

ОСОБЕННОСТИ МОРФОЛОГИЧЕСКОГО СТРОЕНИЯ ЛЮМИНАЛЬНОГО А ТИПА РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

**М.В. Завьялова^{1,2}, Н.С. Телегина², С.В. Вторушин^{1,2}, В.М. Перельмутер^{1,2},
Е.М. Слонимская^{1,2}, Е.В. Денисов¹, Н.В. Чердынцева^{1,2}, С.В. Паталяк¹**

ФГБУ «НИИ онкологии СО РАМН», г. Томск¹

*ГОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет», г. Томск²
634050, г. Томск, пер. Кооперативный, 5, e-mail: zavyalovamv@mail.ru¹*

Показано, что люминальный А тип рака молочной железы характеризуется выраженной морфологической гетерогенностью. Это проявляется разнообразием строения инфильтративного компонента первичного опухолевого узла, в котором широко варьирует представительство разных типов структур. С разнообразием инфильтративного компонента опухоли и наличием в нем микроальвеолярных структур оказалась сопряженной частота метастатического поражения лимфатических узлов. При этом ни морфологические особенности новообразования, ни параметры лимфогенного метастазирования не были сопряжены с гематогенной диссеминацией, что не позволяет рассматривать их в качестве прогностических критериев.

Ключевые слова: рак молочной железы, люминальный А тип, лимфогенное метастазирование, гематогенное метастазирование.

MORPHOLOGICAL STUDY OF LUMINAL BREAST CANCER

M.V. Zavyalova^{1,2}, N.S. Telegina², S.V. Vtorushin^{1,2}, V.M. Perelmutter^{1,2}, E.M. Slonimskaya^{1,2},

E.V. Denisov¹, N.V. Cherdynseva^{1,2}, S.V. Patalyak¹

Cancer Research Institute, SB RAMS, Tomsk¹

Siberian State Medical University, Tomsk²

5, Kooperativny Street, 634050-Tomsk, Russia, e-mail: zavyalovamv@mail.ru¹

Luminal A breast cancer has been shown to be characterized by the marked morphological heterogeneity. It is manifested by the variety of the infiltrative component structure of the primary tumor in which different structure types vary widely. The frequency of metastatic involvement of lymph nodes has appeared to associate with a variety of infiltrative component of the tumor and the presence of microalveolar structures in it. Neither morphological patterns of the lesion nor parameters of lymphogenic metastasis were associated with hematogenous dissemination, thus allowing no them to be considered as prognostic criteria.

Key words: breast cancer, luminal A subtype, lymphogenic metastasis, hematogenous metastasis.

Согласно современным воззрениям, рак молочной железы (РМЖ) является гетерогенным заболеванием. Предложенная С.М. Perou et al. (2000) молекулярная классификация базируется на основе генетического анализа и выделяет несколько биологических подтипов опухолей [4]. Наиболее часто встречается люминальный А тип, составляющий 30–45 % наблюдений. Эти опухоли являются эстроген-зависимыми, преимущественно диагностируются у женщин, находящихся в менопаузе, характеризуются позитивным рецепторным статусом и, как следствие, обладают высокой чувствительностью к гормональной терапии (тамоксифен, ингибиторы ароматазы) [1, 3]. Кроме того, при люминальном А типе РМЖ определяется негативная экспрессия HER-2/неу и низкая пролиферативная активность (экспрессия Ki67 менее 14 %). Для этой группы,

по сравнению с остальными, характерны низкие показатели рецидивирования и высокий уровень общей выживаемости [5].

Однако, несмотря на достаточно благоприятные биологические характеристики люминального типа А рака молочной железы, у больных этой группы возможно возникновение как лимфогенной, так и гематогенной диссеминации и, в конечном итоге, наблюдается различный исход заболевания. С этой точки зрения актуальным является поиск дополнительных морфологических параметров, позволяющих прогнозировать риск развития метастазирования.

Целью исследования явились изучение особенностей морфологического строения люминального А рака молочной железы и оценка их связи с лимфогенным и гематогенным метастазированием.

Материал и методы

Исследовался операционный материал от 101 больной с люминальным А типом рака молочной железы стадии $T_{1-3}N_{0-3}M_0$, проходившей лечение в отделении общей онкологии ФГБУ «НИИ онкологии» СО РАМН в период с 2000 по 2007 г. Средний возраст больных составил $55,9 \pm 10,5$ года. Большинство больных находилось в состоянии менопаузы – 66 % ($p=0,0000$) (средний возраст – $60,8 \pm 6,9$ года), у 34 % пациенток менструальная функция была сохранена (средний возраст – $43,4 \pm 3,7$ года). При оценке распространенности опухолевого процесса чаще отмечались I (32,6 %) и II A (36,6 %) стадии заболевания.

В большинстве случаев (95 %) регистрировалось одностороннее поражение, при этом в 52 % наблюдений опухоли локализовались в левой и в 48 % – в правой молочной железе. У 5 (5 %) больных опухоли были обнаружены в двух молочных железах, причем в 3 (60 %) случаях они возникали синхронно, в 2 (40 %) – метастатично. При одностороннем поражении новообразования чаще располагались в наружных квадрантах – в 54 %, реже на границе наружных и внутренних квадрантов – 26 %, во внутренних квадрантах – в 10,5 %, в центральных отделах молочной железы – в 9,5 % наблюдений. В 21 (20,7 %) случае определялся мультицентрический характер роста РМЖ, который у 10 больных проявлялся клинически, у 11 пациенток был диагностирован только при гистологическом исследовании операционного материала. У 79 % женщин выявлялся только один опухолевый узел в молочной железе.

Все больные получили комбинированное лечение в виде оперативного вмешательства в объеме радикальной мастэктомии или радикальной резекции и гормональной терапии (ингибиторы ароматазы или тамоксифен) в течение 5 лет. Макроскопической оценке подвергалась ткань первичной опухоли, ткань молочной железы вне новообразования (для определения возможного скрытого мультицентрического роста опухоли) и все удаленные лимфатические узлы.

Материал фиксировался в 10–12 % растворе нейтрального формалина. Проводка материала и изготовление гистологических препаратов осуществлялись по стандартной методике. Препараты окрашивались гематоксилином и эозином. Гистологический тип рака устанавливался согласно рекомендациям ВОЗ (2003). Степень злокачественности оценивалась по модифицированной схеме P. Scarff,

H. Bloom, W. Richardson. При этом учитывали количество тубулярных и протоковых структур, число митозов и клеточный полиморфизм.

В препаратах, окрашенных гематоксилином и эозином, в случаях уницентрического одностороннего инвазивного протокового рака молочной железы детально оценивалось строение инфильтративного компонента [2, 6]. В нем выделялись микроальвеолярные, трабекулярные, тубулярные, солидные структуры и дискретные группы опухолевых клеток. В каждом случае подсчитывалось число разных типов структур в инфильтративном компоненте. Выраженность стромального компонента опухоли определялась по 3-балльной системе: 1 балл – слабо выражена (паренхиматозный компонент составляет $>70\%$), 2 балла – умеренно выраженная (паренхиматозный компонент составляет $<70\% - >10\%$), 3 балла – резко выраженная (паренхиматозный компонент составляет $<10\%$). Также по 3-балльной системе оценивалась выраженность воспалительной инфильтрации и гиалиноза стромы (1 балл – слабо выражено, 2 балла – умеренно выражено, 3 балла – резко выражено).

Иммуногистохимическое исследование осуществлялось по стандартной методике. Применялись антитела фирмы «Dako» к рецепторам эстрогена (клон 1D5, RTU, мышинные), к рецепторам прогестерона (клон PgR636, RTU, мышинные), к онкопротеину c-erbB-2 (рабочее разведение 1:500, кроличьи), к Ki67 (клон MIB-1, RTU, мышинные), фирмы «Novocastra» к p53 (клон CM1, рабочее разведение 1:150), к bcl2 (клон bcl2/100/D5, рабочее разведение 1:80), к E-кадгерину (клон 36B5, рабочее разведение 1:30), к TGF β (клон TGF β 17, рабочее разведение 1:50), к TGF β R1 (клон 8A11, рабочее разведение 1:50), фирмы «Diagnostic Biosistem» к α -катенину (поликлональные, рабочее разведение 1:50).

Оценка экспрессии рецепторов к половым гормонам проводилась количественным методом гисто-счета (Histo-Score). При этом подсчитывались процент позитивных клеток и показатель экспрессии в баллах.

HER-2/neu негативными считали случаи с отсутствием окрашивания или слабым прерывистым мембранным окрашиванием. К HER-2/neu позитивным относили препараты с интенсивным непрерывным мембранным окрашиванием более чем в 30 % клеток. Случаи с умеренным непрерывным мембранным окрашиванием более чем в 30 % клеток или интенсивным непрерывным мем-

бренным окрашиванием менее чем в 10 % клеток, требующие выявления наличия амплификации гена HER-2/neu методом FISH или CISH/SISH, не включались в исследование. Экспрессия Ki67, p53, bcl2, Е-кадхерина, α -катенина, TGF β , к TGF β R оценивалась в процентном содержании клеток с экспрессией изучаемых маркеров на 1000 клеток в 10 полях зрения при большом увеличении микроскопа ($\times 400$). Люминальными А считались опухоли с позитивной экспрессией рецепторов к эстрогенам и прогестерону, негативной экспрессией HER-2/neu и низкой пролиферативной активностью с экспрессией Ki67 менее 14 %.

Обработка полученных данных выполнялась с использованием пакета программ «Statistica 6.0 for Windows». Применялся дисперсионный анализ и критерий χ^2 . Обсуждаются результаты с достоверностью различий при $p < 0,05$ и с тенденцией различий при $p < 0,1$.

Результаты и обсуждение

Доминирующей гистологической формой, встречающейся в 92 (91 %) наблюдениях, являлся инвазивный протоковый рак, гораздо реже диагностировался инвазивный дольковый – в 4 % ($p = 0,0000$) и редкие формы опухоли, такие как слизистый, тубулярный, медулярный, микропапиллярный – в 5 % случаев ($p = 0,0000$). У больных с инвазивным протоковым раком (ИПР) молочной железы преобладали опухоли со второй (умеренной) степенью злокачественности – 90 % наблюдений, реже наблюдались случаи с первой (низкой) – 8 % ($p = 0,0000$) и с третьей (высокой) – 2 % ($p = 0,0001$) степенью злокачественности.

Опухоли мономорфного строения, состоящие преимущественно из одного типа структур, выявлялись редко – в 3 % случаев. В основном встречались более разнообразные опухоли, состоящие из двух – 18 % ($p = 0,005$), трех – 41 % ($p = 0,0000$), четырех – 24 % ($p = 0,0000$) или даже пяти – 14 % случаев ($p = 0,004$) разных типов структур. В инфильтративном компоненте преимущественно выявлялись трабекулярные (86 %) и микроальвеолярные (73 %) структуры, а также мелкие группы опухолевых клеток (71 %) (табл. 1).

В целом, стромальный компонент опухоли был слабо – 35 % ($p = 0,0003$) или умеренно – 52 % ($p = 0,0000$) выраженным. При этом в большинстве опухолей наблюдалась либо минимально (59 %), либо умеренно выраженная (34 %) воспалительная инфильтрация. Выраженные проявления инфи-

Таблица 1

Представительство разных типов структур в инфильтративном компоненте опухоли

Тип структур		Количество больных (абс. ч., %)	
		Нет	Есть
1	Трабекулярные	13/92 (14 %)	79/92 (86 %) $p_2 = 0,0000$ $p_3 = 0,0000$
2	Тубулярные	49/92 (53 %)	43/92 (47 %)
3	Солидные	46/92 (50 %)	46/92 (50 %)
4	Микроальвеолярные	25/92 (27 %)	67/92 (73 %) $p_2 = 0,0002$ $p_3 = 0,0008$
5	Группы опухолевых клеток	27/92 (29 %)	65/92 (71 %) $p_2 = 0,0006$ $p_3 = 0,002$

трации стромы были отмечены в 7 % наблюдений ($p = 0,0000$ и $p = 0,0000$ соответственно).

При анализе рецепторного статуса отмечались, преимущественно, высокие значения экспрессии рецепторов к эстрогенам и к прогестерону. Средние показатели составляли $71,4 \pm 25,5$ % и $62,9 \pm 33,1$ % соответственно. Аналогичными оказались и результаты исследования показателей экспрессии рецепторов к эстрогенам и к прогестерону – $139,4 \pm 74,3$ и $132,7 \pm 85,3$.

Большая часть изученных опухолей обладала благоприятными биологическими характеристиками: в них достаточно часто наблюдалась позитивная экспрессия показателей апоптоза: p53 – в 67 %, bcl2 – в 79 %, позитивная экспрессия маркеров межклеточной адгезии: Е-кадхерина – в 79 %, α -катенина – в 71 %, экспрессия TGF β – в 62 % и рецептора к TGF β – в 67 % новообразований. Эти новообразования характеризовались низкой пролиферативной активностью, высоким процентом экспрессии bcl2, Е-кадхерина и α -катенина (табл. 2).

В настоящем исследовании проводилось сопоставление морфологических и биологических параметров первичной опухоли с разными формами прогрессии: ростом опухолевого узла, лимфогенным и гематогенным метастазированием. При этом выявлена взаимосвязь размера первичной опухоли с некоторыми морфологическими параметрами новообразования. Так, при локализации опухолевого узла в центральных отделах молочной железы определялись более крупные образования, чем при локализации в наружных квадрантах – $4,3 \pm 5,2$ см и $1,9 \pm 1,4$ см ($p = 0,009$). При этом опухоли размером более 5 см в сравнении с новообразованиями

Таблица 2

**Доля опухолевых клеток, экспрессирующих
маркеры апоптоза, пролиферативной
активности, межклеточной адгезии,
TGFβR и TGFβL**

Маркеры	Уровень экспрессии, %
p53 (n=16)	66,6 ± 40,5
bcl2 (n=19)	73,4 ± 32,6
Ki67 (n=101)	3,6 ± 3,1
Е-кадхерин (n=19)	51,3 ± 33,0
α-катенин (n=24)	61,5 ± 33,2
TGFβL (n=15)	57,3 ± 38,5
TGFβR (n=16)	18,3 ± 12,1

величиной от 2 до 5 см характеризовались более выраженной воспалительной инфильтрацией – $3,6 \pm 3,1$ балла и $1,9 \pm 1,0$ балл ($p=0,01$) и более низким уровнем экспрессии рецепторов к прогестерону – $23,7 \pm 16,5$ % и $66,3 \pm 31,9$ % соответственно.

По результатам морфологического исследования операционного материала метастазы в аксиллярные лимфатические узлы диагностированы у 40 % больных. У большей части пациентов – в 64 % наблюдений – их количество не превышало 3 (N_1), по сравнению с N_2 – 25 % ($p=0,002$) и N_3 – 11 % ($p=0,0001$). Анализ сопряженности лимфогенного метастазирования и морфологического строения первичной опухоли показал, что опухолевое поражение лимфатических узлов выявлялось чаще при большом разнообразии инфильтративного компонента первичного опухолевого узла ($\chi^2=13,3$; $p=0,009$) и наличии в нем микроальвеолярных структур ($\chi^2=4,4$; $p=0,03$). Следует отметить, что данная закономерность прослеживалась только у больных, находящихся в менопаузе. Каких-либо других значимых взаимосвязей выявлено не было.

Отдаленные гематогенные метастазы за 5-летний период наблюдения развились у 10,1 % больных. Сопряженности этого вида прогрессирования заболевания с параметрами, характеризующими особенности морфологического строения первичного опухолевого узла, а также лимфогенного метастазирования не отмечено.

Заключение

Выполненное исследование показало, что люминальный А РМЖ с точки зрения морфологического строения не является мономорфным. Разнообразие, прежде всего, нашло отражение в спектре нозологи-

ческих форм. Наряду с доминирующим инвазивным протоковым раком молочной железы наблюдались инвазивный дольковый и редкие формы опухоли. Кроме того, в случаях с инвазивным протоковым раком инфильтративный компонент был разнообразным, представленным несколькими типами структур. Чаще это были микроальвеолярные, трабекулярные структуры или дискретно расположенные группы опухолевых клеток. С определенными особенностями морфологического строения первичной опухоли, в частности с большим разнообразием инфильтративного компонента и наличием в нем микроальвеолярных структур, оказалась связанной частота метастатического поражения лимфатических узлов. В целом, эти данные аналогичны тем, которые были выявлены нами ранее и показаны на общей выборке РМЖ [6]. Однако следует отметить, что ни морфологические особенности первичной опухоли, ни параметры лимфогенного метастазирования не были сопряжены с гематогенной диссеминацией, от которой в большей мере и зависит продолжительность и качество жизни больных раком молочной железы. Подобного рода факт можно рассматривать как особенность люминального А типа рака молочной железы, при котором характеристики морфологического строения первичной опухоли, а также наличие и выраженность лимфогенного метастазирования не могут рассматриваться в качестве прогностических параметров.

Работа поддержана ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России на 2009–2013 годы» (16.740.11.0606 и 8595) и Грантом Президента Российской Федерации (договор 14.122.13.491-МД).

ЛИТЕРАТУРА

- Кулигина Е.Ш. Эпидемиологические и молекулярные аспекты рака молочной железы // Практическая онкология. 2010. Т. 11, № 4. С. 203–216.
- Перельмутер В.М., Завьялова М.В., Вторушин С.В. и др. Взаимосвязь морфологической гетерогенности инфильтрирующего протокового рака молочной железы с различными формами опухолевой прогрессии // Сибирский онкологический журнал. 2007. № 3 (23). С. 58–64.
- Parker J.S., Mullins M., Cheang M.C. et al. Supervised risk predictor of breast cancer based on intrinsic subtypes // J. Clin. Oncol. 2009. Vol. 27 (8). P. 1160–1167.
- Perou C.M., Sorlie T., Eisen M.B. et al. Molecular portraits of human breast tumours // Nature. 2000. Vol. 406 (6797). P. 747–752.
- Weigelt B., Mackay A., A'hern R. et al. Breast cancer molecular profiling with single sample predictors: a retrospective analysis // Lancet Oncol. 2010. Vol. 11 (4). P. 339–349.
- Zavyalova M.V., Perelmutter V.M., Vtorushin S.V. et al. The presence of alveolar structures in invasive ductal NOS breast carcinoma is associated with lymph node metastasis // Diagn. Cytopathol. 2013. Vol. 41 (3). P. 279–282.

Поступила 12.10.12