КРАТКОЕ СООБЩЕНИЕ

Н.Ф. Щуров[1]
С.Н. Пащенко[2]
Н.Н. Волошина[3]

[1]*Запорожский государственный медицинский университет*
[2]*Крымский государственный медицинский университет имени С.И. Георгиевского*
[3]*Запорожская медицинская академия последипломного образования, Запорожье, Украина*

Ключевые слова: *рак молочной железы, антиген CD34, строма, паренхима опухоли.*

КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СТРОМЫ ОПУХОЛИ БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

***Цель**: изучить взаимосвязь между экспрессией антигена CD34 класса II, являющегося маркером эндотелиальных клеток и использующегося для выявления капилляров, и соотношением строма – паренхима в ткани опухоли в стадии T1–2N0–1M0 с общей и безрецидивной выживаемостью больных раком молочной железы (РМЖ). **Объект и методы**: исследования проведены у 267 пациенток с РМЖ T1–2N0–1M0. Фиксацию материала осуществляли с использованием нейтрального 10% забуференного формалина. После проведения иммуногистохимической реакции срезы докрашивали гематоксилином Мейера. При оценке результатов подсчитывали 5 полей зрения, учитывали количество микрососудов в одном поле зрения. **Результаты**: изучены особенности стромы опухоли у больных РМЖ с учетом экспрессии антигена CD34 класса II. В опухолях, в которых стромальный компонент составлял >50%, с помощью МкАТ к антигену CD34 определялось <30 микрососудов в одном поле зрения. В случаях, когда на долю стромы приходилось <50% площади опухоли, количество выявленных сосудов увеличивалось до 52. Показатели общей и безрецидивной выживаемости были выше у больных с выраженной реакцией стромы опухоли. **Выводы**: у больных РМЖ экспрессия антигена CD34 в сосудах опухоли и площадь, занимаемая стромой, находятся в обратной корреляционной зависимости (r = –0,68). В опухолях с выраженной стромой количество микрососудов в одном поле зрения было уменьшенным, и напротив, при маловыраженной строме опухоли плотность микрососудов была больше. При увеличении площади, занимаемой стромой опухоли, прогноз у больных РМЖ был более благоприятным, несмотря на высокую степень экспрессии антигена CD34 класса II в опухолевых клетках РМЖ.*

Несмотря на существенные достижения в терапии при раке молочной железы (РМЖ), результаты лечения отдельных больных не всегда можно признать удовлетворительными. Традиционно определение тактики лечения больных РМЖ производится на основании оценки клинических данных и морфологической характеристики опухоли. Распространенность опухолевого процесса является основным критерием прогноза и выбора тактики лечения, однако при этом не во всех странах отмечают ее корреляцию с эффективностью лечения и исходом болезни.

При оценке прогноза у пациенток с РМЖ наряду с такими признаками, как возраст больной, размер опухоли и степень распространенности и злокачественности новообразования, по данным гистологического исследования, все большее значение придают параметрам, отражающим различные биологические свойства опухолевых клеток [1, 5, 8].

Среди факторов прогноза широко используется оценка рецепторного статуса клеток первичной опухоли и гиперэкспрессия онкопротеина Her2/neu [4, 6]. Изучается прогностическое значение пролиферативной активности клеток опухоли, показателей апоптоза, маркеров межклеточной адгезии и белков цитоскелета злокачественных клеток [10]. Однако роль многих из них не всегда является однозначной [2]. В первую очередь, это связано с феноменом генетической нестабильности, гипоксией вследствие особенностей формирования микроциркуляторного русла опухоли [7]. Полиморфизм клеток опухоли создает предпосылки для возникновения клонов клеток, обладающих новым фенотипом, что в значительной мере снижает возможность прогнозирования ответа на лечение.

Ведущая роль стромы в прогрессировании опухоли обусловливает необходимость поиска стромальных факторов прогноза течения РМЖ, выяснение особенностей клеток и внеклеточных структур соединительной ткани, которые позволили бы оптимизировать прогнозирование ответа на использованные методы терапии.

В настоящее время, наряду с характеристиками эпителиального компонента опухоли, особое значение придают различным параметрам стромы опухоли, в частности процессам ангиогенеза, выраженности и качественному составу воспалительной инфильтрации [3, 9, 11]. Прогностическое значение стромы с использованием современных методов в настоящее время изучено недостаточно, так как в последние десятилетия основное внимание уделяли исследованию особенностей опухолевых клеток паренхимы.

Цель работы: изучить взаимосвязь между экспрессией антигена CD34 класса II, являющегося маркером

эндотелиальных клеток и использующегося для выявления капилляров, и соотношением строма — паренхима в ткани опухоли в стадии T1–2N0–1M0 с общей и безрецидивной выживаемостью больных РМЖ.

ОБЪЕКТ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования проведены у 267 пациенток с РМЖ T1–2N0–1M0, находившихся на лечении в Запорожском областном клиническом онкологическом диспансере в 2006–2011 гг. (таблица). Они получили комбинированное или комплексное лечение по показаниям, согласно существующим стандартам лечения.

Фиксацию материала осуществляли с использованием нейтрального 10% забуференного формалина. Срезы толщиной 4–5 мкм наносили на стекла, обработанные адгезивной жидкостью. Демаскировку антигенов производили нагреванием срезов в цитратном буфере pH=6,0 при автоклавировании 10 мин при достижении в буфере температуры 121 °С и давления 1 атм. Дальнейшую процедуру проводили согласно технологии и требованиям спецификации, касающейся обнаружения CD34 класса II — маркера клеток эндотелия (МкАТ клон QBEnd 10, Dako, Дания). После удаления первичных МкАТ применяли систему визуализации LSAB2 (биотинилированные антитела и пероксидазный комплекс), а в качестве хромогена использовали DAB (3,3´-диаминобензидин). После проведения иммуногистохимической реакции срезы докрашивали гематоксилином Мейера. При оценке результатов насчитывали 5 полей зрения (объектив ×20, окуляр ×10), учитывали плотность микрососудов (количество микрососудов в одном поле зрения). Соотношение строма — паренхима определяли с помощью программы для анализа изображения «ВидеоТест-Мастер Морфология».

Таблица

Гистологический тип РМЖ

Гистологический тип опухоли	Количество больных	
	n	%
Дольковый инфильтрирующий	44	17,8
Протоковый инфильтрирующий	192	71,9
Слизистый	18	7,3
Мозговидный	13	5,3

Статистическую обработку полученных данных выполняли с использованием коэффициента корреляции по Пирсону, программы Microsoft Office Excel 2007, Statistica 6.0, SPPS.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При изучении связи между уровнем экспрессии антигена CD34 класса II и соотношением строма — паренхима опухоли больных РМЖ удалось разделить на 3 группы. В первой группе (78 больных, 29,2%) количество микрососудов в одном поле зрения составляло до 20, во второй (105 пациенток, 39,3%) — от 21 до 50 и в третьей группе (84 больных, 31,5%) количество микрососудов в одном поле зрения было больше 50. Выявлена обратная корреляционная зависимость между экспрессией антигена (CD34) и площадью, занимаемой стромой опухоли (r=-0,68).

Площадь стромы была больше в случаях, когда количество микрососудов, определяющихся в одном поле зрения, было минимальным (рисунок). При увеличении количества микрососудов в поле зрения площадь, занимаемая стромой, уменьшалась. В первой группе больных площадь стромы составила 61,0±3,2%, а паренхимы — 39,0±2,4% (p<0,05), во второй — 44,0±3,5 и 56,0±2,7% (p<0,05) соответственно, в третьей — 27,0±2,7 и 73,0±1,6% (p<0,05) соответственно.

Установлена обратная корреляционная зависимость между гиперэкспрессией антигена CD34 класса II и общей выживаемостью больных (r=-0,64), что находится в соответствии с данными доступной литературы о неблагоприятном влиянии гиперэкспрессии CD34 на выживаемость пациентов с РМЖ [3].

В первой группе больных общая выживаемость составила 91,5±4,6%, безрецидивная — 84,8±3,2%, во второй группе отмечали тенденцию к снижению общей и безрецидивной выживаемости (p>0,05). В третьей группе зарегистрировано достоверное снижение общей выживаемости до 66,8±3,2% и безрецидивной — до 65,4±2,4% (p<0,05).

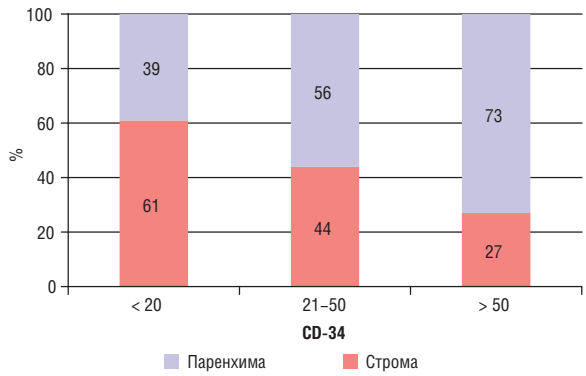

Рисунок. Уровень экспрессии антигена CD34 в микрососудах и соотношение площади паренхимы и стромы опухоли у больных РМЖ

Таким образом, увеличение содержания микрососудов в опухоли было связано с неблагоприятным прогнозом у больных РМЖ.

При изучении связи стромы опухоли у больных РМЖ установлена прямая корреляционная зависимость (r=0,65) между площадью, занимаемой стромой, общей и безрецидивной выживаемостью.

У больных РМЖ, у которых площадь стромы не превышала 30%, общая выживаемость составляла 52,4±4,8%, безрецидивная выживаемость — 51,2±4,5%. В случаях, когда площадь стромы составляла более 50%, отмечали достоверное повышение общей и безрецидивной выживаемости до 86,6±3,8 и 80,5±3,5% (p<0,05) соответственно. Таким образом, при выраженной стромальной реакции прогноз у больных РМЖ был более благоприятным при увеличении площади, занимаемой стромальным компонентом.

У больных с большим содержанием микрососудов в ткани опухоли в отдельных случаях отмечали неплохие результаты лечения. В этой группе пациенток была изучена связь между высокими показате-

лями общей и безрецидивной выживаемости и выраженностью стромальной реакции. Для исследования этого вопроса больные, у которых в ткани опухоли определялись >50 микрососудов в одном поле зрения, были разделены на 3 подгруппы. У пациенток первой подгруппы площадь стромы опухоли не превышала 30%, у больных второй составляла 31–50%, в третьей подгруппе площадь стромы опухоли превышала 50%. У больных РМЖ в опухолях, в которых фиксировали >50 микрососудов в поле зрения, а площадь стромы не превышала 30%, общая выживаемость составила 74,3±4,3%, безрецидивная выживаемость — 73,2±4,5%. В случаях, когда при высоком содержании микрососудов в поле зрения (>50) площадь стромы составляла >50%, регистрировали достоверное увеличение общей и безрецидивной выживаемости ($p<0,05$) до 94,3±3,6 и 90,5±4,2% соответственно.

Таким образом, выраженная стромальная реакция при увеличении содержания микрососудов в ткани опухоли носит защитный характер, способствуя улучшению прогноза у больных РМЖ.

ВЫВОДЫ

У больных РМЖ экспрессия антигена CD34 в сосудах опухоли и площадь, занимаемая стромой, находятся в обратной корреляционной зависимости (r=- 0,68). В опухолях с выраженной стромой количество микрососудов в одном поле зрения было уменьшенным, и напротив, при маловыраженной строме опухоли плотность микрососудов была больше.

Общая и безрецидивная выживаемость больных РМЖ, у которых на основании экспрессии антигена CD34 класса II выявлено >50 микрососудов в одном поле зрения в ткани опухоли, составила 66,8±3,2 и 65,4±2,4%, а при содержании микрососудов, определявшихся по экспрессии маркерного антигена, составляет <20 в одном поле зрения, общая и безрецидивная выживаемость повышались до 91,5±4,6 и 84,4±3,2% соответственно.

При увеличении площади, занимаемой стромой опухоли, прогноз у больных РМЖ был более благоприятным, несмотря на высокую степень экспрессии антигена CD34 класса II в опухолевых клетках РМЖ.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. **Божок АА, Семиглазов ВФ, Семиглазов ВВ и др.** Факторы прогноза при раке молочной железы. Совр онкол 2005; **7** (1): 4–9.
2. **Герштейн ЕС, Кушлинский НЕ.** Тканевые маркеры как факторы прогноза при раке молочной железы. Практ онкол 2002; **3** (1): 38–44.
3. **Крючков АН, Фрейнд ГГ.** Неоангиогенез и плотность сети микрососудов в раке молочной железы. Арх патол 2008; **70** (1): 62–5.
4. **Олийниченко ГП, Захарцева ЛМ, Дроздов ВМ и др.** Клиническое значение рецепторов эстрогенов, прогестерона и онкобелка HER2/neu в клетках рака молочной железы. Онкология 2002; **4** (1): 33–6.
5. **Пожарисский КМ, Леенман ЕЕ.** Значение иммуногистохимических методик для определения характера лечения и прогноза опухолевых заболеваний. Арх патол 2000; **5**: 26–30.
6. **Хансон КП, Имянитов ЕН.** Онкоген ERBB2/HER2: от молекулярной к клинической онкологии. Вопр онкол 2002; **48** (2): 137–44.
7. **Осинский С, Ваупель П.** Микрофизиология опухолей. Киев: Наукова думка, 2009. 211 с.
8. **Holland R.** Multifocality and multicentriety of breast cancer. Acta Chir Aust 1997; **3**: 132–3.
9. **Leek RD, Lewis CE, Whitehouse R, *et al*.** Association of macrophage infiltration with angiogenesis and prognosis in invasive breast carcinoma. Cancer Res 1996; **56** (20): 4625–9.
10. **Rosen PP.** Breast Pathology. Philadelphia, 2001; 1004 p.
11. **Stewart TH, Tsai SC.** The possible role of stromal cell stimulation in worsening the prognosis of a subset of patient with breast cancer. Clin Exp Metastasis 1993; **11**: 295–305.

CLINICAL AND MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF THE TUMOR STROMA IN BREAST CANCER PATIENTS

N.F. Shchurov, S.N. Pashchenco, N.N. Voloshina

Summary. ***Objective***: *to examine the relationship between the expression of CD34 antigen class II, which is a marker of endothelial cells and is used to identify the capillaries and the ratio of the stroma — the parenchyma in tumor tissue, stages T1–2N0–1M0 with general and disease-free survival of patients with breast cancer (BC).* ***Object and methods***: *the investigations were conducted in 267 patients with BC T1–2N0–1M0. Fixing material was carried out using neutral 10% buffered formalin. After the immunohistochemical reaction sections were counterstained with Mayer's hematoxylin. In evaluating the results, the 5 fields of view take into account the number of microvessels in one field of view.* ***Results***: *peculiarities of tumor stroma in BC with the CD34 class II antigen expression, which is a marker of endothelial cells and was used to identify capillaries. In tumors in which the stromal component was more than 50% by MAb to the antigen CD34, less than 30 microvessels were determined in one field of vision. In cases where the proportion of stroma accounted less than 50% of the tumor area, the number of identified vessels increased to 52. Overall and disease-free survival rates were higher in patients with manifested reaction of tumor stroma.* ***Conclusions***: *the patients with BC, the expression of CD34 antigen in the blood vessels of the tumor and the area occupied by stroma, are in inverse correlation (r = -0,68). In tumors with marked stroma of microvessels in one field of vision was reduced, and, conversely, when the tumor stroma was noticeable less microvessel density was higher. Increasing the area occupied by the tumor stroma, the prognosis of patients with BC have been more favorable, despite the high degree of expression of CD34 antigen class II tumor cells in BC.*

Key words: breast cancer, antigen CD34, stroma, tumor parenchyma.

Адрес для переписки:
Щуров Н.Ф.
69040, Запорожье, ул. Культурная, 177А
Запорожский государственный медицинский университет
E-mail: shurov03@rambler.ru

Получено: 18.07.2013