

## БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПЕРСТНЕВИДНОКЛЕТОЧНОГО РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В ПЕРВИЧНОЙ ОПУХОЛИ И МЕТАСТАЗАХ

<sup>1</sup>Тодоров С.С., <sup>1</sup>Босенко С.Ж.-П., <sup>1</sup>Босенко Е.С., <sup>1</sup>Луганская Р.Г., <sup>1</sup>Сафорьян Н.С.

<sup>1</sup>ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, Ростов-на-Дону, e-mail: setodorov@yandex.ru

Проведено сравнительное морфоиммуногистохимическое исследование перстневидноклеточной карциномы (ПК) молочной железы. Биологические признаки ПК молочной железы до сих пор малоизучены. Для оценки секреторной, гормональной, пролиферативной активности ПК молочной железы необходимо определить рецепторы опухоли к половым гормонам, в том числе эстрогену, прогестерону, индексу пролиферации Ki-67 совместно с оценкой продукции слизи различного состава. В этой связи нами учитывались и анализировались следующие показатели: рецепторы к эстрогену, прогестерону, Her-2/neu, Ki-67, MUC2, MUC5A в ткани ПК молочной железы. После выполнения морфологического и иммуногистохимического исследований было показано, что ПК является редкой опухолью молочной железы, содержит рецепторы к эстрогену, прогестерону, невысокий индекс пролиферации Ki-67, отличается иммунофенотипом в первичной опухоли и метастазах. Секреторная активность клеток ПК в виде накопления муцинов MUC2, MUC5A не выявлена. Описанные морфобиологические особенности ПК молочной железы позволяют уточнить лекарственную терапию и уточнить прогноз заболевания.

Ключевые слова: перстневидноклеточная карцинома, молочная железа, иммуногистохимическое исследование.

## BIOLOGICAL FEATURES OF SIGN-RING BREAST CARCINOMA

<sup>1</sup>Todorov S.S., <sup>1</sup>Bosenko S.G.-P., <sup>1</sup>Bosenko E.S., <sup>1</sup>Luganskaya R.G., <sup>1</sup>Saphoryan N.S.

<sup>1</sup>Rostov Cancer Research Institute Russia Ministry of Health, Rostov-on-Don, Russia, e-mail: setodorov@yandex.ru

We have done the comparative morphoimmunohistochemical study of signet-ring carcinoma (SRC) of the breast. The biological characteristics of SRC of the breast still are poorly understood. Evaluation of excretory, hormonal and proliferative activity of SRC of the breast is necessary to determine the receptors of the tumor to sex hormones, including estrogen, progesterone, proliferation index Ki-67 in conjunction with the evaluation of mucus production of different composition. In this regard, we considered and analyzed the following indicators: the receptors for estrogen, progesterone, Her-2/neu, Ki-67, MUC2, MUC5A in the tissue of PC of the breast. After performing morphological and immunohistochemical studies have shown that SRC is a rare tumor of the breast that contains the receptors for estrogen, progesterone, low proliferation index Ki-67, different immune markers in primary tumors and metastases. The following parameters were considered: estrogen, progesterone receptors, Her-2/neu, Ki-67, MUC2, MUC5A. It is shown SRC is a rare tumor of the breast that contains the receptors for estrogen, progesterone, low proliferation index Ki-67, different immunophenotype in primary tumors and metastases. The secretory activity of cells SRC in the form of accumulation of mucin MUC2, MUC5A are not revealed. Described morphological characters of the features of SRC of the breast help to clarify and estimate drug therapy and prognosis of the disease.

Keywords: sign-ring carcinoma, mammary gland, immunohistochemical study.

Клинико-морфологические варианты рака молочной железы (РМЖ), используемые различные классификации, в том числе ВОЗ, не исчерпывают всего морфобиологического многообразия данной категории опухолей. Согласно данным литературы, большинство опухолей молочной железы возникают из терминальных отделов протоков и долек, и в ряде случаев этот факт затрудняет определение гистологического варианта РМЖ [1,6].

Установление инфильтрирующей неспецифической карциномы молочной железы не всегда является оправданным, так как в ряде наблюдений опухоль имеет гетерогенную структуру, представленную различными типами клеток. В этом случае оценка

биологических свойств самой опухоли позволяет оценить ее гистогенез, секреторную и гормональную активность, а значит судить об инвазивных свойствах и возможности применения таргетного лечения [1,2].

Представление о гистогенезе РМЖ, его молекулярно-биологических признаках, особенностях роста сильно изменилось и стало более полным благодаря использованию метода иммуногистохимической диагностики разных вариантов РМЖ. В этой связи появились новые подтипы РМЖ, учитывающие наличие рецепторов гормонов (эстрогена, прогестерона, андрогена), HER-2 статус, индекс пролиферативной активности опухоли, что позволило применить современные методы лечения, в том числе, использование таргетных препаратов [2,3,4,5]. Однако, как показывает опыт изучения морфологических, иммуногистохимических свойств РМЖ, этим не исчерпывается описание только представленных биологических молекул. Остаются малоизученными отдельные виды РМЖ, в том числе базальноклеточные, метапластические, перстневидноклеточные карциномы, представляющие для исследователей не только практический – лечебный, но и теоретический – фундаментальный интерес. Перстневидноклеточный рак молочной железы представляет наиболее редкую нозологическую форму рака данной локализации. До сих пор малоизученными остаются вопросы, связанные с определением первичной локализации опухоли, способности к продукции секреторных веществ, гормональной активности. Кроме того, противоречивыми остаются аспекты оценки HER-2/neu в перстневидноклеточных раках молочной железы.

Рак с перстневидноклеточной дифференцировкой характеризуется наличием клеток с большим количеством мюцина в цитоплазме, отдавляющим ядро на периферию. Истинный первичный РМЖ, состоящий из перстневидных клеток, встречается крайне редко. Чаще он сочетается с инвазивным дольковым раке в виде фокального скопления клеток опухоли. Реже перстневидные клетки имеются при инвазивном раке неспецифического типа и других вариантах РМЖ. Однако в ряде случаев возникают затруднения, касающиеся оценки данной категории опухолей, их дифференциации с опухолями желудочно-кишечного тракта и легких [1,6].

В этой связи **целью** нашего исследования было сравнительное морфоиммуногистохимическое исследование перстневидноклеточного РМЖ.

### **Материалы и методы**

Изучено 7 наблюдений перстневидноклеточного РМЖ, оперированных в отделениях маммологии ФГБУ «Ростовский НИИ онкологии» Минздрава России за период 2011-2015 гг. Средний возраст женщин составил 52 года. После выполнения секторальной резекции проводилось срочное гистологическое исследование операционного материала. Другая часть

материала отдельно вырезалась в виде пластин размерами не более 1 см в длину, заливалась в забуференный 10% формалин, фиксировалась не более 24 часов, после рутинной проводки заливалась в парафин. После этого с парафиновых блоков изготавливались гистологические срезы толщиной 3-4 мкм на ротационном микротоме Accu-Cut SRM 200 фирмы Sakura (Япония) которые окрашивались гематоксилином-эозином.

Отдельно для проведения иммуногистохимического исследования полученные гистологические срезы наносили на высокоадгезивные стекла и высушивали вертикально в термостате при температуре 55-56° С в течение 10 часов.

Депарафинизацию, восстановление антигенной активности и все этапы иммуногистохимической реакции, а также докраску гематоксилином проводили в иммуногистостейнере VENTANA BenchMark ULTRA фирмы Roche (Швейцария).

В качестве системы детекции первичных антител была использована «ultraView Universal DAB Detection», произведенная фирмой Roche для VENTANA.

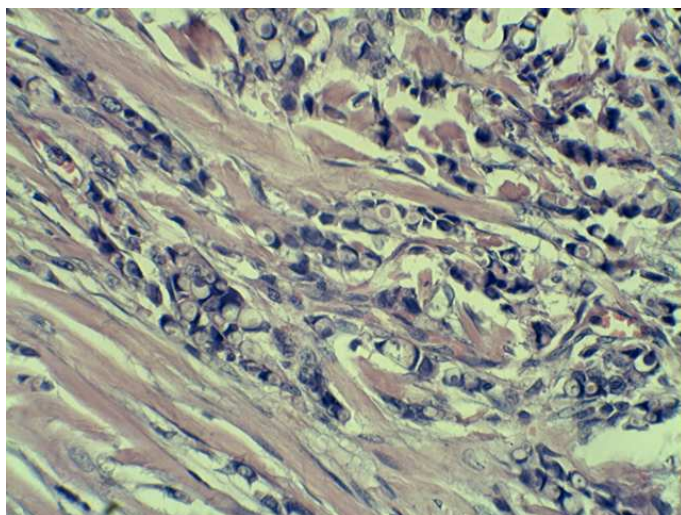
Антитела, использованные для иммуногистохимических реакций, их характеристики и рабочее разведение представлены в таблице.

Характеристика антитела

№ п/п	Наименование	Клон	Фирма производитель	Разведение
1.	Моноклональные кроличьи к рецепторам Эстрогена	SP 1	Spring Bio	1:250
2.	Моноклональные кроличьи к рецепторам Прогестерона	SP 2	Spring Bio	1:350
3.	Моноклональные кроличьи к Ki-67	SP 6	Spring Bio	1:200
4.	Моноклональные кроличьи к HER2/neu	V9	Roche/Ventana	rtu
5.	Моноклональные мышьиные к MUC2	E 30	Dako	1:50
6.	Моноклональные мышьиные к MUC5A	D 5/16 B4	Dako	1:100

### Результаты исследования и их обсуждение

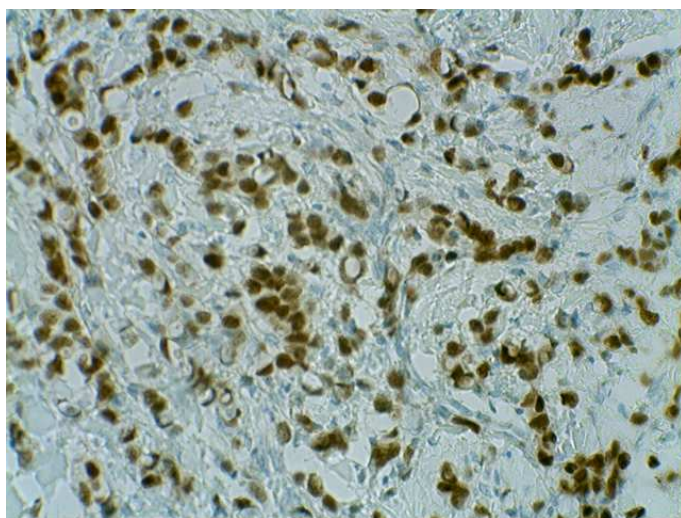
При макроскопическом исследовании перстневидноклеточный РМЖ был представлен опухолевым узлом плотной консистенции диаметром, не превышающим 1,5 см, с белесоватой перламутровой поверхностью на разрезе. При гистологическом исследовании выявлялись солидные пласты опухолевых клеток с типичной прозрачной цитоплазмой и смещенным к периферии клеток ядром (рис.1).



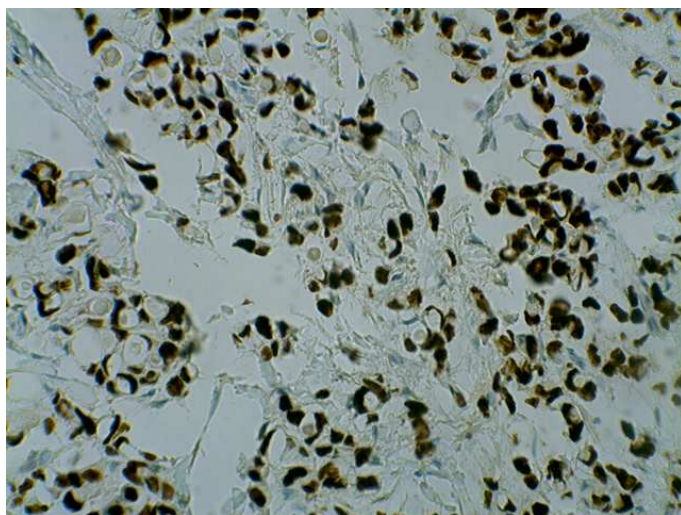
*Рис.1. Перстневидноклеточный рак: солидное расположение типичных перстневидных клеток опухоли. Окр. гематоксилином-эозином. X400*

Для оценки гормонального статуса опухоли оценивалась распространенность и степень экспрессии рецепторов к эстрогену и прогестерону. Было показано, что во всех наблюдениях имелась гиперэкспрессия к рецепторам эстрогена более 75% ядер клеток, к рецепторам прогестерона более 85% ядер клеток (рис.2,3).

Таким образом, было показано, что перстневидноклеточный РМЖ является гормонально-зависимым.

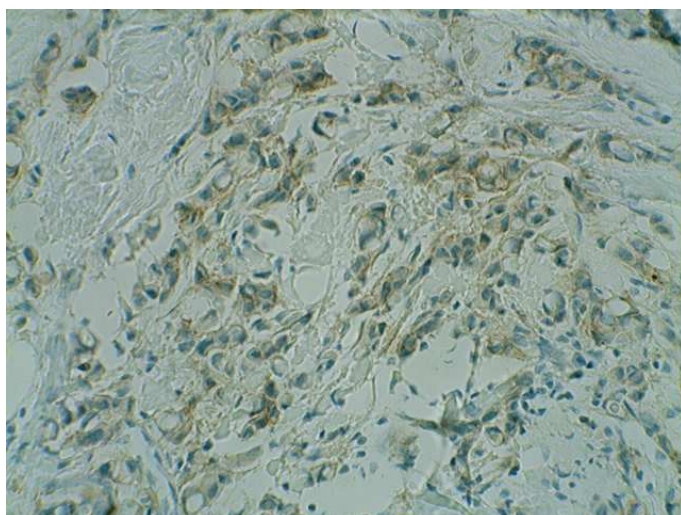


*Рис.2. Гиперэкспрессия рецепторов к эстрогену (более 75%) в первичной перстневидноклеточной карциноме молочной железы. ИГХ-реакция.x200*



*Рис.3. Гиперэкспрессия рецепторов к прогестерону (более 85%) в первичной перстневидноклеточной карциноме молочной железы. ИГХ-реакция.x200*

HER-2/neu белок не экспрессировался в ткани опухоли, что указывало на отсутствие специфических рецепторов на поверхности клеток опухоли (рис.4).



*Рис.4. HER-2/neu негативная реакция клеток опухоли. ИГХ-реакция.x200*

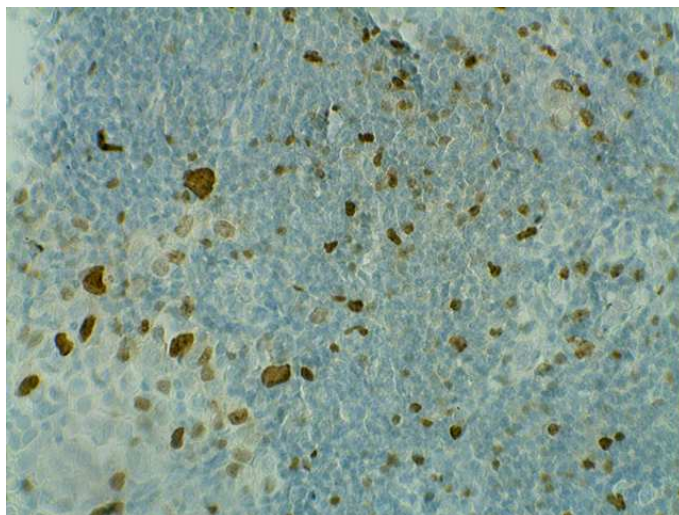
При оценке уровня пролиферативной активности Ki-67 отмечалась неравномерная очаговая экспрессия ядер опухолевых клеток не более чем в 15%. Это могло свидетельствовать о наличии низкой пролиферативной активности большей части опухоли с преобладанием в ней секреторного гормонального компонента.

Дополнительные окраски с белками MUC2, MUC 5A не выявили наличия муцинов в цитоплазме перстневидных клеток опухоли, что подтверждало факт только гормональной продукции перстневидными клетками.

Для оценки морфобиологических свойств перстневидноклеточного РМЖ проводилась сравнительная оценка первичной опухоли и ее метастазов в лимфатические узлы. Было

отмечено, что во всех наблюдениях в метастазах экспрессия и распространенность рецепторов к эстрогену, прогестерону напоминала таковые изменения в первичной опухоли.

HER-2 статус опухоли в метастатических очагах был негативный, белки MUC2, MUC5A не выявлялись в опухоли. Однако индекс пролиферативной активности Ki-67 был значительно выше по сравнению с первичной карциномой и составлял 25-35% ядер клеток неоплазии, при этом часто встречались атипичные клетки с крупными ядрами (рис.5).



*Рис.5. Ki-67 в метастазе перстневидноклеточного рака составляет 25% ядер клеток. ИГХ-реакция.х200*

### **Заключение**

Перстневидноклеточный рак молочной железы (ПРМЖ) является довольно редким заболеванием молочной железы, который встречается у женщин пострепродуктивного периода. Отличительными особенностями ПРМЖ следует считать наличие перстневидных клеток, строящих солидные структуры, содержащие клетки с прозрачной цитоплазмой и смещенным к периферии ядром. Иммуногистохимическое исследование позволяет дополнить представление о данной категории РМЖ как об опухоли, обладающей гормональной зависимостью (гормон-позитивные опухоли), не экспрессирующие муцины (MUC2, MUC5A), HER-2/neu негативные, с низким потенциалом злокачественного роста (Ki-67 не превышает 15%). В метастазах ПРМЖ отмечается более высокий уровень пролиферативной активности (Ki-67 более 25-35%) при сохранении экспрессии гормонов клетками опухоли.

Мы считаем, что ПРМЖ по своему биологическому подтипу относятся в люминальному подтипу В, HER-2 негативные, которые обладают достаточно благоприятным прогнозом. Однако появление очагов повышенной пролиферативной активности в метастазах ПРМЖ может указывать на клеточную нестабильность, дисрегуляцию клеточно-межклеточных систем, а значит появление активных клеточных клонов, способных к

делению. Эти вопросы, несомненно, требуют своего дальнейшего изучения и адекватной клинической и прогностической оценки.

### Список литературы

1. Иммуногистохимические методы: руководство. Русское издание под редакцией Г. А. Франка и П. Г. Малькова // 2011 – С.91-97
2. Кит О.И., Шатова Ю.С., Тодоров С.С. и соавт. Гетерогенность люминального рака молочной железы у женщин с различным репродуктивным статусом // Российский онкологический журнал . - 2014. -Т.19, №6. - С.14-17.
3. Кит О.И., Шатова Ю.С., Тодоров С.С. и соавт. Частота встречаемости различных молекулярно-биологических подтипов рака молочной железы в зависимости от репродуктивного статуса // Российский онкологический журнал. - 2014. - Т.19, №5. - С.24-27.
4. Тодоров С.С., Кит О.И., Босенко Е.С. и соавт. Морфоиммуногистохимическая характеристика синхронного билатерального рака молочных желез // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2014. - Т.15, №5. - С.663-666.
5. Тодоров С.С., Босенко С.Ж-П., Босенко Е.С. и соавт. Морфобиологические особенности метапластической карциномы молочной железы // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. - 2014. - Ч.4, №11. -С.680-684.
6. Рак молочной железы. Морфологическая диагностика и генетика. Практическое руководство для врачей. Под редакцией Г.А. Франка, Л.Э. Завалишиной К.М. Пожириского. М. 2014 – С.171.

### Рецензенты:

Ващенко Л.Н., д.м.н., профессор, заведующая отделением опухолей мягких тканей, костей и молочной железы ФГБУ «РНИОИ» МЗ РФ, г. Ростов-на-Дону;

Николаева Н.В., д.м.н., врач-онколог отделения онкогематологии ФГБУ «РНИОИ» МЗ РФ, г. Ростов-на-Дону.