

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

DOI: 10.21802/acm.2019.1.9

МОРФОМЕТРИЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ ТА ОСОБЛИВОСТІ МЕТАХРОННОГО РАКУ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ

І.Б. Дяків, А.С. Крижанівська

Івано-Франківський національний медичний університет, м. Івано-Франківськ, Україна
iryndjakiv@ukr.net

MORPHOMETRIC CHARACTERISTICS AND FEATURES OF METACHRONOUS BREAST CANCER

I.B. Dyakiv, A.Ye. Kryzhanivska

Ivano-Frankivsk National Medical University, Ivano-Frankivsk, Ukraine

E-mail: iryndjakiv@ukr.net

Резюме. Важливим морфологічним критерієм розвитку ступеня злоякісності раку молочної залози (РМЗ) є зміна структури клітинних ядер. Водночас морфометричні параметри метакронного РМЗ не відомі в даний час, не відомі їх зв'язки з молекулярно-біологічними характеристиками цих пухлин.

Метою дослідження було виявлення метакронного злоякісного захворювання у хворих на РМЗ.

Матеріали і методи. Дослідження базується на ретроспективному аналізі пухлин 63 пацієнтів на метакронний РМЗ, у яких протягом 5 років після радикального лікування РМЗ виник рак тіла матки (РТМ) або рак яєчника (РЯ). Всі пацієнти проходили лікування в Івано-Франківському обласному клінічному онкологічному центрі. Критерієм відбору пацієнтів у дослідженні було наявність онкогінекологічного раку, після лікування РМЗ. Вік хворих на РМЗ, що були включені у дослідженні, коливався від 24 до 83 років, у середньому $56,8 \pm 1,5$ років.

Результати і обговорення. Максимальні значення периметра, радіуса і площі клітинних ядер (відповідно $19,21 \pm 0,7$, $3,05 \pm 0,4$ і $36,3 \pm 0,9$) були в пухлинах хворих на метакронний РМЗ. Збільшення периметра, радіуса і ядер пухлинних клітин у хворих з метакронним РМЗ пов'язано зі збільшенням розмірів пухлини і наявністю метастазів в регіонарні лімфатичні вузли.

Висновки. Морфометричною ознакою високого ризику розвитку метакронного РМЗ є збільшення периметра, радіуса і клітинного ядра на фоні низької проліферативної активності пухлин та метастазів у регіонарні лімфатичні вузли.

Ключові слова: рак; морфометрична характеристика.

Abstract. An important morphological criterion for the development of the degree of malignancy of breast cancer is the change in the structure of cell nuclei. At the same time, both the morphometric parameters of metachronous breast cancer and their connection with the molecular biological characteristics of these tumors are currently unknown.

The objective of the research was to identify metachronous malignant disease in the patients with breast cancer.

Materials and methods. The study is based on a retrospective analysis of tumors in 63 patients with breast cancer, who developed uterine cancer or ovarian cancer within 5 years after diagnosis of breast cancer. All the patients received treatment at the Ivano-Frankivsk Regional Clinical Oncology Center. The criterion for selecting patients in the study was the presence of gynecologic cancer after the treatment of breast cancer. The age of patients with breast cancer involved in the study ranged from 24 to 83 years, averaging 56.8 ± 1.5 years.

Results and discussion. The maximum values of the perimeter, radius, and area of cell nuclei (19.21 ± 0.7 , 3.05 ± 0.4 and 36.3 ± 0.9 , respectively) were observed in tumors of the patients with metachronous breast cancer. The improvement of the perimeter, radius, and area of tumor cell nuclei in the patients with metachronous breast cancer was associated with an increase in the size of the tumors and the presence of metastases in regional lymph nodes.

Conclusions. The morphometric sign of the high risk of developing metachronous breast cancer is the increase in the perimeter, radius, and cell nucleus area on the background of increased proliferative activity of low-grade cancer in the presence of large tumors and metastases in regional lymph nodes.

Keywords: cancer; morphometric characteristics.

Постановка проблеми і аналіз останніх досліджень. Рак молочної залози (РМЗ) займає провідне місце в структурі онкологічної захворюваності та смертності жіночого населення України, так і більшості економічно розвинених країн світу і має тенденцію до неухильного росту. Згідно з American Cancer Society (2015р) є два пікові періоди виникнення другої пухлини у хворих на РМЗ: 1 міс.-1 рік, 3-4 рік після завершення лікування РМЗ [1].

При РМЗ у 73% випадків має місце залучення до патологічного процесу обох молочних залоз, у 18% хворих друга пухлина локалізується в геніталіях, 7% - у шлунково-кишковому тракті, 4% - у шкірі та інших органах. Етіологія РМЗ багатofакторна. Серед чітко встановлених етіологічних

факторів особливо виділяють порушення ендокринних взаємозв'язків. Пухлини молочної залози є гормонозумовленими та гормонозалежними. До таких пухлин ми відносимо значну частину раку молочних залоз, а також пухлини матки та яєчників. Основним спільним фактором для всіх вищезазначених новоутворень, окрім факторів метаболічної природи, є латентна або явна хронічна гіперестрогенемія [1-3].

Метакронний рак молочної залози складає 69,6 % всіх первинно-множинних пухлин та займає серед них перше місце стосовно виникнення. Частота його виникнення щодо загального числа хворих на РМЗ, за даними різних авторів, коливається від 12 до 28% [3,4].

Таблиця 1. Розподіл хворих на РМЗ за віком

Вік (роки)	Хворі на РМЗ	
	абс.	%
20-29	1	1,6
30-39	6	9,5
40-49	12	19,0
50-59	18	28,6
60-69	15	23,8
70-79	9	14,3
80-89	2	3,3
Всього	63	100
Середній вік	56,8±1,5	

Відсутність об'єктивних критеріїв прогнозування виникнення другого захворювання у хворих на РМЗ потребує подальших досліджень біологічних особливостей цієї патології з метою виділення факторів ризику і прогнозування перебігу хвороби [5].

Останніми роками прогнозування перебігу метакронного РМЗ здійснюється на підставі дослідження експресії низки молекулярних маркерів. Відомо, що важливим морфологічним критерієм формування ступеня злоякісності РМЗ є зміни структури ядер клітин. Водночас, морфометричні параметри метакронного РМЗ на сьогодні остаточно не відомі, не визначено також їх зв'язок з молекулярно-біологічними особливостями зазначених новоутворень [6-8].

Ядра злоякісних клітин зазвичай демонструють варіацію у розмірах, що відомі під терміном плеоморфізм. Згідно з мутаторною теорією фенотипу, генетична нестабільність виникає на ранніх стадіях карценогенезу і призводить до утворення субклонів клітин з різними мутаціями. Як наслідок спостерігаємо гетерогенні популяції клітин з варіаціями розміру і форми ядра. Визначення цих варіацій є діагностичне та прогностичне значення для прогнозування онкологічних захворювань [7-9].

Мета: дослідити морфометричні характеристики метакронного РМЗ та з'ясувати можливість використання цих показників для прогнозування перебігу пухлинного процесу.

Матеріал і методи дослідження

Дослідження базується на ретроспективному аналізі пухлин 63 хворих на РМЗ, у яких протягом 5 років після встановлення діагнозу розвинулися РТМ або РЯ. Вік хворих на РМЗ, залучених у дослідження, коливався від 24 до 83 років, складаючи в середньому 56,8±1,5 років.

Характеристика хворих за віком представлена у табл. 1. Переважали хворі віком 50-59 і становили 28,6% випадків, у віці 60-69 років – 23,8% хворих. Середній вік хворих склав 56,8±1,5 років.

Для вимірювання використовували гістологічні препарати пухлин [9]. Для вимірювання було обрано такі показники, як периметр, радіус та площа ядер пухлинних клітин [10].

Для візуалізації препаратів було використано мікроскоп LM Carl Zeiss (PrimStar). Фотозйомку проводили за допомогою камери Canon. Виміри проводились з використанням програми AxioVision 4.7. Для розрахунку статистичних показників об'єм вибірок склав 100 вимірів для кожного геометричного показника [9,10].

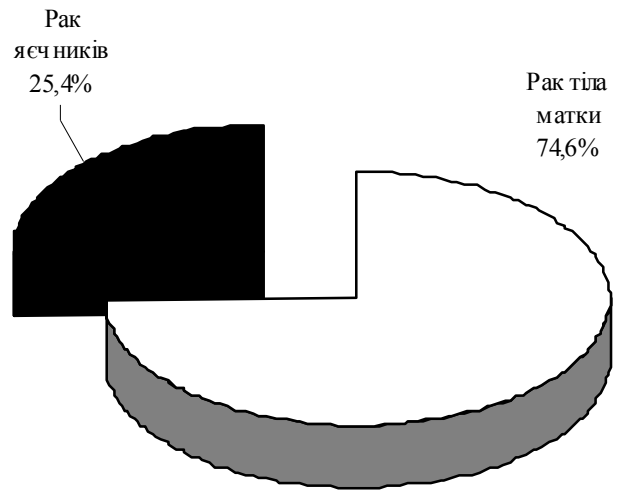


Рис. 1 Розподіл хворих на рак молочної залози за виникненням метакронного захворювання

Статистичну обробку одержаних результатів проводили за допомогою математичної програми медико-біологічної статистики STATISTICA 6.0. Для оцінки достовірності відмінностей показників експресії досліджених маркерів та інших клініко-патологічних параметрів використовували t-критерій Стьюдента. Достовірними вважали розбіжності при $p < 0,05$.

Результати дослідження та їх обговорення

Серед пацієнтів на РМЗ у 47 (74,6%) хворих виник рак тіла матки (РТМ), у 16 (25,4%) рак яєчника (РЯ).

Найчастіше у хворих на РМЗ після завершення лікування виникав РТМ у 47 (74,6%) випадках (рис. 1).

Нами також проведено аналіз пацієнтів, згідно з стадією РМЗ (TNM класифікація, 2002) (табл. 2).

Найчастіше серед цих хворих РМЗ виявляли у I та II стадіях відповідно по 27,0% та 50,8% випадків, дещо менше хворих із III стадією – близько 19,0%.

За ступенем диференціювання пухлини поділялись на високодиференційовані (G1), помірнодиференційовані (G2) та низькодиференційовані (G3).

Серед пацієнтів на РМЗ найчастіше виявлено помірнодиференційовану пухлину у 58,7% випадків, а високодиференційована – у 28,6%. Низькодиференційована пухлина зустрічались дещо рідше, у 12,7% хворих.

При аналізі морфометричних особливостей ядер клітин встановлено максимальні значення досліджуваних показників, периметр, радіус та площа ядер пухлинних клітин.

Встановлено зв'язок морфометричних параметрів ядер пухлинних клітин з такими клініко-патологічними характеристиками РМЗ як розмір новоутворень, наявність

Таблиця 2. Розподіл хворих на РМЗ за стадією захворювання

Стадії РМЗ (FIGO)	Хворі на РМЗ, (%)
I стадія: T1N0M0	17 (27,0)
II стадія: T ₀₋₃ N ₀₋₁ M0	32 (50,8)
III стадія: T ₀₋₄ N ₀₋₃ M0	12 (19,0)
IV стадія: T ₀₋₄ N ₀₋₃ M1	2 (3,2)
Всього:	63 (100)

Таблиця 3. Розподіл хворих за ступенем диференціювання пухлини

Ступінь диференціювання	G, (%)
G1	18 (28,6)
G2	37 (58,7)
G3	8 (12,7)
Всього:	63 (100)

метастатичного ураження регіонарних лімфатичних вузлів та ступінь диференціювання.

Визначено, що збільшення розмірів пухлини асоціюється з підвищенням периметра, радіуса та площі пухлинних клітин у хворих. Як видно з даних, наведених у табл. 5, у хворих з пухлинами T3 периметр, радіус та площа ядер пухлинних клітин склали 21,6±1,8, 3,4±1,0 та 45,9±1,3, а у хворих з новоутвореннями T2 та T1 вони становили 13,8±0,9, 2,2±0,8 і 18,1±0,9, відповідно та 14,3±1,1, 2,2±0,8 і 18,5±1,2, відповідно.

Поряд з цим показано, що збільшення периметра, радіуса та діаметра ядер клітин РМЗ асоціюється із наявністю метастатичного ураження регіонарних лімфатичних вузлів. Як видно з даних, наведених у табл. 6, у хворих без метастатичного ураження регіонарних лімфатичних вузлів периметр, радіус та площа ядер пухлинних клітин дорівнювали 10,9±0,8, 1,7±0,6 та 9,7±1,0, тоді як у пацієток з категорією N1 та N2 вони були більшими та становили 14,02±1,3, 2,2±0,3 та 17,2±0,9 і 19,31±0,3, 3,07±0,7 та 37,6±1,1, відповідно.

Визначено, що зниження ступеня диференціювання РМЗ супроводжується підвищенням усіх досліджених показників ядер пухлинних клітин у хворих досліджуваної групи (Табл. 7). Зокрема, у хворих периметр ядер пухлинних клітин у РМЗ високого-, помірного- та низького ступеня диференціювання становив 12,5±0,7, 18,9±0,7 та 19,9±0,7 мкм. Зниження ступеня диференціювання РМЗ також асоціювалося зі збільшенням радіуса та площі пухлинних клітин.

Встановлено певні відмінності при аналізі залежностей морфометричних показників ядер пухлинних клітин від їх рецепторного статусу та проліферативної активності.

Таблиця 5. Морфометрична характеристика ядер клітин РМЗ залежно від розміру пухлини

Розмір пухлини	Параметр		
	Периметр (мкм)	Радіус (мкм)	Площа (мкм ²)
T1	14,3±1,1*	2,2±0,8*	18,5±1,2*
T2	13,8±0,9*	2,2±0,8*	18,1±0,9*
T3	21,6±1,8	3,4±1,0	45,9±1,3

Примітки: * - p<0,05 порівняно з пухлинами T3

Таблиця 6. Морфометрична характеристика ядер клітин РМЗ залежно від наявності метастатичного ураження регіонарних лімфатичних вузлів

Наявність Mts ураження регіонарних лімфатичних вузлів	Параметр		
	Периметр (мкм)	Радіус (мкм)	Площа (мкм ²)
N0	10,9±0,8*	1,7±0,6*	9,7±1,0*
N1	14,02±1,3	2,2±0,3	17,2±0,9
N2	19,3±1,0	3,07±0,7	37,6±1,1

Примітки: * - p<0,05 порівняно з N1 та N2

Таблиця 4. Морфометрична характеристика ядер пухлинних клітин, хворих на РМЗ

	Параметр		
	Периметр (мкм)	Радіус (мкм)	Площа (мкм ²)
Хворі на РМЗ	19,21±0,7	3,05±0,4	36,3±0,9

Визначено, що досліджені морфометричні показники не залежать від наявності експресії рецепторів естрогену та прогестерону у пухлинних клітинах хворих (табл. 8). Показано, що висока проліферативна активність РМЗ у хворих обох асоціюється зі збільшенням у 1,5-2 рази периметра, радіуса та площі ядер клітин.

Наступним етапом дослідження стало вивчення зв'язку морфометричних показників ядер клітин РМЗ залежно від термінів виникнення та локалізації другого новоутворення. Як видно з даних, наведених у табл. 9, статично достовірної різниці між морфометричними характеристиками РМЗ та терміном виникнення другого захворювання не визначено.

Встановлено, що максимальні показники периметру, радіуса та площі ядер клітин визначаються у хворих на РМЗ з локалізацією другого новоутворення у яєчнику (табл. 10).

Висновки

Максимальні значення периметра, радіуса та площі ядер клітин (19,21±0,7, 3,05±0,4 та 36,3±0,9, відповідно) відзначено у пухлинах хворих на метакронний РМЗ.

Встановлено, що підвищення периметра, радіуса та площі ядер пухлинних клітин у хворих на метакронний РМЗ асоціюється зі збільшенням розміру новоутворень та наявністю метастазів у регіонарних лімфатичних вузлах.

Визначено, що зниження ступеня диференціювання РМЗ супроводжується підвищенням усіх досліджених показників ядер пухлинних клітин у хворих.

Показано, що висока проліферативна активність хворих

Таблиця 7. Морфометрична характеристика ядер клітин залежно від ступеня диференціювання РМЗ

Ступінь диференціювання	Параметр		
	Периметр (мкм)	Радіус (мкм)	Площа (мкм ²)
G1	12,5±0,9*	1,9±0,9*	15,2±0,8*
G2	18,9±1,0	3,0±0,4	36,2±0,8
G3	19,9±0,8	3,1±0,7	39,1±1,2

Примітки: * - p<0,05 порівняно з пухлинами помірного та низького ступеня диференціювання

Таблиця 8. Морфометрична характеристика ядер клітин РМЗ залежно від експресії рецепторів стероїдних гормонів та проліферативної активності других новоутворень

Експресія молекулярних маркерів	Параметр		
	Периметр (мкм)	Радіус (мкм)	Площа (мкм ²)
ER(-)	15,5±0,9	2,4±0,9	24,0±0,8
ER(+)	19,9±1,0	3,1±0,4	24,4±0,8
PR(-)	15,5±0,8	2,4±0,7	24,7±1,2
PR(+)	19,9±0,9	3,1±0,9	27,0±0,8
Ki-67(-)	13,5±1,0	2,1±0,4	24,4±0,8
Ki-67(+)	29,9±0,8*	3,6±0,7*	40,7±1,2*

Примітки: * - p<0,05 порівняно з Ki-67(-) пухлинами

Таблиця 9. Морфометрична характеристика ядер клітин залежно від термінів виникнення другого новоутворення у хворих на РМЗ

Термін виникнення 2 пухлини	Параметр		
	Периметр (мкм)	Радіус (мкм)	Площа (мкм ²)
До 1 року	17,4±1,9	2,7±0,9	29,1±1,8
До 3-х років	18,3±1,0	2,9±0,6	35,9±1,6
Більше 3-х років	19,5±1,8	3,1±0,7	36,5±1,2

на РМЗ асоціюється зі збільшенням у 1,5-2 рази периметра, радіуса та площі ядер клітин.

Морфометричною ознакою високого ризику виникнення другого захворювання при РМЗ є збільшення периметру, радіуса та площі ядер клітин на тлі підвищення проліферативної активності новоутворень низького ступеня диференціювання за наявності пухлин великого розміру та метастазів у регіонарних лімфатичних вузлах.

Література

1. Adamov AA. Nacionalnyj proect “Zdorovje”: novyj kurs, novaja strategija. 2008;1-4.
2. Bit-Sava EM, Belogyrova MB. Nasledstvennyj rak molochnoi zhelesy. Plasticheskaja chirurgija. 2012;42-45.
3. Schepotin IB, Fedorenko ZP. Bjulleten natsionalnoho cancer rejestru Ukrainy 2015-2016. 2016;17.
4. Kovalev AA, Berest TV. Ekspresija belkov Pgp, MRP1, BCRP i effektivnost chimioterapii u bolnyh racom molochnoi zhele-

Таблиця 10. Морфометрична характеристика ядер клітин залежно від локалізації другого новоутворення у хворих на РМЗ

Локалізація другого новоутворення	Параметр		
	Периметр (мкм)	Радіус (мкм)	Площа (мкм ²)
Рак тіла матки	20,1±2,1	3,2±0,6	40,2±2,8
Рак яєчника	12,2±1,0	1,94±0,4	14,6±1,6

sy.2016;16: 269-274.

5. Boyle DP, McCourt CM, Matchett KB. Molecular and clinicopathological markers of prognosis in breast cancer. Expert Rev Mol Diagnostics.2013; 13: 481-98.

6. Cardoso F, Costa A, Senkus E. 3rd ESO-ESMO International Consensus Guidedlines for Advanced Breast Cancer (ABC3). Ann. Oncol.2017; 28: 16-33.

7. Colleoni M. Expression of ER, PR, Her1, Her2 and response: a study of preoperative chemotherapy. Ann. Oncol.2008;19: 465-472.

8. Conzen SD, Conzen TA, Grushko OI. The Molecular Biology of Breast Cancer. Principles & Practice of Oncology.2008;8: 1595-654.

9. Fehm T, Maul H, Gebauer S. Prediction of axillary lymph node status of breast cancer patients by tumorbiological factors of the primary tumor. Strahlenther Onkol 2005; 18 (1): 580-6.

10. Fitzgibbons PL, Page DL, Weaver D, Thor AD. Prognostic factors in breast cancer. College of American Pathologists Consensus Statement 1999. Arch Pathol Lab Med 2000; 124 (7): 966-78.

Надійшла: 26.04.2019

Завершено рецензування: 17.06.2019

Прийнята до друку: 18.06.2019