

ХАРАКТЕРИСТИКА ГЕМАТОГЕННОГО МЕТАСТАЗИРОВАНИЯ ПРИ ДВУХСТОРОННЕМ РАКЕ МОЛОЧНЫХ ЖЕЛЕЗ

Е.А. Фесик¹, Н.В. Крахмаль¹, М.В. Завьялова^{1,2,3}, Е.М. Слонимская^{1,2},
С.В. Вторушин^{1,2}, В.М. Перельмутер^{1,2}

ГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет» МЗ РФ, г. Томск¹

Томский НИИ онкологии²

*Национальный исследовательский Томский государственный университет³
634050, г. Томск, Московский тракт, 2, e-mail: krakhmal@mail.ru¹*

Проведено сопоставление полученных морфологических и экспрессионных характеристик первичных опухолевых узлов у больных с двухсторонним синхронным и метакронным раком молочных желез (РМЖ) с особенностями гематогенного метастазирования. В исследование был включен операционный материал от 566 пациенток с инвазивной карциномой молочной железы неспецифического типа. Выявлено, что в группе больных с синхронным двухсторонним раком молочных желез отмечалась тенденция к меньшей частоте гематогенного метастазирования в сравнении с двухсторонним метакронным и односторонним РМЖ. В исследовании установлено, что при синхронном и метакронном двухстороннем раке молочных желез для прогнозирования гематогенного метастазирования следует использовать разные прогностические параметры. Риск гематогенного метастазирования при синхронном двухстороннем РМЖ ассоциирован с выраженным фиброзом стромы опухоли, мономорфным строением инфильтративного компонента, включающим меньшее число разных типов структур. При метакронном двухстороннем РМЖ наличие гематогенных метастазов сопровождалось более выраженным фиброзом стромы опухоли, более низким уровнем экспрессии рецепторов к эстрогенам, а также большим количеством метастатических лимфатических узлов.

Ключевые слова: билатеральный рак молочных желез, морфология, гематогенное метастазирование.

CHARACTERISTICS OF BILATERAL BREAST CANCER HEMATOGENOUS METASTASIS

E.A. Fesik^{1,2}, N.V. Krakhmal¹, M.V. Zavyalova^{1,2,3}, E.M. Slonimskaya^{1,2}, S.V. Vtoryshin^{1,2}, V.M. Perelmutter^{1,2}

Siberian State Medical University, Tomsk¹

Tomsk Cancer Research Institute, Tomsk²

Tomsk State University, Tomsk³

2, Moskovskiy Tract, 634050-Tomsk, Russia, e-mail: krakhmal@mail.ru¹

The article is devoted to the study the characteristics of hematogenous metastasis in bilateral synchronous and metachronous breast cancer. The comparison of the obtained expression and morphological characteristics of primary tumor nodules with features of hematogenous metastasis to identify prognostically significant parameters. The study included surgical material from 566 patients with invasive carcinoma of the non-specific type of breast cancer. The study found that in patients with synchronous bilateral breast cancer tended to have a lower incidence of hematogenous metastasis in comparison with two-sided and one-sided defeat of metachronous breast cancer. On the basis of studies performed in synchronous and metachronous bilateral breast cancer for predicting hematogenous metastasis is recommended to use different prognostic parameters. The risk of hematogenous metastasis in patients synchronous bilateral cancer associated with fibrosis of the stroma of the tumor, monomorphic structure infiltrative component comprising a smaller number of different types of structures. When metachronous bilateral lesions in the case of the presence of hematogenous metastasis was detected more severe fibrosis of the stroma of the tumor was determined a lower percentage rate and the expression of receptors for estrogen, as well as more and larger percentage of the affected lymph node metastases.

Key words: bilateral breast cancer, morphology, hematogenous metastasis.

Рак молочной железы (РМЖ) является одной из наиболее часто встречающихся злокачественных опухолей у женщин [3]. Известно, что РМЖ нередко сопровождается гематогенным метастазированием [9]. На поиск дополнительных параметров прогноза отдаленной диссеминации при РМЖ направлено большое число современных исследований [5, 8]. Однако при этом, как правило, изучается общая группа больных, без акцента на одностороннюю или двухстороннюю локализацию

процесса. Вместе с тем, по данным ряда авторов, частота билатерального рака молочных желез может достигать 20 % [3, 4, 7]. Кроме того, имеются данные о неодинаковой природе и течении двухсторонних опухолей [1].

Вышеперечисленные факты диктуют необходимость дифференцированного подхода к поиску прогностических маркеров гематогенного метастазирования при одностороннем и двухстороннем РМЖ.

Цель исследования – изучить морфологические и экспрессионные характеристики опухолевой ткани в зависимости от особенностей гематогенного метастазирования при двухстороннем синхронном и метакронном РМЖ с выделением прогностически значимых параметров.

Материал и методы

В исследование были включены 566 пациенток с инвазивной карциномой молочной железы неспецифического типа. Всем пациенткам было проведено оперативное лечение в объеме радикальной мастэктомии и радикальной резекции молочной железы. Гистологическому исследованию подвергалась как ткань первичной опухоли, так и все удаленные лимфатические узлы. Обработка материала, изготовление гистологических препаратов осуществлялись по стандартной методике; окраска препаратов проводилась гематоксилином и эозином. Гистологический тип рака устанавливался согласно рекомендациям ВОЗ (Женева, 2012).

Степень злокачественности оценивалась по модифицированной схеме P. Scarff, H. Bloom и W. Richardson. Соотношение паренхиматозного и стромального компонентов новообразования оценивалось по трехбалльной системе. В инфильтративном компоненте выделялись альвеолярные, трабекулярные, тубулярные, солидные структуры и дискретные группы опухолевых клеток (от 1 до 5 разных типов структур) [1]. Стромальный компонент опухоли характеризовался по выраженности гиалиноза и воспалительной инфильтрации. Выраженность гиалиноза и воспалительной инфильтрации стромы также оценивалась по трехбалльной системе (1 балл – слабо, 2 балла – умеренно, 3 балла – резко выражен).

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 (HER2/neu статус) (рабочее разведение 1:500, кроличьи), к Ki67 (клон MIB-1, RTU, мышинные). Оценка экспрессии рецепторов к половым гормонам проводилась количественным методом гисто-счета (Histo-Score). К HER2/neu позитивным относили случаи с интенсивным непрерывным мембранным окрашиванием более чем 30 % клеток. Экспрессия Ki67 оценивалась в

процентном содержании положительно окрашенных клеток в 10 полях зрения на 1 000 клеток при увеличении 400 раз.

В лимфатических узлах оценивалось наличие метастатического поражения, подсчитывалось количество лимфоузлов с метастазами. Сведения о частоте и сроках гематогенного метастазирования получали при анализе историй болезни или амбулаторных карт пациенток.

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

Из 566 случаев двухстороннее поражение наблюдалось у 42 (7 %) пациенток, односторонняя локализация РМЖ – у 524 (93 %) больных. У 22 (52 %) пациенток с двухсторонним раком регистрировались синхронные опухоли, метакронные опухоли регистрировались с той же частотой – 20 (48 %). Средний возраст в группах больных с односторонним и двухсторонним РМЖ не различался (при одностороннем он составлял $52,1 \pm 10,3$ года; при синхронном двухстороннем – $51,5 \pm 9,7$ года; при метакронном двухстороннем – $51,4 \pm 13,4$ года). Распределение пациентов в зависимости от состояния менструальной функции, размера первичной опухоли и степени злокачественности представлено в табл. 1.

Результаты исследования

Гематогенные метастазы при двухстороннем синхронном РМЖ выявлялись несколько реже (14 %) в сравнении со случаями с двухсторонним метакронным раком (32 %, $p=0,08$) и односторонним РМЖ (27 %, $p=0,08$). В группе больных с односторонним РМЖ при наличии у пациенток гематогенных метастазов опухолевые узлы были крупнее – $3,9 \pm 2,2$ см ($F=28,3$; $p=0,0000$) в сравнении со случаями без отдаленной диссеминации – $2,9 \pm 1,6$ см. У пациенток с двухсторонним поражением подобного рода закономерностей выявлено не было. При одностороннем поражении, по сравнению со случаями с двухсторонним раком, при первой степени злокачественности опухоли наличие гематогенных метастазов регистрировалось реже ($p=0,05$).

Стоит отметить, что у больных с двухсторонним РМЖ частота гематогенного метастазирования

**Распределение больных с односторонним и двухсторонним РМЖ
в зависимости от различных клинико-морфологических параметров**

Клинико- морфологические показатели	Односторонний РМЖ	Двухсторонний РМЖ	
		синхронный	метахронный
	1	2	3
Состояние менструальной функции			
Сохранена	230/524 (44 %)	7/22 (32 %)	7/20 (35 %)
Менопауза	294/524 (56 %)	15/22 (68 %)	13/20 (65 %)
Размер опухоли:			
T ₁ (<2 см)	115/524 (22 %)	10/22 (45 %) p ₁ =0,006, p ₃ =0,07	3/20 (15 %)
T ₂ (2–5 см)	331/524 (63 %)	11/22 (50 %)	17/20 (85 %) p ₁ =0,02, p ₂ =0,01
T ₃ (>5 см)	78/524 (15 %) p ₂ =0,09, p ₃ =0,03	1/22 (5 %)	0/20 (0 %)
Стадия заболевания			
I	68/524 (13 %)	5/22 (23 %)	1/20 (5 %)
II A	236/524 (45 %)	2/22 (9 %) p ₁ = 0,0004, p ₃ = 0,005	9/20 (45 %)
II B	139/524 (27 %)	6/22 (27 %)	5/20 (25 %)
III A	36/524 (6 %)	5/22 (23 %) p ₁ = 0,0009, p ₃ = 0,01	0/20 (0 %)
III B	45/524 (9 %)	1/22 (4,5 %)	4/20 (20 %) p ₁ = 0,04, p ₂ = 0,05
III C	0/524 (0 %)	3/22 (13,5 %)	1/20 (5 %)
Степень злокачественности			
Первая	34/524 (6,5 %)	1/22 (4,5 %)	1/20 (5 %)
Вторая	458/524 (87,5 %)	20/22 (91 %)	17/20 (85 %)
Третья	32/524 (6 %)	1/22 (4,5 %)	2/20 (10 %)

оказалась связанной с выраженностью стромы опухоли, при этом случаи с отдаленной диссеминацией регистрировались при наличии выраженного фиброза чаще у больных с синхронным (p=0,08) и метахронным (p=0,01) поражениями.

При исследовании особенностей гематогенного метастазирования при одностороннем и билатеральном РМЖ нами было установлено, что в прогрессировании заболевания определенное значение имеет строение инфильтративного компонента опухоли. Так, у пациенток с односторонним РМЖ при наличии гематогенных метастазов инфильтративный компонент опухоли отличался большим разнообразием. В отличие от этого в случаях с двухсторонним синхронным раком при отдаленной диссеминации наблюдалось более мономорфное строение паренхиматозного компонента. В группе

больных с метахронным двухсторонним поражением подобных закономерностей обнаружено не было (табл. 2).

Кроме того, в группе больных с односторонним РМЖ при наличии гематогенных метастазов инфильтративный компонент опухоли чаще включал альвеолярные структуры (p=0,003) и дискретные группы опухолевых клеток (p=0,02). При двухстороннем синхронном поражении в случаях с отдаленной диссеминацией альвеолярные структуры, напротив, выявлялись в паренхиме новообразования реже (p=0,01). Трабекулярные структуры в ткани опухоли выявлялись при наличии гематогенных метастазов в группе с односторонним РМЖ чаще ($\chi^2=7,8$; p=0,005), а в группе с двухсторонним синхронным поражением реже ($\chi^2=3,8$; p=0,05).

Связь гематогенного метастазирования с количеством разных типов структур в инфильтративном компоненте опухоли при одностороннем и двухстороннем РМЖ

Гематогенные метастазы	Количество разных типов структур (M ± S.D.)		
	Односторонний	Синхронный двухсторонний	Метахронный двухсторонний
Нет (M ₀)	2,5 ± 0,9 (n=382)	3,4 ± 1,2 (n=19)	3,0 ± 1,1 (n=15)
Есть (M ₊)	2,9 ± 0,9 (n=142)	1,3 ± 0,5 (n=3)	3,2 ± 1,4 (n=5)
	F=13,9; p=0,0002	F=8,1; p=0,01	F=0,09; p=0,76

Связи между частотой гематогенного метастазирования и наличием в инфильтративном компоненте опухоли тубулярных структур не было обнаружено ни при одностороннем, ни при двухстороннем синхронном, ни при двухстороннем метахронном РМЖ. В группе больных с синхронными двухсторонними новообразованиями в случаях с наличием гематогенных метастазов инфильтративный компонент опухоли реже был представлен солидными структурами (p=0,02).

Связи частоты гематогенного метастазирования с выраженностью воспалительной инфильтрации стромы опухоли не было обнаружено ни в одной из исследуемых групп. Также и в случаях с односторонним, и в случаях с двухсторонним поражением молочных желез частота гематогенного метастазирования не зависела от выраженности гиалиноза стромы новообразования.

Оценка экспрессионного профиля опухолевой ткани показала следующие результаты. Во всех исследуемых группах наличие экспрессии рецепторов к эстрогенам в ткани опухоли не имело связи с частотой гематогенной диссеминации. Однако в группе больных с метахронным двухсторонним РМЖ в случаях с наличием гематогенных метастазов в ткани опухоли регистрировалось меньшее число клеток, экспрессирующих рецепторы к эстрогенам (F=31,2; p=0,005). У пациенток с односторонним (F=0,09; p=0,76) и двухсторонним синхронным поражением (F=0,20; p=0,65) подобного рода закономерности не выявлялось.

Аналогичная связь прослеживалась и в отношении показателя экспрессии рецепторов к эстрогенам в группе больных с метахронным двухсторонним раком (F=9,9; p=0,03). Изучение показателя экспрессии рецепторов к эстрогенам при одностороннем (F=3,4; p=0,06) и двухстороннем синхронном (F=0,18; p=0,67) поражениях не выявило существенной взаимосвязи с наличием гематогенных метастазов.

Ни в одной из сравниваемых групп не было обнаружено связи частоты гематогенного метастазирования с наличием и уровнем экспрессии рецепторов к прогестерону в опухоли, с HER2/neu статусом и пролиферативной активностью опухоли. Также не выявлено значимых различий в частоте возникновения гематогенных метастазов в группах с разными молекулярно-генетическими типами РМЖ как при односторонних, так и при двухсторонних новообразованиях.

Гематогенные метастазы чаще возникали при поражении регионарных лимфатических узлов при одностороннем РМЖ ($\chi^2 = 29,2$; p=0,0000). У больных с односторонним и двухсторонним метахронным РМЖ при наличии гематогенных метастазов выявлялось большее число метастатически измененных лимфатических узлов: при одностороннем РМЖ с M₊ – 5,5 ± 2,3; с M₀ – 4,1 ± 1,4 (p=0,0000), тогда как при двухстороннем метахронном РМЖ с M₊ – 8,0 ± 2,3; с M₀ – 2,0 ± 0,5 (p=0,0002). При этом у пациенток с односторонним и метахронным двухсторонним РМЖ при наличии гематогенных метастазов определялась большая доля лимфоузлов, вовлеченных в метастазирование: при одностороннем РМЖ с M₊ – 51,9 ± 20,5 %; с M₀ – 33,4 ± 16,0 % (p=0,0000), при двухстороннем метахронном РМЖ с M₊ – 68,0 ± 15,4 %; с M₀ – 20,8 ± 5,8 % (p=0,0001). Таким образом, при билатеральном РМЖ гематогенные метастазы возникают при меньшем размере опухоли, в сравнении с односторонними карциномами, при более выраженной строме и независимо от наличия лимфогенных метастазов.

Обсуждение

Синхронный и метахронный РМЖ различаются между собой по наличию связи параметров морфологического строения первичной опухоли и лимфогенного метастазирования с частотой развития

гематогенных метастазов. В отличие от одностороннего и метакронного РМЖ синхронный РМЖ характеризуется меньшей частотой гематогенного метастазирования; при наличии гематогенных метастазов – меньшей степенью гетерогенности морфологического строения, меньшим количеством альвеолярных и солидных структур в паренхиматозном компоненте первичной опухоли.

Отсутствие связи между частотой гематогенного метастазирования и размером первичной опухоли может косвенно свидетельствовать о том, что возникновения метастазирующего клона при билатеральном раке не требуется, в сравнении с односторонними новообразованиями, более длительного существования опухоли, необходимого для накопления генетических нарушений, ассоциированных с отдаленной диссеминацией. Одной из причин меньшей частоты гематогенного метастазирования синхронного РМЖ может быть меньшая степень гетерогенности новообразования. Это связано с уменьшением вероятности появления субклонов опухоли, способных к инвазивному росту и выходу в циркуляцию («семян»), и субклонов, ответственных за формирование благоприятного микроокружения в местах возникновения метастазов («почвы», преметастатических ниш) [2]. Различия между вариантами билатерального РМЖ по составу структур инфильтративного компонента свидетельствуют о существенных особенностях, определяющих варианты коллективно-индивидуального перехода и виды инвазивного роста [6].

Заключение

Полученные данные диктуют необходимость дифференцированного подхода к прогнозированию гематогенного метастазирования при одностороннем, двухстороннем синхронном и двухстороннем метакронном поражении и открывают новые возможности для изучения патогенеза отдаленной диссеминации у больных указанных групп.

Исследование выполнено при поддержке гранта Президентской Российской Федерации (договор 14.122.13.491-МД).

ЛИТЕРАТУРА

1. Завьялова М.В., Шведова М.В., Перельмутер В.М., Слонимская Е.М., Вторушин С.В., Телегина Н.С., Савенкова О.В. Клинико-морфологические особенности билатерального инвазивного протокового рака молочных желез // Сибирский онкологический журнал. 2010. № 6. С. 17–21.
2. Перельмутер В.М., Манских В.Н. Прениша как отсутствующее звено концепции метастатических ниш, объясняющее избирательное метастазирование злокачественных опухолей и форму метастатической болезни // Биохимия. 2012. Т. 77, № 1. С. 130–139.

3. Щедрин Д.Е. Билатеральный рак молочной железы (эпидемиологические аспекты) // Вопросы онкологии. 2013. № 3. С. 393–396.

4. Diaz R., Munarriz B., Santaballa A., Palomar L., Montalar J. Synchronous and metachronous bilateral breast cancer: a long-term single-institution experience // Med. Oncol. 2012. Vol. 29 (1). P. 16–24. doi: 10.1007/s12032-010-9785-8.

5. Drukker C.A., Bueno-de-Mesquita J.M., Retèl V.P., van Harten W.H., van Tinteren H., Wesseling J., Roumen R.M., Knauer M., van 't Veer L.J., Sonke G.S., Rutgers E.J., van de Vijver M.J., Linn S.C. A prospective evaluation of a breast cancer prognosis signature in the observational RASTER study // Int. J. Cancer. 2013. Vol. 133 (4). P. 929–936. doi: 10.1002/ijc.28082.

6. Friedl P., Locker J., Sahai E., Segall J.E. Classifying collective cancer cell invasion // Nat. Cell Biol. 2012. Vol. 14. P. 777–783. doi: 10.1038/ncb2548.

7. Londero A.P., Bernardi S., Bertozzi S., Angione V., Gentile G., Dri C., Minucci A., Caponnetto F., Petri R. Synchronous and metachronous breast malignancies: A cross-sectional retrospective study and review of the literature // Biomed. Res. Int. 2014; 2014: 250727. doi: 10.1155/2014/250727.

8. Patsialou A., Wang Y., Lin J., Whitney K., Goswami S., Kenny P.A., Condeelis J.S. Selective gene-expression profiling of migratory tumor cells in vivo predicts clinical outcome in breast cancer patients // Breast Cancer Res. 2012. Vol. 14 (5). R. 139. doi:10.1186/bcr3344.

9. Sola M., Margeli M., Castellan E., Julian J.F., Rull M., Gubern J.M., Mariscal A., Barnadas A., Fraile M. Prognostic value of hematogenous dissemination and biological profile of the tumor in early breast cancer patients: A prospective observational study // BMC Cancer. 2011. Vol. 11. P. 252–259. doi: 10.1186/1471-2407-11-252.

Поступила 17.10.14

REFERENCES

1. Zav'jalova M.V., Shvedova M.V., Perel'muter V.M., Slonimskaja E.M., Vtorushin S.V., Telegina N.S., Savenkova O.V. Clinical and morphological features of bilateral invasive ductal breast cancer // Sibirskiy onkologicheskij zhurnal. 2010. № 6. P. 17–21. [in Russian]
2. Perel'muter V.M., Manskih V.N. Prenisha as the missing link of the concept of metastatic niches explaining selective metastasis of malignant tumors and metastatic disease form // Biohimiya. 2012. Vol. 77 (1). P. 130–139. [in Russian]
3. Shhedrin D.E. Bilateral breast cancer (epidemiological aspects) // Voprosi onkologii. 2013. № 3. P. 393–396. [in Russian]
4. Diaz R., Munarriz B., Santaballa A., Palomar L., Montalar J. Synchronous and metachronous bilateral breast cancer: a long-term single-institution experience // Med. Oncol. 2012. Vol. 29 (1). P. 16–24. doi: 10.1007/s12032-010-9785-8.
5. Drukker C.A., Bueno-de-Mesquita J.M., Retèl V.P., van Harten W.H., van Tinteren H., Wesseling J., Roumen R.M., Knauer M., van 't Veer L.J., Sonke G.S., Rutgers E.J., van de Vijver M.J., Linn S.C. A prospective evaluation of a breast cancer prognosis signature in the observational RASTER study // Int. J. Cancer. 2013. Vol. 133 (4). P. 929–936. doi: 10.1002/ijc.28082.
6. Friedl P., Locker J., Sahai E., Segall J.E. Classifying collective cancer cell invasion // Nat. Cell Biol. 2012. Vol. 14. P. 777–783. doi: 10.1038/ncb2548.
7. Londero A.P., Bernardi S., Bertozzi S., Angione V., Gentile G., Dri C., Minucci A., Caponnetto F., Petri R. Synchronous and metachronous breast malignancies: A cross-sectional retrospective study and review of the literature // Biomed. Res. Int. 2014; 2014: 250727. doi: 10.1155/2014/250727.
8. Patsialou A., Wang Y., Lin J., Whitney K., Goswami S., Kenny P.A., Condeelis J.S. Selective gene-expression profiling of migratory tumor cells in vivo predicts clinical outcome in breast cancer patients // Breast Cancer Res. 2012. Vol. 14 (5). R. 139. doi:10.1186/bcr3344.
9. Sola M., Margeli M., Castellan E., Julian J.F., Rull M., Gubern J.M., Mariscal A., Barnadas A., Fraile M. Prognostic value of hematogenous dissemination and biological profile of the tumor in early breast cancer patients: A prospective observational study // BMC Cancer. 2011. Vol. 11. P. 252–259. doi: 10.1186/1471-2407-11-252.