

Плоидность опухоли как один из важнейших факторов прогноза метастатического рака молочной железы

Н.В.Лепкова¹, И.Ю.Коротких², С.В.Чулкова², А.В.Егорова¹

¹Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова, кафедра онкологии лечебного факультета, Москва (зав. кафедрой — проф. С.Б.Петерсон);

²Российский онкологический научный центр им. Н.Н.Блохина РАМН, Москва (директор — акад. РАН и РАМН, проф. М.И.Давыдов)

Цель исследования — оценить влияние плоидности опухоли на прогноз метастатического рака молочной железы (МРМЖ). Методом лазерной ДНК-проточной цитофлуориметрии изучены новообразования у 37 женщин. Определены плоидность опухоли, индекс ДНК (ИДНК), индекс пролиферации, содержание клеток опухоли в G0/1, S и G2+M фазах клеточного цикла. У 3 (8,1%) больных опухоли были диплоидными, у 34 (91,9%) — анеуплоидными. Анеуплоидные опухоли в зависимости от ИДНК разделили на 4 группы: анеуплоидные с потерей хромосомного материала (ИДНК <1,0); анеуплоидные с ИДНК в пределах митотического цикла (ИДНК в пределах 1,1–1,84); тетраплоидные (ИДНК в пределах 1,85–2,0) и многокლოновые анеуплоидные. Установлено, что продолжительность жизни у больных МРМЖ прямо пропорциональна интервалу между возникновением первой и второй опухолью. Чаще всего метастатический рак возникает в течение первых двух лет после лечения первичной опухоли у больных с многокლოновыми анеуплоидными опухолями, а реже всего — у больных с анеуплоидными опухолями с потерей хромосомного материала. Анеуплоидные опухоли с потерей хромосомного материала наиболее благоприятны в плане общей выживаемости при МРМЖ.

Ключевые слова: метастатический рак молочной железы, плоидность опухоли, прогностический фактор

Tumor ploidy as one of the most important predictors of metachronous breast cancer

N.V.Lepkova¹, I.Yu.Korotkikh², S.V.Chulkova², A.V.Egorova¹

¹The Russian National Research Medical University named after N.I.Pirogov, Department of Oncology of Medical Faculty, Moscow (Head of the Department — Prof. S.B.Peterson);

²N.N.Blokhin Russian Cancer Research Centre of RAMS, Moscow (Director — Acad. of RAS and RAMS, Prof. M.I.Davydov)

The purpose of this study is to assess the impact of tumor ploidy on the forecast of metachronous breast cancer (MBC). There were studied neoplasms in 37 women by the method of laser DNA-running. There were defined tumor ploidy, DNA index (DI), index of cell proliferation, the content of tumor cells in G0/1, S and G2+M phases of the cell cycle. In 3 (8.1%) patients tumors were diploid, in 34 (91.9%) — aneuploid. Aneuploid tumors depending on DI were divided into 4 groups: aneuploid with the loss of chromosomal material (DI <1.0); aneuploid with DI within the mitotic cycle (DI of 1.1–1.84); tetraploid (DI of 1.85–2.0); many clonal aneuploid. It was found that life expectancy in patients with MBC was directly proportional to the interval between the first and the second tumor. Metachronous cancer occurs more often within the first two years after treatment of the primary tumor in patients with many clonal aneuploid tumor, and less often — with aneuploid tumors with loss of chromosomal material. Aneuploid tumors with loss of chromosomal material are the most favorable in terms of overall survival with MBC.

Key words: metachronous breast cancer, tumor ploidy, prognostic factor

Рак молочной железы в силу широкой распространенности и неуклонного роста заболеваемости в большинстве стран мира является одной

Для корреспонденции:

Лепкова Наталья Васильевна, кандидат медицинских наук, ассистент кафедры онкологии лечебного факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова

Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1

Телефон: (495) 324-9684

E-mail: petersonsb@mail.ru

Статья поступила 05.12.2011 г., принята к печати 17.04.2012 г.

из важнейших проблем современной онкологии. Несмотря на значительные достижения последних лет в изучении процессов канцерогенеза, в клинической онкологии по-прежнему весьма непросто обосновать долгосрочный прогноз результатов лечения. Особенно остро эта проблема встает при первично-множественных опухолях.

Метастатический рак молочной железы (МРМЖ) — это один из вариантов первично-множественного рака, таковой считается опухоль, возникающая через 6 мес и более после окончания лечения перво-

го рака. Известно, что к прогностическим факторам при раке молочной железы относят возраст, менструальный статус, стадию заболевания (размер опухоли, количество метастазов в регионарных лимфатических узлах), степень злокачественности и гистологический тип опухоли, уровень рецепторов эстрогенов и прогестерона, экспрессию Her-2/neu, а также маркеры клеточной пролиферации и индекс дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК). Несколько десятилетий назад были созданы первые приборы для объективизации результатов морфологических исследований. Последующее их совершенствование привело к появлению нового направления — количественных методов исследования в морфологии, из которых в настоящее время наибольшее развитие получила лазерная ДНК-проточная цитофлюорометрия.

В 50–80-е гг. XX века Т. Caspersson, И. А. Алов и Г. Ауер сообщили, что злокачественные клетки содержат больше ДНК, чем нормальные [1–5]. Нарушения ДНК, происходящие в опухолевых клетках в результате процессов репликации, а также аномальное происхождение клетки по клеточному циклу приводят не только к возрастанию содержания ДНК, но и к хромосомным и генным мутациям, нарушению структуры хроматина. А это, в свою очередь, приводит к клеточному полиморфизму, наблюдаемому при цитологическом исследовании. Для оценки плоидности могут быть использованы различные методы: морфометрический — с использованием компьютерного анализа изображения (image cytometry), а также самый распространенный — проточная цитофлюорометрия. Метод лазерной ДНК-проточной цитофлюорометрии позволяет определить содержание ДНК в клетках нормальных и опухолевых тканей и преследует 3 основные цели:

- установить различие между клеткам нормальных и измененных тканей;
- найти коррелятивные связи между особенностями ДНК-, РНК-гистограмм в клеточных популяциях и клиническими проявлениями болезни;
- изучить кинетику содержания ДНК в клетках опухоли при различных терапевтических воздействиях.

Для более точного определения прогноза заболевания В. Н. Богатырев предложил оценивать ДНК-гистограммы в целом, выделяя 5 основных типов, а для большинства из них, в зависимости от пролиферативной активности и числа анеуплоидных клеток, еще и подтипы [6]:

- диплоидные опухоли с низкими (1-й подтип), умеренными (2-й подтип) и высокими (3-й подтип) показателями пролиферативной активности;
- тетраплоидные опухоли с индексом ДНК (ИДНК) от 1,85 до 2,15;
- анеуплоидные новообразования с ИДНК от 1,1 до 1,84, которые в зависимости от показателей пролиферативной активности и числа

анеуплоидных клеток в опухоли подразделяют на 7 подтипов;

- резко анеуплоидные опухоли (ИДНК более 2,15) с низкой (1-й подтип), умеренной (2-й подтип) и высокой (3-й подтип) пролиферативной активностью;
- многокლოновые опухоли — тип гистограмм, характерный для немногочисленной группы больных.

Указанные типы ДНК-гистограмм коррелируют с возрастом больных, степенью злокачественности опухоли и содержанием рецепторов стероидных гормонов и являются, как и степенью злокачественности, независимым фактором прогноза [7].

По данным исследований В. Н. Богатырева, было доказано, что при раке молочной железы 72,2% опухолей анеуплоидные, а 27,8% — диплоидные [5]. Однако наиболее достоверный прогноз получают при оценке не только плоидности опухоли, но и числа клеток в S-фазе клеточного цикла. При этом большинству диплоидных опухолей свойственны более низкие темпы деления, чем анеуплоидным, пролиферативная активность которых бывает очень высокой [8]. L. Dressler и соавт., S. Tsutsui пришли к выводу, что у больных раком молочной железы без метастазов в регионарных лимфатических узлах независимым неблагоприятным фактором прогноза является высокая пролиферативная активность опухоли (большое число клеток в S-фазе) [9–11]. Существует также прямая корреляция плоидности и степени злокачественности опухолей. Анеуплоидные новообразования чаще отмечают при III степени злокачественности, а диплоидные — при I и II степени. Важность подобного рода исследований определена прогностическим значением этого показателя. Так, при I степени злокачественности 5-летняя выживаемость больных раком молочной железы составляет 75%, при II степени злокачественности — 53%, а при III степени — 31%. У больных анеуплоидным раком молочной железы частота рецидивов выше, а выживаемость ниже, чем при диплоидных опухолях [12, 13].

Цель исследования — оценить влияние плоидности опухоли на прогноз метастазного рака молочной железы.

Пациенты и методы

Для оценки прогностического значения показателей плоидности было проведено количественное морфологическое исследование клеток метастазных опухолей молочных желез. Методом лазерной ДНК-проточной цитофлюорометрии изучены новообразования у 37 женщин. Взятие материала производили как при первичном, так и при метастазном раке молочной железы. Были определены следующие параметры — плоидность опухоли, индекс ДНК, индекс пролиферации (ИП), содержание клеток опухоли в G₀/1, S и G₂+M фазах клеточного цикла.

Результаты и обсуждение

Распределение больных МРМЖ в зависимости от плоидности опухолей представлено в табл. 1. У 3 (8,1%) больных опухоли были диплоидными (ИДНК=1,0), у 34 (91,9%) — анеуплоидными. Анеуплоидные опухоли в зависимости от ИДНК разделили на 4 группы: 1-я группа — анеуплоидные с потерей хромосомного материала (ИДНК <1,0); 2-я группа — анеуплоидные с ИДНК в пределах митотического цикла (ИДНК в пределах 1,1–1,84); 3-я группа — тетраплоидные (ИДНК в пределах 1,85–2,0); 4-я группа — многоклоновые анеуплоидные.

Таблица 1. Плоидность опухолей у больных метакронным раком молочных желез

Плоидность опухоли	Первичный рак молочной железы n=37		Метакронный рак молочной железы n=37	
	абс.	%	абс.	%
Диплоидные	3	8,1	3	8,1
Анеуплоидные с потерей хромосомного материала	13	35,2	14	37,8
Анеуплоидные с ИДНК в пределах митотического цикла	12	32,4	11	29,8
Тетраплоидные	1	2,7	1	2,7
Многоклоновые анеуплоидные	8	21,6	8	21,6

Как видно из табл. 1, при МРМЖ преобладают анеуплоидные опухоли. Причем самый высокий процент анеуплоидных опухолей (37,8%) составляют опухоли с потерей хромосомного материала, что, возможно, говорит о генетической природе метакронного рака. Следует также отметить еще одну важную особенность. У 35 из 37 больных опухоль имеет одинаковую плоидность как при первом, так и при втором раке молочной железы. Мы считаем, что данная тенденция, вероятно, также подтверждает генетическую природу метакронного рака.

При проведении анализа продолжительности жизни в исследованной группе замечено, что данный показатель у больных МРМЖ прямо пропорционален интервалу между возникновением первой и второй опухоли. Общая 10-летняя выживаемость составила: 30,2% — при возникновении второй опухоли до истечения 3 лет после окончания лечения первой; 53,4% — при выявлении второй опухоли в сроки от 3 до 5 лет; 97,4% — при возникновении второй опухоли более чем через 5 лет после окончания лечения первой (рис. 1). Ниже всего процент выживаемости в группе больных со сроком возникновения второй опухоли через 1–2 года, выше всего — в группе со сроком возникновения более 5 лет с момента окончания лечения первой опухоли. Все различия статистически достоверны ($p < 0,05$).

При анализе плоидности опухоли в зависимости от интервала возникновения МРМЖ было выявлено, что в течение двух первых лет после лечения первичной опухоли наиболее часто метакронный рак возникает у больных с многоклоновыми анеуплоидными опухолями, а наиболее редко — у больных с анеуплоидными опухолями с потерей хромосомного материала.

Диплоидные и анеуплоидные тетраплоидные опухоли в этом временном интервале в нашем исследовании не наблюдались (табл. 2).

Полученные данные статистически не достоверны ($p > 0,05$), но они подтверждают наше предположение, что больные МРМЖ с анеуплоидной опухолью с потерей хромосомного материала имеют большую общую выживаемость, чем больные с другими видами анеуплоидной опухоли. В интервале от 3 до 5 лет после лечения первичной опухоли чаще отмечены анеуплоидные опухоли с ИДНК в пределах митотического цикла. У больных с метакронными опухолями, возникшими через 5 лет и более, первая опухоль чаще была анеуплоидной с потерей хромосомного материала — и именно эта группа больных имела наилучшие показатели 10-летней общей выживаемости (табл. 2).

Была проанализирована общая выживаемость больных МРМЖ в зависимости от плоидности опухоли. К сожалению, в анализ не вошли больные с диплоидными

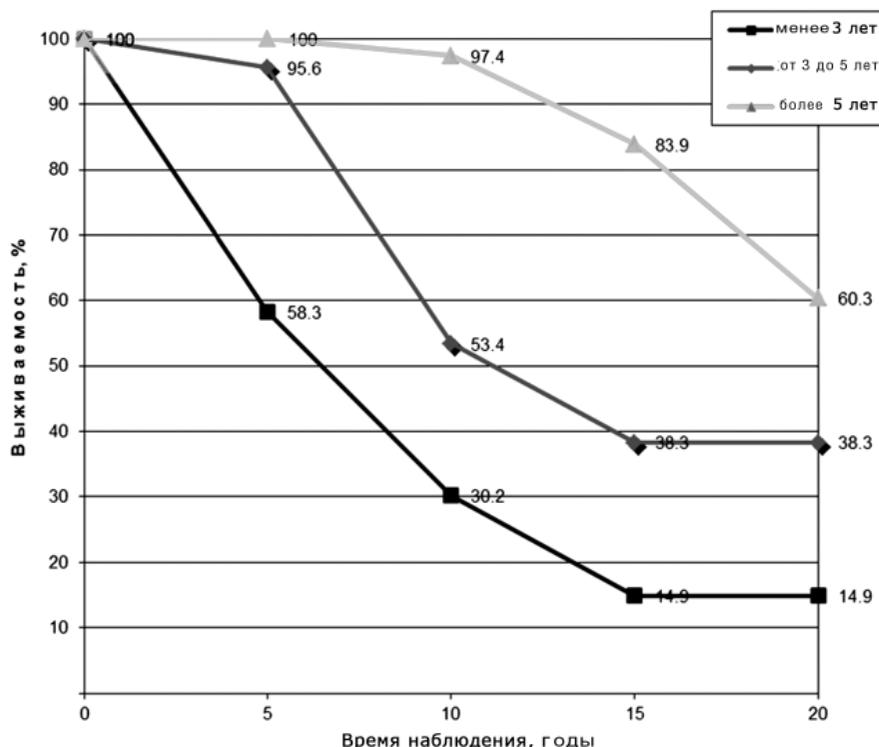


Рис. 1. Выживаемость больных в зависимости от времени возникновения второй опухоли после окончания лечения первой

Таблица 2. **Плоидность опухоли при первичном раке молочной железы у больных с разными сроками возникновения метакронного рака (n=37)**

Плоидность опухоли	Время возникновения метакронной опухоли		
	1-2 года n (%)	3-5 лет n (%)	более 5 лет n (%)
Диплоидные	-	2 (13,3)	1 (10)
Анеуплоидные с потерей хромосомного материала	3 (25)	5 (33,3)	5 (50)
Анеуплоидные с ИДНК в пределах митотического цикла	4 (33,3)	7 (46,7)	1 (10)
Тетраплоидные	-	-	1 (10)
Многокლოновые анеуплоидные	5 (41,7)	1 (6,7)	2 (20)
Всего	12 (100)	15 (100)	10 (100)

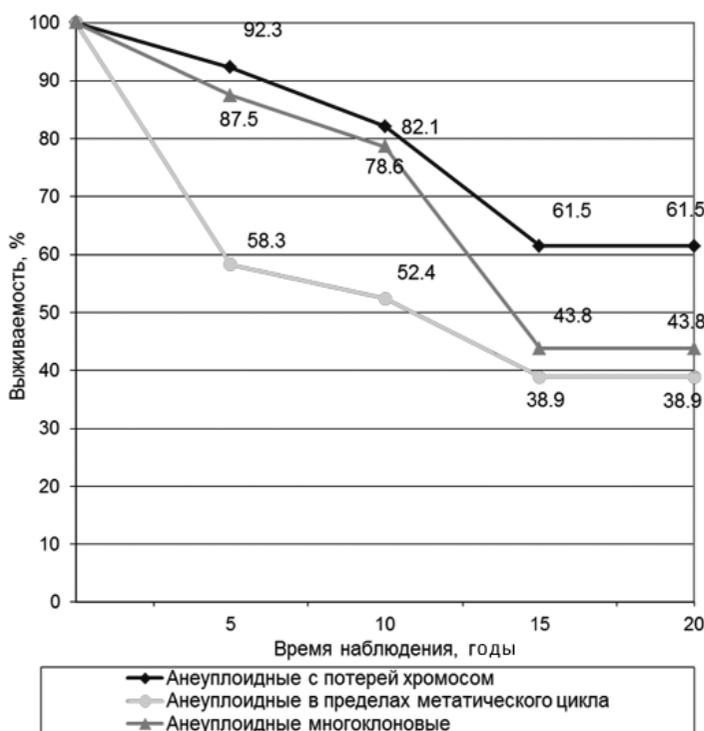


Рис. 2. **Общая выживаемость больных метакронным раком молочной железы в зависимости от плоидности опухоли**

и анеуплоидными тетраплоидными опухолями из-за малого числа подобных пациентов (3 и 1 случаи соответственно). Полученные данные представлены на рис. 2.

Заключение

Полученные результаты подтверждают, что именно анеуплоидные опухоли с потерей хромосомного материала являются наиболее благоприятными в плане общей выживаемости при метакронном раке молочной железы.

Таким образом, показана четкая зависимость между определяемыми путем лазерной ДНК-проточной цитофлуорометрии показателями плоидности метак-

ронного рака молочной железы и прогнозом течения данного заболевания как в отношении возникновения второй опухоли, так и в плане продолжительности жизни в целом. Это позволяет рассматривать плоидность опухоли в качестве одного из основных факторов прогноза при данной патологии. Крайне необходимо продолжать ведущиеся в этом направлении работы в целях уточнения и повышения статистической достоверности результатов.

Литература

1. Caspersson T. Uver den chemischem Aufbau der Stukturen des zellkernes // Scand Arch Physiol. 1936. V.73. Suppl.8. P.1-151.
2. Caspersson T., Auer G., Fallenius A., Kudynowski J. Cytochemical changes in the nucleus during tumor development // J. Histochem. Cytochem. 1983. V.15. P.337-362.
3. Алов И.А., Брауде А.И., Аспиз М.Е. Основы функциональной морфологии клетки. М., 1966.
4. Auer G., Caspersson T., Gustagsson S. et al. Relationship between nuclear DNA distribution and estrogen reseptors in human mammary carcinomas // Anal. Quant. Cytol. Histol. 1980. V.2. P.280-284.
5. Auer G., Fallenius A.G., Erhardt K.Y., Sundelin B. Prognostic significance of nuclear DNA content in mammary carcinomas in humans // Cancer Res. 1984. V.44. P.394-396.
6. Богатырев В.Н. Значение количественных методов исследования (морфометрии, проточной цитофлуорометрии, сканирующей микрофотометрии) в клинической онкологии: Автореф. дис. ... докт. мед. наук. М., 1991.
7. Martinez-Arribas F., Nunez-Villar M.J., Lucas A.R. et al. The S-phase fraction of the aneuploid cell subpopulation is the biologically relevant one in aneuploid breast cancer // Breast Cancer Res. Treat. 2005. V.92. P.77-80.
8. Moureau-Zabotto L., Bouchet C., Cesari C. et al. Combined flow cytometry determination of S-phase fraction and DNA ploidy is an independent prognostic factor in node-negative invasive breast carcinoma; analysis of a series of 271 patitucits with stage 1 and 11 breast cancer // Breast Cancer Res. Treat. 2005. V.91. P.61-71.
9. Dressler L.G., Seamer L., Owens M.A. et al. DNA flow cytometry and prognostic factors in 1331 frozen breast cancer specimens // Cancer. 1988. V.61. P.420-427.
10. Tsutsui S., Ohno S., Murakami S. et al. Prognostic value of DNA ploidy in 653 Japanese women with node-negative breast cancer // Int. J. Clin. Oncol. 2001. V.16. P.177-182.
11. Керимов П.А. Первично-множественный рак молочной железы // Маммология. 2005. №1. С.35.
12. Balslev I., Christensen I.J., Rasmussen B.B. et al. Flow cytometric DNA ploidy defines patients with poor prognosis in node-negative breast cancer // Int. J. Cancer. 1994. V.56. №1. P.16-25.
13. Богатырев В.Н., Портной С.М., Лактионов К.П. и др. Проточная цитометрия при раке молочной железы T1-2 N0M0: анализ 10-летних наблюдений // Мат-лы I Съезда онкологов стран СНГ, Москва, 3-6 декабря 1996 г. М., 1997. Ч.2. С.482-483.

Информация об авторах:

Егорова Ангелина Владимировна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры онкологии лечебного факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
 Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1
 Телефон: (495) 324-9684
 E-mail: sapphrr5@mail.ru

Чулкова Светлана Васильевна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отделения иммунологии гемопоэза Российского онкологического научного центра им. Н.Н.Блохина РАМН
 Адрес: 115478, Москва, Каширское ш., 24
 Телефон: (495) 324-1430
 E-mail: chulkova@mail.ru

Коротких Ирина Юрьевна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отделения опухолей женской репродуктивной системы Российского онкологического научного центра им. Н.Н.Блохина РАМН
 Адрес: 115478, Москва, Каширское ш., 24
 Телефон: (495) 324-2284