

## МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПРИ ВОЗНИКНОВЕНИИ РЕЦИДИВОВ ЗАБОЛЕВАНИЯ У БОЛЬНЫХ С РАЗНЫМ СОСТОЯНИЕМ МЕНСТРУАЛЬНОЙ ФУНКЦИИ

С.В. Вторушин<sup>1,2</sup>, М.В. Завьялова<sup>1,2</sup>, В.М. Перельмутер<sup>1,2</sup>, А.В. Дорошенко<sup>2</sup>,  
Е.М. Слонимская<sup>1,2</sup>, О.В. Савенкова<sup>2</sup>

*ГОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет Росздрава», г. Томск<sup>1</sup>*

*НИИ онкологии СО РАМН, г. Томск<sup>2</sup>*

*634050, г. Томск, Московский тракт, 2, e-mail: wtorushin@rambler.ru<sup>1</sup>*

Исследовался операционный материал от 511 больных 35–80 лет (средний возраст  $52,9 \pm 9,6$  года) с инфильтрирующим протоковым раком молочной железы стадии  $T_{2-4}N_{0-2}M_0$ . Неоадьювантную химиотерапию получили 380 больных. Радикальная мастэктомия выполнена в 74 %, органосохраняющие операции – в 26 % случаев. Оценивалось наличие различных типов структур в инфильтративном компоненте опухоли, степень выраженности фиброза и воспалительной инфильтрации, рецепторный статус и экспрессия онкобелка Her2/neu. Локальные рецидивы возникли у 67 больных в срок от 3 до 66 мес после операции. Рецидивы значимо чаще обнаруживались у пациенток с сохраненной менструальной функцией. У них же наблюдалась связь частоты локальных рецидивов со степенью гистологической злокачественности. Встречаемость различных типов структур в инфильтративном компоненте опухоли, а также ее рецепторный статус не зависели от проведения неоадьювантной терапии. Резко выраженная воспалительная инфильтрация в ткани первичной опухоли чаще наблюдалась при рецидивах вне зоны послеоперационного рубца. Самый низкий уровень экспрессии рецепторов эстрогенов наблюдался при локализации рецидивов в области послеоперационного рубца –  $48,2 \pm 30,6$  %.

Ключевые слова: рецидив рака молочной железы, морфология, менструальная функция.

### MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF RECURRENT BREAST CANCER IN PATIENTS WITH VARIOUS MENSTRUAL FUNCTION

S. V. Vtorushin<sup>1,2</sup>, M. V. Zavyalova<sup>1,2</sup>, V. M. Perelmutter<sup>1,2</sup>, A. V. Doroshenko<sup>2</sup>, E. M. Slonimskaya<sup>1,2</sup>, O. V. Savenkova<sup>2</sup>

*Siberian State Medical University, Tomsk<sup>1</sup>*

*Cancer Research Institute, SB RAMS, Tomsk<sup>2</sup>*

*2, Moskovsky Tract, 634050-Tomsk, e-mail: wtorushin@rambler.ru<sup>1</sup>*

Surgical specimens from 511 patients aged 35 to 80 years (median age  $52,9 \pm 9,6$  years) with stage  $T_{2-4}N_{0-2}M_0$  infiltrating ductal breast carcinoma were examined. Neoadjuvant chemotherapy was administered to 380 patients. Radical mastectomy was performed in 74 % of cases and organ-preserving surgery in 26 % of cases. The presence of various types of structures in infiltrating component, degrees of fibrosis and inflammatory infiltration, receptor status and expression of Her2/neu oncoprotein were evaluated. Sixty-seven patients developed recurrence 3 to 66 months after surgery. Recurrences were observed much more frequently in patients with preserved menstrual function. Occurrence of various types of structures in infiltrating component of the tumor and receptor status of the tumor depended no upon neoadjuvant therapy. Pronounced inflammatory infiltration in primary tumor tissue was observed more frequently in patients with recurrence developed beyond the area of postoperative scar. The lowest level of estrogen receptor expression was observed in patients with recurrence located in the area of postoperative scar ( $48,2 \pm 30,6$  %).

Key words: breast cancer recurrence, morphology, menstrual function.

Согласно имеющимся представлениям местный рецидив определяют как появление инвазивной опухоли или рака *in situ* в остаточной ткани молочной железы или в покрывающей ее коже, а также в аксиллярной клетчатке одноименной стороны. Таким образом, понятие локального рецидива является собирательным

термином, относящимся ко всем вышеупомянутым локализациям [3, 6, 9].

В ряде работ указано, на определенную связь между частотой возникновения рецидивов и такими морфологическими признаками первичной опухоли, как степень гистологической злокачественности, рецепторный статус, про-

лиферативная активность, экспрессия маркеров апоптоза и ангиогенеза. Высокая степень злокачественности ( $G_3$ ) как инфильтративного, так и протокового компонентов опухоли коррелирует с большей частотой рецидивирования при РМЖ [5, 6, 8]. В то же время некоторые исследователи не находят подобной закономерности [4].

Рецепторный статус первичной опухоли является важным как предсказательным, так и прогностическим критерием при раке молочной железы и сопряжен с вероятностью возникновения локальных рецидивов. По данным S.M. Thorpe и J.P. Crowe Jr., в отсутствие адъювантной гормонотерапии показатели 5-летней безрецидивной выживаемости у больных с РЭ-положительными опухолями при наличии метастазов в аксиллярных лимфатических узлах на 20 % выше, чем у пациентов с рецепторнегативными опухолями [2, 7]. Риск рецидива у больных РЭ+РП– на 25 %, а у больных с РЭ+РП+ на 53 % ниже, чем у больных с фенотипом опухоли РЭ–РП– [1].

Однако несмотря на попытки использовать ряд морфологических и иммуногистохимических параметров для прогнозирования вероятности появления рецидива при РМЖ, в настоящее время проблема далека от окончательного решения. В литературе практически отсутствуют данные об особенностях морфологического строения инфильтрирующего протокового рака при развитии рецидивов заболевания у больных с разным состоянием менструальной функции. В связи с этим весьма актуальным является поиск новых и уточнение роли существующих прогностических критериев, сопряженных с развитием рецидивов заболевания.

**Цель исследования** – изучение морфологических особенностей инфильтрирующего протокового рака молочной железы у пациенток старше 35 лет, сопряженных с риском возникновения местных рецидивов.

#### Материалы и методы

В исследование были включены 511 больных инфильтрирующим раком молочной железы в  $T_{2-4}N_{0-2}M_0$ , в возрасте от 35 до 80 лет, средний возраст составил  $52,9 \pm 9,6$  года. Из них 380 больным проводилась 2–4 курса неoadъювантной химиотерапии (НАХТ) по схеме CMF или

FAС. Остальным пациенткам предоперационное лечение не проводилось. Радикальная мастэктомия была выполнена 380 больным, 131 – проведено органосохраняющее лечение (радикальная или секторальная резекция молочной железы с аксиллярной лимфодиссекцией). Адъювантное лечение получили 495 пациенток, 172 пациенткам проводилось 2–6 курсов химиотерапии по стандартным схемам CMF или FAС, 44 больные получали гормонотерапию. В 279 случаях проводилось комплексное лечение, в составе которого 220 пациенткам назначалась лучевая терапия. Длительность наблюдения составила 5 лет и более.

При радикальной мастэктомии морфологической оценке подвергались опухолевые узлы, ткань из 4 квадрантов молочной железы и все аксиллярные лимфатические узлы. В случаях органосохраняющего лечения изучался удаленный сектор молочной железы с опухолью и аксиллярная клетчатка с лимфатическими узлами. Образцы тканей фиксировались в 10 % нейтральном формалине. Материал обрабатывался по стандартной методике и заливался в парафин. Срезы толщиной 5–6 мкм окрашивались гематоксилином и эозином. Все случаи, включенные в исследование, были представлены инфильтрирующим протоковым раком молочной железы. Оценка гистологической степени злокачественности проводилась по модифицированной схеме Scarff-Bloom-Richardson. Изучалось морфологическое строение инфильтративного компонента опухоли, в котором выделяли микроальвеолярные, тубулярные, трабекулярные, солидные структуры и дискретно расположенные опухолевые клетки. Отмечалось наличие или отсутствие указанного типа структур, а также их количество.

Наряду с морфологическим исследованием строения инфильтративного компонента опухолевого узла оценивалась выраженность стромы и воспалительной инфильтрации. Оценка проводилась полуколичественным способом по трехбалльной шкале (1 – слабо выражена, 2 – умеренно и 3 резко выражена). Определение рецепторов половых гормонов и Her2-статуса в опухолевой ткани проводили иммуногистохимическим способом, по стандартной мето-

дике. Применяли антитела фирмы «Dako» к рецепторам эстрогена (клон 1D51, готовые к применению, мышинные), к рецепторам прогестерона (клон PgR6311, готовые к применению, мышинные), к онкопротеину c-erb-2 (рабочее разведение 1:500, кроличьи). Статистическая обработка данных проводилась с помощью пакета программ «Statistica 6.0».

### Результаты и обсуждение

У 67 (13,1 %) пациенток возникли локальные рецидивы, которые были диагностированы в срок от 3 до 66 мес. Средний срок возникновения рецидива составил  $22,1 \pm 15,1$  мес. Средний возраст больных с наличием и отсутствием рецидивов рака молочной железы значимо не отличался и составил  $50,6 \pm 9,8$  года и  $53,2 \pm 9,6$  года соответственно.

У большей части пациенток (46) рецидив РМЖ был диагностирован в области послеоперационного рубца, в том числе у 21 больной – в мягких тканях при радикальной мастэктомии или в других квадрантах молочной железы при проведении органосохраняющих операций. Ни в одном из наблюдений не было отмечено одновременного возникновения рецидива в области рубца и вне его. Преобладали единичные рецидивные очаги – 88 %, множественные наблюдались реже – у 12 % больных.

Поскольку части пациенткам проводилась предоперационная химиотерапия, было весьма интересным сравнить морфологическое строение опухолей в зависимости от наличия или отсутствия лечения. Оказалось, что различные структуры инвазивного протокового рака встречаются с одинаковой частотой в опухолях без лечения и в случаях, когда опухоли подвергались лечебному воздействию (табл. 1).

Оценка экспрессии рецепторов половых гормонов клетками опухоли также показала, что она существенно не зависит от проведения НАХТ (табл. 2). Отсутствие выраженного влияния НАХТ на частоту встречаемости различных структур инфильтративного компонента РМЖ позволяет предположить, что опухолевые клетки различных структур одинаково чувствительны к проводимому лечению, которое при этом также существенно не изменяет экспрессии ими рецепторов половых гормонов.

Таблица 1

### Частота встречаемости различных структур в инфильтративном компоненте опухоли РМЖ в зависимости от метода комбинированного лечения

Наличие структур в инфильтративном компоненте опухоли	Группы больных		p
	Без НАХТ (n=134)	НАХТ (n=377)	
Трабекулярные	110 (82,1 %)	299 (79,4 %)	0,25
Микроальвеолярные	86 (64,2 %)	235 (62,3 %)	0,34
Солидные	63 (47,1 %)	154 (40,8 %)	0,2
Тубулярные	39 (29,2 %)	113 (30 %)	0,43
Дискретные клетки	72 (53,7 %)	207 (54,9 %)	0,4

Таблица 2

### Выраженность экспрессии рецепторов половых гормонов в клетках инвазивного протокового рака молочной железы в зависимости от метода комбинированного лечения

Вид рецепторов половых гормонов	Группы больных	
	Без НАХТ (n=91)	С НАХТ (n=137)
РЭ	70,8 ± 26,5 %	67,4 ± 27,5 %
	F= 0,7, p=0,39	
РП	63,5 ± 36,9 %	56,1 ± 31,1 %
	F= 1,8, p=0,2	

Таблица 3

### Зависимость частоты возникновения местных рецидивов от степени гистологической злокачественности опухоли у больных РМЖ с сохраненным менструальным статусом

Степень злокачественности	Наличие рецидива заболевания		p
	Нет (n=173)	Есть (n=38)	
1	18 (10,4 %)	1 (2,6 %)	0,08
2	145 (83,8 %)	30 (78,9 %)	0,23
3	10 (5,8 %)	7 (18,5 %)	0,005

Исследование позволило обнаружить ряд морфологических особенностей первичного опухолевого узла, сопряженных с развитием рецидивов заболевания. Так, сравнение степени гистологической злокачественности инфильтрирующего протокового рака показало, что

связь между данным морфологическим критерием и частотой возникновения рецидивов наблюдалась только у пациенток с сохраненным менструальным циклом. При III степени злокачественности чаще встречались рецидивы заболевания (табл.3). Для пациенток, находящихся в состоянии менопаузы, такой зависимости нами не обнаружено.

Изучение гистологического строения инфильтративного компонента протокового рака молочной железы позволило обнаружить ряд существенных различий. В случаях развития рецидива в послеоперационном рубце в первичной опухоли значимо реже выявлялись трабекулярные структуры, но чаще обнаруживались солидные структуры инфильтративного компонента. Напротив, при локализации рецидивов вне рубца связь с частотой обнаружения в первичной опухоли трабекулярных и солидных структур была обратной (табл. 4, 5). Данная зависимость наблюдалась только у пациенток с сохраненной менструальной функцией.

При развитии рецидивов в области послеоперационного рубца, микроальвеолярные структуры, подобно солидным, встречались чаще в первичной опухоли. Однако данная связь наблюдалась независимо от состояния менструальной функции (табл. 6).

Для больных с сохраненной менструальной функцией выявленная зависимость имела еще и количественный характер. При развитии рецидива в области послеоперационного рубца в инфильтративном компоненте опухоли достоверно чаще наблюдались случаи с большим количеством микроальвеолярных структур в сравнении со случаями без местного прогрессирования заболевания (соответственно, 44,3 % и 17,3 %;  $p=0,01$ ). Для пациенток, находящихся в менопаузе, такой зависимости не выявлено.

Оказалось, что резко выраженная воспалительная инфильтрация в ткани первичной опухоли достоверно чаще наблюдается при рецидивах вне зоны послеоперационного рубца в сравнении со случаями, когда рецидивы возникали в его области ( $p=0,014$ ). Данный морфологический параметр не зависел от состояния менструальной функции. Выраженность стромы опухоли не имела значимых отличий в исследуемых группах.

Таблица 4

**Зависимость локализации рецидива от наличия трабекулярных структур в инфильтративном компоненте первичной опухоли у больных РМЖ с сохраненным менструальным статусом**

Наличие и локализация рецидива	Наличие трабекулярных структур в опухоли		p
	Нет (n=47)	Есть (n=165)	
Нет рецидива	37 (78,7 %)	137 (83,1%)	0,26
В области рубца	10 (21,3 %)	18 (10,9 %)	0,03
Вне зоны рубца	-	10 (6 %)	0,043

Таблица 5

**Зависимость локализации рецидивов от наличия солидных структур в инфильтративном компоненте первичной опухоли у больных РМЖ с сохраненным менструальным статусом**

Наличие и локализация рецидива	Наличие солидных структур в опухоли		p
	Нет (n=125)	Есть (n=87)	
Нет рецидива	106 (84,8 %)	68 (78,2 %)	0,19
В области рубца	11 (8,8 %)	17 (19,5 %)	0,01
Вне зоны рубца	8 (6,4 %)	2 (2,3 %)	0,08

Таблица 6

**Зависимость локализации рецидива от наличия микроальвеолярных структур в инфильтративном компоненте первичной опухоли у больных РМЖ независимо от состояния менструальной функции**

Наличие и локализация рецидива	Наличие микроальвеолярных структур		p
	Нет (n=190)	Есть (n= 321)	
Нет рецидива	172 (90,5 %)	272 (84,7 %)	0,6
В области рубца	11 (5,8 %)	35 (10,9 %)	0,04
Вне зоны рубца	7 (3,7 %)	14 (4,4 %)	0,4

Интересные данные получены при изучении рецепторного статуса опухоли. Анализ материала показал, что при негативной экспрессии рецепторов эстрогена и прогестерона рецидивы

заболевания наблюдались чаще ( $p=0,03$ ). Этот факт согласуется с имеющимися в литературе данными. Нами было обнаружено, что даже при позитивном рецепторном статусе опухоли в случаях возникновения рецидивов отмечался более низкий уровень экспрессии рецепторов эстрогена, чем при отсутствии прогрессирования заболевания (соответственно,  $51,0 \pm 29,3\%$  и  $71,6 \pm 25,7\%$   $F=12,2$ ;  $p=0,0006$ ). Важно отметить, что самый низкий уровень экспрессии наблюдался при локализации рецидивов в области послеоперационного рубца по сравнению с их отсутствием (соответственно,  $48,2 \pm 30,6\%$  и  $71,1 \pm 25,7\%$ ). Обнаруженные различия статистически значимы ( $p=0,0004$ ). Выявленная закономерность не зависела от состояния менструального статуса. При возникновении рецидива вне области рубца уровень экспрессии рецепторов эстрогенов не отличался по сравнению с группой без рецидивов. Значимых отличий в экспрессии рецепторов прогестерона и онкопротеина Her2/neu в зависимости от наличия или отсутствия локальных рецидивов РМЖ не отмечено.

Таким образом, полученные результаты исследования в группе пациенток с РМЖ старше 35 лет позволили выявить некоторые морфологические особенности опухоли при развитии рецидивов и уточнить значимость основных факторов, используемых для оценки прогноза заболевания. Показано, что определенная связь частоты рецидивирования и морфологического строения первичной опухоли обнаружена у больных с сохраненной менструальной функцией. Это касалось как рецидивов в рубце (их частота увеличивалась при наличии в инфильтративном компоненте солидных или при большем количестве микроальвеолярных структур), так и локализации вне послеоперационного рубца (рецидивы выявлялись при наличии в опухоли трабекулярных структур). Связь степени гистологической злокачественности опухоли с частотой возникновения рецидивов обнаружена

только у пациенток с сохраненной менструальной функцией. Рецидивы в зону рубца чаще наблюдались при менее выраженной экспрессии рецепторов эстрогенов в опухоли.

Полученные данные предполагают различия в механизмах развития рецидивов в послеоперационный рубец и вне его, зависящие от такого важного организменного признака, как менструальный статус. Разделение морфологических факторов прогноза с учетом вероятной локализации рецидива и состояния менструальной функции пациенток позволит повысить эффективность прогнозирования рецидивов РМЖ и выбирать более адекватную тактику профилактического лечения.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Bardou V.-J., Arpino G., Elledge R.M. Progesterone receptor status significantly improves outcome prediction over estrogen receptor status alone for adjuvant endocrine therapy in two large // *J. Clin. Oncol.* 2003. Vol. 21. P. 1973–1979.
2. Crowe J.P. Jr., Gordon N.H., Hubay C.A. Estrogen receptor determination and long term survival of patients with carcinoma of the breast // *Surg. Gynecol. Obstet.* 1991. Vol. 173. P. 273–278.
3. Fowble B. Breast recurrence following conservative surgery and radiation: patterns of failure prognosis, and pathologic findings from mastectomy specimens with implications for treatment // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 1990. Vol. 19 (4). P. 833–842.
4. Fredriksson I., Liljegren G., Palm-Sjovall M. et al. Risk factors for local recurrence after breast-conserving surgery // *Br. J. Surg.* 2003. Vol. 90. P. 1093–1102.
5. Sundquist M. Indicators of loco-regional recurrence in breast cancer. The South East Swedish Breast Cancer Group // *Eur. J. Surg. Oncol.* 2000. Vol. 26 (4). P. 357–362.
6. Taghian A., Jeong J., Mamounas E. et al. Patterns of locoregional failure in Patients with operable breast cancer treated by mastectomy and adjuvant chemotherapy with or without tamoxifen and without radiotherapy: Results from five national surgical adjuvant breast and bowel project randomized clinical trials // *J. Clin. Oncol.* 2004. Vol. 15. P. 4247–4250.
7. Thorpe S.M., Rose C., Rasmussen B.B. Steroid hormone receptors as prognostic indicators in primary breast cancer // *Breast Cancer Res. Treat.* 1986. Vol. 7. P. 91–98.
8. Voogd A.C., Nielsen M., Peterse J.L. et al. Differences in risk factors for local and distant recurrence after breast-conserving therapy or mastectomy for stage I and II breast cancer: pooled results of two large European randomized trials // *J. Clin. Oncol.* 2000. Vol. 19. P. 1688–1697.
9. Vrieling C., Collette L., Fourquet A. et al. Can patient-, treatment- and pathology-related characteristics explain the high local recurrence rate following breast-conserving therapy in young patients? // *Eur. J. Cancer.* 2003. Vol. 39. P. 932–944.

Поступила 3.12.09