

Ю. А. Винник,
Ю. Ю. Белевцова

Харьковская медицинская
академия последипломного
образования, г. Харьков

© Винник Ю. А.,
Белевцова Ю. Ю.

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПЕРВИЧНОГО ОЧАГА И РЕГИОНАРНОГО МЕТАСТАТИЧЕСКОГО КОМПОНЕНТА РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Резюме. Цель исследования — сравнительное морфо-иммуногистохимическое исследование первичной опухоли и метастатических лимфоузлов и оптимизация схем адъювантной терапии.

У 59 пациенток, лечившихся в отделении химиотерапии Харьковского онкоцентра и на базе 17-й городской больницы (г. Харьков) в период с 2010 по 2018 гг. проведено сравнительное морфоиммуногистохимическое исследование рака молочной железы и лимфогенных метастазов. Нами учитывались и анализировались следующие показатели: рецепторы к эстрогену, прогестерону, Her-2/neu в ткани опухоли молочной железы и лимфатических узлах. После выполнения морфологического и иммуногистохимического исследований установлено, что в процессе проведения специфической терапии происходит не только потеря соответствующих рецепторов, но и трансформация клеток с появлением новых фенотипов. Появление новых рецепторов (ER, HER-2) происходит значительно реже, чем потеря этих же рецепторов под воздействием неоадъювантной терапии. В целом, инверсию фенотипа ER(+) наблюдали в 9 (15,3 %) случаях, HER-2/neu — в 4 (6,8 %) наблюдениях. **Описанные морфобиологические особенности рака молочной железы позволяют индивидуализировать лекарственную терапию, адъювантное лечение назначали с учетом статуса первичной опухоли и регионарных лимфоузлов.** Применение индивидуализированного комплексного и комбинированного лечебного подходов с учетом морфобиологического типа первичной опухоли и регионарных лимфоузлов позволило добиться минимизации числа рецидивов с до 3,4 %, а также повышения показатели пятилетней безрецидивной выживаемости до 96,6 %.

Ключевые слова: местно-распространенный рак молочной железы, метастатические лимфоузлы, иммуногистохимическое исследование, комбинированное лечение.

Введение

Клинико-морфологические варианты рака молочной железы (РМЖ), используемые различные классификации, в том числе ВОЗ, не исчерпывают всего морфобиологического многообразия данной категории опухолей. Согласно данным литературы, большинство опухолей молочной железы возникают из терминальных отделов протоков и долек, и в ряде случаев этот факт затрудняет определение ее гистологического варианта РМЖ [1,6].

Установление инфильтрирующей неспецифической карциномы молочной железы не всегда является оправданным, так как в ряде наблюдений опухоль имеет гетерогенную структуру, представленную различными типами клеток. В этом случае оценка биологических свойств самой опухоли и метастазов в лимфоузлы позволяет оценить ее гистогенез, секреторную и гормональную активность,

а значит судить об инвазивных свойствах и возможности применения таргетного лечения [1, 2].

Представление о гистогенезе РМЖ, его молекулярно-биологических признаках, особенностях роста в последние годы значительно изменилось и стало более полным благодаря использованию метода иммуногистохимической диагностики различных вариантов РМЖ, в связи с чем появились новые подтипы опухоли, учитывающие наличие рецепторов гормонов (эстрогена, прогестерона, андрогена), HER-2 статус, индекс пролиферативной ее активности, что позволило применить современные методы комплексного и комбинированного лечения, в том числе, использование таргетных препаратов [2,3, 4, 5]. Однако, как показывает опыт изучения морфологических, иммуногистохимических свойств РМЖ, этим не исчерпывается описание только пред-



ставленных биологических молекул. Остаются малоизученными отдельные виды РМЖ, в том числе базальноклеточные, метапластические, перстневидноклеточные карциномы, представляющие для исследователей не только практический, но и фундаментальный интерес.

До настоящего времени недостаточно внимания уделяется вопросам, связанным с определением способности к продукции секреторных веществ, гормональной активности метастатических лимфоузлов, особенно в случаях проведения неоадьювантного лечения.

В этой связи **целью** нашего исследования было сравнительное морфо-иммуногистохимическое исследование первичной опухоли и метастатических лимфоузлов и оптимизация схем адьювантной терапии.

Материалы и методы исследований

Изучено 59 наблюдений РМЖ, оперированных в отделениях отделения химиотерапии Харьковского онкоцентра и на базе 17-й городской больницы (г. Харьков) за период 2010-2018 гг. Всем пациенткам проводилась неоадьювантная химиотерапия по схемам ТС и ТАС. Средний возраст женщин составил 52 года. После выполнения секторальной резекции или мастэктомии проводилось срочное гистологическое исследование операционного материала. Остальная часть материала (в том числе, удаленные лимфоузлы) отдельно вырезалась в виде пластин размерами не более 1 см в длину, заливалась в забуференный 10% формалин, фиксировалась не более 24 часов, после рутинной проводки заливалась в парафин. После этого с парафиновых блоков изготавливались гистологические срезы толщиной 3-4 мкм на ротационном микротоме Accu-Cut SRM 200 фирмы Sakura (Япония) которые окрашивались гематоксилином-эозином. Отдельно для проведения иммуногистохимического исследования полученные гистологические срезы наносили на высокоадгезивные стекла и высушивали вертикально в термостате при температуре 55-56°C в течение 10 часов. Депарафинизацию, восстановление антигенной активности и все этапы иммуногистохимической реакции, а также докраску гематоксилином проводили в иммуногистостейнере VENTANA BenchMark ULTRA фирмы Roche (Швейцария). В качестве системы детекции первичных антител была использована «ultra View Universal DAB Detection», произведенная фирмой Roche для VENTANA. Для иммуногистохимических реакций, их характеристик использовали моноклональные кроличьи антитела к рецепторам эстрогена SP 1 Spring Bio 1:250, моноклональные кроличьи антитела к рецепторам прогестерона SP 2 Spring Bio 1:350, моно-

клональные кроличьи к HER2/neu V9 Roche/Ventana rtu.1:100.

Безрецидивную выживаемость (БВ) и общую выживаемость (ОВ) анализировали методом Каплана-Мейера, сравнение данных показателей проводили с помощью лог-ранк теста. БВ определяли от даты операции до даты прогрессирования. ОВ рассчитывали от даты операции до последнего наблюдения или смерти. При расчете ОВ и БВ, выбывшие изпод наблюдения пациенты были цензурированы на момент проведения анализа по дате их последнего визита или телефонного интервью. Непараметрические данные, в зависимости от количества наблюдений, анализировали с использованием теста χ^2 или точного критерия Фишера. Во всех случаях применяли 95% доверительный интервал (95% ДИ) и двусторонний критерий значимости p , разница считалась статистически значимой при $p \leq 0.05$. Статистическую обработку данных производили с помощью программы GraphPadPrism 5.1.

Результаты исследований и их обсуждение

В рамках исследования нами было проведено изучение морфологических особенностей первичного очага и регионального метастатического компонента при местно-распространенном РМЖ. При этом учитывали число митозов клеток, долю тубулярных и протоковоподобных структур, клеточный полиморфизм. При изучении гистологической характеристики было установлено, что в 85 % наблюдений это был инфильтрирующий протоковый рак. Медуллярный и инфильтрирующий дольковый раки встречались значительно реже (15%).

Морфологически в ткани молочной железы и пораженных аксиллярных лимфатических узлах после проведения неоадьювантной химиотерапии наблюдались единичные тубулярные и протоковоподобные структуры, преобладал солидный тип строения, нарастал клеточный полиморфизм, количество митозов: более 10, но менее 20 митозов в 10 полях зрения отмечалось у 15 пациенток основной группы (10,4 %); более 20 митозов в 10 полях зрения – у 20 (14,1 %). Все это являлось свидетельством опухолевой прогрессии. Также было отмечено, что метастазы в подмышечных лимфоузлах значительно менее подверглись терапевтическому воздействию. Зафиксировано большое количество митозов в пораженных лимфатических узлах, что говорит о меньшем эффекте патоморфологического ответа и устойчивости к химиотерапии регионарных лимфатических узлов.

Одной из основных проблем резистентности опухоли к проводимой терапии является изменение ее биологии во время прогрессии или под влиянием проводимой терапии. В процес-

се реалізації метастатического каскада ракові клітки, втрачаючи набір епітеліальних і придбаючи набір мезенхімальних антигенів (епітеліально-мезенхімальний перехід), можуть змінювати свій первісний фенотип (утрачувати стероїдні гормональні рецептори або рецептори епідермального фактора росту). Це пояснює факт різниці хіміочувствителісності первісної опухолі і її гематогенних метастазів, а також факт гетерогенності самих метастазів. Інверсію фенотипа ракових кліток в час прогресії спостерігали у 30 хворих (50,8 %).

В досліджуваній групі у 26 хворих (44,1%) первісна опухоль відповідає люмінальному А підтипу, у 11 хворих (18,2%) – люмінальному В підтипу, у 15 хворих (25,4%) – трижды негативній (ТНРМЖ), у 7 хворих (11,1%) – HER-2/neu РМЖ.

Після проведеної неoad'ювантної хімотерапії статус рецепторів естрогенів в лімфоузлах змінився у 14 (23,7%) пацієнток:

- зміни з ER-негативного на ER-позитивний статусу відзначені у 8 (13,6%) пацієнток і з позитивного ER статусу на ER-негативний – у 6 хворих (10,2%);
- зміни з PR-негативного на PR-позитивний – у 6 хворих (10,2%), з PR-позитивного на PR-негативний не спостерігали;
- зміни з HER2-негативного на HER2-позитивний були змінені у 2 (3,4%) пацієнток;
- зміни з HER2-позитивного на HER2-негативний були змінені в 1 (1,7%) спостереженні.

З 26 досліджуваних хворих з люмінальним А фенотипом у 4 пацієнток (15,4%) була відзначена повна втрата гормональних рецепторів – у 3 хворих (11,1%) в час проведення гормонотерапії відбулася трансформація в ТНРМЖ, у 2 хворих (7,7%) на фоні втрати стероїдних рецепторів спостерігали появу експресії другого епідермального фактора росту (трансформація в Her2/+ підтип РМЖ).

З 11 хворих з люмінальним В РМЖ інверсію фенотипа спостерігали у 3 (27,3%). У 2 пацієнток (18,2%) відбулася втрата HER-2 рецепторів і трансформація в люмінальний А підтип, в одному спостереженні (9,1%) відбулася втрата стероїдних рецепторів (трансформація в HER-2 РМЖ).

При HER-2+ раку (7 хворих) втрата рецепторів епідермального фактора росту відбулася і трансформація в ТНРМЖ в 1 (14,3%) спостереженні. В цій же групі у 2 хворих (28,6%) на фоні втрати рецепторів HER-2 виявилися рецептори естрогенів (трансформація в люмінальний В РМЖ).

В часі протипухової терапії і прогресії відбувається не тільки елімінація клонів кліток, експресуючих основні рецептори, але і поява нових клонів, раніше не присутніх в цій опухолі.

Так, з 15 хворих ТНРМЖ у 2 (13,3 %) виявилася експресія стероїдних рецепторів, у 4 (26,6 %) – експресія стероїдних і естрогенових рецепторів і рецепторів епідермального фактора росту.

Таким чином, в часі проведення специфічної терапії відбувається не тільки втрата відповідних рецепторів, але і трансформація кліток з появою нових фенотипів. При цьому поява нових рецепторів (ER, HER-2) відбувається значно рідше, ніж втрата цих же рецепторів під впливом неoad'ювантної терапії. В цілому, інверсію фенотипа ER(+) спостерігали в 9 (15,3%) випадках, і HER-2/neu – в 4 (6,8 %) спостереженні.

Ад'ювантне лікування було рекомендовано всім досліджуваній групі не тільки згідно біологічному підтипу опухолі, але і регіонарним лімфоузлам.

В більшості випадків післяопераційна хімотерапія включала циклофосфан, 5-фторурацил, антрациклінові антибіотики і таксани (FAC, FEC, AT, CMF). Ендокринотерапія включала прийом тамоксифену або інгібіторів ароматази в час 5 років. В деяких випадках хворим в репродуктивному періоді призначали аналоги гонадотропін-рилізінг гормону або в монотерапії або в поєднанні з тамоксифеном (табл. 1–2).

Таблиця 2

Схема лікування (n=35)	Число хворих	%
CMF	5	14,3
FAC/FEC	6	17,1
TAC	5	14,3
Таксани в монорежимі	5	14,3
AC	2	5,7
Таксани + препарати платини	5	14,3
Таргетна терапія	7	20,0

Таблиця 3

Вид ГТ (n=31)	Число хворих	%
Тамоксифен	31	60,8
Інгібітори ароматази	5	9,8
АРЛГ	1	2,0
Тамоксифен+Інгібітори ароматази	7	13,7
Тамоксифен+Золадекс	7	13,7

Нами оцінена ефективність локальних і системних методів лікування РМЖ в групі хворих, у яких застосовані індивідуалізовані терапевтичні підходи.



Важнейшим критерием эффективности адъювантного лечения является достижение полного патоморфологического регресса (5-я степень регресса по Miller-Payne). Среди 31 больных, получивших адъювантную химиотерапию, полного патоморфологического регресса удалось достичь в 30 случаях, таким образом, частота полного патоморфологического регресса (pCR) равняется 85,7 % безотносительно подтипа заболевания. Антрациклин-содержащие схемы применены у 19 больных, таксан-содержащие у 12 больных. Наиболее чувствительным к действию адъювантной химиотерапии оказался трижды – негативный биологический подтип опухоли: из 5 больных у 3 (60 %) больных удалось достичь полного патоморфологического регресса и у 4 (540 %) больных патоморфологический регресс был 3–4 ст. по Miller-Payne. У 7 больных с HER2-сверхэкспрессирующим подтипом опухоли и у 2 пациентов произошла трансформация HER2- негативного статуса в HER2- позитивный в регионарных лимфоузлах, при этом полный патоморфологический регресс был у 6 (54,5%) больных, у четырех – был частичный патоморфологический регресс (45,5%).

Семь больных в адъювантном режиме получали таргетную терапию трастузумабом до года: 4 больных с люминальным-B HER2-положительном РМЖ в комбинации сначала с химиотерапией, затем – гормонотерапией и 3 больных с HER2-сверхэкспрессирующим РМЖ в комбинации с химиотерапией.

Применение индивидуализированного комплексного и комбинированного лечебного подходов с учетом морфобиологического типа первичной опухоли и регионарных лимфоузлов позволило добиться минимизации числа рецидивов с до 3,4%, а также повышения показатели пятилетней безрецидивной выживаемости до 96,6%.

Одной из основных проблем резистентности опухоли к проводимой терапии является изменение ее биологии во время прогрессии или под влиянием проводимой терапии. В процессе реализации метастатического каскада раковые клетки, теряя набор эпителиальных и приобретая набор мезенхиальных антигенов (эпителиально-мезенхимальный переход), могут изменять свой первоначальный фенотип (утрачивать стероидные гормональные рецеп-

торы или рецепторы эпидермального фактора роста). Это объясняет факт различной химическочувствительности первичной опухоли и ее лимфогенных метастазов, а также факт гетерогенности самих метастазов, что необходимо учитывать при проведении адъювантного лечения. Индивидуализация противоопухолевой терапии предполагает проведение лечения не только с учетом молекулярного (иммуногистохимического) статуса первичной опухоли, но и с учетом фенотипа клеток ее метастазов.

Таким образом, системное индивидуализированное лечение позволяет не только улучшить показатели отдаленной выживаемости, но и снизить риск местного рецидива. Особенно это касается больных с неблагоприятными прогностическими факторами: молодой возраст, трижды-негативный рак, HER2-сверхэкспрессирующий и т.д. Данные пациенты получали максимально агрессивное лечение, включающее химиотерапию+гормонотерапию, таргетную терапию.

При индивидуализации адъювантной терапии местно-распространенного рака молочной железы учитывались следующие факторы: биологический подтип опухоли и лимфоузлов; длительность безрецидивного периода; предшествующее лечение и его эффективность; локализация метастазов, их число; возможность локальных методов терапии (хирургический, лучевой, радиочастотная абляция); возраст больной; пожелания пациентки, и ее социальные особенности; доступность терапии.

Выводы

Имуногистохимическое исследование позволяет дополнить представление о РМЖ как об опухолях, обладающих гормональной зависимостью (гормон-позитивные опухоли), или HER-2/неу негативных, с низким потенциалом злокачественного роста. Появление очагов повышенной пролиферативной активности в метастазах РМЖ может указывать на клеточную нестабильность, дисрегуляцию клеточномезклеточных систем, а значит появление активных клеточных клонов, способных к делению. При назначении адъювантной химиотерапии необходимо учитывать не только морфобиологические характеристики первичной опухоли, но и регионарных метастазов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Иммуногистохимические методы : руководство. Русское издание под ред. Г. А. Франка и П. Г. Малькова // — 2011. — С. 91-97.
2. Гетерогенность люминального рака молочной железы у женщин с различным репродуктивным статусом / О. И. Кит, Ю. С. Шатова, С. С. Тодоров и соавт. // Российский онкологический журнал. — 2014. — Т. 19, № 6. — С. 14-17.
3. Частота встречаемости различных молекулярно-биологических подтипов рака молочной железы в зависимости от репродуктивного статуса / О. И. Кит, Ю. С. Шатова, С. С. Тодоров и соавт. // Российский онкологический журнал. — 2014. — Т. 19, № 5. — С. 24-27.
4. Морфоиммуногистохимическая характеристика синхронного билатерального рака молочных желез / С. С. Тодоров, О. И. Кит, Е. С. Босенко и соавт. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 2014. — Т. 15, № 5. — С. 663-666.
5. Морфобиологические особенности метапластической карциномы молочной железы / С. С. Тодоров, С. Ж-П. Босенко, Е. С. Босенко и соавт. // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. — 2014. — Ч. 4, № 11. — С. 680-684.
6. Рак молочной железы. Морфологическая диагностика и генетика. Практическое руководство для врачей. Под ред. Г. А. Франка, Л. Э. Завалишиной, К. М. Пожирисского. — М. 2014. — С. 171.

МОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ПЕРВИННОГО ВОГНИЩА І РЕГІОНАРНОГО МЕТАСТАТИЧНОГО КОМПОНЕНТА РАКУ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ

*Ю. А. Винник,
Ю. Ю. Белевцова*

Резюме. Мета дослідження — порівняльне морфо-імуногістохімічне дослідження первинної пухлини і метастатичних лімфовузлів і оптимізація схем ад'ювантної терапії.

У 59 пацієнток, що лікувалися у відділенні хіміотерапії Харківського онкоцентру і на базі 17-ї міської лікарні (м. Харків) в період з 2010 по 2018 рр. проведено порівняльне морфоіммуногістохімічне дослідження раку молочної залози і лімфогенних метастазів. Нами враховувалися і аналізувалися наступні показники: рецептори до естрогену, прогестерону, Her-2 / neu в тканини пухлини молочної залози і лімфатичних вузлах. Після виконання морфологічного і імуногістохімічного досліджень встановлено, що в процесі проведення специфічної терапії відбувається не тільки втрата відповідних рецепторів, а й трансформація клітин з появою нових фенотипів. Поява нових рецепторів (ER, HER-2) відбувається значно рідше, ніж втрата цих же рецепторів під впливом неoad'ювантної терапії. В цілому, інверсію фенотипу ER (+) спостерігали в 9 (15,3 %) випадках, HER-2 / neu — в 4 (6,8 %) спостереженнях. Описані морфобіологічні особливості раку молочної залози дозволяють індивідуалізувати лікарську терапію, ад'ювантне лікування призначали з урахуванням статусу первинної пухлини і регіонарних лімфовузлів. Застосування індивідуалізованого комплексного та комбінованого лікувального підходів з урахуванням морфобіологічного типу первинної пухлини і регіонарних лімфовузлів дозволило добитися мінімізації числа рецидивів з до 3,4 %, а також підвищення показники п'ятирічної безрецидивної виживаності до 96,6 %.

Ключові слова: місцево-поширений рак молочної залози, метастатичні лімфовузли, імуногістохімічне дослідження, комбіноване лікування.



MORPHOLOGICAL
FEATURES OF THE
PRIMARY FOCUS AND
REGIONAL METASTATIC
COMPONENT OF BREAST
CANCER

*Yu. A. Vinnik,
Yu. Yu. Belevtsova*

Summary. The purpose of the study is a comparative morpho-immunohistochemical study of the primary tumor and metastatic lymph nodes and the optimization of adjuvant therapy regimens.

In 59 patients treated in the chemotherapy department of the Kharkov Cancer Center and on the basis of the 17th city hospital (Kharkiv) in the period from 2010 to 2018. a comparative morphological and immunohistochemical study of breast cancer and lymphogenous metastases was carried out. We took into account and analyzed the following indicators: receptors for estrogen, progesterone, Her-2 / neu in the breast tissue of the breast and lymph nodes. After performing morphological and immunohistochemical studies, it was established that in the process of carrying out specific therapy not only the loss of the corresponding receptors occurs, but also the transformation of cells with the appearance of new phenotypes. The emergence of new receptors (ER, HER-2) occurs much less frequently than the loss of these receptors under the influence of neoadjuvant therapy. In general, the inversion of the ER (+) phenotype was observed in 9 (15.3%) cases, HER-2 / neu - in 4 (6.8%) observations. The described morphobiological features of breast cancer allow us to individualize drug therapy, adjuvant treatment was prescribed taking into account the status of the primary tumor and regional lymph nodes. The use of individualized complex and combined treatment approaches, taking into account the morphobiological type of the primary tumor and regional lymph nodes, allowed minimizing the number of relapses from up to 3.4%, as well as increasing the five-year relapse-free survival rates to 96.6%.

Key words: locally advanced breast cancer, metastatic lymph nodes, immunohistochemical research, combined treatment.