

СЛУЧАЙ ИЗ ПРАКТИКИ

А. А. Пароконная¹, М. И. Нечушкин¹, И. К. Воротников¹, А. А. Лушникова²,
Л. Н. Любченко¹, Н. И. Поспехова³, В. Д. Ермилова¹

НЕЭПИТЕЛИАЛЬНАЯ ОПУХОЛЬ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ НА ФОНЕ СУЩЕСТВУЮЩЕЙ БЕРЕМЕННОСТИ. КЛИНИКО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ

¹ НИИ клинической онкологии ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, Москва

² НИИ канцерогенеза ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, Москва

³ Медико-генетический научный центр РАМН, Москва

Листовидная фиброаденома и саркома молочных желез представляют собой довольно редкую и недостаточно изученную онкологическую патологию, составляя почти 2% всех злокачественных опухолей молочной железы. Описан случай лечения больной с листовидной опухолью правой молочной железы и «гигантской» фиброаденомой левой молочной железы на фоне беременности. Наступление беременности послужило мощным стимулом к быстрому росту образований в молочных железах и увеличению опухоли в 3 раза. При сроке беременности 20 нед выполнена двусторонняя мастэктомия. Беременность благополучно завершилась срочными родами. При обследовании пациентки через 9 мес после операции рецидива заболевания не отмечено. В связи с патологией обеих молочных желез и рецидивами опухоли у данной больной авторы провели молекулярно-генетическое исследование образцов ДНК, полученных из лимфоцитов периферической крови и опухолевой ткани.

Были проанализированы характерные для патологии молочной железы мутантные и полиморфные сайты в генах *BRC1/2* и *TP53*, а также наличие MMTV-гомологичных последовательностей в геномной ДНК. В экзоне 10 гена *BRCA1* выявлен однонуклеотидный полиморфный вариант N372H, а в экзоне 2 гена *BRCA2* — аминокислотная замена 203G/A, которые могут влиять на риск развития рака молочной железы и яичников. В этих образцах ДНК обнаружены последовательности, гомологичные gp52-кодирующей области гена *env* MMTV и *Sag*-кодирующей области 3'LTR MMTV, ранее выявленные нами у больных раком молочной железы. На основании полученных данных в подобных случаях рекомендуется хирургическое вмешательство в сочетании с консультацией акушера-гинеколога и молекулярно-генетическим обследованием больной для всесторонней оценки риска и причин патологии.

Ключевые слова: листовидная опухоль, молочная железа, беременность, молекулярно-генетические особенности.

ОПИСАНИЕ КЛИНИЧЕСКОГО СЛУЧАЯ

Пациентка З., 23 лет, находилась в отделении радиохимирии ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН с диагнозом: листовидная опухоль правой молочной железы промежуточного типа. Состояние после секторальных резекций правой молочной железы в 2002—2003 гг. Фиброаденома левой молочной железы. Беременность 20 нед.

Из анамнеза известно, что в 1998 г. больная впервые заметила уплотнение в правой молочной железе. К вра-

чам не обращалась. На фоне наступившей в том же году беременности пациентка обратила внимание, что опухоль быстро увеличивается. Беременность была завершена медицинским абортom, однако опухоль, со слов больной, продолжала расти. При обращении к врачу в 2002 г., когда опухолевое образование занимало весь верхневнутренний квадрант, поставлен диагноз фиброаденомы и выполнено хирургическое вмешательство в объеме секторальной резекции. Спустя 6 мес больная вновь обратилась за медицинской помощью в связи с рецидивом заболевания. Вновь была выполнена секторальная резекция. К моменту госпитализации в РОНЦ пациентка перенесла 3 хирургических вмешательства по поводу рецидива опухоли.

В 2003 г. наступила вторая беременность, во время которой, помимо появившейся вновь рецидивной опухоли в правой молочной железе, стала определяться опухоль и во внутренних квадрантах левой молочной железы. Со слов больной, образование слева за 2 нед наблюдения увеличилось в 3 раза, появились болезненность, чувство «распирания». При сроке 17 нед беременности пациентка обратилась в РОНЦ.

При осмотре правая молочная железа деформирована за счет послеоперационных рубцов. Всю оставшуюся часть железы занимает бугристая опухоль диаметром до 6,5 см. Слева кожа молочной железы истончена, с выраженным венозным рисунком, синюшного цвета, половина молочной железы занята множественными узловыми образованиями, общим диаметром до 10 см. Регионарные лимфатические узлы не определяются (рис. 1).

Ввиду быстрого роста опухоли, тенденции к рецидивированию поставлен диагноз «рецидив листовидной опухоли правой молочной железы; листовидная опухоль левой молочной железы», который был подтвержден при ультразвуковом исследовании и магнитно-резонансной томографии.

С учетом данных анамнеза (длительный срок наблюдения, рецидивирующий характер опухоли), большого объема образований, предполагаемой возможности озлокачествления опухолей, а также объема предстоящего хирургического вмешательства решением консилиума пациентке было предложено прерывание беременности с последующим хирургическим лечением. Однако от прерывания беременности пациентка отказалась.

Больная была проконсультирована в Центре планирования семьи и репродукции. Противопоказаний к хирургическому вмешательству при сроке беременности 19—20 нед не определено. Ввиду большого объема опухолевых масс, быстрого экспансивного роста новообразования, возможности озлокачествления опухоли выполне-



Рисунок 1. Внешний вид пациентки.

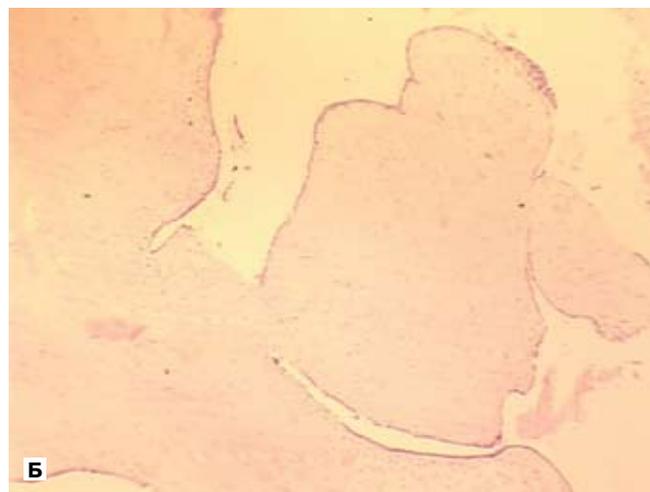
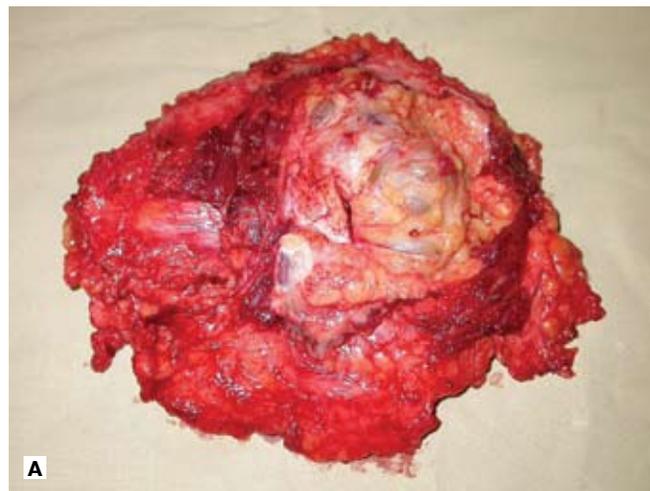


Рисунок 2. Данные патоморфологического исследования. А. Макропрепарат удаленной правой молочной железы. Б. Листовидная опухоль типичного строения. Окраска гематоксилином и эозином ($\times 10$).

но хирургическое вмешательство в объеме двусторонней мастэктомии.

Описание макро- и микропрепаратов. «Правая молочная железа: ... определяется неправильной формы узел размерами $8 \times 4 \times 4,3$ см, дольчатого вида, плотноэластической консистенции, с участками более рыхлой ткани белесоватого цвета (рис. 2).

...Узел в правой молочной железе имеет строение, характерное для листовидной опухоли... Строма сосочков обильная, то почти бесклеточная, то образована «более клеточной» рыхлой соединительной тканью. Клеточные участки стромы составляют небольшие очаговые зоны, в которых видны рыхло лежащие клетки вытянутой или округло-овальной формы. Ядра клеток умеренно полиморфны, слабо окрашены, встречаются единичные фигуры деления. Подобные изменения в узле позволяют отнести его к листовидной опухоли промежуточного типа, без достоверных признаков озлокачествления.

...Левая молочная железа... узел дольчатого строения, размерами 11 × 10,5 × 5,5 см... Узел в левой молочной железе имеет типичное гистологическое строение фиброаденомы с участками периканаликулярного строения. Эпителиальный и стромальный компоненты представлены в равном объеме... Размеры узла позволяют отнести его к так называемой гигантской фиброаденоме».

Беременность благополучно завершилась срочными родами. При обследовании пациентки через 9 мес после операции рецидива заболеваний не отмечено.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Несмотря на отсутствиеотягощенного семейного анамнеза у больной З., двустороннее поражение молочных желез и рецидивирование процесса указывают на высокую вероятность генетических нарушений. В связи с этим было проведено молекулярно-генетическое исследование генов *BRCA1*, *BRCA2* и *TP53*.

При анализе ДНК, выделенной из периферической крови и ткани опухоли, с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) и конформационно-чувствительного гель-электрофореза проведен скрининг мутаций и однонуклеотидных полиморфных вариантов, характерных для патологии молочной железы: гена *BRCA1* — экзонов 20 (5382insC), 5 (C61G), 2 (185delA), 11.8 (2080delA), (4154delA), 11.4 (E1038G), *BRCA2* — экзонов 10 (N372H), 2 (203G/A) и гена *TP53* (локус R72P). Мутаций изучаемых генов не выявлено, однако структура гена *BRCA2* представлена частым однонуклеотидным полиморфизмом в экзоне 10 — N372H в гетерозиготном состоянии, расположенном в зоне аминокислотных остатков 230—453, взаимодействующих с гистоновой ацетилтрансферазой P/CAF, что приводит к активации транскрипции других генов (рис. 3).

По данным литературы, риск развития рака молочной железы (РМЖ) и рака яичников у носителей гомозиготного HH-аллельного варианта повышен в 1,3—1,5 раза по сравнению с контролем. В экзоне 2 гена *BRCA2* обнаружена аминокислотная замена 203 G/A в 5'-нетранслируемой области, которая расценивается как внутригенный модификатор риска развития РМЖ и рака яичников у носителей герминальных мутаций гена *BRCA1* [7]. Ген *PT53* представлен заменой R72P, которую некоторые исследователи рассматривают как миссенс-мутацию, ассоциированную с повышенным риском развития РМЖ [13].

Анализ с помощью ПЦР образцов ДНК из лимфоцитов и опухолевой ткани больной с праймерами к области гена *env* MMTV, кодирующей структурный белок оболочки, и к области U3 LTR, кодирующей ретровирусный суперантиген *Sag*, позволил выявить специфичные последовательности, высоко гомологичные экзогенному MMTV (рис. 4).

Возможно, родственный MMTV ретровирус играет роль в прогрессии листовидных опухолей, особенно на стадии пролиферации эпителиальных клеток молочной железы. Прямое секвенирование позволило выявить делецию 15 пар нуклеотидов в области *Sag*-кодирующей



Рисунок 3. Пример электрофоретического разделения полиморфных аллелей N372H гена *BRCA2*. Гетерозиготный вариант N372H представлен виде 2 полос — двух фрагментов ДНК (продуктов ПЦР) с различной подвижностью.

области провируса, которая не характерна для этих последовательностей, выявленных у больных РМЖ. Отметим, что провирусные последовательности были обнаружены нами у 2 из 3 наблюдавшихся пациенток с листовидными опухолями (доброкачественная и промежуточная формы заболевания) на фоне беременности.

ОБСУЖДЕНИЕ

По данным различных авторов, смешанные неэпителиальные и фиброэпителиальные опухоли (листовидные опухоли и саркомы) составляют около 2% всех злокачественных опухолей молочной железы [1; 2; 13]. Редкие наблюдения случаев листовидной опухоли не позволяют достаточно полно изучить эту патологию. Однако общие закономерности течения и прогноза заболевания известны. Так, листовидные опухоли через ряд последовательных вариантов от доброкачественного через промежуточный тип и злокачественную форму могут трансформироваться в саркому молочной железы. Склонность к рецидивам — характерная особенность листовидных опухолей. Каждый последующий рецидив, как правило, характеризуется более злокачественным гистологическим вариантом [5].

Наиболее рациональным подходом при лечении больных с листовидными опухолями является выполнение хирургического вмешательства в объеме мастэктомии. Авторам известны 3 случая возникновения листовидной опухоли на фоне беременности. Интенсивные разработки молекулярных технологий в последнее десятилетие

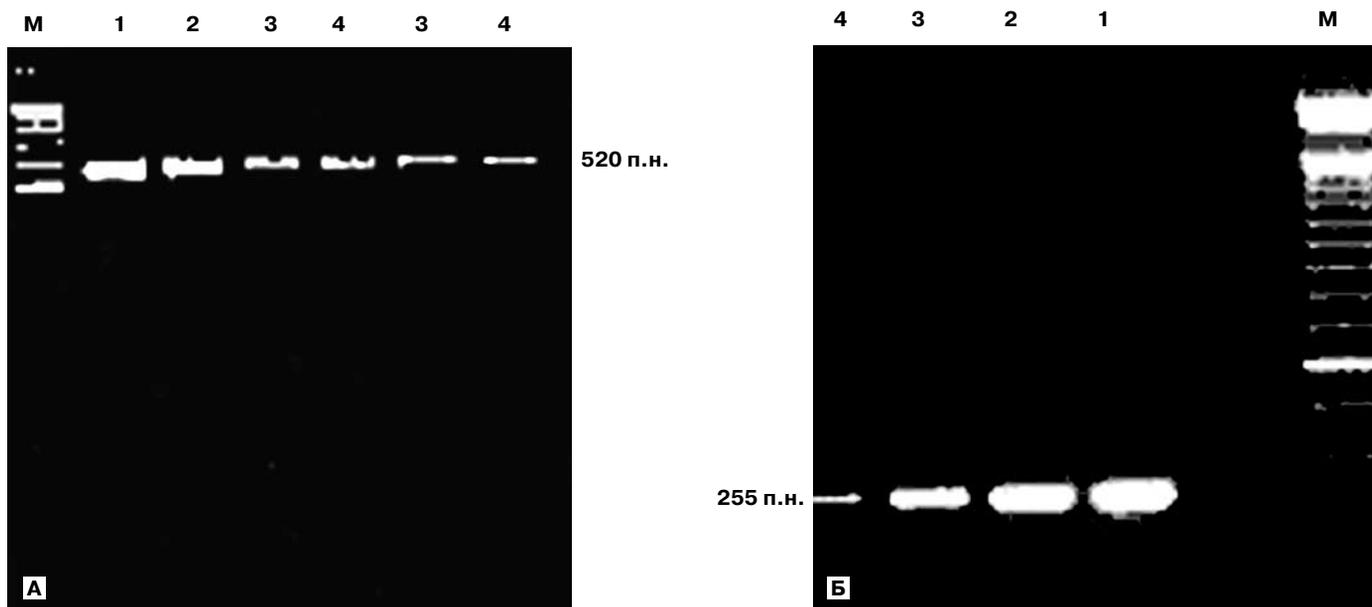


Рисунок 4. Результаты ПЦР с праймерами на образцах ДНК больной 3. Треки 1, 2 — ДНК из опухоли, треки 3, 4 — ДНК из клеток крови. М — маркер молекулярной массы.

А. Праймеры к области гена *env* MMTV, кодирующей gp52.

Б. Праймеры к области 3'LTR, кодирующей ретровирусный суперантиген *Sag*.

позволили добиться значительных успехов в изучении генетических факторов, задействованных в процессах канцерогенеза при опухолях молочных желез и в некоторых случаях, определяющих предрасположенность к возникновению заболевания, развитию контралатеральных и рецидивирующих опухолей, возможности метастазирования.

Наиболее значимыми молекулярно-генетическими маркерами являются мутации и однонуклеотидные полиморфные варианты генов-супрессоров *BRCA1*, *BRCA2*, *TP53* [4; 6—9; 11]. Аллельные потери и цитогенетические перестройки зоны гена *FHIT* (локус D3S1300) 3p12-p14 были описаны как в стромальном, так и в эпителиальном компоненте листовидных опухолей [12]. Эти данные подтверждают, что оба эти компонента вовлечены в неопластический процесс. Делеция короткого плеча хромосомы 1 (1p) и аллельный дисбаланс были ассоциированы с более агрессивным течением и рецидивированием опухоли [12]. У пациенток с множественными и контралатеральными листовидными опухолями была определена специфическая панель локусов с потерей гетерозиготности (LOH), которая не характерна для фиброаденом [13].

Первичные листовидные опухоли и их рецидивы имели единую клональную природу, а специфический локус LOH был также характерен для патологической прогрессии и метастазирования. В этом же исследовании получены данные, подтверждающие, что злокачественные эпителиальный и стромальный компоненты имеют единый генотип LOH, определяющий общий патобиологический механизм [13]. Следует отметить работу К. Rhiem и со-

авт. [10], обнаруживших ассоциацию миссенс-варианта R1699W гена *BRCA1* с развитием злокачественной листовидной опухоли молочной железы. Авторы считают, что у носителей этой редкой делетирующей (изменяющей функцию белка) герминальной мутации гена *BRCA1* высока вероятность развития данного гистопатологического варианта [10].

Ранее мы обнаружили в образцах ДНК из периферической крови, лимфатических узлов и опухолевой ткани у 57—60% больных РМЖ на фоне беременности или лактации последовательности, гомологичные MMTV — экзогенному ретровирусу, вызывающему РМЖ у некоторых линий мышей [3]. Экспрессия провирусных последовательностей гормонально-зависимая и может играть роль в индукции и прогрессии РМЖ у человека. Причем лимфоидные клетки важны для распространения провируса и дальнейшей его амплификации в активно делящихся эпителиальных клетках молочной железы.

В современной литературе нет сведений о распространении MMTV у больных с листовидными опухолями на фоне беременности или лактации. По нашему мнению, при выявлении подобных клинических случаев беременность пациентки не должна являться причиной отказа от операции. Для определения оптимальных и наиболее безопасных сроков выполнения хирургического вмешательства необходима консультативная поддержка акушеров-гинекологов. Больные с листовидными опухолями нуждаются также в проведении тщательного молекулярно-генетического исследования для выявления факторов риска и возможных причин патологии с целью оптимизации лечения и наблюдения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Воротников И. К. Неэпителиальные и фиброэпителиальные опухоли молочных желез. Клиника, диагностика, лечение: Дис... А-ра мед. наук. — М., 2000.
2. Воротников И. К., Ермилова В. Д. Неэпителиальные и фиброэпителиальные опухоли молочных желез / Под ред. Летягина В. П. Первичные опухоли молочной железы. — М.: Миклош, 2004. — С. 281—307.
3. Лушникова А. А., Крюкова И. Н., Пароконная А. А. и др. Обнаружение env MMTV-гомологических последовательностей у беременных и кормящих женщин с опухолями молочных желез // Молекул. Мед. — 2006. — № 1. — С. 48—53.
4. Любченко Л. Н., Портной С. М., Поспехова Н. И. и др. Клинико-молекулярные аспекты наследственного рака молочной железы // Молекул. Мед. — 2007. — № 1. — С. 8.
5. Ben Hassouna J., Damak T., Gamoudi A. et al. Phyllodes tumors of the breast: a case series of 106 patients // Am. J. Surg. — 2006. — Vol. 192, N 2. — P. 141—147.
6. Birch J., Alston R., McNally R. et al. Relative frequency and morphology of cancers in carriers of germline TP53 mutations // Oncogene. — 2001. — Vol. 20. — P. 4621—4628.
7. Hughe D., Ginolthac S., Coupret A. Common BRCA2 variants and modification of breast and ovarian cancer risk in BRCA1 mutation carri-

ers // Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. — 2005. — Vol. 14, N 1. — P. 265—267.

8. Millar E. K., Beretov J., Marr P. et al. Malignant phyllodes tumours of the breast display increased stromal p53 protein expression // Histopathology. — 1999. — Vol. 34, N 6. — P. 491—496.

9. Ohayon T., Gershoni-Baruch R., Papa M. et al. The R72P TP53 mutation is associated with familial breast cancer in Jewish women // Brit. J. Cancer. — 2005. — Vol. 92. — P. 1144—1148.

10. Reiem K., Flucke U., Engel C. et al. Associated of the BRCA1 missense variant R1699W with a malignant phyllodes tumor of the breast // Cancer Genet. Cytogenet. — 2007. — Vol. 176. — P. 76—79.

11. Salvadori B., Cusumano F., Del Bo R. Argomenti oncol. 1th ed. — UFO, 1990. — P. 157—163.

12. Sawyer E., Hanby A., Lakhani S. et al. Molecular analysis of phyllodes tumors reveals distinct changes in the epithelial and stromal components // Am. J. Pathol. — 2000. — Vol. 156, N 3. — P. 1093—1098.

13. Wang Z., Buraimoh A., Iglehart J. et al. Genome-wide analysis for loss of heterozygosity in primary and recurrent phyllodes tumor and fibroadenoma of breast using single nucleotide polymorphisms array // Breast Cancer Res. Treat. — 2006. — Vol. 97, N 3. — P. 301—309.

Поступила 08.07.2007

A. A. Parokonnaya¹, M. I. Nechushkin¹, I. K. Vоротников¹, A. A. Lushnikova²,
L. N. Lyubchenko¹, N. I. Pospekhova³, V. D. Ermilova¹
**NONEPITHELIAL BREAST TUMORS IN PREGNANT WOMEN: CLINICAL AND
GYNECOLOGICAL CHARACTERISTICS**

¹ Clinical Oncology Research Institute, N. N. Blokhin RCRC RAMS, Moscow

² Carcinogenesis Research Institute, N. N. Blokhin RCRC RAMS, Moscow

³ Medical Genetics Research Center RAMS, Moscow

Phyllodes fibroadenoma and sarcoma of the breast are rather rare and poorly studied cancer types that account for about 2% of all breast cancers. We present a case of a pregnant woman with a phyllodes tumor of the right breast and a giant fibroadenoma of the left breast. Pregnancy promoted fast growth of breast lesions resulting in a three-fold increase in tumor burden. The patient underwent bilateral mastectomy on her 20th week of pregnancy. The pregnancy ended in delivery at term. Patient assessment at 9 months following surgery found no disease recurrence. Basing on the occurrence of tumors in both breasts and disease recurrence the authors performed a molecular genetic study of DNA from peripheral lymphocytes and tumor tissue. The analysis focused on mutant and polymorphous sites in *BRCA1/2* and *TP53* genes, characteristic of breast lesions and MMTV-homologic sequences in genomic DNA. There were an N372H single nucleotide polymorphous variant in *BRCA1* exon 10 and a 203G/A amino acid replacement in *BRCA2* exon 2 that might influence the risk of breast or ovarian cancer. DNA specimens contained sequences homologous to gp52-coding region of MMTV *env* gene and Sag-coding region of MMTV 3'LTR previously found in breast cancer patients. These findings are considered indications for surgical intervention, obstetrician-gynecologist advice and molecular genetic examination to make a comprehensive assessment of the risk and disease causes.

Key words: phyllodes tumor, breast, pregnancy, molecular genetic characteristics.