

Н.Ф. Щуров

Запорожский государственный  
медицинский университет,  
Запорожье, Украина

**Ключевые слова:** рак молочной  
железы, строма опухоли,  
паренхима опухоли, Ki-67,  
выживаемость.

## СОТНОШЕНИЕ СТРОМА/ ПАРЕНХИМА В ТКАНИ ОПУХОЛИ И ВЫЖИВАЕМОСТЬ БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ С ГИПЕРЭКСПРЕССИЕЙ Ki-67

**Цель:** изучить особенности течения рака молочной железы (РМЖ) с гиперэкспрессией Ki-67 в зависимости от площади, занимаемой стромой опухоли. **Объект и методы:** в исследование включены 220 больных РМЖ (T1N0M0 — 19, T2N0M0, T1N1M0 — 90, T2N1M0, T3N0M0 — 98, T4N0M0 — 13). Во всех наблюдениях диагностирован протоковый инфильтрирующий РМЖ (G3) с экспрессией Ki-67 более чем в 50% опухолевых клеток. Соотношение площадей, занимаемых стромой и паренхимой, определяли с помощью программы «ВидеоТест-Мастер Морфология». Статистическая обработка данных проведена с использованием программы Microsoft Office Excel 2007, Statistics 6.0 SPSS. **Результаты:** установлена зависимость общей и безрецидивной выживаемости пациенток одной возрастной группы и с одной стадией заболевания от соотношения стромы/паренхима. Отмечено, что у больных, в опухоли которых строма занимала более 50% площади, общая и безрецидивная выживаемость была выше, особенно при наличии метастазов РМЖ в лимфатических узлах. Выживаемость больных прямо коррелировала с площадью стромы ( $r = 0,76$ ). **Вывод:** соотношение стромы/паренхима при РМЖ с гиперэкспрессией Ki-67 может иметь предикторную значимость.

Рак молочной железы (РМЖ) лидирует в структуре онкологической заболеваемости и ежегодно становится причиной смерти тысяч женщин в Украине [4, 9]. Хотя достигнуты серьезные успехи в диагностике и лечении данного заболевания, существует ряд важных аспектов, касающихся особенностей его клинического течения, которые требуют дальнейшего изучения.

Проблема индивидуального прогнозирования течения онкологических заболеваний представляет относительно новое направление и изучена недостаточно. Особо сложными являются вопросы, касающиеся выбора адекватного лечения и прогнозирования исхода заболевания при прогностически неблагоприятных факторах течения РМЖ. Молекулярные подтипы РМЖ могут быть определены с помощью генетического тестирования или иммуногистохимического метода [3]; их определение позволяет прогнозировать течение патологического процесса и эффективность лечения больных [10]. Доказано, в частности, прогностическое значение при РМЖ пролиферативной активности клеток опухоли (экспрессии белка Ki-67) [1, 5, 7, 8], которую в соответствии с рекомендациями Fitzgibbons и соавторов (2010) оценивают по градациям:  $\geq 14\%$ ,  $\geq 30\%$  и  $> 50\%$  опухолевых клеток; экспрессию Ki-67  $> 50\%$  рассматривают как крайне неблагоприятный фактор [3].

В настоящее время общепризнана важная роль микроокружения опухоли, которое включает меж-

клеточный матрикс, кровеносные сосуды, клетки воспалительного инфильтрата и фибробласты; предпринимаются значительные усилия для изучения состояния стромы РМЖ и оценки его значения в прогрессировании опухолевого процесса, особенно при наличии неблагоприятных прогностических факторов [1, 10]. Однако на сегодня нет единой позиции в отношении прогностического значения характеристик стромы опухоли, их значимости в выборе тактики терапии. Иными словами, актуально дальнейшее изучение роли стромы опухоли в индивидуализации лечения больных РМЖ [2, 6].

Цель исследования — изучить особенности течения РМЖ с гиперэкспрессией Ki-67 ( $> 50\%$  опухолевых клеток) в зависимости от площади, занимаемой стромой опухоли.

### ОБЪЕКТ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследование включены 220 пациенток с РМЖ T1–4N0–1M0, получивших комбинированное или комплексное лечение в Запорожском областном клиническом онкологическом диспансере в 2007–2013 гг. по показаниям, согласно существующим стандартам лечения, утвержденным Приказом МЗ Украины «Об утверждении протоколов оказания медицинской помощи по специальности «онкология» от 17.09.2007 г. № 554. Все пациентки дали информированное согласие на включение в исследование и использование операционного материала

ла в исследовательских целях. Средний возраст пациенток —  $45,9 \pm 0,9$  года (от 28 до 58 лет); из них: до 35 лет — 15 (6,8%), 36–50 лет — 128 (58,2%), 51–58 лет — 77 (35,0%). При группировке по клиническим стадиям (I–III) выявлено: I стадии (T1N0M0) соответствовало 19 (8,6%) наблюдений, IIA (T2N0M0, T1N1M0) — 90 (40,9%), IIB (T2N1M0, T3N0M0) — 98 (44,5%), III (T4N0M0) — 13 (5,9%). У всех пациенток, согласно данным гистологического исследования, установлен диагноз — протоковый инфильтрирующий РМЖ низкой степени дифференцировки (G3). Иммуногистохимическое определение экспрессии Ki-67 проводили по стандартной методике, используя первичные МкАТ к этому антигену (клон MIB-1, «DakoCytomation», Дания) в разведении 1:400. Рассчитывали процентное отношение количества Ki-67-позитивных клеток в 4–9 случайных полях зрения ( $\times 400$ ) к общему числу опухолевых клеток в них. У всех пациенток экспрессия Ki-67 выявлена в более 50% клеток.

Соотношение строма/паренхима (ССП) определяли с помощью программы «ВидеоТест-Мастер Морфология». Количественный анализ полученных цифровых микрофотографий проводили в программе «ВидеоТест-Морфология» (версия 5.0), используя методику «Подсчет и измерение» в режиме обработки черно-белого изображения (режим «Грау»). Все абсолютные показатели были измерены в пикселях.

Статистическая обработка полученных данных выполнена с использованием коэффициента корреляции по Пирсону ( $r$ ), метода Каплана — Мейера и критерия  $\chi^2$  для множественных межгрупповых сравнений; программы Microsoft Office Excel 2007, Statistica 6.0, SPSS.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В соответствии с показателями ССП всех больных разделили на 3 группы. В первой группе (68/30,9%) строма опухоли составляла < 30%, во второй (82/37,3%) — 31–50%, в третьей (70/31,8%) — > 50% площади опухоли. Иными словами, в соответствии с выделенными градациями ССП включенные в ис-

следование пациентки распределились почти поровну ( $p > 0,1$  для всех вариантов сравнения групп).

Данные о распределении по уровню ССП пациенток в зависимости от возраста приведены в табл. 1. Как видно, показатели ССП были наиболее высокими у больных в возрасте старше 50 лет. Выраженная строма в опухоли (ССП > 50%) выявлена соответственно у 20,0 и 19,5% пациенток в возрасте  $\leq 35$  лет и 36–50 лет, в то время как в группе больных старше 50 лет — у 54,5% ( $p < 0,05$  по сравнению с группами пациенток младшего возраста).

Распределение больных с разным уровнем ССП в зависимости от стадии заболевания представлено в табл. 2. Как свидетельствуют данные табл. 2, не выявлено однозначной связи ССП с клинической стадией РМЖ. Для дополнительного анализа больных разделили согласно критериям TNM (по размеру опухоли — T1–4, по наличию метастазов в регионарных лимфоузлах — N0–1). Однако и при таком разделении не зарегистрировано достоверной зависимости распределения по уровню ССП от стадии процесса.

Таблица 1

Вариабельность частоты разных уровней ССП в зависимости от возраста пациенток

ССП, %	Количество наблюдений в возрастных группах, n (%)			
	< 35 лет	36–50 лет	> 50 лет	Всего
< 30	7 (46,7/3,2 <sup>1</sup> )	49 (38,3/22,3)	12 (15,6/5,4)	68 (30,9 <sup>2</sup> )
31–50	5 (33,3/2,3)	54 (42,2/24,4)	23 (29,9/10,5)	82 (37,3)
> 50	3 (20,0/1,4)	25 (19,5/11,4)	42 (54,5/19,1)	70 (31,8)
Всего	15 (100,0/6,8)	128 (100,0/58,2)	77 (100,0/35,0)	220 (100,0)

<sup>1</sup>Процент от количества пациенток в данной возрастной группе.

<sup>2</sup>Процент от общего количества пациенток.

Изучена связь ССП с общей и безрецидивной выживаемостью (ОВ, БРВ) пациенток в зависимости от их возраста (рис. 1) и стадией заболевания (рис. 2). Оказалось, что 5-летняя ОВ и БРВ были наиболее высокими в группе пациенток в возрасте 36–50 лет при ССП > 50% (соответственно  $59,8 \pm 5,4$  и  $52,3 \pm 2,3\%$ ;  $p < 0,005$ ) по сравнению с пациентками в возрасте до 35 лет и старше 50 лет независимо от ССП, а также сравнительно с больными в возрасте 36–50 лет при ССП < 30%. В возрастной группе старше 50 лет ОВ и БРВ пациенток с ССП > 50% также была достоверно выше ( $p < 0,05$ ), чем

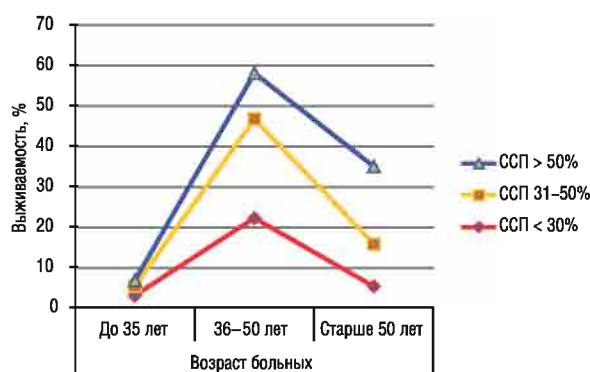
Таблица 2

Вариабельность частоты разных уровней ССП в зависимости от стадии заболевания

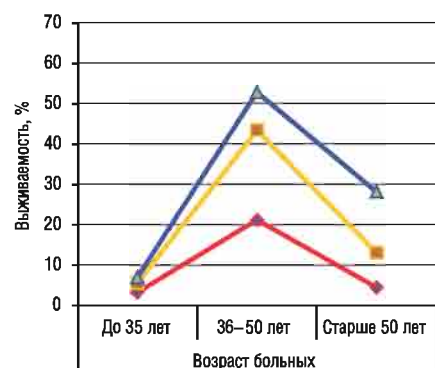
ССП, %	Количество наблюдений по стадиям заболевания, n (%)				
	Клинические стадии				
	I	IIA	IIB	III	Всего
< 30	5 (26,4/2,3 <sup>1</sup> )	24 (26,7/35,3)	37 (37,8/54,4)	2 (15,4/2,9)	68 (30,9) <sup>2</sup>
31–50	7 (36,8/3,2)	26 (28,9/31,7)	46 (46,9/56,1)	3 (23,1/3,7)	82 (37,3)
> 50	7 (36,8/3,2)	40 (44,4/51,7)	15 (15,3/21,4)	8 (51,5/11,4)	70 (31,8)
Всего	19 (100,0/8,6)	90 (100,0/40,9)	98 (100,0/44,6)	13 (100,0/5,9)	220 (100,0)
ССП, %	Стадия заболевания по TNM				
	T1N0M0	T2N0M0	T3–4N0M0	T1–2N1M0	Всего
	< 30	5 (26,4/2,3)	29 (35,4/13,2)	5 (25,0/2,3)	29 (29,3/13,2)
31–50	7 (36,8/3,2)	23 (28,0/10,4)	8 (40,0/3,6)	44 (44,4/20,0)	82 (37,3)
> 50	7 (36,8/3,2)	30 (36,8/13,6)	7 (35,0/3,2)	26 (26,3/11,8)	70 (31,8)
Всего	19 (100,0/8,6)	82 (100,0/37,3)	20 (100,0/9,1)	99 (100,0/45,0)	220 (100,0)

<sup>1</sup>Процент от количества пациенток в группе по стадии заболевания.

<sup>2</sup>Процент от общего количества пациенток.

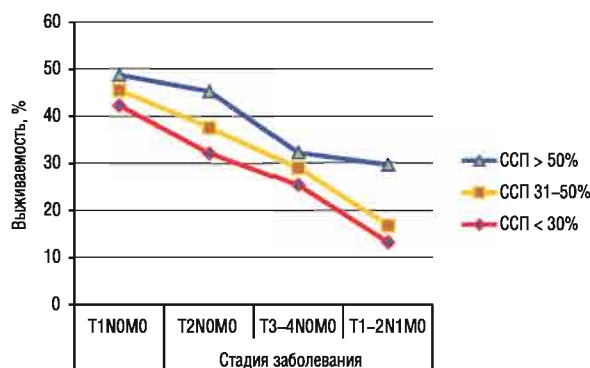


а

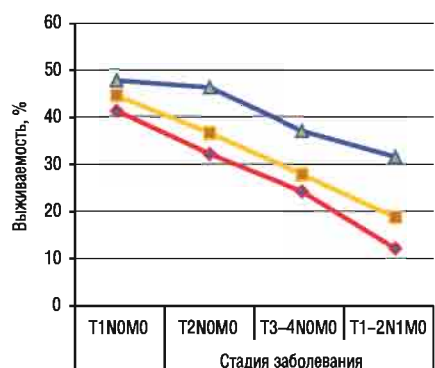


б

Рис. 1. 5-летняя ОВ (а) и БРВ (б) в зависимости от возраста больных и ССП

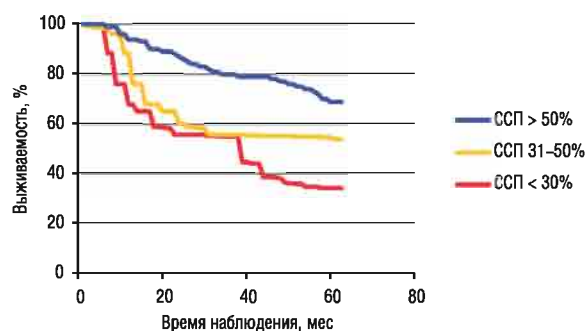


а

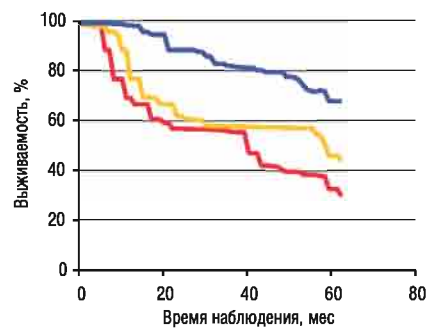


б

Рис. 2. 5-летняя ОВ (а) и БРВ (б) в зависимости от TNM стадии заболевания и ССП



а



б

Рис. 3. ОВ (а) и БРВ (б) больных с гиперэкспрессией Ki-67 в зависимости от ССП (оценка по методу Каплана — Мейера,  $\chi^2$  критерий,  $p = 0,005$ )

у больных этой группы с ССП < 30%. Это указывает на то, что развитая строма опухоли ассоциируется с лучшим прогнозом течения РМЖ у пациенток широкого возрастного диапазона (старше 35 лет), в том числе при сохраненной менструальной функции (36–50 лет).

Пятилетняя ОВ и БРВ пациенток с ССП > 50% была выше, чем при менее выраженной строме опухоли, независимо от стадии процесса (см. рис. 2). Различие ОВ и БРВ в зависимости от уровня ССП было достоверным в группе больных с метастазами в лимфатических узлах (T1–2N1M0). При ССП > 50% ОВ составила  $29,8 \pm 4,3\%$ , БРВ —  $27,5 \pm 3,4\%$ , а при ССП < 30% —  $14,7 \pm 3,7$  и  $11,5 \pm 4,2\%$  ( $p < 0,05$ ) соответственно.

Связь ОВ и БРВ больных РМЖ с ССП в опухоли подтверждена анализом выживаемости по методу Каплана — Мейера (рис. 3), а также корреляционным анализом этих показателей (рис. 4).

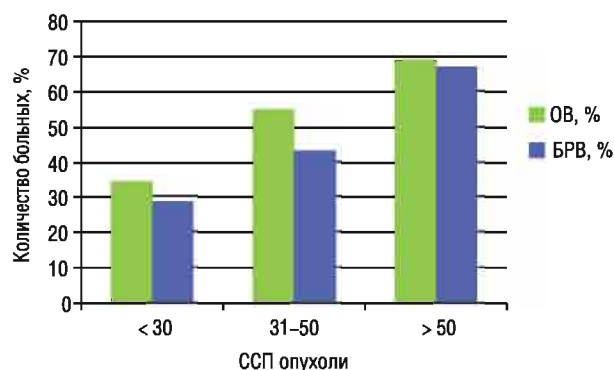


Рис. 4. 5-летняя ОВ и БРВ включенных в исследование пациенток в зависимости от ССП;  $r = 0,76$



Пятилетняя ОВ и БРВ больных РМЖ находилась в прямой корреляционной зависимости от площади стромы ( $r = 0,76$ ). При ССП  $< 50\%$  в течение 40 мес от начала лечения отмечали прогрессирование заболевания у более чем половины пациенток; 5-летняя БРВ составила 26,8% (при ССП  $< 30\%$ ) и 43,2% (при ССП 31–50%), 5-летняя ОВ — 34,3 и 54,6% соответственно. При выраженной строме опухоли (ССП  $> 50\%$ ) отмечено достоверное повышение ОВ и БРВ — до 68,8 и 66,6% ( $p < 0,005$ ) соответственно.

## ВЫВОДЫ

1. Прогноз у больных РМЖ с гиперэкспрессией Ki-67 в опухолевых клетках связан с ССП в образовании; наличие выраженной стромы достоверно повышает ОВ и БРВ (в 2 раза).

2. Позитивное значение стромы опухоли у больных РМЖ достоверно выражено даже при наличии неблагоприятных прогностических факторов: сохранение менструальной функции (возраст 36–50 лет), метастатическое поражение регионарных лимфатических узлов (T1–2N1M0).

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Завьялова МВ. Взаимосвязь морфологического фенотипа опухоли, лимфогенного и гематогенного метастазирования при инфильтрирующем протоковом раке молочной железы [Автореф дис... докт мед наук]. Томск: 2009. 41 с.
2. Осинский СП, Ваупель П. Микрофизиология опухолей. К: Наук думка, 2009. 211 с.
3. Перельмутер ВМ, Завьялова МВ, Вторушин СВ и др. Взаимосвязь морфологической гетерогенности инфильтрирующего протокового рака молочной железы с различными формами опухолевой прогрессии. Сиб онкол журн 2007; 3: 58–64.
4. Рак в Україні, 2011–2012. Захворюваність, смертність, показники діяльності онкологічної служби. Бюл Нац канцерреєстру України 2013; (14): 124.
5. Ali HR, Dawson S-J, Blows FM, et al. Aurora kinase A overexpresses Ki67 as a prognostic marker in ER-positive breast cancer. Br J Cancer 2012; 106: 1798–806.
6. Balmana J, Diez O, Rubio I, et al. ESMO Guidelines Working Group. BRCA in breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines. Ann Oncol 2011; 5: 20–2.
7. Cheang MC, van de Rijn M, Nielsen TO. Gene expression profiling of breast cancer. Annu Rev Pathol 2008; 3: 67–97.
8. de Azambuja E, Cardoso F, de Castro G. Ki-67 as prognostic marker in early breast cancer: a meta-analysis of pub-

lished studies involving 12,155 patients. Br J Cancer 2007; 96 (10): 1504–13.

9. DeSantis C, Ma J, Bryan L, Jemal A. Breast cancer statistics, 2013. CA Cancer J Clin 2014; 64 (1): 52–62.

10. Eeles R, Kneel G, Jhavar S, et al. Multicentric breast cancer: clonality and prognostic studies. Breast Cancer Res Treat 2011; 129 (3): 703–16.

## THE RATIO OF STROMA/PARENCHYMA IN TUMOR TISSUE AND SURVIVAL OF PATIENTS WITH BREAST CANCER WITH OVEREXPRESSION OF KI-67

N.F. Shchurov

**Summary. Objective:** to study peculiarities of the course of breast cancer (BC) with Ki-67 overexpression depending on the area occupied by the tumor stroma.

**Object and methods:** the study included 220 patients with BC (T1N0M0 — 19, T2N0M0, T1N1M0 — 90, T2N1M0, T3N0M0 — 98, T4N0M0 — 13). In all diagnosed cases with infiltrating ductal BC (G3) the expression of Ki-67 was determined in more than 50% of tumor cells. The ratio of the stroma-parenchyma areas was determined using the program «VideoTest-Master Morphology». Statistical analysis of the data was performed using Microsoft Office Excel 2007, Statistics 6.0 SPPS.

**Results:** the dependence of overall and relapse-free survival of patients of the same age group and stage of disease from the ratio of stroma — parenchyma was determined. It was noted that patients in the tumor stroma which occupied more than 50% of the area overall survival and recurrence free survival were higher, especially in the presence of metastases of BC in lymph nodes. Survival of patients had a direct correlation with the area of stroma ( $r = 0,76$ ). **Conclusion:** the ratio of stroma — parenchyma in BC with overexpression of Ki-67 may be of predictor importance.

**Key Words:** breast cancer, tumor stroma, tumor parenchyma, Ki-67, survival.

**Адрес для переписки:**

Шуров Н.Ф.

69040, Запорожье, ул. Культурная, 177А

Запорожский государственный медицинский университет

E-mail: shurov03@rambler.ru

Получено: 20.10.2014