

Демидов С.М.^{1,2}, Сазонов С.В.^{1,3}, Демидов Д.А.^{1,2}, Машковцев К.А.¹, Мещерякова Е.Ю.¹,
Лан С.А.^{1,2}, Соколов А.П.¹, Ожорбаев М.Т.¹

Дополнительные возможности иммуногистохимической диагностики микрометастазов в лимфатические узлы пациенток с ранним раком молочной железы

1 - ГБОУ ВПО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, г. Екатеринбург;
2 - Муниципальное автономное учреждение городская клиническая больница № 40, г. Екатеринбург; 3 -
ГБУЗСО Институт медицинских клеточных технологий, г. Екатеринбург

*Demidov S.M., Sazonov S.V., Demidov D.A., Mashkovtsev K.A., Meshcheryakova E.U.,
Lan S.A., Sokolov A.P., Ozhorbaev M.T.*

Additional features of the immunohistochemical diagnosis of micrometastases in lymph nodes of patients with early breast cancer

Резюме

Одним из основных подходов к выявлению опухолевых кластеров в лимфатических узлах является применение методов иммуноцитохимии (ИЦХ) и иммуногистохимии (ИГХ) на серийных срезах. Оценены диагностические возможности иммуногистохимического метода при диагностике микрометастазов. Исследованы 24 пациентки без гистологического поражения лимфоузлов, у 8 (33,3%) были обнаружены микрометастазы. Из 144 подмышечных лимфатических узлов ИГХ метод окраски с определением наличия Рап-СК выявил в 12 случаях (8,33%) положительный результат. Определена частота встречаемости микрометастазов в лимфатических узлах при раке молочной железы.

Ключевые слова: рак молочной железы, иммуногистохимический метод, панцитокератин, микрометастазы

Summary

One of the main approaches to the identification of tumor clusters in the lymph nodes is the application of immunocytochemistry (ITSH) and immunohistochemistry (IHC) on serial sections. Evaluated the diagnostic capabilities of immunohistochemistry in the diagnosis of micrometastases. Studied 24 patients without lymph node histology, 8 (33.3%) were detected micrometastases. Of 144 axillary lymph nodes with IHC staining method dowse Pan-CK revealed in 12 cases (8.33%) positive result. The frequency of occurrence of micrometastases in lymph nodes in breast cancer.

Keywords: Breast cancer (BC), immunohistochemistry (IHC), pancytokeratin (Pan-CK), micrometastases

Введение

Метастазы в лимфатических узлах при раке молочной железы (РМЖ) обнаруживаются примерно в 40% случаев [1]. Число пораженных лимфоузлов является важным прогностическим фактором, влияющим на назначение адьювантного лечения [2]. По Американскому объединенному комитету по раку (AJCC-American Joint Committee on Cancer) от 2002 в зависимости от размера самого большого депозита в лимфоузле малые метастазы делятся на следующие виды: изолированные опухолевые клетки (isolated tumor cells - ИТС) и микрометастазы. Изолированные опухолевые клетки в диаметре меньше 0,2 мм, микрометастазы от 0,2 мм до 2,0 мм. Больше 2,0 мм считается макрометастазами [1, 2, 4, 5, 7, 9]. При выявлении малых метастазов поражение лимфатических узлов стадируется следующим

образом: pN0(i+) при выявлении изолированных опухолевых клеток, при выявлении микрометастазов pN1mi. Последнее требует лимфаденэктомии или химиотерапии [1, 2, 4, 9]. Выявление изолированных опухолевых клеток не является показанием к проведению лимфодиссекции, адьювантной химиотерапии и лучевой терапии. Уровень изолированных опухолевых клеток может служить в качестве прогностического маркера и использования для ранней оценки терапевтического ответа [3].

Большинство проводимых исследований показывают небольшое снижение общей и безрецидивной выживаемости у больных с обнаруженными микрометастазами в подмышечных лимфоузлах, либо не влияют на прогноз. Тем не менее, результаты других проведенных исследований показывают повышение риска регионарного рецидива при выявлении микрометастазов [6].

Таблица 1. Сторожевые лимфатические узлы с изолированными опухолевыми клетками и микрометастазами при раке молочной железы: клиническая значимость и прогностическое значение.

	Отдельные опухолевые клетки в ЛУ	Микрометастазы в ЛУ	Метастазы	Метастазы не выявлены	Всего случаев
	22 случая (2,1%)	52 случая (5,0%)	260 случаев (24,9%)	710 случаев (68%)	1044
Рецидив (28,8 месяцев)	-	2 случая	36	-	38 (3,6%)
Смерть	-		13	-	15 (1,5%)

Таблица 2. Количество выявленных случаев микрометастазирования при определении панцитокератинов.

Число пациенток	24
Наличие микрометастазов	8
Процентное соотношение	33,3%

Отдельные опухолевые клетки в сторожевых лимфатических узлах не имеют негативного влияния на прогноз заболевания и на общую выживаемость. Хотя только два рецидива с последующей смертью произошли в группе с выявленными микрометастазами. Можно предположить, что наличие микрометастазов ухудшает прогноз заболевания и оправдывает разную тактику при обнаружении отдельных опухолевых клеток и микрометастазов в лимфатических узлах (Таблица 1)[6].

Раннее обнаружение микрометастазов, может помочь выявить пациентов, нуждающихся в дополнительной системной терапии после успешного хирургического удаления первичной опухоли.

Для определения микрометастазов в лимфатических узлах серийные срезы толщиной 4 — 5 мкм через каждые 100 мкм окрашивают гематоксилин-эозином. Одним из основных подходов к выявлению опухолевых кластеров (изолированных опухолевых клеток, микрометастазов) в лимфатических узлах является применение методов ИГХ (иммуногистохимии) и ИЦХ (иммуноцитохимии) на серийных срезах всех лимфоузлов с использованием моноклональных антител к цитокератинам (СК) – РапСК, СК18, СК19, СК20 [13]. Стандартное окрашивание гистологических препаратов в сочетании с методикой иммуногистохимии повышает вероятность определения микрометастазов и изолированных опухолевых клеток в лимфатических узлах на 28,5% [10]. Метод иммуногистохимии при исследовании микрометастазов позволяет выявить экспрессию маркеров в кластере опухолевых клеток, при отсутствии обнаружения тех же маркеров на клетках первичной ткани опухоли.

Цель работы - улучшение диагностики микрометастазов в лимфатические узлы у пациенток ранним раком молочной железы

Задачи: 1. Выявить частоту встречаемости микрометастазов в лимфатических узлах

2. Дать сравнительную оценку эффективности обнаружения микрометастазов методом иммуногистохимии

Материалы и методы

Проведен анализ результатов ИГХ исследования срезов лимфатических узлов. В исследование включены 24 случая ранних РМЖ в период с 01.11.2013г. по 01.02.2014г. Всем больным было выполнено первым этапом лечения радикальное оперативное вмешательство в объеме мастэктомии или радикальной резекции молочной железы с аксиллярной лимфаденэктомией. Лечение проводилось на базе городского маммологического центра г. Екатеринбурга МАУ ГКБ № 40. Иммуногистохимическое исследование выполнялось на базе Института медицинских клеточных технологий, г.Екатеринбург. Средний возраст пациенток составил 48±5,4 лет. Количество лимфатических узлов в разных случаях варьировало от 1 до 15. В обследование включены большие

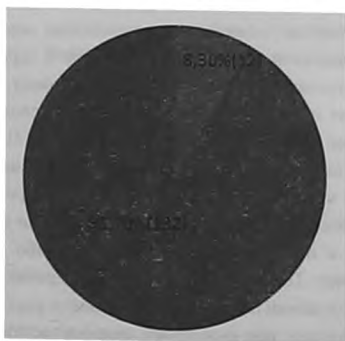


Рис. 1. Частота микрометастазов в исследованных лимфоузлах.

с РМЖ со стадией по T1-2N0M0. В случаях отсутствия метастазов в лимфатических узлах после планового гистологического исследования, пациенткам было предложено выполнить иммуногистохимическое исследование лимфоузлов с применением моноклональных антител на панцитокератин (Pan-CK, Monosan, Clone 5D3 and LP34).

Результаты и обсуждение

Исследованы лимфоузлы 24х пациенток, оцененные гистологически как интактные. Из них у 8(33,3%) были обнаружены микрометастазы. (Таблица 2). У одной пациентки были поражены 3 лимфатических узла из 8. У остальных по одному - два. После планового гистологического исследования, где наличие метастазов было отрицательным в 144 подмышечных лимфатических узлах, ИГХ метод окраски с определением Pan-CK выявил их наличие в 12 случаях (8,33%), что совпадает с литературными данными. (Рисунок 1.)

Выводы

1. У пациенток, прооперированных по поводу Рака молочной желез в лимфатических узлах, расцениваемых при гистоанализе, как интактные, частота встречаемости микрометастазов составляет 8-10,0%.

2. Учитывая большую частоту встречаемости микрометастазов в лимфатических узлах, ИГХ метод является дополнением к стандартным методам обследования. ■

Демидов С.М. – д.м.н. профессор, заведующий кафедрой онкологии и медицинской радиологии ГБОУ ВПО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, заведующий отделением онкоматмологии МАУ ГКБ 40, г. Екатеринбург; Сазонов С.В.

- д.м.н. профессор, заведующий кафедрой гистологии, цитологии и эмбриологии ГБОУ ВПО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, заведующий лабораторией патоморфологии ГБУЗСО Институт медицинских клеточных технологий, г. Екатеринбург; Демидов Д.А. – к.м.н. ассистент кафедры онкологии и медицинской радиологии ГБОУ ВПО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, врач отделения онкоматмологии МАУ ГКБ 40г. Екатеринбург; Машиковцев К.А. – клинический ординатор кафедры онкологии и медицинской радиологии ГБОУ ВПО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, г. Екатеринбург; Меццержкова Е.Ю. – интерн кафедры патологической анатомии ГБОУ ВПО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, г. Екатеринбург; Лан С.А. - заведующая кабинетом внутривенного фармакологического контроля МАУ ГКБ 40, лаборант кафедры онкологии и медицинской радиологии ГБОУ ВПО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, г. Екатеринбург; Соколов А.П. - ассистент кафедры онкологии и медицинской радиологии ГБОУ ВПО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, г. Екатеринбург; Ожорбаев М.Т. – клинический ординатор кафедры онкологии и медицинской радиологии ГБОУ ВПО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, г. Екатеринбург; Автор, ответственный за переписку - Демидов Д.А. – к.м.н. ассистент кафедры онкологии и медицинской радиологии ГБОУ ВПО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава РФ г. Екатеринбург, врач отделения онкоматмологии МАУ ГКБ 40, Россия г. Екатеринбург б/20102 ул. Волгоградская 189, телефон 8(343)2669751e-mail: p18193@gmail.com

Литература:

- All topics are updated as new evidence becomes available and our peer review process is complete. Literature review current through: Nov 2013. This topic last updated: ноя 11, 2013
- Variation in axillary node dissection influences the degree of nodal involvement in breast cancer patients Saha Sanjoy, Farrar William B, Young Donn C, Ferrara John J, Burak William E. J. Surg Oncol 2000; 73, 3 C134-137.
- Micrometastatic spread in breast cancer: detection, molecular characterization and clinical relevance. Tanja Fehm, Volkmar Müller, Catherine Aïx-Panabieres and Klaus Pantel, 2008
- Wada, N. & Imoto, S. Clinical evidence of breast cancer micrometastasis in the era of sentinel node biopsy. Int. J. Clin. Oncol. 13, 24–32 (2008).
- Comparative analysis of bone marrow micrometastases with sentinel lymph node status in early-stage breast cancer. Madan L. Arora, Shams Mistry. 2013 ASCO Annual Meeting
- Sentinel lymph nodes with isolated tumour cells and micrometastases in breast cancer: clinical relevance and prognostic significance. J Clin Pathol 2013 Nov 11.
- Occult axillary micrometastases fail to predict breast cancer survival. Oncol News Int. 2001; 10 C 50.
- Enrichment methods to detect bone marrow micrometastases in breast carcinoma patients: clinical relevance. Valérie Choessel, Jean-Yves Pierga, Claude Nos, 2004
- Simonetta Buglioni, Franco Di Filippo, Irene Terrenato,

- Beatrice Casini, Enzo Gallo, Ferdinando Marandino, Carlo L. Maini, Rossella Pasqualoni, Claudio Botti, Simona Di Filippo, Edoardo Pescarmona, Marcella Mottolese. Quantitative Molecular Analysis of Sentinel Lymph Node May Be Predictive of Axillary Node Status in Breast Cancer Classified by Molecular Subtypes PLOS ONE | www.plosone.org 1 March 2013 | Volume 8 | Issue 3 | e58823/ 1-11
- Jian Zeng, Hua zhi Xie Yunfei Lu Zhenbo Feng Fu Li Clinical Implications of Micrometastasis Detection in Internal Mammary Nodes of Breast Cancer Patients Breast Care 2012;7:216–219
- Sameer Damle, MD and Christine B Teal, MD, FACS Can Axillary Lymph Node Dissection Be Safely Omitted for Early-Stage Breast Cancer Patients with Sentinel Lymph Node Micrometastasis Indian J Surg Oncol (July– September 2010) 1(3):216 – 217
- JEAN-CHRISTOPHE TILLE, JEAN-FRANCOIS EGGER, MARIA CONDREA DEVILLAZ, GOERGES VLASTOS and MARIE-FRANCOISE PELTE Frozen Section in Axillary Sentinel Lymph Nodes for Diagnosis of Breast Cancer Micrometastasis ANTICANCER RESEARCH 29: 4711–4716 (2009)
- Хуэян Ф.Ф. Микрометастазы в регионарных лимфатических узлах при раке различных локализаций: идентификация, особенности распространения, реакция окружающей лимфоидной ткани, прогноз. Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук. Саратов 2010г.