пацієнта.

Загальновідомо, що РГЗ є гетерогенним захворюванням із широким спектром клінічних і морфологічних характеристик, таких як вік, менопаузальний статус, розмір пухлини, стадія, наявність метастазів, гістологічний діагноз, які є основою традиційних класифікацій [4, 5]. Значний прогрес досягнуто в молекулярно-генетичному аналізі, що сприяє як розумінню біології РГЗ, так і створенню нових молекулярних класифікацій із застосуванням пухлинних маркерів, з яких найбільш розповсюдженими є рецептори естрогенів (RE), прогестерону (RP), епідермального фактора росту людини 2 (HER-2), показника проліферативної активності Ki-67, p53 та ін. [6]. За рівнем Ki-67 та рецепторів виділяють 4 основні молекулярні підтипи РГЗ: люмінальний А, люмінальний В, HER-2-позитивний та тричі негативний рак, які застосовують для вибору засобів лікування хворих на РГЗ та прогностичною метою [7]. Незважаючи на значні досягнення в розвитку молекулярного аналізу РГЗ, рівень виживаності залишається досить низьким, що переважно асоціюється з метастатичними формами раку, а також із резистентністю пухлин до лікування [3, 8, 9]. Так, третина пухлин хворих на гормонально-рецепторні підтипи РГЗ залишаються нечутливими до тамоксифену, а таргетна терапія пацієнтів з HER-2-позитивним раком у значній частині випадків є неефективною. Отже, проблема подальшого вивчення властивостей уже відомих молекулярних показників і механізмів їхніх взаємозв'язків, а також пошук нових, більш ефективних маркерів є актуальною.

Слід зазначити, що порушення в геномі, які призводять до онкогенезу, відбиваються також і на структурно-функціональному стані клітинної популяції пухлини, причому для кожного випадку РГЗ формується індивідуальний

клітинний «портрет» пухлини, який відрізняється структурними характеристиками [10]. Проте при використанні лише методів молекулярної класифікації це не враховується. У зв'язку з тенденцією сучасної онкології до індивідуалізації терапії для кожного пацієнта необхідним стає не тільки застосування загальноприйнятих нині при РГЗ параметрів, зокрема рецепторного стану, а і врахування дійсного візуального вигляду кожної пухлини з усіма її характеристиками і структурно-функціональними властивостями. Найбільш придатним для встановлення індивідуальних особливостей структурно-функціонального стану кожної пухлини є метод електронної мікроскопії, за допомогою якого впродовж багатьох років світових досліджень накопичено багато інформативного матеріалу щодо морфологічної діагностики, терапевтичного патоморфозу, ефективності терапії, механізмів дії протипухлинних препаратів та вирішення інших наукових проблем онкології. Нині цей метод використовується переважно на клітинних лініях для вивчення механізмів дії різних протипухлинних препаратів та визначення особливостей впливу молекулярних маркерів при їхньому введенні в геном.

**Метою** даної роботи було вивчення особливостей структурно-функціонального стану пухлинних клітин раку грудної залози у групах первинних хворих із різними молекулярними підтипами раку.

#### **Матеріал і методи**

Досліджено пухлини 75 первинних хворих на рак грудної залози. Матеріал був одержаний при трепан-біопсії та хірургічному втручанні. Імуногістохімічним методом у всіх випадках визначали рецептори до жіночих гормонів – естрогену (RE) та прогестерону (RP), рецептор до епідермального фактора росту людини (HER-2) та показник проліферативної активності Ki-67. Хворих розподілили на шість груп відповідно до рецепторного статусу їхніх пухлин: 1-ша – досліджені рецептори не виявляються, тричі негативний рак (3-нег); 2-га – експресія тільки рецептора HER-2 (HER-2); 3-тя – наявність лише рецептора до естрогену (RE); 4-та – наявність рецепторів до обох жіночих гормонів (RE + RP); 5-та – комбінація рецепторів до естрогену та HER-2 (RE + HER-2); 6-та – ко-експресія всіх досліджених рецепторів (RE + RP + HER-2), тричі позитивний

рак. При цьому не виділяли підтипи люмінального А та люмінального В раку, оскільки основна увага була спрямована на вплив окремих рецепторних факторів або їхньої сумісної дії на ультраструктуру пухлин. Визначали частку випадків кожного підтипу в загальному пулі пухлин, підраховували середні дані проліферативної активності у цих групах та частоту окремих ультраструктурних показників.

Матеріал для ультрамікроскопічного дослідження обробляли за стандартними електронно-мікроскопічними методиками [11]. Зразки пухлинної тканини піддавали фіксації спочатку у глутаральдегідному фіксаторі за Карновським, а потім у 1 % тетраоксиді осмію за Палладе. Після зневоднювання в етанолі

мально правдоподібною оцінки достовірності (Рмп) [12].

#### Результати та їх обговорення

Установлено, що в одержаному матеріалі більшість становлять пухлини, де наявні два гормональні рецептори (RE + RP і RE + RP + HER-2). Їхній відсоток у цих групах достовірно вищий, ніж у інших групах (табл. 1). Такий розподіл пухлин РГЗ може бути пов'язаний із тим, що в інтактній грудній залозі саме естроген і прогестерон є основними гормонами, які впливають на її функціональну діяльність. У даному дослідженні пухлини з наявністю тільки RE трапляються достовірно рідше, ніж при ко-експресії обох гормональних рецепторів разом та при тричі позитивному РГЗ (табл. 1).

Таблиця 1. Частота пухлин із різним рецепторним статусом у первинних карциномах грудної залози

Показник	Рецепторний статус						усього
	3-нег	HER-2	RE	RE + RP	RE + HER-2	RE + RP + HER-2	
N	8	6	7	21	7	26	75
%	10,7	8,0	9,3	28,0*#	9,3	34,7*#	100

Примітка.  $P < 0,05$ , різниця достовірна відносно показника групи: \* 3-нег; # RE.

зростаючої концентрації матеріал заливали в суміш епоксидних смол (епон-аралдит) і полімеризували 36 годин при 56 °С. Напівтонкі зрізи виготовляли на ультрамікротомі УМПТ-4 Сумського ВО «Електрон» (Україна), забарвлювали у 1 % розчині метиленового синього

При вивченні проліферативної активності пухлин найвищий рівень Ki-67 встановлено при нелюмінальних підтипах пухлин (3-нег і HER-2), тоді як у групах із гормонально-позитивним рецепторним статусом (RE та RE + RP) він достовірно нижчий (табл. 2). Крім того, при

Таблиця 2. Проліферативна активність пухлин хворих на РГЗ у групах із різним рецепторним статусом (Ki-67), %

Показник	Рецепторний статус					
	3-нег	HER-2	RE	RE + RP	RE + HER-2	RE + RP + HER-2
N	8	6	7	21	7	26
$\bar{X} \pm S_x$	48,8±10,08	71,7±4,01	22,9±4,73*	22,9±2,03*	38,6±7,38*#	34,6±3,56*#

Примітка.  $P < 0,05$ , різниця достовірна відносно показників груп: \* 3-нег та HER-2; # RE + RP.

та 1 % тетраборнокислого натрію та переглядали у світловому мікроскопі. Ультратонкі зрізи одержували на тому самому мікротомі, контрастували в насиченому розчині уранілацетату та цитрату свинцю за Рейнольдсом і аналізували в електронному мікроскопі EM-125 (Сумське ВО «Електрон», Україна).

Одержані дані обчислювали за допомогою методів описової статистики, непараметричних критеріїв і кореляційного аналізу з використанням пакета програм Biostat та із застосуванням непараметричного критерію макси-

ко-експресії гормональних рецепторів і HER-2 відбувається вірогідне підвищення проліферативної активності у порівнянні з такою в пухлинах, де наявні тільки гормональні рецептори. Це підвищення, однак, не сягає показників груп 3-нег та HER-2. Можливо, частина рецепторів для фактора епідермального росту виявляється недосяжною внаслідок конкуренції з гормональними рецепторами, які можуть знаходитися поряд із ними, наприклад, на ядерній мембрані. Цьому є підтвердження у літературі, які свідчать про властивість

HER-2 змінювати локалізацію RE з ядерної мембрани до цитоплазми [13].

При аналізі морфофункціонального стану пухлин первинних хворих на РГЗ виявлено, що ультраструктурні картини у групах із тричі негативними пухлинами та з експресією HER-2 дуже схожі між собою. Пухлинні клітини (ПК) розташовуються переважно полями, групами та гніздами, протокові структури поодинокі.

У значній кількості випадків у цих групах пухлинні клітини великі за розміром, містять переважно великі світлі ядра з дисперсним хроматином і чітким сітчастим ядерцем, часто плейоморфні, із глибокими інвагінаціями, які іноді майже розтинають ядро на окремі фрагменти (рис. 1, 2, табл. 3, 4). Наявність

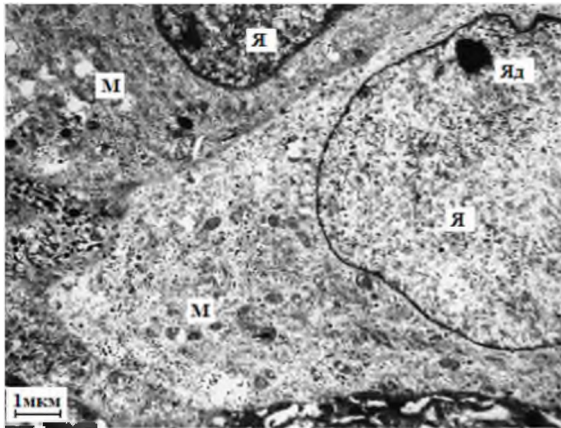


Рис. 1. Світла недиференційована пухлинна клітина РГЗ з експресією HER-2: Я – ядро; Яд – ядерце; М – мітохондрія; мкм – збільшення

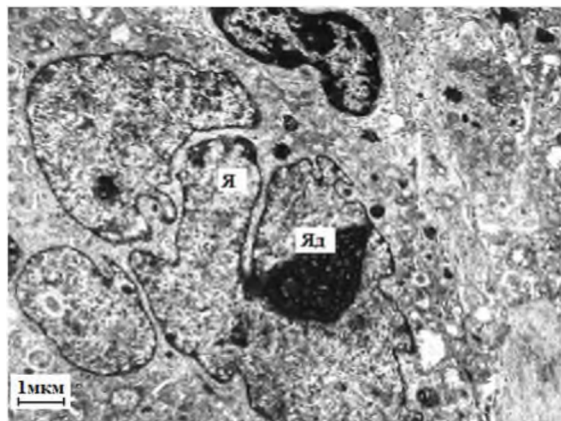


Рис. 2. Плейоморфне ядро в пухлинній клітині тричі негативного РГЗ

таких ядер може відображати процеси поліплоїдизму. Рядом учених було показано, що ядра поліплоїдних клітин найменш як утричі більші за розміром звичайних ядер, мають плейоморфну структуру, а також притаманні

тричі негативним та HER-2-позитивним пухлинам [14, 15]. Саме це і спостерігається в нашому дослідженні.

У цитоплазмі ПК наявні вільні рибосоми й полісоми, вузькі профілі гранулярної ендоплазматичної сітки (гЕПС), невелика кількість мітохондрій та первинних лізосом. Така будова характерна для низькодиференційованих та недиференційованих форм, головною функцією яких є ріст і ділення. І дійсно, саме в цих групах проліферативна активність найвища (табл. 2), що підтверджується наявністю у пухлинах клітин із фігурами мітозу (рис. 3). Наведені ознаки характерні і для стовбурових клітин, а якщо взяти до уваги дані деяких дослідників, що поліплоїдні клітини за властивостями виконують функцію стовбурових клітин, то напрошується думка щодо ще однієї причини причетності пухлинних клітин із великими ядрами до категорії поліплоїдних форм [16]. Резистентність до протипухлинної терапії як тричі негативного та HER-позитивного раку, так і поліплоїдних клітин також підтверджує думку про переважання в популяції цих рецепторних підтипів поліплоїдних клітин [17, 18].

Відомо, що наявність плейоморфних ядер (ПМЯ) у пухлинній тканині є одним з основних критеріїв при діагностиці раку, хоча механізми таких порушень форми ядра до кінця не з'ясовані [19]. Однак є дані, що в механізмах ядерної деформації можуть брати участь білки оболонки ядра А/В, загублення яких може лежати в основі двох процесів: порушенні форми ядра та анеуплоїдії [20].

У дослідженні було встановлено тісний прямий кореляційний зв'язок показника Ki-67 з частотою ПМЯ ( $r=0,90$ ;  $p=0,015$ ) у групах із різним молекулярним підтипом. Подібні взаємовідношення між ядерним плейоморфізмом та проліферативною активністю зафіксовано й іншими дослідниками, які крім цього спостерігають також кореляційні зв'язки ПМЯ з такими показниками, як MIB 1, експресія p53, васкулярна інвазія та мікроваскулярна щільність [21, 22].

Окремі клітини демонструють помітну білково-синтетичну діяльність, про що свідчать розширені профілі гЕПС, набряклі мітохондрії, зрідка комплекс Гольджі (рис. 4). У деяких випадках у ПК виявляються поодинокі внутрішньоклітинні просвітки (ВКП), структури, наявність яких пов'язана з процесами



Таблиця 3. Частота великих, середніх та дрібних за розміром ядер ПК у пухлинах хворих на РГЗ у групах із різним рецепторним статусом

Ядро	Рецепторний статус					
	3-нег	HER-2	RE	RE + RP	RE + HER-2	RE + RP + HER-2
Велике (діаметр – 9–14 мкм)						
N	6	2	0	4	1	3
%	75,0	33,3	0*	19,0*	14,3*	11,5*
Середнє (діаметр – 6–8 мкм)						
N	2	4	4	13	5	22
%	25,0	66,7	57,2	61,9	71,4	84,6*
Дрібне (діаметр – 4–5 мкм)						
N	0	0	3	4	1	1
%	0	0	42,8	19,1	14,3	3,9#
Усього	8	6	7	21	7	26

Примітка.  $P < 0,05$ , різниця достовірна відносно показника групи: \* 3-нег; # RE.

Таблиця 4. Частота електронно-мікроскопічних показників у ПК пухлин хворих на РГЗ у групах із різним рецепторним статусом

Показник	Рецепторний статус					
	3-нег	HER-2	RE	RE + RP	RE + HER-2	RE + RP + HER-2
ВКП						
N	1	1	3	9	3	10
%	12,5	16,7	42,9*	42,9	42,9*	38,5
ПМЯ						
N	6	5	2	9	3	9
%	75,0#	83,3#	28,6	42,9	42,9	34,6
Фагосоми						
N	2	4	2	2	1	1
%	25,0	66,7	28,6	9,5@	14,3@	3,8@
Усього пухлин	8	6	7	21	7	26

Примітка.  $P < 0,05$ , різниця достовірна відносно показника групи: \* 3-нег; # RE; @ HER-2.

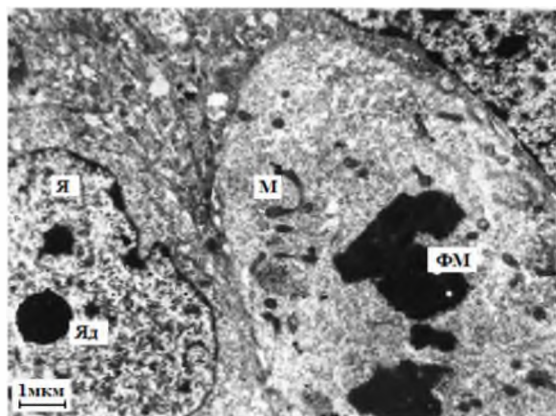


Рис. 3. Пухлинна клітина у стані мітотичного ділення РГЗ з експресією HER-2: ФМ – фігура мітозу

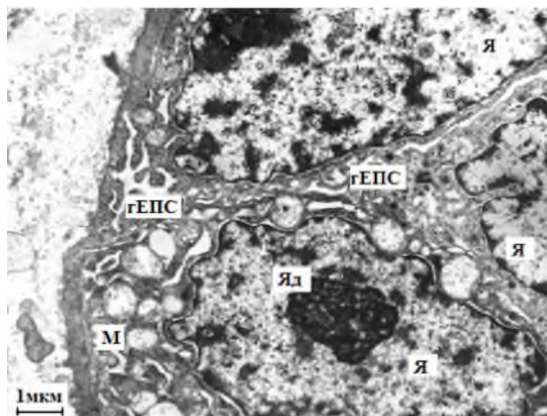


Рис. 4. Група пухлинних клітин РГЗ з експресією HER-2 з набрякними мітохондріями та розширеними цистернами гранулярної ендоплазматичної сітки: гЕПС – гранулярна ендоплазматична сітка

білкового синтезу і секреції (табл. 4, рис. 5). Це відповідає і наявності у пухлинах цих груп окремих протокових структур. Помітною є фагоцитарна активність ПК. Крім того, спостерігаються і темні функціонально неактивні клітини з пікнотичним ядром, розширеним перинуклеарним простором, численними вакуолями різного походження в цитоплазмі (рис. 6).

Слід відмітити деякі розбіжності між цими двома підтипами. Так, у групі з рецепторним статусом HER-2 ядра ПК часто мають трохи менший розмір (табл. 3), а частота ПК із фагосомами, хоч і недостовірно, але у 2,5 разу вища, ніж у трічі негативних пухлинах, а в

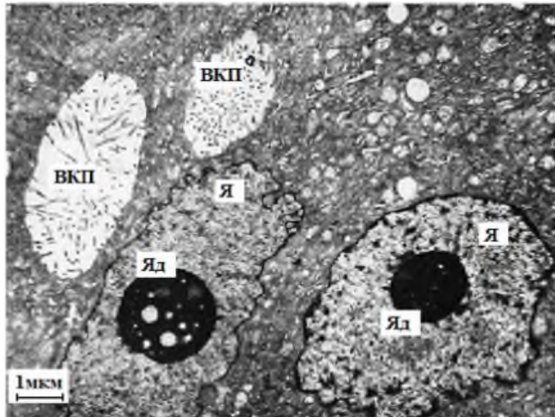


Рис. 5. Внутрішньоклітинні просвітки в пухлинній клітині РГЗ з експресією HER-2: ВКП – внутрішньоклітинний просвіток

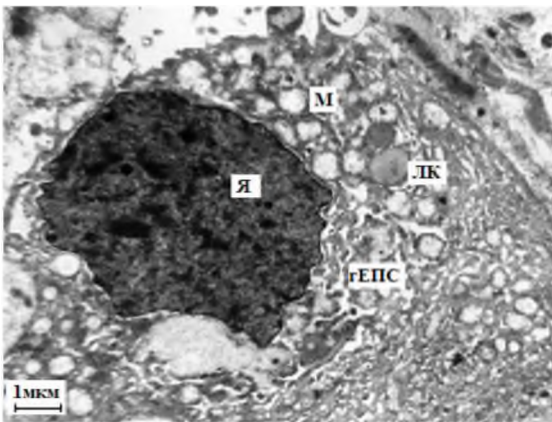


Рис. 6. Темна функціонально неактивна пухлинна клітина РГЗ з експресією HER-2 із пікнотичним ядром, набрякними мітохондріями, розширеними цистернами гранулярної ендоплазматичної сітки, окремими ліпідними краплинами: ЛК – ліпідна краплина

їхньому вмісті, на відміну від тричі негативних пухлин, виявляють навіть цілі фагоцитовані клітини (табл. 4, рис. 7).

Таким чином, основною функцією ПК цих груп, незважаючи на відмінності, є ріст і ділення, про що свідчать такі ультраструктурні ознаки, як переважання в популяції недиференційованих та низькодиференційованих ПК великого розміру, висока частота ПМЯ, підвищений рівень Ki-67, виражена фагоцитарна активність. Ультраструктурні особливості ПК із великими ядрами можуть свідчити про причетність їх до поліплоїдних форм.

Тонка будова клітин у пухлинах, позитивних до гормональних рецепторів (RE та RE + RP), помітно відрізняється від описаної для нелюмінальних підтипів, але багато в чому і

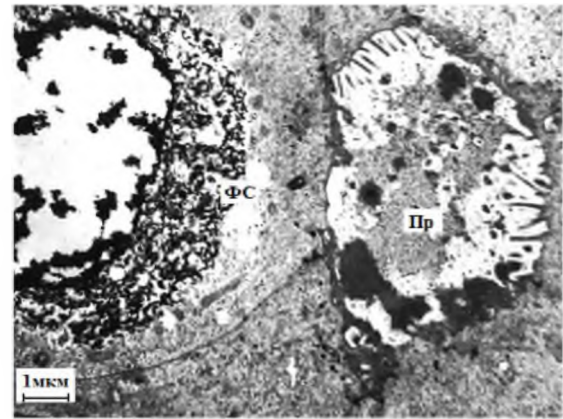


Рис. 7. Пухлинна клітина РГЗ з експресією HER-2 у стінці протокової структури, яка містить захоплену клітину у стані перетравлювання: Пр – просвіток протоку; ФС – фагосома із захопленою клітиною

схожі. Було виявлено, що ПК часто утворюють протокові структури з центральним просвітком, які тісно прилягають одне до одного. Клітини в таких структурах переважно невеликі, мають округлі світлі ядра з деконденсованим хроматином та гладким контуром, іноді з чітким ядрцем, причому ПК із великими ядрами в цих групах або відсутні (RE), або їхня кількість достовірно нижче (RE + RP), ніж у нелюмінальних підтипах (табл. 3, рис. 8). У цитоплазмі розташовується небагато органел: окремі мітохондрії і вузькі профілі гЕПС, групи первинних та вторинних лізосом, а у просвітку виявляється серозна речовина. Трапляються також ПК із помітною білково-син-

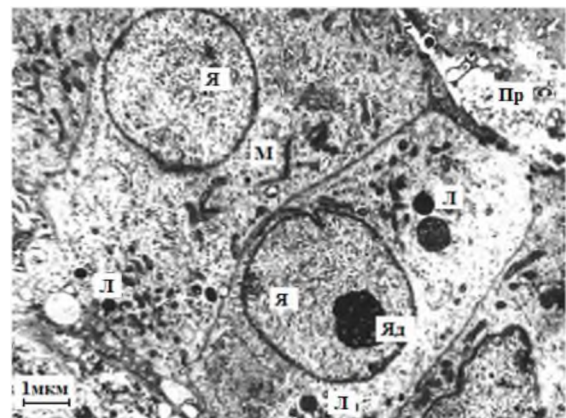


Рис. 8. Протокоподібна структура в пухлинній тканині РГЗ з експресією рецепторів естрогенів і прогестерону, утворена з невеликих пухлинних клітин із дрібними ядрами та невеликою кількістю органел у цитоплазмі: Л – лізома



тетичною функцією, причому одні з них містять у цитоплазмі досить великі серозні вакуолі (рис. 9), а інші набувають вираженої поляр-

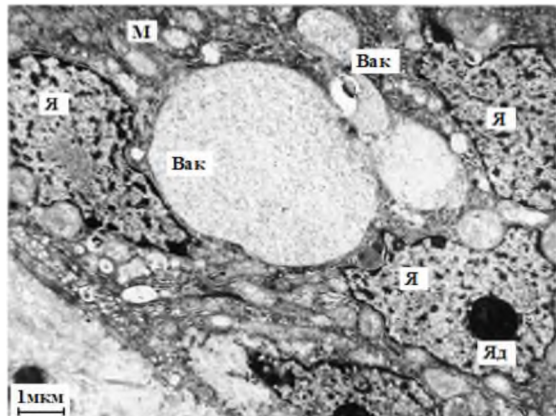


Рис. 9. Група пухлинних клітин РГЗ з експресією рецепторів естрогену і прогестерону з великими вакуолями, які містять серозну речовину:  
Вак – вакуоль

ності, коли в апікальному відділі накопичуються секреторні гранули та комплекс Гольджі, а в базальному – зосереджуються мітохондрії та гЕПС (рис. 10). Серед ПК описаної струк-

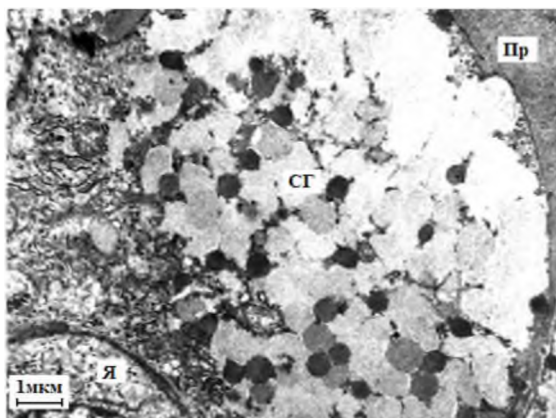


Рис. 10. Пухлинна клітина РГЗ з експресією рецепторів естрогену і прогестерону з безліччю серозних гранул в апікальному відділі протокової структури:  
СГ – серозна гранула

тури знаходяться світлі недиференційовані форми, які, очевидно, виконують роль стовбурових клітин (рис. 11). У окремих випадках протокові структури складаються з ПК, у яких ядра відмічаються плейоморфністю (рис. 12). Проте, на відміну від плейоморфноядерних ПК у пухлинах із гормонально-негативним статусом (3-нег і HER-2), для яких, крім порушень форми ядра, характерним є великий розмір і наявність дрібнодисперсного хроматину (еухрома-

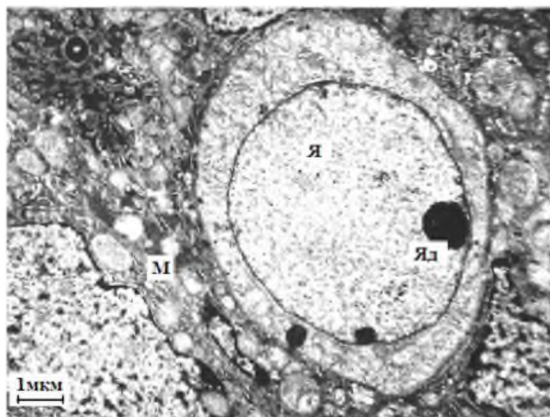


Рис. 11. Невелика світла недиференційована пухлинна клітина РГЗ з експресією рецепторів естрогенів і прогестерону у стінці протокової структури

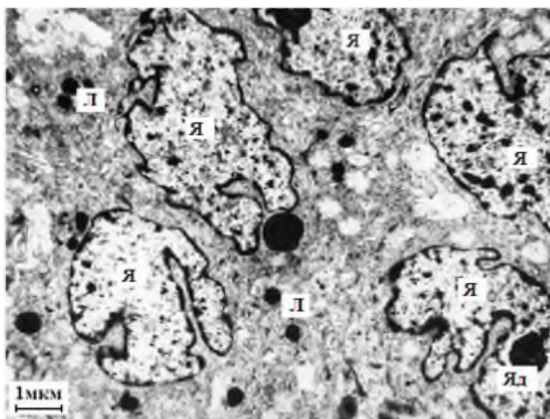


Рис. 12. Група пухлинних клітин РГЗ із плейоморфними ядрами у стінці протокової структури

тин), ці ПК значно менші за розміром, а хроматин у ядрі часто зібраний грудками.

Найхарактернішою рисою пухлин цих груп є наявність у цитоплазмі ПК ВКП, які за функцією є аналогами протокового просвітку. Внутрішньоклітинні просвітки являють собою округлі порожнини, оточені мембраною з ворсинками, зверненими до просвітку, де знаходиться осміофільна субстанція, яка, очевидно, є продуктом білково-синтетичної діяльності ПК і надходить до просвітку внаслідок секреторних процесів (рис. 13) [23]. Такі структури виявляються не тільки у клітинах РГЗ, але й у деяких інших тканинах і пухлинах, наприклад, у тироцитах та ПК аденокарцином різного генезу, що може бути результатом стимуляції метаболічних процесів [24–26]. Їхнє виникнення реєстрували в культурах клітин аденокарциноми товстої кишки при додаванні в культуральне середовище глюкози, тироцитів

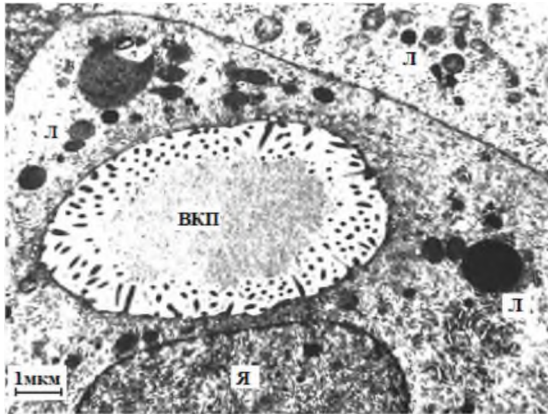


Рис. 13. Пухлинна клітина РГЗ з експресією рецепторів естрогену і прогестерону у стінці протокової структури, яка містить внутрішньоклітинний просвіток та багато лізосом у цитоплазмі

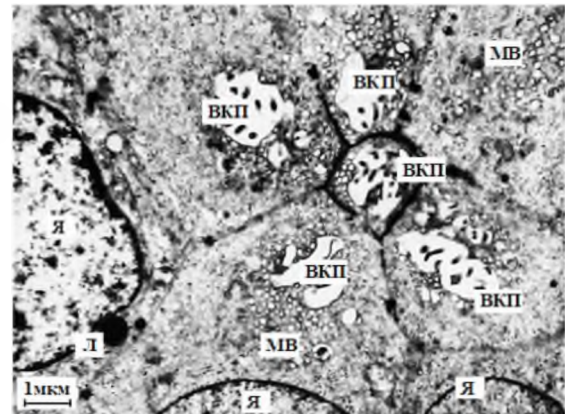


Рис. 14. Група пухлинних клітин РГЗ з експресією рецепторів естрогену і прогестерону, що утворюють розеткоподібну структуру з мікроевезикулами, з яких формуються внутрішньоклітинні просвітки: МВ – мікроевезикули

при стимуляції ТТГ, у гепатоцитах під час росту та утворення жовчних капілярів [27–29]. Автори [27–29] указують на те, що ВКП утворюється з мембран апарату Гольджі, і висловлюють думку, що ВКП не тільки беруть участь у процесах секреції, але можуть мати відношення до створення дійсних просвітків, наприклад, жовчних каналців у культурі клітин печінки. Отже, ця структура, крім секреторної, може виконувати ще одну функцію – формування за певних умов справжніх просвітків (залози, фолікули, протоки, каналці) шляхом об'єднання ВКП різних клітин із виникненням єдиної порожнини. Окремі етапи цього процесу було зафіксовано в даному дослідженні. У розташованих у вигляді розетки ПК, з'єднаних десмосомами, виявляються кластери мікроевезикул, які зливаються з утворенням ВКП (рис. 14). Мембрани розміщених в апікальному відділі пухлинних клітин ВКП об'єднуються з плазматичною мембраною, і їхній вміст за принципом екзоцитозу поступає до протокового просвітку, який має глибокі виїмки на місці колишніх ВКП (рис. 15). Уважаючи, що однією з функцій естрогенів є утворення протоків, не дивним стає наявність ВКП при гормонально-позитивному рецепторному статусі [30].

Між частотою ВКП та показником проліферативної активності (Ki-67) для різних рецепторних субтипів спостерігається зворотна кореляція ( $r=0,82$ ;  $p=0,044$ ), як і між частотою ВКП та ПМЯ ( $r=0,93$ ;  $p=0,006$ ). Таким чином, чим більше один із цих показників, тим мен-

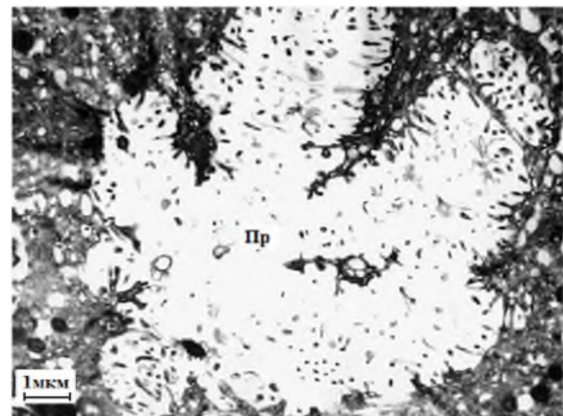


Рис. 15. Просвіток новоутвореної протокової структури в пухлинній тканині РГЗ з експресією рецепторів естрогену і прогестерону з виїмками на місці ВКП

ше виражений інший, і навпаки. Це може свідчити про два протилежні процеси, які відбуваються в пухлинах різних субтипів, синтетичних та проліферативних, що, очевидно, пов'язано із впливом на діяльність ядра відповідних рецепторів або гормональних, або HER-2. При цьому наявність ВКП свідчить про синтез і секрецію, а Ki-67 та ПМЯ – про ріст і ділення. Постійним компонентом пухлин цих груп, як, утім, і інших, є темні функціонально неактивні форми та ПК у стані мітотичного ділення.

Якщо ультраструктурні картини обох груп із гормональними рецепторами в цілому виглядають однаковими, то при аналізі окремих досліджених показників виявляються деякі відмінності між цими молекулярними підти-



пами. Так, у пухлинах із двома гормональними рецепторами відмічається хоча й не достовірно, але помітне збільшення частоти плеїоморфних клітин (у 42,9 і 28,6 % відповідно) та наявність недиференційованих ПК із великими ядрами, тоді як показники проліферативної активності та частоти ВКП залишаються незмінними (рис. 16). Це може бути пов'язано

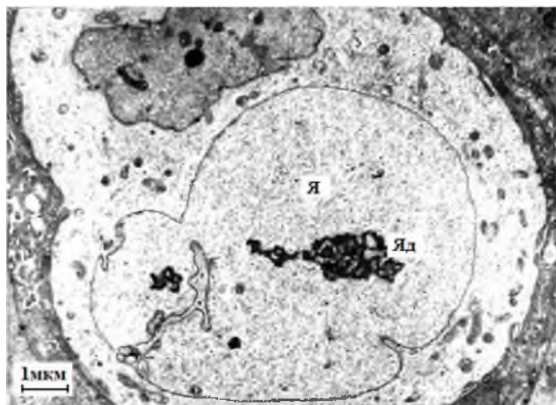


Рис. 16. Світла недиференційована клітина з великим плеїоморфним ядром у пухлині РГЗ з експресією рецепторів естрогену і прогестерону

з тим, що в грудній залозі естрогени і прогестерон з їхніми рецепторами відповідають за різні функції. Основною функцією естрогенів є утворення протоків, тоді як прогестерону – ріст [30]. Певним доказом подібного впливу RP можуть бути відомості, що при експресії тільки цього рецептора пухлина проявляє вкрай агресивний характер, можливо, через високу проліферативну активність і відсутність рецептора естрогену, який стримує цей процес [31].

Таким чином, структурно-функціональний стан ПК гормонально-позитивних пухлин свідчить про їхню синтетичну та секреторну активність, показником якої можна вважати частоту ВКП, тоді як проліферативна діяльність обмежена. Однак деякі відмінності між цими підтипами вказують на можливість взаємної модифікації не тільки ультраструктури ПК, але й властивостей самої пухлини.

При вивченні пухлин з ко-експресією гормональних рецепторів і HER-2 виявляються ультраструктурні ознаки, притаманні як гормональним рецепторам, так і HER-2. При цьому деякі з досліджених показників набувають значень, проміжних між такими за гормональних та нелюмінальних підтипів, що може бути

пов'язано з конкуренцією рецепторів естрогену та епідермального фактора росту людини 2 на ядерній мембрані. Оскільки механізми дії RE та HER-2 на ядро є різними (перший відповідає за синтез і секрецію, а другий – виключно за ріст і ділення), то наявність обох рецепторів на ядерній мембрані призводить, з одного боку, до зростання проліферативної активності відносно такої у групі RE, а з другого – до зниження цих процесів відносно показників групи HER-2. Саме тому показники, пов'язані з цією діяльністю, і набувають проміжних значень. Це стосується, зокрема, рівня Ki-67, частоти плеїоморфних ядер, а також зміни розміру ядер, які мають тенденцію до зменшення відсотка як дрібних, так і великих форм із переважанням ядер середнього розміру, що набуває достовірних значень при тричі позитивному рецепторному статусі, що теж може бути результатом сумісної дії цих рецепторів (табл. 4). Внесок гормональних рецепторів відмічається у вірогідному зниженні фагоцитарної активності в пухлинах із комбінованою експресією рецепторів відносно значень при HER-2 рецепторному статусі. І лише один показник не змінює рівня при ко-експресії досліджених рецепторів – це частота ВКП, яка залишається постійною в усіх групах з експресією RE, незалежно від наявності інших рецепторів. Очевидним є те, що RE на ядерній мембрані не має відношення до утворення цієї структури, але секреторні процеси можуть знаходитися під керівництвом того типу цього рецептора, що локалізується на цитоплазматичних мембранах. Для цієї версії подій є певні підстави, зокрема відомості про наявність форм рецепторів естрогенів з різною локалізацією [32].

Таким чином, у дослідженні вдалося встановити особливості розподілення пухлин РГЗ по групах із різним рецепторним статусом із переважанням наявності гормонально-позитивних пухлин унаслідок тієї ролі, яку відіграють жіночі стероїдні гормони у фізіологічних та патологічних механізмах впливу на грудну залозу.

Виявлено, що кожний досліджений молекулярний підтип має характерні особливості та ультраструктурні ознаки. Так, ультраструктурній організації РГЗ із нелюмінальними субтипами притаманні переважно великі (можливо, поліплоїдні) недиференційовані форми ПК

із великими, часто плейоморфними ядрами, функцією яких є ріст та ділення, чому відповідають найвищий рівень Ki-67, а також висока частота випадків із ПМЯ та фагосомами.

У пухлинах з експресією гормональних рецепторів невеликі клітини з малими ядрами об'єднуються у протокові структури, а найбільш характерною ознакою пухлин цих підтипів є наявність у цитоплазмі ВКП. Подібній будові відповідає помітна білково-синтетична та секреторна активність, що може пояснюватися механізмом дії жіночих стероїдних гормонів, які, приєднуючись до відповідних рецепторів, стимулюють ПК до вироблення та секреції білкового продукту. RE-позитивні пухлини мають найнижчі показники частоти ПМЯ, фагосом та рівня Ki-67 і високий показник частоти ВКП.

Пухлини комбінованих субтипів не мають будь-яких специфічних ультраструктурних особливостей, яких не було б у інших групах. Різниця полягає лише у зміні кількісних параметрів досліджених показників. Спостерігається взаємний вплив гормональних рецепторів та HER-2 на рівень процесів ділення, частоту плейоморфних ядер та співвідношення ядер різного розміру, очевидно, унаслідок конкуренції гормональних рецепторів та епідермального фактора росту за мішені, які переключають функціональну діяльність клітини на процеси або синтезу, або ділення.

Загальним для всіх досліджених груп є висока гетерогенність клітинної популяції, у якій крім характерних для кожної з них ПК наявні форми, притаманні іншим підтипам: протокові структури та ВКП у деяких випад-

ках нелюмінального раку; окремі великі клітини в комбінованих субтипах; темні функціонально неактивні клітини, які є показником темноклітинної загибелі; окремі випадки онкотичних пухлин; кальцифіковані ПК та ін. Це може бути пов'язано із взаємовпливом різних рецепторів при їхній ко-експресії, низьким вмістом окремих рецепторів, який неможливо визначити рутинними методами, наявністю неврахованих молекулярних факторів, функціональним станом пухлини внаслідок властивостей оточуючого середовища або станом цілісного організму.

Крім того, одержані результати свідчать про можливість використання електронно-мікроскопічного методу для виявлення в пухлинах із різним молекулярним підтипом клітинних форм, не характерних для цих субтипів, що має значення для терапевтичних і прогностичних цілей.

#### Висновки

1. Кожному дослідженому молекулярному підтипу притаманні характерні ультраструктурні ознаки, пов'язані з особливостями рецепторного стану пухлин.

2. Ультраструктурні показники мають тісний зв'язок як між собою, так і з проліферативною активністю.

3. Спостерігається гетерогенність популяції пухлинних клітин у кожному дослідженому випадку.

4. Ко-експресія двох-трьох рецепторів в одній пухлині значно модифікує досліджені параметри.

5. Проілюстровано шлях утворення внутрішньоклітинних просвітків у пухлинній клітині.

#### Список літератури

1. Рагимзаде С. Э. Рак молочной железы: эпидемиология, факторы риска, патогенез, диагностика, прогноз / С. Э. Рагимзаде // Міжнародний медичний журнал. – 2017. – Вип. 2. – С. 60–64.
2. Михайлович Ю. Й. Рак грудної залози, реальна проблема для вирішення на національному рівні / Ю. Й. Михайлович, А. В. Журбенко // Укр. радіол. журн. – 2016. – Додаток 1. XIII з'їзд онкологів та радіологів України (матеріали з'їзду) 26–28 травня 2016 р., м. Київ. – С. 7–8.
3. Organotropism: new insights into molecular mechanisms of breast cancer metastasis / W. Chen, A. D. Hoffmann, H. Lui, X. Lui // NPJ Precis. Oncol. – 2018. – Vol. 2, № 1. – P. 4.
4. Классификация опухолей молочной железы ВОЗ 2012 года / Г. А. Франк, Н. В. Данилова, Ю. Ю. Андреева, Н. А. Нефедова // Архив патологии. – 2013. – Т. 75, № 2. – С. 53–63.
5. Tumor heterogeneity of breast cancer: from morphology to personal medicine / M. A. Aleskandarany, M. E. Vandenberghe, S. Marehio [et al.] // Pathobiology. – 2018. – Vol. 85, № 1–2. – P. 23–34.
6. Molecular markers for breast cancer: prediction on tumor behavior / B. K. Banin Hirata, J. M. Oda, R. Losi Guembarovaki [et al.] // Dis. Markers. – 2014. – Vol. 2014. – P. 513158.
7. Wang G. S. Pathological feature and prognosis of different molecular subtypes of breast cancer / G. S. Wang, H. Zhu, S. J. Bi // Mol. Med. Rep. – 2012. – Vol. 6, № 4. – P. 779–782.

8. *Haque M. M.* Pathways to endocrine therapy resistance in breast cancer / M. M. Haque, K. V. Desai // *Front. Endocrinol. (Lausanne)*. – 2019. – Vol. 10. – P. 573.
9. *Pohlmann P. P.* Resistance to Trastuzumab in breast cancer / P. P. Pohlmann, I. A. Mayer, R. Mernaugh // *Clin. Cancer Res.* – 2009. – Vol. 15, № 24. – P. 7479–7491.
10. Морфофункціональна гетерогенність клітин пухлин як показник їх патогенетичного потенціалу / О. М. Грабовий, М. Б. Зарецький, О. М. Потороча [та ін.] // *Клиническая онкология*. – 2011. – Спец. вип. II (XII з'їзд онкологів України, м. Судак, Автономна Республіка Крим, 20–22 вересня 2011 р.). – С. 20.
11. *Electron microscopy in biology: a practical approach (practical approach series)* / ed. by J. R. Harris ; ed. by series D. Richwood, B. D. Hames. – New York : Oxford University Press, 1991. – 308 p.
12. Сусликов В. И. Максимально правдоподобная оценка достоверности различия между результатами наблюдения, когда ожидаемое количество особей с наличием эффекта или его отсутствием в одной (или нескольких) группе (группах) меньше пяти / В. И. Сусликов // Тез. докл. 2-й Всесоюзной конф. по фармакологии противолучевых препаратов (Москва, 20–24 ноября 1972 г.). – М. : Институт биофизики МЗ СССР, 1972. – С. 38.
13. *Yang Z.* Human epidermal growth factor receptor 2 status modulates receptor alpha in breast cancer cells / Z. Yang, C. J. Barnes, R. Kumar // *Clin. Cancer Res.* – 2004. – Vol. 10, № 11. – P. 3621–3628.
14. The number of polyploid giant cancer cells and epithelial-mesenchymal transition-related proteins are associated with invasion and metastasis in human breast cancer / F. Fei, D. Zhang, Z. Yang [et al.] // *J. Exp. Clin. Cancer Res.* – 2015. – Vol. 34. – Article number 158.
15. Identification of selective lead compounds for treatment of high-ploidy breast cancer / A. Choudhary, B. Zachek, R. F. Lera [et al.] // *Mol. Cancer Ther.* – 2016. – Vol. 15, № 1. – P. 48–59.
16. Tumor budding, micropapillary pattern, and polyploidy giant cancer cells in colorectal cancer: current status and future prospects / S. Zhang, D. Zhang, Z. Yang, X. Zhang // *Stem Cells Int.* – 2016. – Vol. 2016. – Article ID 4810734.
17. Small-molecule inhibitor BMS-777607 induces breast cancer cell polyploidy with increased resistance to cytotoxic chemotherapy agents / S. Sharma, J. Y. Zeng, C. M. Zuang [et al.] // *Mol. Cancer Ther.* – 2013. – Vol. 12, № 5. – P. 725–736.
18. *Геращенко Б. І.* Поліплоїдизація як адаптивна відповідь і прояв резистентності злоякісних пухлин / Б. І. Геращенко, К. Салміна, Е. Еренпрейса // *Укр. радіол. журн.* – 2016. – Додаток 1 (XIII з'їзд онкологів та радіологів України, м. Київ, 26–28 травня 2016 р.). – С. 50.
19. «To be or not to be in good shape»: diagnostic and clinical value of nuclear shape irregularities in thyroid and breast cancer / G. Bussolati, F. Maletta, S. Asioli [et al.] // *Cancer Biology and the Nuclear Envelope. Advances in Experimental Medicine and Biology* / ed. by E. Schirmer, J. de las Heras. – N.Y. : Springer, 2014. – Vol. 773. – P. 101–121.
20. Loss of A-type lamin expression compromises nuclear envelope integrity in breast cancer / C. D. Capo-chichi, K. Q. Cao, J. Smedberg [et al.] // *Chin. J. Cancer.* – 2011. – Vol. 30, № 6. – P. 415–425.
21. Correlation of microvessel density with nuclear pleomorphism, mitotic count and vascular invasion in breast and prostate cancers at preclinical and clinical levels / S. Muhammadnejad, A. Muhammadnejad, M. Haddadi [et al.] // *Asian. Pac. J. Cancer Prev.* – 2013. – Vol. 14, issue 1. – P. 63–68.
22. Prognostic implication of p53 protein expression in relation to nuclear pleomorphism and the MIB-1 counts in breast cancer / S. Tsutsui, K. Yasuda, H. Higashi [et al.] // *Breast Cancer.* – 2004. – Vol. 11, № 2. – P. 160–168.
23. *Remy L.* The intracellular lumen: origin, role and implication of a cytoplasmic neostructure / L. Remy // *Biol. Cell.* – 1986. – Vol. 56, issue 2. – P. 97–105.
24. *Гордиенко В. М.* Ультраструктура эндокринной системы / В. М. Гордиенко, В. Г. Козырницький. – К. : Здоров'я, 1978. – 288 с.
25. *Лукашова О. П.* Ультраструктура клітин аденокарциноми тіла матки після застосування різних схем передопераційного променевого та хемопроменевого лікування / О. П. Лукашова, О. А. Міхановський, О. В. Слободянюк // *Укр. радіол. журн.* – 2008. – Т. XVI, вип. 2. – С. 163–170.



26. Ультроструктура немелкоклеточного рака легких и окружающих его тканей / О. П. Лукашова, В. И. Стариков, С. Ю. Басилайшвили [и др.] // *Новости хирургии*. – 2016. – Т. 24, № 2. – С. 162–169.
27. Remy L. Origin of intracellular lumina in HT 29 colonic adenocarcinoma cell line. An ultrastructural study / L. Remy, J. Marvaldi // *Virchows Arch. B. Cell. Pathol. Incl. Mol. Pathol.* – 1985. – Vol. 48, № 2. – P. 145–153.
28. Thyroid follicular morphogenesis mechanism: organ culture of the fetal gland as an experimental approach / L. Remy, B. Verrier, M. Michel-Bechet [et al.] // *J. Ultrastruct. Res.* – 1983. – Vol. 82, issue 3. – P. 283–295.
29. Intracellular lumina and bile canaliculi in rat hepatocytes in vitro – a cytochemical study / L. Remy, C. Chalvet, J. P. Ripert, A. Gerolami // *Acta Histochem.* – 1989. – Vol. 85, issue 1. – P. 87–92.
30. *Теппермен Д.* Физиология обмена веществ и эндокринной системы / [Теппермен Д., Теппермен Х. М.] ; пер. с англ. В. И. Кандрора ; под ред. Я. И. Ажипы. – М. : Мир, 1989. – 656 с.
31. ER-/PR+/HER2-breast cancer type shows the highest proliferative activity among all other combined phenotypes and is more common in young patients: Experience with 6643 breast cancer cases / V. Arena, I. Pennacchia, F. M. Vecchio, A. Carbone // *Breast J.* – 2019. – Vol. 25, issue 3. – P. 381–385.
32. ERbeta from mitochondria to nucleus during estrogen-induced neoplastic transformation of human breast epithelial cells and is involved in estrogen-induced synthesis of mitochondrial respiratory chain proteins / J. Q. Chen, P. A. Russo, C. Cooke [et al.] // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2007. – Vol. 1773, issue 12. – P. 1732–1746.

### References

1. Ragimzade S.E. (2017). Rak molochnoi zhelezy: epidemiolohiia, faktory riska, patohenez, diahnostika [Breast cancer: epidemiology, risk factors, pathogenesis, diagnosis, prognosis]. *Mizhnarodnyi medychnyi zhurnal – International Medical Journal*, issue 2, pp. 60–64. <http://www.imj.kh.ua/archive/2017/2/13>.
2. Mykhailovych Yu.I., Zhurbenko A.V. (2016). Rak hrudnoi zalozy, realna problema dlia vyrishennia na natsionalnomu rivni [Breast cancer is a real problem to be addressed nationally]. *Ukrainskyi radiolohichnyi zhurnal – Ukrainian Radiological Journal*, suppl. 1. XIII Congress of Oncologists and Radiologists of Ukraine (materials of the Congress) May 26–28, 2016, Kyiv, pp. 7–8. [http://medradiologia.org.ua/assets/files/dodatok/dodat\\_2016\\_1.pdf](http://medradiologia.org.ua/assets/files/dodatok/dodat_2016_1.pdf).
3. Chen W., Hoffmann A.D., Lui H., Lui X. (2018). Organotropism: new insights into molecular mechanisms of breast cancer metastasis. *NPJ Precis. Oncol.*, vol. 2, № 1, p. 4. DOI: 10.1038/s41698-018-0047-0, PMID: 29872722, PMCID: PMC5871901.
4. Frank H.A., Danilova N.V., Andreieva Yu. Yu., Nefedova N.A. (2013). Klassifikatsiia opukholei molochnoi zhelezy VOZ 2012 hoda [2012 WHO Breast Tumor Classification]. *Arkhiv patolohii – Archive of Pathology*, vol. 75, № 2, pp. 53–63. Retrieved from <https://www.mediasphera.ru/issues/arkhiv-patologii/2013/2/1000419552013021053> [in Russian].
5. Aleskandarany M.A., Vandenberghe M.E., Marchio C., Ellis I.O., Sapino A., Rakha E.A. (2018). Tumor heterogeneity of breast cancer: from morphology to personal medicine. *Pathobiology*, vol. 85, № 1–2, pp. 23–34. DOI: 10.1159/000477851, PMID: 29428954.
6. Hirata B.K.B., Oda J.M., Guembarovaki R.L., Ariza C.B., de Oliveira C.E.C., Watanabe M.A.E. (2014). Molecular markers for breast cancer: prediction on tumor behavior. *Dis. Markers*, vol. 2014, pp. 513158. DOI: 10.1155/2014/513158, PMID: 24591761, PMCID: PMC3925609.
7. Wang G.S., Zhu H., Bi S.J. (2012). Pathological feature and prognosis of different molecular subtypes of breast cancer. *Mol. Med. Rep.*, vol. 6, № 4, pp. 779–782. DOI: 10.3892/mmr.2012.981, PMID: 22797840.
8. Haque M.M., Desai K.V. (2019). Pathways to endocrine therapy resistance in breast cancer. *Front. Endocrinol. (Lausanne)*, vol. 10, pp. 573. DOI: 10.3389/fendo.2019.00573, PMID: 31496995, PMCID: PMC6712962.
9. Pohlmann P.P., Mayer I.A., Mernaugh R. (2009). Resistance to Trastuzumab in breast cancer. *Clin. Cancer Res.*, vol. 15, № 24, pp. 7479–7491. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-09-0636, PMID: 20008848, PMCID: PMC3471537.

10. Hrabovyi O.M., Zaretskyi M.B., Potorocha O.M., Antoniuk S.A., Velykoshapko A.D. (2011). Morfofunktsionalna heterohennist klityn pukhlyn yak pokaznyk yikh patohenetychnoho potentsialu [Morphofunctional heterogeneity of tumor cells as an indicator of their pathogenetic potential]. *Klinicheskaiia onkologhiia – Clinical Oncology*, special issue II (XII zyzd onkologiv Ukrainy, m. Sudak, Avtonomna Respublika Krym, 20–22 veresnia 2011 r. Materialy zyzdu – XII Congress of Oncologists of Ukraine, Sudak, Autonomous Republic of Crimea, September 20–22, 2011. Proceedings of the Congress), pp. 20. Retrieved from <https://www.clinicaloncology.com.ua/wp/wp-content/uploads/2011/10/16-26.pdf> [in Ukrainian].

11. Harris J.R. (Eds.). (1991). *Electron microscopy in biology*. (In the practical approach series). D. Richwood, B.D. Hames (Series ed.). N.Y.: Oxford University Press, 308 p. <https://doi.org/10.1002/jemt.1070220211>.

12. Suslikov V.I. (1972). Maksimalno pravdopodobnaia otsenka dostovernosti razlichiiia mezhdur rezultatami nabliudeniia, kohda ozhidaiemoie kolichestvo osobei s nalichiiem efekta ili yeho otsutstviem v odnoi (ili neskolkikh) hruppe (hruppakh) menshe piati [The most plausible estimate of the reliability of the difference between the observation results when the expected number of individuals with the presence of an effect or its absence in one (or several) group(s) is less than five]. Proceedings from *Tezisy dokladov 2-i Vsesoiuznoi konferentsii po farmakologii protivoluchevykh preparatov (h. Moskva, 20–24 noiabria 1972 h.) – Abstracts of the 2nd All-Union conference on the pharmacology of antiradiation drugs (Moscow, November 20–24, 1972)*. Moscow: Institut biofiziki MZ SSSR, pp. 38. [in Russian].

13. Yang Z., Barnes C.J., Kumar R. (2004). Human epidermal growth factor receptor 2 status modulates receptor alpha in breast cancer cells. *Clin. Cancer Res.*, vol. 10, № 11, pp. 3621–3628. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-0740-3, PMID: 15173068.

14. Fei F., Zhang D., Yang Z., Wang Sh., Wang X., Wu Zh. et al. (2015). The number of polyploid giant cancer cells and epithelial-mesenchymal transition-related proteins are associated with invasion and metastasis in human breast cancer. *J. Exp. Clin. Cancer Res.*, vol. 34, article number 158. DOI: 10.1186/s13046-015-0277-8, PMID: 26702618, PMCID: PMC4690326.

15. Choudhary A., Zachek B., Lera R.F., Zasadil L.M., Lasek A., Denu R.A. et al. (2016). Identification of selective lead compounds for treatment of high-ploidy breast cancer. *Mol. Cancer Ther.*, vol. 15, № 1, pp. 48–59. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-15-0527, PMID: 26586723, PMCID: PMC4707107.

16. Zhang S., Zhang D., Yang Z., Zhang X. (2016). Tumor budding, micropapillary pattern, and polyploidy giant cancer cells in colorectal cancer: current status and future prospects. *Stem Cells Int.*, vol. 2016, article ID 4810734. DOI: 10.1155/2016/4810734, PMID: 27843459, PMCID: PMC5097820.

17. Sharma S., Zeng J.Y., Zuang C.M., Zhou Y.-Q., Yao H.-P., Hu X. et al. (2013). Small-molecule inhibitor BMS-777607 induces breast cancer cell polyploidy with increased resistance to cytotoxic chemotherapy agents. *Mol. Cancer Ther.*, vol. 12, № 5, pp. 725–736. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-12-1079, PMID: 23468529.

18. Herashchenko B.I., Salmina K., Erenpreisa E. (2016). Poliploidyzatsiia yak adaptivna vidpovid i proiav rezystentnosti zloiakisykh pukhlyn [Polyploidization as an adaptive response and manifestation of resistance of malignant tumors]. *Ukrainskyi radiolohichnyi zhurnal – Ukrainian Radiological Journal*, suppl. 1. (XIII zyzd onkologiv ta radiolohiv Ukrainy, m. Kyiv, 26–28 travnia 2016 r. – XIII Congress of Oncologists and Radiologists of Ukraine, Kyiv, May 26–28, 2016), pp. 50. Retrieved from [http://medradiologia.org.ua/assets/files/dodatok/dodat\\_2016\\_1.pdf](http://medradiologia.org.ua/assets/files/dodatok/dodat_2016_1.pdf) [in Ukrainian].

19. Bussolati G., Maletta F., Asioli S., Annaratone L., Sapino A., Marchio C. (2014). «To be or not to be in good shape»: diagnostic and clinical value of nuclear shape irregularities in thyroid and breast cancer. Proceedings from Schirmer E., de las Heras J. (Eds.). *Cancer Biology and the Nuclear Envelope. Advances in Experimental Medicine and Biology*, vol. 773. Springer, N.Y. (pp. 101–121). [https://doi.org/10.1007/978-1-4899-8032-8\\_5](https://doi.org/10.1007/978-1-4899-8032-8_5).

20. Capo-chichi C.D., Cao K.Q., Smedberg J., Ganjei-Azar P., Godwin A.K., Xu X.-X. (2011). Loss of A-type lamin expression compromises nuclear envelope integrity in breast cancer. *Chin. J. Cancer*, vol. 30, № 6, pp. 415–425. DOI: 10.5732/cjc.010.10566, PMID: 21627864, PMCID: PMC3941915.

21. Muhammadnejad S., Muhammadnejad A., Haddadi M., Oghabian M., Mohagheghi M., Tirgari F. et al. (2013). Correlation of microvessel density with nuclear pleomorphism, mitotic count and vascular

invasion in breast and prostate cancers at preclinical and clinical levels *Asian. Pac. J. Cancer Prev.*, vol. 14, issue 1, pp. 63–68. DOI: 10.7314/APJCP.2013.14.1.63.

22. Tsutsui S., Yasuda K., Higashi H., Tahara K., Sugita S., Eguchi H. et al. (2004). Prognostic implication of p53 protein expression in relation to nuclear pleomorphism and the MIB-1 counts in breast cancer. *Breast Cancer*, vol. 11, № 2, pp. 160–168. DOI: 10.1007/BF02968296, PMID: 15550862.

23. Remy L. (1986). The intracellular lumen: origin, role and implication of a cytoplasmic neostructure. *Biol. Cell*, vol. 56, issue 2, pp. 97–105. DOI: 10.1111/j.1768-322x.1986.tb00446.x, PMID: 2941104.

24. Hordiienko V.M., Kozyrnitskii V.H. (1978). *Ultrastruktura endokrinnoi sistemy [Endocrine system ultrastructure]*. Kiev: Zdorovia, 288 p. [in Russian].

25. Lukashova O.P., Mikhanovskyi O.A., Slobodianiuk O.V. (2008). Ultrastruktura klityn adenokartsynomy tila matky pislia zastosuvannya riznykh skhem peredoperatsiinoho promenevoho ta khemopromenevoho likuvannya [Ultrastructure of uterine body adenocarcinoma cells after different protocols of pre-operative radiation and chemotherapy]. *Ukrainskyi radiolohichnyi zhurnal – Ukrainian Radiological Journal*, vol. XVI, issue 2, pp. 163–170. Retrieved from [https://medradiologia.org.ua/assets/files/arch/2008/2/p163\\_170.pdf](https://medradiologia.org.ua/assets/files/arch/2008/2/p163_170.pdf) [in Ukrainian].

26. Lukashova O.P., Starikov V.I., Basylaishvili S.Yu., Bely A.N., Teslenko I.N. (2016). Ultrastruktura nemelkokletochnoho raka lehkikh i okruzhaiuschikh yeho tkanei [Ultrastructure of Non-Small Cell Lung Cancer and the Surrounding Tissues]. *Novosti khirurgii – Surgery News*, vol. 24, № 2, pp. 162–169. DOI: 10.18484/2305-0047.2016.2.162 [in Russian].

27. Remy L., Marvaldi J. (1985). Origin of intracellular lumina in HT 29 colonic adenocarcinoma cell line. An ultrastructural study. *Virchows Arch. B. Cell. Pathol. Incl. Mol. Pathol.*, vol. 48, № 2, pp. 145–153. DOI: 10.1007/BF02890123, PMID: 2859687.

28. Remy L., Verrier B., Michel-Bechet M., Mazzella E., Athouel-Haon A.M. (1983). Thyroid follicular morphogenesis mechanism: organ culture of the fetal gland as an experimental approach. *J. Ultrastruct. Res.*, vol. 82, issue 3, pp. 283–295. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0022-5320\(83\)80015-X](https://doi.org/10.1016/S0022-5320(83)80015-X).

29. Remy L., Chalvet C., Ripert J.P., Gerolami A. (1989). Intracellular lumina and bile canaliculi in rat hepatocytes in vitro – a cytochemical study. *Acta Histochem.*, vol. 85, issue 1, pp. 87–92. DOI: 10.1016/S0065-1281(89)80103-5, PMID: 2540607.

30. Teppermen J., Teppermen H.M. (1989). *Fiziolohiia obmena veschestv i endokrinnoi sistemy [Metabolic and endocrine physiology]*. (V.I. Kandror, Trans.). Ya.I. Azhipa (Ed.). Moscow: Mir, 656 p. [in Russian].

31. Arena V., Pennacchia I., Vecchio F.M., Carbone A. (2019). ER-/PR+/HER2- breast cancer type shows the highest proliferative activity among all other combined phenotypes and is more common in young patients: Experience with 6643 breast cancer cases. *Breast J.*, vol. 25, issue 3, pp. 381–385. DOI: 10.1111/tbj.13236, PMID: 30916428.

32. Chen J.Q., Russo P.A., Cooke C., Russo I.H., Russo J. (2007). ERbeta from mitochondria to nucleus during estrogen-induced neoplastic transformation of human breast epithelial cells and is involved in estrogen-induced synthesis of mitochondrial respiratory chain proteins. *Biochim. Biophys. Acta*, vol. 1773, issue 12, pp. 1732–1746. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2007.05.008, PMID: 17604135.

**О.П. Лукашова, А.Н. Белый, В.С. Пахомов, С.В. Шутков, И.Н. Тесленко**  
**СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ КЛЕТОК РАКА ГРУДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**  
**С РАЗЛИЧНЫМ РЕЦЕПТОРНЫМ СТАТУСОМ**

Изучены особенности структурно-функционального состояния опухолевых клеток рака грудной железы (РГЖ) в группах первичных больных с разными молекулярными подтипами рака. У 75 первичных больных РГЖ иммуногистохимическим методом определяли рецепторный статус опухоли и индекс пролиферативной активности Ki-67. Больных распределили на шесть групп: трижды негативный рак, HER-2, RE, RE + PR, RE + HER-2-позитивные подтипы рака и трижды позитивный рак. Стандартными методами электронной микроскопии исследована ультраструктура опухолевых клеток (ОК). Установлено, что ультраструктуре ОК нелюминальных субтипов РГЖ присущи преимущественно крупные (возможно, полиплоидные) недифференцированные формы с большими, часто плейоморфными ядрами (ПМЯ), функцией которых является рост и деление, чему соответствует высокий уровень Ki-67, а также высокая частота случаев с ПМЯ и фагосомами. Для опухолей с экспрессией гормональных рецепторов наиболее характерным признаком является наличие в цитоплазме внутриклеточных просветов (ВКП), что свидетельствует о заметной белково-синтетической



и секреторной активности. RE-позитивные опухоли имеют самые низкие показатели частоты ПМЯ и фагосом, а также уровня Ki-67 и высокую частоту ВКП. В опухолях комбинированных субтипов, которые не имеют специфических ультраструктурных признаков, наблюдается взаимное влияние гормональных рецепторов и HER-2 на уровень процессов деления, частоту ПМЯ и соотношение ядер разного размера, очевидно, вследствие конкуренции гормональных рецепторов и HER-2 за мишени, которые переключают функциональную деятельность клетки на процессы либо синтеза, либо деления. Общим для всех исследованных групп является высокая гетерогенность клеточных популяций, в которых кроме характерных для каждой из них имеют место формы, присущие иным субтипам. Установлено, что каждому из исследованных молекулярных подтипов присущи характерные ультраструктурные признаки, связанные с особенностями рецепторного статуса опухоли. Выявлена тесная корреляционная связь ультраструктурных показателей с пролиферативной активностью. Наблюдается гетерогенность популяции ОК в каждом исследованном случае. Ко-экспрессия двух–трех рецепторов значительно модифицирует исследованные параметры. Проиллюстрированы этапы образования внутриклеточных просветов в ОК.

*Ключевые слова:* рак грудной железы, ультраструктура, рецепторные субтипы.

*O.P. Lukashova, A.N. Belyi, V.S. Pakhomov, S.V. Shutov, I.N. Teslenko*

#### THE STRUCTURAL AND FUNCTIONAL STATE OF BREAST CANCER TUMOR CELLS WITH DIFFERENT RECEPTOR STATUS

The structural and functional state of breast cancer tumor cells (TC) in groups of primary patients with different molecular subtypes of cancer was studied. In 75 primary patients with breast cancer, the receptor status of the tumor and the proliferative activity index Ki-67 were determined by the immunohistochemical method. Patients were divided into the following 6 groups: triple negative cancer, HER-2, RE, RE + RP, RE + HER-2 positive subtypes of cancer and three times positive cancer. Using standard methods of electron microscopy, the ultrastructure (US) of TC was investigated. It has been established that the US of the TC of the non-luminal breast cancer subtypes is predominantly characterized by large (possibly polyploid) undifferentiated forms with large, often pleiomorphic nuclei (PMN), whose function is growth and division, which corresponds to a high level of Ki-67, as well as a high incidence of PMN and phagosomes. For tumors with the expression of hormonal receptors, the most characteristic feature is the presence of intracellular lumens in the cytoplasm, which indicates a noticeable protein-synthetic and secretory activity. RE-positive tumors have the lowest frequency of PMN and phagosomes, as well as the level of Ki-67, and a high frequency of intracellular lumens. In tumors of combined subtypes that do not have specific US signs, there is a mutual influence of hormonal receptors and HER-2 on the level of fission processes, the frequency of PMN and the ratio of nuclei of different sizes, obviously, due to the competition of hormonal receptors and HER-2 for targets that switch the functional activity of the cell or synthesis or division processes. Common to all the studied groups is the high heterogeneity of cell populations, in which, in addition to the characteristic for each of them, forms inherent in other subtypes are present. It has been established that each of the studied molecular subtypes has inherent characteristic US signs associated with the characteristics of their receptor status. A close correlation between the US indicators and proliferative activity was revealed. The heterogeneity of the TC population is observed in each of the studied cases. Co-expression of two to three receptors significantly modifies the studied parameters. The stages of the formation of intracellular gaps in the TC are illustrated.

*Keywords:* breast cancer, ultrastructure, receptor subtypes.

*Надійшла 26.06.20*

#### Відомості про авторів

*Лукашова Ольга Петрівна* – старший науковий співробітник, провідний науковий співробітник лабораторії радіаційної онкології державної установи «Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва Національної академії медичних наук України».

Адреса: Україна, 61024, м. Харків, вул. Пушкінська, буд. 82, Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва Національної академії медичних наук України.

Тел.: +38(050)780-63-90.

E-mail: [olga.petrovna.Lukashova@e-mail.com](mailto:olga.petrovna.Lukashova@e-mail.com).

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4518-5104>.

---

*Білий Олександр Миколайович* – кандидат медичних наук, старший науковий співробітник відділу онкологічної хірургії державної установи «Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва Національної академії медичних наук України», доцент кафедри онкології, радіології та радіаційної медицини Харківського національного університету ім. В.Н. Каразіна.

Адреса: Україна, 61024, м. Харків, вул. Пушкінська, буд. 82, Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва Національної академії медичних наук України.

Тел.: +38(067)280-73-89.

E-mail: abely@ukr.net.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6267-0331>.

*Пахомов Володимир Сергійович* – хірург-онколог державної установи «Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва Національної академії медичних наук України».

Адреса: Україна, 61024, м. Харків, вул. Пушкінська, буд. 82, Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва Національної академії медичних наук України.

Тел.: +38(099)791-04-02.

E-mail: pakhomovvladimir77@gmail.com.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2386-769X>.

*Шутов Сергій Владиславович* – кандидат медичних наук, хірург-онколог державної установи «Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва Національної академії медичних наук України».

Адреса: Україна, 61024, м. Харків, вул. Пушкінська, буд. 82, Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва Національної академії медичних наук України.

Тел.: +38(050)323-74-29.

E-mail: shutovsv@rambler.ru.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3956-3930>.

*Тесленко Ірина Миколаївна* – лаборант I категорії лабораторії радіаційної онкології державної установи «Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва Національної академії медичних наук України».

Адреса: Україна, 61024, м. Харків, вул. Пушкінська, буд. 82, Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва Національної академії медичних наук України.

Тел.: +38(099)791-04-02.

E-mail: pakhomovvladimir77@gmail.com.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7011-911X>.