

© Коллектив авторов, 2002
УДК 618.19-006.6-033.2:616.419

О. В. Крохина, В. П. Лetyagin, Н. Н. Тупицын, Г. Н. Зубрихина,
В. Н. Блиндарь, В. Д. Ермилова, Н. Н. Шатинина

РАК МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ. МИКРОМЕТАСТАЗЫ В КОСТНЫЙ МОЗГ

НИИ клинической онкологии

Рак молочной железы — одно из самых распространенных онкологических заболеваний у женщин. В структуре заболеваемости злокачественными новообразованиями женского населения России рак молочной железы в 2000 г. занял первое место. Основная причина смерти больных — метастазирование новообразований.

Согласно теории В. Fisher [12], рак молочной железы является системным заболеванием, и даже при клинически ранних стадиях (T1—2N0M0) высока вероятность скрытой системной диссеминации опухолевого процесса. Метастазы рака молочной железы начинают развиваться при очень малых размерах первичной опухоли (менее 0,125 см³) [18]. Гематогенная диссеминация раковых клеток наступает вскоре после васкуляризации первичной опухоли, наиболее часто отмечается метастазирование в костную систему, а также в костный мозг. Механизмы взаимосвязи между метастатическим поражением костного мозга и костной системы окончательно не определены. Метастазы распространяются преимущественно по оси скелета, что в основном отражает особенности распределения красного костного мозга. Считается, что клетка, попавшая в капилляры костного мозга, может легко мигрировать в костную ткань в связи с отсутствием базальной мембраны в этих капиллярах [2].

До сих пор исследователи не пришли к единому мнению по вопросу о том, насколько факт обнаружения микрометастазов рака молочной железы в костном мозге взаимосвязан с прогнозом заболевания и, следовательно, может учитываться при выборе тактики ведения больного. Исследования R. Coombs и соавт. [7] продемонстрировали, что выявление микрометастазов в костный мозг при I, II, III стадиях рака молочной железы коррелирует с развитием отдаленных метастазов и снижением выживаемости. R. Cote и соавт. [8] обнаружили, что выявление микрометастазов с помощью моноклональных антител позволяет прогнозировать более высокую частоту ранних рецидивов при I и II стадиях рака молочной железы. E. Unal и соавт. [21] выявили, что за период наблюдения умерли 63,6% больных с метастазами и 15% больных без метастазов в костный мозг. При многофакторном анализе, проведенном S. Braun и соавт. [3], наличие опухолевых клеток в костном мозге являлось независимым прогностическим признаком, снижающим общую выживаемость, в отличие от статуса Her-2/neu и ангиогенеза, которые не коррелировали с выживаемостью. K. Landys и соавт. [14] приводят результаты 20-летнего наблюдения: все 17 пациентов с микрометастазами в костный мозг умерли в течение 6 лет от прогрессирования заболевания (метастазы в кости). Из 8 пациентов, в костном мозге которых были обнаружены клетки, подозрительные на метастатические, через 17 лет после начала исследования выжила одна. В то же время в исследованиях

O.V.Krokhina, V.P.Letyagin, N.N.Tupitsyn, G.N.Zubrikhina,
V.N.Blyndar, V.D.Ermilova, N.N.Shatinina

BREAST CANCER: BONE MARROW MICROMETASTASES

Institute of Clinical Oncology

Breast cancer is a most common female cancer type. In 2000 breast cancer was the commonest female malignancy in Russia. Metastases of cancer are the main cause of death.

According to B.Fisher [12] breast cancer is a systemic disease with a high risk of latent systemic dissemination even at early clinical stages (T1-2N0M0). Metastases of breast cancer develop from very small primary tumors (less than 0.125 cm³) [18]. Hematogenic dissemination of cancer cells starts soon after vascularization of the primary, bones and bone marrow being the most common metastasis sites. Relationship mechanisms between bone and bone marrow metastasis are unclear. The metastases mainly spread along the skeleton axis reflecting red bone marrow distribution. It is thought that after penetrating into bone marrow capillaries a cancer cell may easily migrate to bone tissue because the capillaries have no basement membrane [2].

It is not clear so far whether the presence of bone marrow micrometastases of breast cancer is related to disease prognosis and may help in choice of treatment. R.Coombs et al. [7] demonstrated that bone marrow micrometastases in stage I, II, III breast cancer correlated with distant metastases and reduced survival. R.Cote et al. [8] discovered that detection of micrometastases using monoclonal antibodies is predictive of higher frequency of early recurrence in stage I and II breast cancer. In a study of E.Unal [21] death rates during the follow-up period were 63.6% for patients with bone marrow metastases versus 15% for metastasis-free cases. S.Braun et al. [3] conducted a multifactorial analysis to discover that the presence of cancer cells in bone marrow was an independent prognostic factor reducing overall survival unlike HER-2/neu status and angiogenesis that demonstrated no correlation with survival. K.Landys et al. [14] reported results of a 20-year study in which all 17 patients with bone marrow micrometastases died within 6 years from disease progression (bone metastases). Only 1 of 8 patients with suspicion of bone marrow micrometastases survived 17 years. However, A.Molino et al. [16] found no correlation between bone marrow micrometastasis and disease prognosis. S.Come and L.Schnipper [6] consider the micrometastases a disease activity marker rather than an independent prognostic factor of evident metastases.

Today the theory of "seed and soil" proposed by S.Paget in 1889 is most popular that treats penetration of a single tumor cell into a distant site just a precondition of metastasis development. It is clear now that a metastasis may develop under the condition of local immunity deficiency and participation of adhesion molecules, growth factors and the cancer cell ability to respond to its microenvironmental signals [1]. There are few actual data on interaction of hemopoietic tissue and tumor cells, though it is demonstrated for hematological malignancies that bone marrow

A. Molino и соавт. [16] не обнаружено корреляции между наличием в костном мозге пациенток опухолевых клеток и прогнозом. S. Come и L. Schnipper [6] считают, что микрометастазы являются в большей степени маркером активности процесса, чем независимым фактором прогноза развития явных метастазов.

В настоящее время больше всего сторонников находит концепция «семена и почвы», выдвинутая S. Paget в 1889 г., которая предполагает, что попадание в отдаленный орган одной опухолевой клетки является только предпосылкой развития метастаза. Она реализуется, как становится понятным в наше время, на фоне дефекта местного иммунного ответа при условии участия молекул адгезии, факторов роста и способности опухолевой клетки отвечать на получаемые из своего микроокружения сигналы [1]. Конкретных данных о взаимных влияниях гемопоэтической ткани и опухолевых клеток немного, однако для гематологической патологии показано, что стромальные клетки костного мозга предотвращают апоптоз опухолевых клеток, усиливают их пролиферацию, модулируют дифференцировку, выделяя интерлейкины-3 и 6, ростовые факторы (Г-КСФ, ГМ-КСФ, М-КСФ). Опухолевые клетки в свою очередь синтезируют интерлейкин-1 α и фактор некроза опухоли α , индуцируя синтез стромальных цитокинов и таким образом замыкая петлю паракринной регуляции [11]. Кроме того, известно о существовании аутокринной стимуляции роста метастазов опухолей, поскольку некоторые линии мелкоклеточного рака легкого и рака молочной железы экспрессируют мРНК ростовых факторов (протоонкогенов *hst-1* и *c-kit*) [20].

Основным и наиболее широко распространенным методом обнаружения метастатического поражения костного мозга у больных раком молочной железы является цитологический. Исследование мазков костного мозга на светооптическом уровне позволяет обнаружить раковые клетки лишь при их достаточно большом количестве. Единичные же метастатические клетки методом световой микроскопии обнаружить сложно или невозможно. Повышение чувствительности выявления микрометастазов в костный мозг достигается при использовании следующих методов исследования: 1) иммуноцитологический метод с использованием моноклональных антител; 2) полимеразная цепная реакция; 3) проточная цитометрия; 4) метод тканевых культур [20].

Иммуноцитологический метод основан на выявлении в мазках костного мозга с помощью моноклональных антител антигенов, нехарактерных для гемопоэтической ткани, но экспрессируемых клетками солидных опухолей. На клетках рака молочной железы почти в 100% случаев экспрессируются антиген мембран эпителиальных клеток (ЕМА), цитокератины, панэпителиальный антиген (Еgp34), антиген мембран жировых глобул женского молока (НМФГ), реже — раковый эмбриональный антиген (РЭА). Для иммунодетекции микрометастазов рака молочной железы в костный мозг используют моноклональные антитела к эпителиальному мембранному антигену, цитокератинам, туморассоциированному гликопротеину 12 (ТАГ-12) опухолевых клеток [10]. В. Reichman и М. Osborne [18] доказали, что цитокератины являются более чувствительным маркером рака молочной железы, чем ЕМА. Моноклональные антитела KL-1 распознают цитокератины CK2, CK6, CK8, CK10, CK11, CK18, CK19 и в меньшей степени CK5 и CK14/15. KL-1 реагируют со всеми эпителиальными

stromal cells prevent apoptosis, enhance proliferation and modulate differentiation of tumor cells by secreting interleukins 3 and 6 and growth factors (G-CSF, GM-CSF, M-CSF). In turn, tumor cells synthesize interleukin 1 α and tumor necrosis factor by inducing stromal cytokine synthesis thus closing the paracrine regulation chain [11]. Besides, there is autocrine stimulation of tumor metastasis growth because some lines of small-cell lung cancer and breast cancer express mRNA of growth factors (protooncogenes *hst-1* and *c-kit*) [20].

Cytology is the main and most common method of detection of bone marrow metastases. Light microscopy of bone marrow smears can discover only rather large amounts of cancer cells. Solitary metastatic cells can hardly or cannot be detected by light microscopy. The following methods may increase the detection sensitivity: (1) immunocytology using monoclonal antibodies; (2) polymerase chain reaction; (3) flow cytometry; (4) tissue culture [20].

Immunocytology uses monoclonal antibodies to detect in bone marrow smears antigens that are uncommon for hemopoietic tissue but are expressed by tumor cells. About 100% of breast cancer cells express epithelial membrane antigen (EMA), cytokeratins, panepithelial antigen (Egp34), human milk fat globule antigen (HMFG) and less frequently carcinoembryonic antigen (CEA). Immuno-detection of bone marrow micrometastases of breast cancer uses monoclonal antibodies to EMA, cytokeratins, tumor-associated glycoprotein 12 (TAG-12) [10]. B. Reichman and M. Osborne [18] demonstrated cytokeratins to be a more sensitive marker of breast cancer than EMA. Monoclonal antibodies KL-1 recognize cytokeratins CK2, CK6, CK8, CK10, CK11, CK18, CK19 and to a lower degree CK5 and CK14/15. The KL-1 reacts to all epithelial cells and suprabasement keratinocytes in keratinizing and non-keratinizing cover epithelium and glandular epithelium. It does not react to cells of epidermal basement layer. Cytokeratins 7 and 8 are found in secreting epithelial cells and are not expressed on stratified squamous epithelial cells [17]. Monoclonal antibodies to these cytokeratins (CAM 5.2) immunostain most tissues of epithelial origin including hepatic epithelium, renal tubular epithelium as well as hepatocellular carcinoma cells though fail to react to squamous-cell carcinoma cells [15].

The method involving monoclonal antibodies to the above-mentioned antigens can detect 1 or 2 cancer cells per million normal bone marrow cells.

Polymerase chain reaction is used to detect a certain matrix RNA in a tissue specimen. This method is detection of mRNA of tumor antigens (cytokeratins, carcinoembryonic antigen), expressed on metastatic cells or mRNA of genes with tumor-specific mutations, such as ERB B2, p53 and k-ras. A. Schoenfeld et al. [19] demonstrated reverse polymerase chain reaction of cytokeratin-19 gene to be more sensitive than immunohistochemical analysis. However, this method has the disadvantage of analyzing genetic information rather than live cells. When studying bone marrow previously exposed to chemotherapy the investigator cannot be sure that the detected RNA belongs to a live rather than dead cancer cell.

Flow cytometry and tissue culture techniques are not frequently used to detect bone marrow micrometastases of breast cancer. Flow cytometry can detect a single tumor cell among

клетками и кератиноцитами супрабазального слоя в ороговевающем и неороговевающем покровном эпителии и с железистым эпителием. Они не реагируют на клетки эпидермального базального слоя. Цитокератины-7 и 8 присутствуют во всех эпителиальных секретирующих клетках и отсутствуют в клетках многослойного плоского эпителия [17]. Моноклональные антитела к этим цитокератинам (САМ 5.2) окрашивают большую часть тканей эпителиального происхождения, включая печеночный эпителий, эпителий почечных канальцев, а также клетки гепатоцеллюлярного рака, однако не вступают в реакцию с клетками плоскоклеточных карцином [15].

Используя методику, основанную на применении моноклональных антител к указанным антигенам, возможно выявление 1—2 клеток рака в 1 млн нормальных клеток костного мозга.

Полимеразная цепная реакция предназначена для обнаружения в образце ткани заданной матричной РНК. Данная методика заключается в поиске мРНК опухолевых антигенов (цитокератины, РЭА), экспрессируемых метастатическими клетками, или поиске мРНК генов, мутации которых специфичны для опухолевых клеток, например генов *ERB B2*, *p53* и *k-ras*. A. Schoenfeld и соавт. [19] доказали, что обратная полимеразная цепная реакция гена цитокератина-19 является более чувствительной методикой для выявления микрометастазов рака молочной железы, чем иммуногистохимическое исследование. Однако недостатком данного метода является оценка генетической информации, а не наличия тех или иных живых клеток. В связи с этим при исследовании костного мозга, полученного после проведения курса химиотерапии, нельзя быть уверенным, что обнаруженная РНК получена из живой, а не из погибшей опухолевой клетки.

Метод проточной цитометрии и метод тканевых культур для выявления микрометастазов рака молочной железы в костном мозге применяются реже. Метод проточной цитометрии позволяет обнаружить одну опухолевую клетку среди 10—100 тыс. миелокариоцитов. К факторам, ограничивающим использование культурального метода, относятся его техническая сложность и высокая стоимость [4].

Частота выявления злокачественных клеток в костном мозге больных раком молочной железы, по данным разных авторов, варьирует. Процент микрометастазов, выявляемых иммуноцитологически, возрастает при IV клинической стадии. По данным E. Unal и соавт. [21], выявление поражения костного мозга при исследовании аспирата составило при II, III и IV стадиях соответственно 29,1, 28 и 40%. В исследованиях B. Gerber и соавт. [13] единичные опухолевые клетки были обнаружены в костном мозге 26% больных раком молочной железы pT1—2N0M0. В работах B. Reichman и M. Osborne [18] микрометастазы в костный мозг обнаруживались у 38% пациенток с IV стадией рака молочной железы при наличии метастазов в кости, у 20% больных с неместными отдаленными метастазами и у 10% больных с первично операбельным раком молочной железы. S. Come и L. Schnipper [6] выявили микрометастазы в костный мозг у 30—60% больных метастатическим раком молочной железы.

При обычной цитологической технике D. Dearnaley и соавт. [9] удалось выявить метастазы в костный мозг у 4,2% больных раком молочной железы. При исследовании аспирата костного мозга с помощью иммуноцитологического метода

10,000 to 100,000 myelokaryocytes. Limitations of the method include technical difficulty and high cost [4].

Rates of malignant cells in bone marrow from breast cancer patients vary in reports of different authors. Percentage of the micrometastases found by immunocytology increases in stage IV. E. Unal et al. [21] reported of 29.1%, 28% and 40% positive bone marrow aspirates from patients with stages II, III and IV. B. Gerber et al [13] discovered solitary tumor cells in 26% of bone marrow specimens from breast cancer patients with pT1-2N0M0. B. Reichman and M. Osborne [18] found bone marrow micrometastases in 38% of patients with stage IV breast cancer and bone metastases, in 20% of patients with distant metastases and in 10% patients with primary operable breast cancer. S. Come and L. Schnipper [6] discovered bone marrow micrometastases in 30-60% of patients with metastatic breast cancer.

D. Dearnaley et al. [9] used common cytology to discover bone marrow metastases in 4.2% of breast cancer patients. While, immunocytology with antibodies to EMA detected bone marrow micrometastases in about 50% of the cases.

Immunological detection of bone marrow micrometastases increases (up to 83%) in cases with poor prognosis factors (regional lymph node involvement, estrogen receptor negative tumors, large lump in the breast). Patients with bone marrow micrometastases present with higher levels of urokinase plasminogen activator, higher degree of tumor invasion of blood vessels and lymph nodes, poor tumor cell differentiation, high proliferation rate [13].

The purpose of this study was to assess degree of hematogenic dissemination of breast cancer on the basis of bone marrow metastasis as detected by high-sensitivity immunocytology using specific monoclonal antibodies to cytokeratins CAM 5.2 (Becton Dickinson, USA) and KL-1 (Immunotech, France).

Immunocytology to detect bone marrow micrometastases was performed in 52 patients with breast cancer managed at the Breast Cancer Surgery Department, N.N. Blokhin CRC. The patients' age ranged from 28 to 72 years, median 50 years. The following distribution by disease stage was established by histology: stage I was found in 5/9.62%, stage IIa in 12/23.1% (9 cases with T2N0M0 and 3 cases with T1N1M0), stage IIb in 10/19.2%, stage IIIa in 2/3.85%, stage IIIb in 15/28.85% and stage IV in 8/15.38% of patients. The patients underwent standard clinical examination including mammography, chest x-ray, liver and small pelvis ultrasound, bone scintigraphy and bone marrow morphology study. Specimens were taken by sternal puncture. Two patients underwent both iliac and sternal punctures. Study of bone marrow was made by standard cytology and immunocytology using monoclonal antibodies. Tumor cell count was made using centrifuges. Positive reactivity was defined as the presence of one metastatic cell per million myelokaryocytes.

Standard cytology discovered bone marrow micrometastases in 2 (3.85%) of the 52 women. In one of them clinical stage IV was established before the detection of bone marrow metastases (T4N2M1, axillary lymph node conglomeration, epigastric, paraaortal lymph node involvement and liver metastases). In the other case the disease was staged T2N0M0 (IIa) to be reassessed after the cytological detection of bone marrow metastases as stage IV. Bone marrow involvement was verified by immunocytology in both cases. In another patient the cytology discovered solitary destroyed cells suspicious of cancer.

с использованием антител к ЕМА микрометастазы в костный мозг были выявлены примерно в 50% случаев.

Частота иммунологического обнаружения метастазов в костный мозг резко возрастает (до 83%) у пациенток с неблагоприятными факторами прогноза (метастазы в регионарные лимфоузлы, отсутствие рецепторов эстрогенов, большие размеры опухолевого узла в молочной железе). У больных с микрометастазами в костный мозг определяются более высокие уровни активатора плазминогена урокиназного типа, более высокая инвазия опухоли в кровеносные сосуды и лимфоузлы, низкая дифференцировка опухоли, высокий индекс пролиферации [13].

Целью нашей работы являлось установление степени гематогенной диссеминации рака молочной железы на основании обнаружения метастатического поражения костного мозга высокочувствительными иммуноцитологическими методами с применением специфических моноклональных антител к цитокератинам CAM 5.2 («Becton Dickinson», США) и KL-1 («Immunotech», Франция).

Иммуноцитологическое исследование на наличие метастатических клеток в костном мозге проведено 52 больным раком молочной железы, находившимся на лечении в хирургическом отделении опухолей молочных желез РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН. Возраст больных от 28 до 72 лет, медиана — 50 лет. По результатам гистологического исследования распределение больных по стадиям было следующим: у 5 (9,62%) пациенток была I стадия рака молочной железы, IIa стадия — у 12 (23,1%) больных (T2N0M0 — у 9 и T1N1M0 — у 3 больных), IIb стадия — у 10 (19,2%) больных, IIIa стадия — у 2 (3,85%), IIIb стадия — у 15 (28,85%) и IV стадия — у 8 (15,38%) больных. Больным проводилось стандартное клиническое обследование, включающее маммографию, рентгенографию органов грудной клетки, УЗИ печени и органов малого таза, сцинтиграфию костей скелета, а также морфологическое исследование костного мозга. Материал для исследования получали при стерильной пункции. Двум пациенткам была выполнена пункция подвздошной кости и стерильная пункция (одновременно). Изучение костного мозга проводилось как стандартным цитологическим, так и иммуноцитологическим методом с применением моноклональных антител. Оценку содержания опухолевых клеток проводили на цитоцентрифужных препаратах. Положительной считали реакцию при наличии 1 метастатической клетки на 1 млн миелокариоцитов.

При стандартном цитологическом исследовании метастазы в костный мозг были выявлены у 2 (3,85%) из 52 больных. У одной из них IV клиническая стадия была установлена до обнаружения метастатических клеток в костном мозге (T4N2M1, конгломерат лимфоузлов в подмышечной области, метастазы в лимфоузлы эпигастральной области, парааортальные лимфоузлы, печень). В другом случае исходная стадия заболевания была расценена как T2N0M0 (IIa), после цитологического обнаружения метастазов в костный мозг стадия изменена на IV. У обеих больных метастазы в костный мозг подтверждены иммуноцитологическим методом. Еще у одной пациентки при цитологическом исследовании костного мозга обнаружены единичные разрушенные клетки, подозрительные на опухолевые. При иммуноцитологическом исследовании данного пунктата обнаружены микрометастазы (12 опухолевых клеток в 1 млн миелокариоцитов).

Immunocytology of specimens from this patient discovered micrometastases (12 tumor cells per million myelokaryocytes).

Immunocytology using monoclonal antibodies CAM 5.2 and KL-1 discovered bone marrow micrometastases in 28 (53.85%) of the 52 patients. The table presents frequency of bone marrow metastases with respect to disease stage.

Our data demonstrate the possibility to detect metastatic cells in bone marrow at different cancer stages. Percentage of metastasis-positive specimens increases with disease stage (from 40% to 62.5% for stages I to IV). The percentage was the highest in stage IV breast cancer (62.5%) and the lowest in stage IIIa which was probably due to very few patients in the study group. It is important that the number of tumor cells detectable by immunocytology was very low: from 1 to 12 per million myelokaryocytes. Only 2 of 52 women had more than 20 cells and another patient had 45 cells per million normal bone marrow cells. Two of these cases (20 and 45 cells detected) had stage IV breast cancer (T2N1M1 and T1N2M1) with supraclavicular lymph node involvement. Both women were young (28 and 39 years). The third patient (20 cells) had estrogen receptor-negative breast cancer, stage IIIb (T4N1M0) and presented with radioactivity accumulation as found bone scan which was not confirmed by x-ray. It seems that the higher sensitivity of this technique as compared with cytology was due to the possibility to detect solitary tumor cells in bone marrow: 28 (53.85%) of 52 versus 2 (3.85%) of 52 patients. Immunocytology therefore allows a more accurate assessment of hematogenic dissemination of breast cancer to bone marrow than standard cytology.

Assuming detection of a single tumor cell to be diagnostically insignificant some investigators attempted to establish a cut-off for bone marrow tumor burden to be significantly related to increased recurrence. It was demonstrated that breast cancer recurrence was increasing with detection of 10 or 15 isolated tumor cells in bone marrow [5]. We could not assess overall and disease-free survival due to the very short follow-up. However, 2 patients with bone marrow micrometastases (20 and 45 cells) developed bone metastases rather soon.

There were no significant differences in immunocytological findings between sternal and iliac puncture specimens.

Myelogram analysis of the two patients with bone marrow metastases that were confirmed by cytology and immunocytology discovered bone marrow hypoplasia. Bone marrow megakaryocyte counts were decreased in both cases. One of the women had granuloblast and erythroblast counts within normal limits though oxyphilic forms were predominant among erythroblasts. The other patient had solitary erythroblasts and sharply increased leukoerythroblast ratio. Bone marrow of micrometastasis-positive patients demonstrated deficiency of cell elements. Most common types were lack of erythroblasts with predominance of oxyphilic forms, increased band neutrophil counts, changes in leukoerythroblast ratio. There were small clusters of plasmatic cells. These findings confirmed that bone marrow metastases were accompanied with a broad range of hematological manifestations. Neoplastic displacement of hemopoietic cells from bone marrow leads to hypoplasia or even aplasia symptoms (with a fall in platelet, leukocyte, erythrocyte counts and hemoglobin). Anemia is a common event. S.Come and L.Schnipper [6] report of leukopenia and thrombopenia rates of 12-25% in patients with bone marrow metastases.

Микрометастазы в костный мозг были выявлены у 28 (53,85%) из 52 больных с помощью иммуноцитологического метода с применением моноклональных антител САМ 5.2 и KL-1.

Частота обнаружения метастазов в костном мозге в зависимости от стадии рака молочной железы представлена в таблице.

Представленные данные свидетельствуют о возможности обнаружения метастатических клеток в костном мозге больных раком молочной железы на различных стадиях заболевания. Процент выявления метастазов возрастает от I к IV стадии (от 40 до 62,5%). Наибольший процент микрометастазов отмечен при IV стадии рака молочной железы (62,5%). Наименьший — при IIIa стадии, что, по-видимому, объясняется малым числом больных в данной группе. Важным является то, что количество опухолевых клеток, определяемых иммуноцитологически являлось очень низким: от 1 до 12 на 1 млн миелокариоцитов. Лишь у 2 из 28 больных иммуноцитологически было выявлено 20 клеток и у одной больной — 45 клеток в 1 млн нормальных клеток костного мозга. У двух таких пациенток (20 и 45 клеток) была установлена IV стадия рака молочной железы (T2N1M1 и T1N2M1), имелись метастазы в надключичные лимфоузлы. Обе больные были молодого возраста (28 и 39 лет). У третьей пациентки (20 клеток) была диагностирована IIIb стадия рака молочной железы (T4N1M0), опухоль была рецепторотрицательной по рецепторам эстрогенов, по данным сканирования костей скелета имелось накопление РФП в ребре, не подтвержденное рентгенологически. По-видимому, возможность выявления единичных опухолевых клеток в костном мозге является главной причиной большей чувствительности данного метода в сравнении с цитологическим исследованием: 28 (53,85%) больных из 52 и 2 (3,85%) из 52. Следовательно, иммуноцитологический метод позволяет более точно судить о степени гематогенной диссеминации рака молочной железы в костный мозг, чем стандартное цитологическое исследование.

Полагая, что обнаружение одной изолированной опухолевой клетки может быть диагностически незначимым, ряд исследователей попытался количественно определить «критическую» опухолевую нагрузку костного мозга, превышение которой достоверно было бы связано с ростом частоты рецидива заболевания. Было показано, что количество рецидивов рака молочной железы резко возрастает при обнаружении в костном мозге 10 или 15 изолированных опухолевых клеток [5]. В нашем исследовании не была прослежена общая и безрецидивная выживаемость в связи с небольшим сроком от начала исследования. Однако, у 2 пациенток с микрометастазами в костный мозг (12 и 20 клеток) за довольно короткий срок появились метастазы в кости.

Сравнение результатов иммуноцитологического исследования костного мозга, полученного при стерильной пункции и пункции подвздошной кости, не выявило существенных различий.

Анализ миелограмм двух больных с метастазами в костный мозг, подтвержденными цитологическим и иммуноцитологическим методами, выявил гипоплазию костного мозга. Количество мегакариоцитов в костном мозге обеих пациенток было снижено. У одной из них гранулоцитарный и эритроидный ростки были в пределах нормы, но среди клеток красного ряда преобладали оксифильные формы. У другой больной эритроидный росток был представлен единичными клетками, лейкоэритробластическое отношение резко повышено. Костный мозг

Т а б л и ц а

T a b l e

Распределение больных с микрометастазами рака молочной железы в костный мозг по стадиям
Distribution of cases with bone marrow micrometastases of breast cancer with respect to disease stage

Стадия	Больные (n = 52)	Число больных с микрометастазами в костный мозг	
		абс.	%
I	5	2	40
IIa	12	6	50
IIb	10	6	60
IIIa	2	0	0
IIIb	15	9	60
IV	8	5	62,5
Stage	Patients (n=52)	No.	%
		Patients with bone marrow micrometastases	

Leukoerythroblastic anemia due to neoplastic and fibroblastic infiltration of bone marrow and penetration of red cell and granulocyte precursor cells in peripheral blood was found in 12-50% of patients with bone marrow metastases. Pathogenic mechanisms of bone marrow anemia are unclear. 80% of patients with bone marrow hypoplasia have myelofibrosis. Tumor cells occupy bone marrow space and interfere in hemopoiesis by affecting bone marrow microvessels. Changes in endothelial sinuses allow non-deformed reticulocytes and immature granulocytes that are normally found in bone marrow to penetrate into circulation. Patients with bone marrow hypoplasia have high levels of colony stimulating units in peripheral blood. Further analysis of myelograms may help to find indirect signs of tumor cell penetration into bone marrow.

Our data demonstrate the importance of immunological study of bone marrow for assessment of breast cancer advance. Study methods of bone marrow need further improvement, and significance of bone marrow micrometastases may be assessed only after analysis of overall and disease-free survival of the patients in question.

пациенток с выявленными микрометастазами отличался бедностью клеточными элементами. Наиболее часто встречались сужение эритроидного ростка с преобладанием оксифильных форм, увеличение количества палочко-ядерных форм нейтрофильного ряда, изменение лейкоэритробластического отношения. Отмечались небольшие скопления плазматических клеток. Полученные результаты подтверждают данные о том, что метастазы в костный мозг сопровождаются широким спектром гематологических проявлений. Опухолевое вытеснение кроветворных клеток костного мозга ведет к симптомам гипоплазии или даже аплазии (с падением числа тромбоцитов, лейкоцитов, эритроцитов и гемоглобина). Чаше встречается анемия. По данным S. Come и L. Schnipper [6], лейкопения и тромбоцитопения могут развиваться у 12—25% пациенток с

метастатическими изменениями в костном мозге. У 12—50% пациенток с метастазами в костный мозг отмечается лейкоэритробластическая анемия, связанная с инфильтрацией костного мозга неопластическими клетками, фибробластами и появлением красных кровяных клеток и гранулоцитарных предшественников в периферической крови. Патогенез анемии костного мозга до конца не ясен. У 80% пациенток с гипоплазией костного мозга обнаруживается миелофиброз. Опухолевые клетки замещают костномозговое пространство и нарушают гемопоэз, изменяя микровакуляризацию костного мозга. Искривление эндотелиальных синусов позволяет недеформированным ретикулоцитам и незрелым гранулоцитам, в норме находящимся в костном мозге, проникать в сосудистое русло. У пациенток с гипоплазией костного мозга обнаруживается высокий уровень колониеобразующих единиц в периферической крови. Дальнейший анализ миелограмм, возможно, позволит выявить косвенные признаки присутствия опухолевых клеток в костном мозге.

Представленные нами данные демонстрируют необходимость введения в клиническую практику иммунологического исследования костного мозга для оценки степени распространенности рака молочной железы. Методы исследования костного мозга нуждаются в дальнейшем развитии, а оценка значимости обнаружения микрометастазов в костном мозге возможна после анализа результатов общей и безрецидивной выживаемости у данных больных.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Берензон Д. Г., Колосков А. В., Тарасов В. А. // Гематол. и трансфузиол. — 2000. — Т. 45, № 5. — С. 35—37.
2. Моисеенко В. М., Семиглазов В. Ф., Толяндин С. А. Современное лекарственное лечение местнораспространенного и метастатического рака молочной железы. — Санкт-Петербург, 1997. — С. 176—177.
3. Braun S., Kantenich C., Janni W. et al. // J. Clin. Oncol. — 2000. — Vol. 18. — P. 80—86.

4. Burchill S. A., Bradbury M. F., Pittman K. et al. // Brit. J. Cancer. — 1995. — Vol. 71. — P. 278—281.
5. Calaluce R., Miedema B. W., Yesus Y. W. // J. Surg. Oncol. — 1998. — Vol. 67. — P. 194—202.
6. Come S. E., Schnipper L. E. // The Breast Cancer. — Philadelphia — New York, 1995. — P. 847—853.
7. Coombs R. S., Redding W. H., Monaghan P. et al. // Lancet. — 1983. — Vol. 2. — P. 1271.
8. Cote R. J., Rosen P. P., Lesser M. L. // J. Clin. Oncol. — 1991. — Vol. 9. — P. 1749.
9. Dearnaley D., Imrie S. et al. // J. Roy Soc. Med. — 1983. — Vol. 76, N 5. — P. 359—364.
10. Diel I. G., Kaufmann M., Goerner R. et al. // J. Clin. Oncol. — 1992. — Vol. 10. — P. 1534—1539.
11. Durksen U., Hossfeld D. K. // Ann. Hematol. — 1996. — Vol. 73. — P. 53—70.
12. Fisher B. // Cancer. — 1977. — Vol. 40. — P. 574—587.
13. Gerber B., Krause A., Muller H. et al. // J. Clin. Oncol. — 2001. — Vol. 19. — P. 960—971.
14. Landys K., Persson S., Kovarik J. // Breast Cancer Research and Treatment. — May 1998. — Vol. 49, N 1. — P. 27—33.
15. Makin C. A., Bobrow L. G., Bodmer W. F. // J. Clin. Pathol. — 1984. — Vol. 37. — P. 975.
16. Mokino A., Pelosi G. et al. // Breast Cancer Research and Treatment. — Jan. 1997. — Vol. 42, N 1. — P. 23—30.
17. Moll R., Franke W. W., Schiller D. L. et al. // Cell. — 1982. — Vol. 31. — P. 11.
18. Reichman B. S., Osborne M. P. // The Breast: Comprehensive Management of Benign and Malignant Diseases. — Philadelphia, 1998. — Section XXI, ch. 70. — P. 1299—1302.
19. Schoenfeld A., Kruger K. H., Gomm J. et al. // Eur. J. Cancer. — May 1997. — Vol. 33, N 6. — P. 854—861.
20. Strohmeyer T., Peter S., Hartman M. et al. // Amer. J. Pathol. — 1993. — Vol. 51. — P. 1811—1816.
21. Unal E., Camlibel M. et al. // J. Exp. Clin. Cancer Res. — 1994. — Vol. 13, N 2. — P. 165—168.

Поступила 03.04.02 / Submitted 03.04.02

© Коллектив авторов, 2002
УДК 618.19-006.6-033.2:616.71

М. Р. Личиницер, Н. Н. Семенов, А. А. Мещеряков, В. В. Новиков,
С. Л. Гуторов, Е. И. Загрекова, Т. А. Нахалова, Г. В. Вышинская,
Е. А. Чаклина, Н. Н. Аплевич, Н. В. Любимова

КЛИНИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ БОНДРОНАТА ПРИ МЕТАСТАЗАХ В КОСТИ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

НИИ клинической онкологии

Бифосфонаты, к III поколению которых относится бондронат, представляют собой класс препаратов, призванных улучшить результаты лечения и качество жизни пациентов с метастазами в кости различных опухолей.

В настоящее время рак молочной железы занимает первое место по частоте (18%) среди онкологических заболеваний у женщин и составляет 50,8 больных на 100 тыс. населения

M.R.Lichinitser, N.N.Semenov, A.A.Mescheryakov, V.V.Novikov,
S.L.Gutovoy, E.I.Zagreikova, T.A.Nakhalova, G.V.Vyshinskaya,
E.A.Chaklina, N.N.Aplavich, N.V.Lubimova

BONDRONATE CLINICAL EFFECT IN PATIENTS WITH BONE METASTASES OF BREAST CANCER

Institute of Clinical Oncology

Introduction. Bisphosphonates are a class of drugs developed to improve response and quality of life in patients with bone metastases of breast cancer. Bondronate is a 3rd generation bisphosphonate.

Breast cancer is the commonest (18%) female malignancy with incidence 50.8 per 100,000 population in Russia. About 70% of breast cancer patients develop bone metastases. By p.m. findings frequency of bone metastases reaches 90%.