

ОСОБЕННОСТИ ЛИМФОГЕННОГО МЕТАСТАЗИРОВАНИЯ ПРИ ЛЮМИНАЛЬНОМ А ТИПЕ 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,
Н.А. Скрябин³, К.Ю. Христенко²**

ФГБУ «НИИ онкологии» СО РАМН, г. Томск¹

ГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Томск²

ФГБУ «НИИ медицинской генетики» СО РАМН, г. Томск³

634050, г. Томск, пер. Кооперативный, 5, e-mail: zavyalovamv@mail.ru¹

Выполненное исследование позволило выявить значительную неоднородность группы люминального А типа рака молочной железы, проявляющуюся различиями взаимосвязи частоты лимфогенного метастазирования с морфологическими и молекулярно-биологическими параметрами первичного опухолевого узла. Частота возникновения регионарных метастазов оказалась связанной с наличием микроальвеолярных структур в инфильтративном компоненте инвазивного протокового рака и с его фенотипическим разнообразием только у больных, находящихся в менопаузе. Это может свидетельствовать о различиях в патогенезе опухолевого процесса у больных с разным состоянием менструальной функции даже в пределах одной молекулярно-генетической группы опухолей. Важно подчеркнуть, что различные варианты клинического поведения люминального рака типа А сопряжены с морфологическими параметрами опухоли, что делает легкодоступным получение дополнительной информации при гистологическом исследовании биопсийного материала для прогнозирования течения этой формы рака молочной железы.

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

LYMPHOGENIC METASTASIS IN LUMINAL-TYPE A BREAST CANCER

M.V. Zavjalova^{1,2}, N.S. Telegina², S.V. Vtorushin^{1,2}, V.M. Perelmuter^{1,2}, E.M. Slonimskaya^{1,2}, E.V. Denisov¹, N.V.Cherdyntseva^{1,2},
S.V. Patalyak¹, N.A. Skryabin³, K.Yu. Khristenko²

Cancer Research Institute, SB RAMS, Tomsk¹,

Siberian State Medical University, Tomsk²

Research Institute of Medical Genetics, SB RAMS³

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

The present study has found significant heterogeneity of luminal A breast cancer group, which is manifested by differences in relationship between the frequency of lymphogenic metastasis and morphologic and molecular-biological parameters of the primary tumor. The frequency of regional metastases has appeared to relate to the presence of microalveolar structures in infiltrating component of invasive ductal breast cancer and to its phenotypic variety only in menopausal patients. It can be evidence of differences in tumor pathogenesis in patients with different state of menstrual function even within one molecular-genetic tumor group. It is important to emphasize that the different variants of clinical behavior of luminal A breast cancer are associated with morphological parameters of the tumor, allowing one to easily obtain the additional information during histological examination of bioptic material for predicting clinical course of luminal-type A breast cancer.

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

Рак молочной железы занимает лидирующие позиции по показателям заболеваемости женского населения онкологической патологией [1, 4]. В настоящее время актуальным является поиск новых подходов к прогнозированию течения этого заболевания. Большое внимание уделяется возможности индивидуализации прогноза. С этой точки зрения наиболее эффективным считается модифицированная молекулярно-генетическая

классификация рака молочной железы (РМЖ), предложенная С.М. Пероу в 2000 г. и основанная на кластерном анализе группы из 465 генов [6, 7]. Согласно данной классификации наиболее обширной и благоприятной в прогностическом аспекте считается группа РМЖ люминального А типа [2, 5]. Однако и в этой группе встречаются случаи с лимфогенным и отдаленным метастазированием, что может быть обусловлено гетерогенностью

группы РМЖ люминального А типа. Этот феномен требует углубленного изучения.

Целью исследования явилось изучение особенностей лимфогенного метастазирования при люминальном А типе рака молочной железы с выявлением дополнительных параметров, характеризующих первичный опухолевый узел и, возможно, ассоциированных с риском лимфогенной диссеминации процесса.

Материал и методы

Морфологической оценке подвергался операционный материал от 101 больной с люминальным А типом рака молочной железы стадии $T_{1-3}N_{0-3}M_0$, получавших лечение в отделении общей онкологии ФГБУ «НИИ онкологии» СО РАМН в период с 2000 по 2007 г. Предоперационной терапии пациенткам не проводилось. Объем операции соответствовал радикальной резекции или радикальной мастэктомии. Макроскопически изучались ткань первичной опухоли, ткань молочной железы вне новообразования (для определения возможного скрытого мультицентрического роста) и все удаленные лимфатические узлы.

Материал фиксировался в 10 % 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 и W. Richardson. При этом учитывали количество тубулярных и протоковых структур, число митозов и клеточный полиморфизм.

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 (поликлональные, 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 Е-кадхерину (клон 36B5, рабочее разведение 1:30), к TGFβ (клон TGFβ17, рабочее разведение 1:50), к TGFβR1 (клон 8A11, рабочее разведение 1:50), фирмы «Diagnostic Biosistem» к α-катенину (поликлональные, рабочее разведение 1:50). Экспрессия

рецепторов к половым гормонам оценивалась по 3-балльной шкале (слабая, средняя и выраженная степени). Для оценки выраженности экспрессии рецепторов к эстрогену и прогестерону определялся процент клеток, имеющих рецепторы, и «показатель экспрессии». При оценке экспрессии рецепторов к онкопротеину c-erbB-2 учитывали мембранное окрашивание изучаемого маркера. HER2/neu-позитивными считали случаи с интенсивной (+++) мембранной экспрессией.

Экспрессия Ki67, p53, bcl2, Е-кадхерина, α-катенина, TGFβ, к TGFβR оценивалась по процентному содержанию позитивно окрашенных клеток на 1000 клеток в 10 полях зрения при большом увеличении микроскопа (×400).

К люминальному типу А относили опухоли с позитивной экспрессией рецепторов к эстрогенам и прогестерону, негативной экспрессией HER2/neu и низкой пролиферативной активностью (с экспрессией Ki67 менее 13 %). В препаратах, окрашенных гематоксилином и эозином, в случаях уницентрического одностороннего инвазивного протокового РМЖ оценивалось строение инфильтративного компонента. В нем выделялись микроальвеолярные, трабекулярные, тубулярные, солидные структуры и дискретные группы опухолевых клеток. В каждом случае подсчитывалось число разных типов структур в инфильтративном компоненте.

В ткани лимфоузлов оценивалось метастатическое поражение, определялась степень замещения ткани лимфоузла метастазом. Выделялось 4 степени замещения: до 10 %, 10–50 %, 50–75 % и тотальное замещение (более 75 %).

Обработка полученных данных выполнялась с использованием пакета программ «Statistica 6.0». 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

Средний возраст больных – $55,9 \pm 10,5$ года. Большинство (66 %) больных находилось в менопаузе (средний возраст – $60,8 \pm 6,9$ года), у 34 % пациенток менструальная функция была сохранена (средний возраст $43,4 \pm 3,7$ года). Поскольку полученные нами ранее результаты указывают на существенное значение для закономерностей лимфогенного метастазирования состояния менструальной функции пациенток [4, 8], мы и в настоящем

исследовании учитывали данный параметр. Оказалось, что лимфогенные метастазы выявлялись у 34 % больных с сохраненной менструальной функцией и у 44 % пациенток в менопаузе. Случаи с N_1 , N_2 , N_3 встречались приблизительно с одинаковой частотой как у больных с сохраненной менструальной функцией, так и в менопаузе. Среднее число вовлеченных в метастатический процесс лимфоузлов также не различалось в исследованных группах (сохраненная менструальная функция – $4,5 \pm 5,5$; менопауза – $3,8 \pm 3,1$ лимфоузла соответственно). Все случаи с минимальным (до 10 %) замещением метастазами ткани лимфоузлов наблюдались в группе больных в менопаузе. У пациенток с сохраненной менструальной функцией, напротив, чаще (в 80 %) присутствовало субтотальное замещение ($p=0,04$).

Достоверной связи между вероятностью лимфогенного метастазирования и такими общепризнанными морфологическими параметрами, как размер первичной опухоли и степень злокачественности, не прослеживалось ни в группе больных с сохраненной менструальной функцией, ни в менопаузе. Интересными и неожиданными оказались результаты сопоставления частоты лимфогенного метастазирования с выраженностью экспрессии рецепторов к половым гормонам. Оказалось, что как в группе больных с сохраненной менструальной функцией, так и у пациенток в менопаузе в случаях с наличием метастатического поражения лимфатических узлов регистрировался более высокий уровень экспрессии рецепторов к эстрогенам, по сравнению со случаями, когда лимфогенного метастазирования не было: менструальная функция сохранена – $89,4 \pm 21,1$ % и $59,2 \pm 23,8$ % ($F=8,2$; $p=0,008$), менопауза – $79,1 \pm 23,0$ % и $64,5 \pm 23,5$ % ($F=3,8$; $p=0,05$) соответственно.

Изучение особенностей лимфогенного метастазирования в группах больных с разнообразным строением инфильтративного компонента показало, что лишь у пациенток, находящихся в менопаузе, имеется достоверная связь частоты метастатического поражения ткани лимфатических узлов с количеством разных типов структур в инфильтративном компоненте первичной опухоли. Наиболее часто лимфогенные метастазы встречались в случаях со значительным морфологическим разнообразием опухолевого узла, когда в инфильтративном компоненте присутствовали сразу все (5 типов – 63 %)

или почти все (4 типа – 67 %) структуры. У больных с мономорфными опухолями, состоящими из какого-то одного типа структур, метастазов не было ($\chi^2=13,3$; $p=0,009$). В группе пациенток с сохраненной менструальной функцией подобного рода закономерности не выявлялось.

Также только у больных, находящихся в менопаузе, обнаружена связь частоты лимфогенного метастазирования с наличием микроальвеолярных структур в инфильтративном компоненте первичной опухоли. Так, в случаях с наличием подобных структур лимфогенные метастазы наблюдались в 61 %, при отсутствии таковых – в 13 % наблюдений ($\chi^2=8,8$; $p=0,002$). Подобного же рода закономерность прослеживалась и в отношении трабекулярных структур инфильтративного компонента (50 % и 0 %; $\chi^2=4,4$; $p=0,03$).

Дополнительный анализ результатов показал, что частота лимфогенного метастазирования у больных в менопаузе связана не столько с количеством разных типов структур инфильтративного компонента, сколько с наличием среди них микроальвеолярных структур, вероятность обнаружения которых возрастала с увеличением морфологической гетерогенности опухоли (таблица).

Только в группе больных, находящихся в менопаузе, лимфогенные метастазы выявлялись чаще при умеренном (67 %) или выраженном (75 %) гиалинозе стромы опухоли, в сравнении со случаями, когда гиалиноз отсутствовал или был очень слабо выражен (31 %) ($\chi^2=6,3$; $p=0,04$). Также только в группе больных в менопаузе отмечалась связь частоты лимфогенного метастазирования с выраженностью экспрессии α -катенина клетками первичной опухоли. При метастатическом поражении регионарных лимфатических узлов отмечался более высокий уровень экспрессии указанного маркера, по сравнению с пациентками, у которых лимфогенные метастазы отсутствовали, – $84,3 \pm 13,2$ % и $39,2 \pm 24,2$ % ($F=5,6$; $p=0,07$).

Проведенное исследование не выявило каких-либо существенных связей между экспрессией опухолевыми клетками p53, bcl-2, E-кадгерина, TGF β , TGF β R с частотой и особенностями лимфогенного метастазирования у пациенток с РМЖ люминального типа А.

Заключение

Выполненное исследование позволило выявить значительную неоднородность группы

Таблица

Частота лимфогенного метастазирования у больных с наличием и отсутствием микроальвеолярных структур в опухоли с учетом состояния менструальной функции и количества разных типов структур в инфильтративном компоненте

Количество типов структур в инфильтративном компоненте	Количество больных с лимфогенными метастазами			
	Менструальная функция сохранена		Менопауза	
	Микроальвеолярные	Прочие	Микроальвеолярные	Прочие
1	1/1 (100 %)	0/3 (0 %)	-	-
2	1/7 (14,2 %)	2/9 (22,2 %)	4/8 (50 %)	1/17 (5,9 %)
3	3/8 (37,5 %)	1/6 (16,7 %)	15/26 (58 %)	1/10 (10 %)
4	7/16 (43,7 %)	-	13/22 (59 %)	0/2 (0 %)
5	2/3 (66,7 %)	-	8/14 (57,1 %)	-
	$\beta=0,97$; $p=0,02$		$\beta=0,69$; $p=0,30$	

люминального А типа рака молочной железы, проявляющуюся различиями взаимосвязи лимфогенного метастазирования с морфологическими и молекулярно-биологическими параметрами первичного опухолевого узла. Несомненный интерес представляет факт выявления более частого метастатического поражения лимфоузлов в случаях высокодифференцированных опухолей, характеризующихся более высокими процентами экспрессии рецепторов к эстрогенам и к α -катенину.

В исследованной группе больных с люминальным А типом рака молочной железы подтверждены полученные нами ранее [4, 8] данные о связи лимфогенного метастазирования с морфологическим строением первичной опухоли, прежде всего с наличием микроальвеолярных структур в инфильтративном компоненте и с его фенотипическим разнообразием, только у больных, находящихся в менопаузе. Это может указывать на различия в патогенезе опухолевого процесса у больных с разным состоянием менструальной функции даже в пределах одной молекулярно-генетической группы опухолей. Важно подчеркнуть, что разные варианты клинического поведения люминального рака типа А сопряжены с морфологическими параметрами опухолей, что делает легкодоступным получение дополнительной информации для прогнозирования течения этой формы рака молочной железы.

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

1. Аксель Е.М., Давыдов М.И. Заболеваемость злокачественными новообразованиями населения России и стран СНГ в 2008 г // Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН. 2011. Т. 22, № 3. С. 54–92.
2. Кулигина Е.Ш. Эпидемиологические и молекулярные аспекты рака молочной железы // Практическая онкология. 2010. Т. 11, № 4. С. 203–216.
3. Перельмутер В.М., Завьялова М.В., Вторушин С.В. и др. Генетические и клинико-патологические особенности рака молочной железы у больных с сохраненной менструальной функцией и в менопаузе // Успехи геронтологии. 2008. Т. 21, № 4. С. 643–654.
4. Писарева Л.Ф., Бояркина А.П., Панферова Е.В. и др. Заболеваемость раком молочной железы женского населения Иркутской области. Факторы риска // Сибирский онкологический журнал. 2012. № 5 (53). С. 12–17.
5. 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.
6. Perou C.M., Sorlie T., Eisen M.B. et al. Molecular portraits of human breast tumours // Nature. 2000. Vol. 406. P. 747–752.
7. 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.
8. 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