



Гемопоз у больных раком молочной железы

ГОУ ВПО Ульяновский государственный университет,
ГУЗ Областной клинический онкологический диспансер,
г.Ульяновск¹

ФГБУ " РОНЦ им. Н. Н. Блохина" РАМН, г. Москва²

В.В. Родионов¹, Н.Н. Тупицын², О.А. Богомолова¹

Актуальность

КМ

- Играет ключевую роль в метастатическом каскаде
- Депо диссеминированных опухолевых клеток (ДОК)
- Ответственен за «tumor dormancy»

РМЖ

- Модель опухоли для изучения канцерогенеза, гемопоза у онкологических больных
- Доказано прогностическое значение ДОК в КМ и ЦОК
- Единственная опухоль, где присутствие ДОК и ЦОК включено в систему стадирования TNM – cMo (i+)

Реакция костного мозга на макрометастазы рака

Типы кроветворения
(Воробьев А.И., 1985):

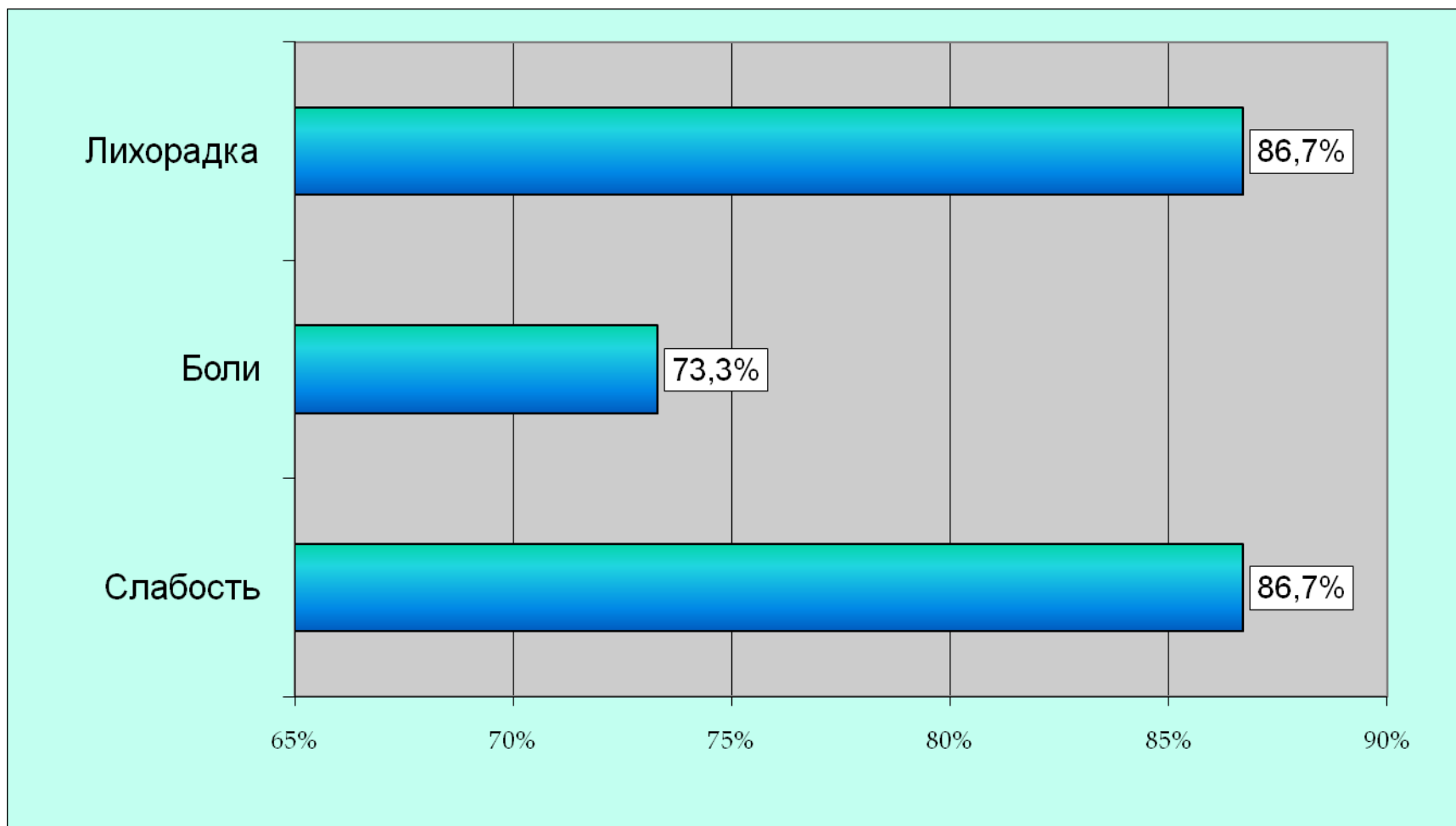
- Реактивный костный мозг
- Бедный (гипопластичный или апластичный) костный мозг

Реакция костного мозга
на метастазы рака:

- Лейкоэритробластоз (12-50%)
- Миелофиброз
- Миелосклероз и некроз

Симптомные метастазы РМЖ в костный мозг (N=15)

В.В. Родионов, ГУЗ ОКОД, Ульяновск, 2005



Средние показатели общего анализа крови у больных с симптомными метастазами в костный мозг (N=15)

Показатель	Частота , %	Среднее значение
Гемоглобин, г/л • норма • анемия	13,3 86,7	90,2 (78,7-101,7)
Лейкоциты, тыс. • норма • лейкопения	60,0 40,0	4,7 (3,8-5,6)
Тромбоциты, тыс. • норма • тромбоцитопения	0 100,0	158 (134,8-181,2)
СОЭ, мм/час • <30 • ≥30-39	0 100,0	63,4 (57,8-69)

Косвенные признаки присутствия опухолевых клеток в костном мозге у больных РМЖ (N=53)

О.В. Крохина и соавт., ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н.Блохина» РАМН, 2003

- Гипоклеточность костного мозга
- Скопления плазматических клеток (3-5)
- Обнаружение крупных клеток с гиперхромным ядром и множественными нуклеолами (5-6)
- Увеличение среднего количества моноцитов и лимфоцитов
- Повышение лейкоэритробластического отношения

Цель исследования

- установление степени гематогенной диссеминации у больных раком молочной железы на основании обнаружения диссеминированных опухолевых клеток в костном мозге методом проточной цитофлуориметрии с применением моноклональных антител к EpCAM

Materials (N=50)

Patients characteristics	Abs N of pts	% of pts
Age		
• Median	56,7 (33 – 74)	
Stage		
• I	4	8
• IIA-IIB	20	40
• IIIA-IIIC	21	42
• IV	5	10
Histological type of tumor (WHO, 2012)		
• Invasive ductal carcinoma, not otherwise specified (NOS)	18	36
• Invasive lobular carcinoma	10	20
• Mixed type carcinoma	15	30
• Specified carcinomas	7	14
Tumor grade		
• I	4	8,5
• II	36	76,6
• III	7	14,9

Materials (N=50)

Patient characteristics	Abs N of pts	% of pts
Hormone receptor status (HR)		
•HR+	32	65,3
•HR-	17	34,7
HER2 – status		
•HER2+	10	20,8
•HER2-	38	79,2
Ki-67 – expression		
•high proliferative tumors ($\geq 20\%$)	25	69,4
•low proliferative tumors ($< 20\%$)	11	30,6
UPI (Ulyanovsk Prognostic Index)		
•very low malignant potential	3	6,7
•low malignant potential	19	42,2
•moderate malignant potential	22	48,9
•high malignant potential	1	2,2

Суммарный балл злокачественности (СБЗ)

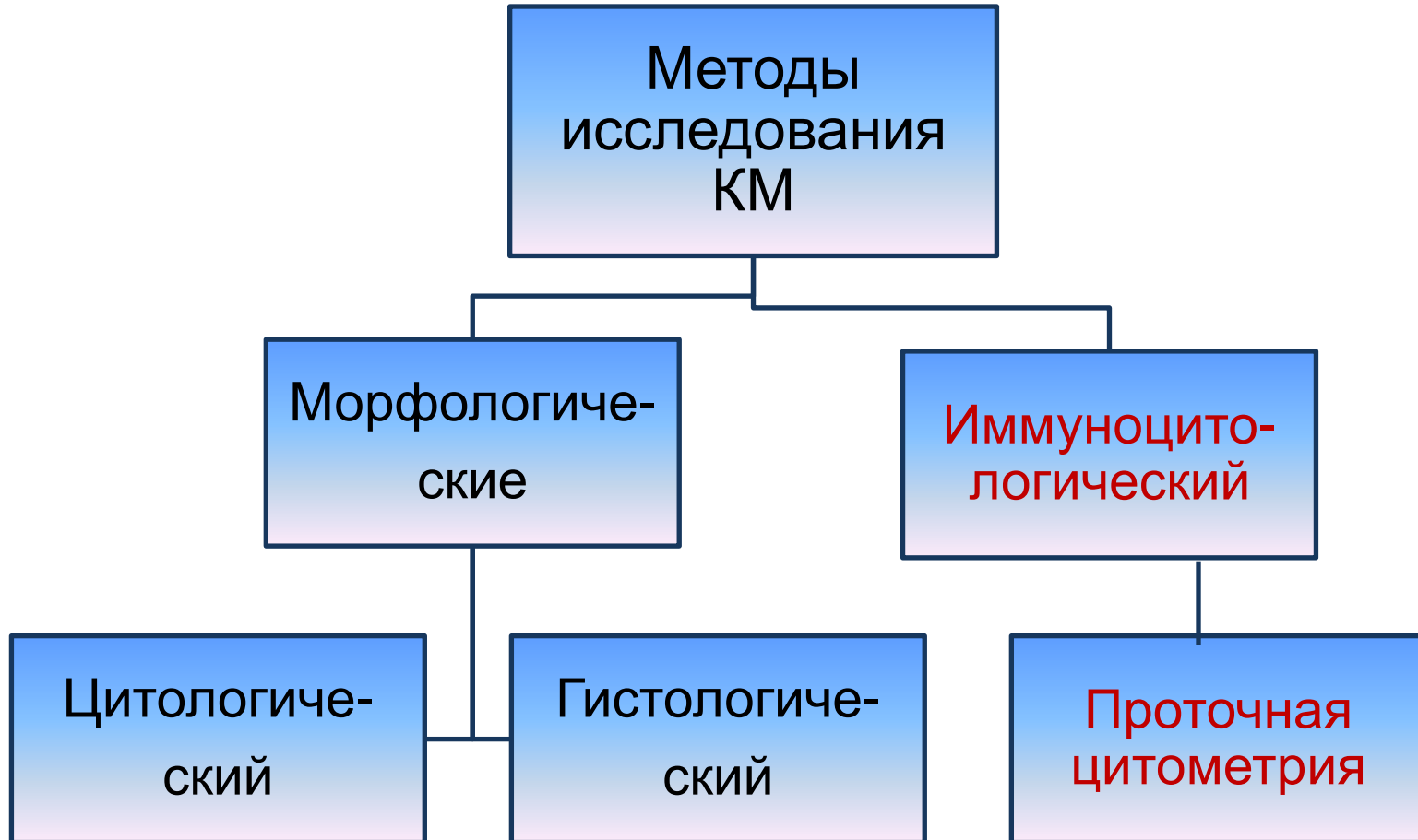
В.В. Занкин, В.В. Родионов, В.В. Кометова, М.М. Лазаревский, 2009

- Степень дифференцировки опухоли (1-3)
- Клеточный полиморфизм (1-3)
- Митотическая активность (1-3)
- Инфильтративный компонент (1-5)
- Лимфоидная инфильтрация стромы опухоли (0-3)
- Опухолевые эмболы в сосудах стромы (0-3)

Опухоли в зависимости от СБЗ:

- отличный прогноз (4-10)
- хороший прогноз (11-14)
- умеренный прогноз (15-17)
- плохой прогноз (18-20)

Методы



Проточная цитометрия



Результаты морфологических методов исследования

- При цитологическом и гистологическом исследованиях метастазы в костный мозг были выявлены у 1 (2,0%) и 2 (4,0%) из 50 пациенток соответственно

Результаты проточной цитометрии

FC

- ДОК – у 8 больных (16.0%)
- Количество ДОК – от 1 до 10 (в 1 случае – 44)

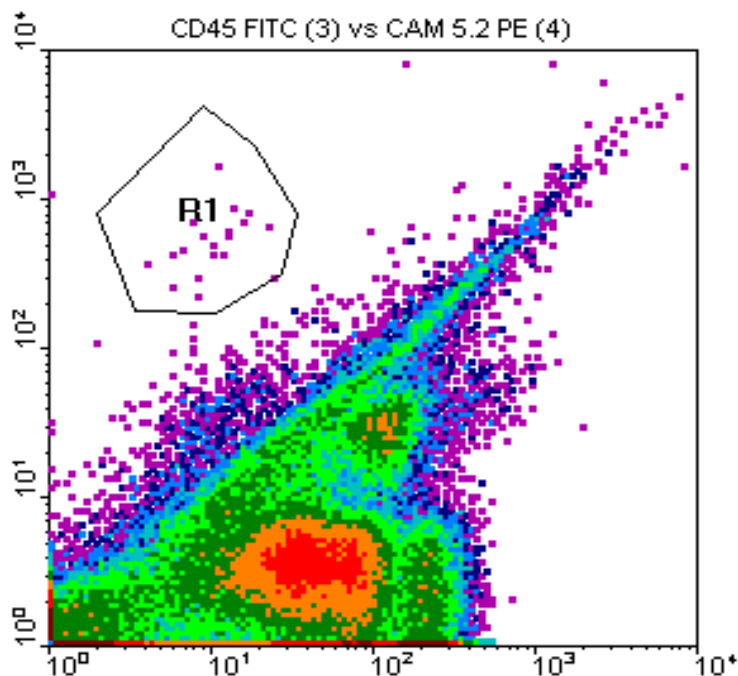
FC

- Кластеры опухолевых клеток – микрометастазы – у 4 больных (8.0%)

FC

- В целом, ДОК – у 11 (22.0%) из 50 больных

Цитограмма больной Б., 74 лет, IIВ ст. R1 - кластер из 20
CD45-CD326+ клеток, выделенных из 29 млн.
миелокариоцитов



Корреляция обнаружения ДОК со стадией

Стадия	Абс. кол-во больных (N=50)	Кол-во больных с ДОК в КМ	
		абс.	%
I	4	1	25.0
IIA	11	1	9.1
IIB	9	3	33.3
IIIA	5	1	20.0
IIIB	7	1	14.3
IIIC	9	0	0
IV	5	4	80.0

M1 vs M0

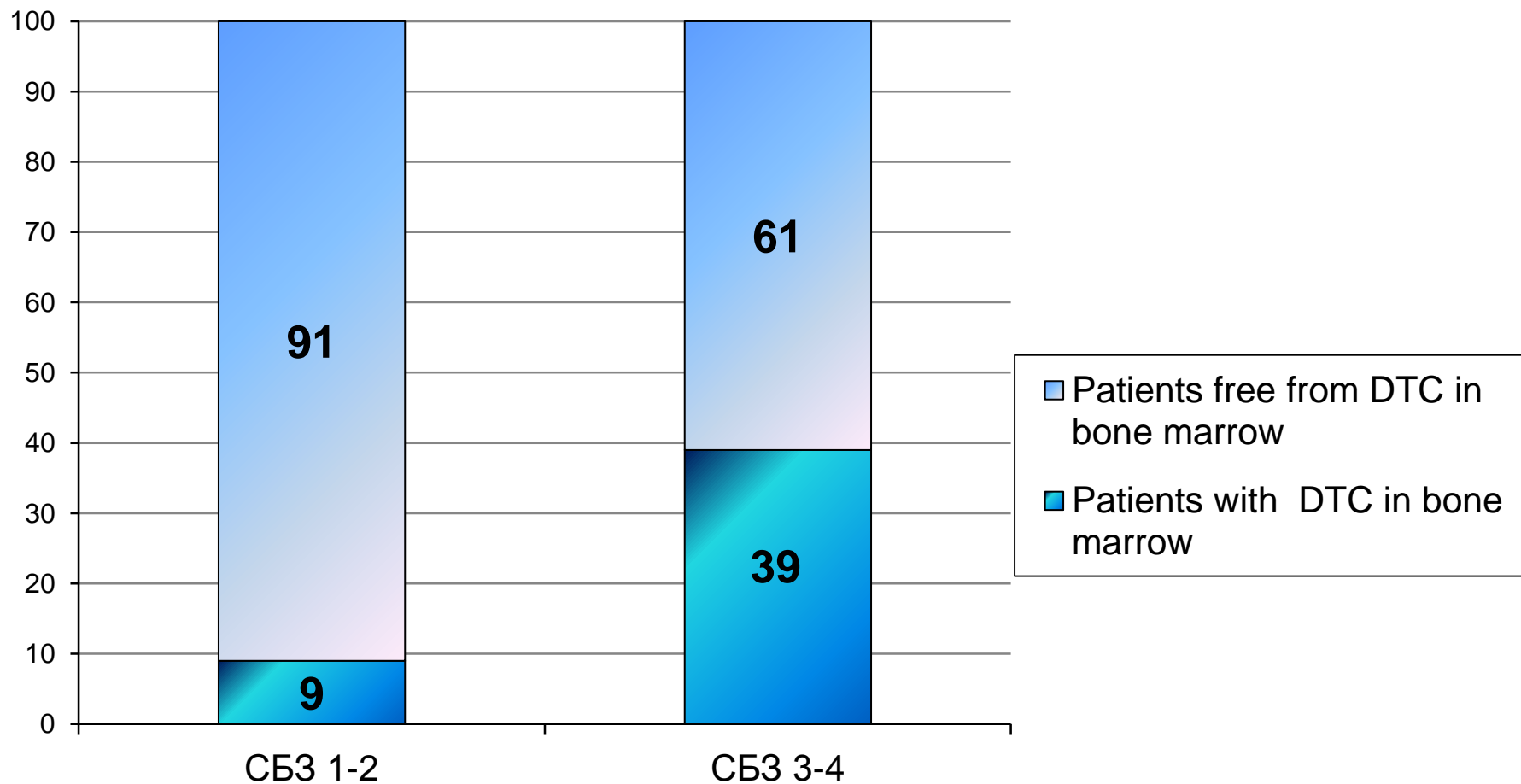
- Самая высокая частота и среднее число ДОК на 1 млн. миелокариоцитов – при IV стадии (11,4 клеток)
- Метод проточной цитометрии позволил определить ДОК в костном мозге у 80% и у 15,5% больных со стадиями M1 и M0 соответственно

Однофакторный дисперсионный анализ ANOVA

корреляции обнаружения ДОК с факторами прогноза

- Размер опухолевого узла ($p > 0,05$)
- Гистологический вариант опухоли ($p > 0,05$)
- Степень злокачественности ($p > 0,05$)
- Рецепторный статус ($p > 0,05$)
- HER2-статус and Ki-67-экспрессия ($p > 0,05$)
- Лимфоидная инфильтрация опухоли ($p > 0,05$)
- Статус регионарных л/узлов ($p > 0,05$)
- Суммарный балл злокачественности ($p = 0,009$)

Распределение больных РМЖ в зависимости от суммарного балла злокачественности (СБЗ) первичной опухоли и выявления ДОК в костном мозге ($p=0.009$)



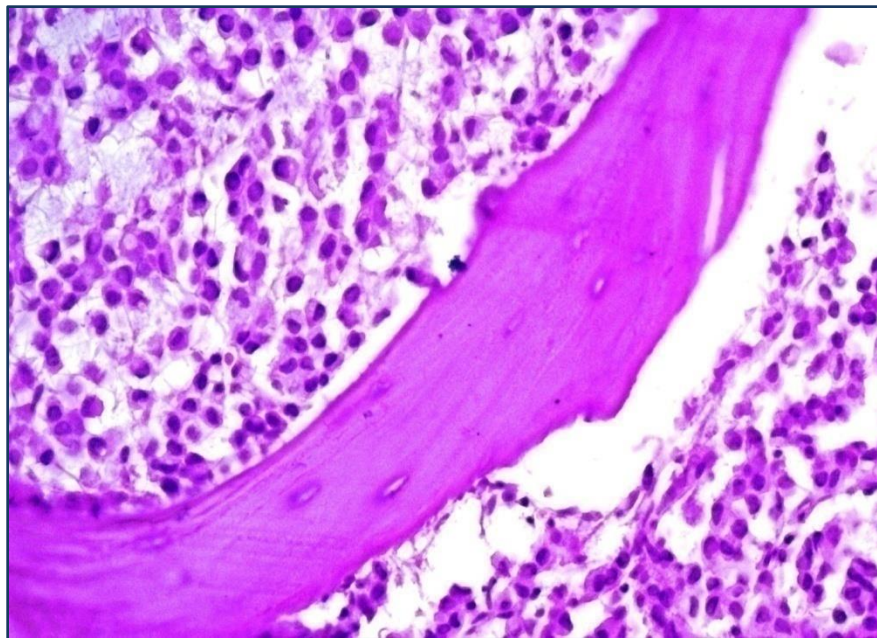
Анализ миелограмм у больных РМЖ (N=50)

Показатель	Средние значения у ДОК- больных (N=39)	Средние значения у ДОК+ больных (N=11)	p
Клеточность	70,9	62,6	0,52
Бластные клетки	0,96	0,94	0,9
Промиелоциты	0,22	0,14	0,24
Нейтрофильные миелоциты	9,22	7,32	0,07
Нейтрофильные метамиелоциты	8,86	7,76	0,26
Нейтрофилы палочкоядерные	21,6	20,4	0,57
Нейтрофилы сегментоядерные	17,1	17,0	0,96
Эозинофильные миелоциты	0,45	0,18	0,15
Эозинофильные метамиелоциты	0,27	0,22	0,68
Эозинофилы палочкоядерные	1,1	0,78	0,06
Эозинофилы сегментоядерные	1,18	0,98	0,32
Базофилы	0,06	0,02	0,18
Все клетки гранулоцитарного ростка	60,1	54,8	0,29
Индекс созревания нейтрофилов	0,53	0,51	0,87

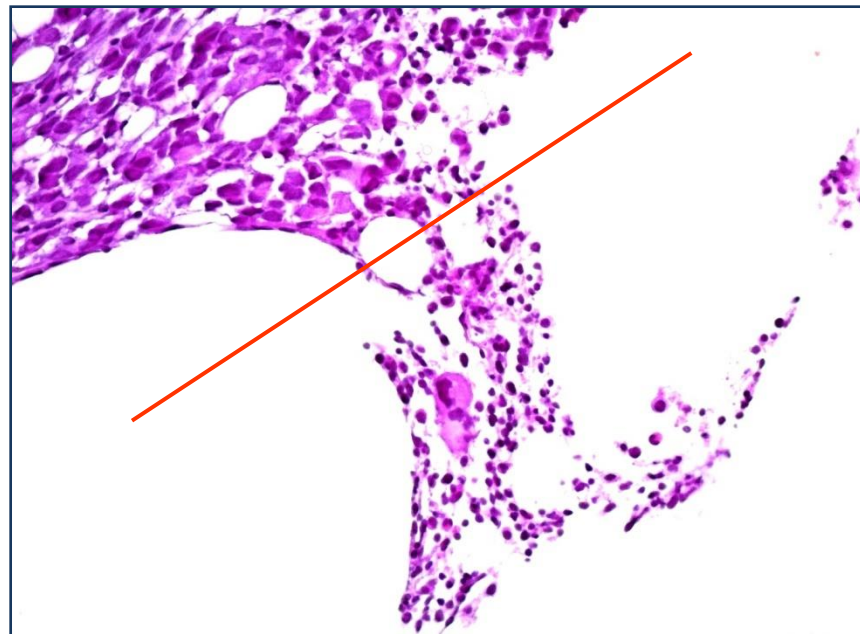
Анализ миелограмм у больных РМЖ (N=50)

Показатель	Средние значения у ДОК- больных (n=39)	Средние значения у ДОК+ больных (n=11)	p
Моноциты	3,32	2,5	0,051
Лимфоциты	12,94	16,06	0,14
Плазматические клетки	1,21	1,32	0,59
Пронормобласты	0	0	
Нормобласты базофильные	0,86	0,58	0,11
Нормобласты полихроматофильные	10,62	10,8	0,93
Нормобласты оксифильные	9,32	11,58	0,36
Все клетки эритроидного ростка	21,39	24,4	0,36
Индекс созревания эритроидного ростка	0,8	0,76	0,64
Лейко-эритробластическое соотношение	3,19	7,15	0,4

Микрофото метастаза инфильтрирующего рака молочной железы в костный мозг подвздошной кости с двух сторон у больной М., 53 лет. Окр. гематоксилином и эозином, х 400.



Тотальное замещение клеточного костного мозга подвздошной кости справа опухолевыми клетками



Место инвазии клеточного костного мозга подвздошной кости слева опухолевыми клетками

Анализ трепанобиоптатов костного мозга у больных РМЖ (N=49)

Признак	Количество ДОК– больных (n=39)		Количество ДОК+ больных (n=10)		p
	абс.	%	абс.	%	
Гипоплазия ростков кроветворения	1	0,02	1	10,0	0,37
Раздражение ростков кроветворения	9	23,1	2	20,0	0,6
Микроочаговое скопление или повышенное содержание плазмацитов в костном мозге	10	25,6	2	20,0	0,53

Результаты цитохимических реакций в костном мозге у больных РМЖ (N=38)

Реакция	СЦК у ДОК– больных, М±м	СЦК у ДОК+ больных, М±м	р
Миелопероксидаза	1,07±0,29	1,04±0,22	0,76
Кислая фосфатаза	0,55±0,14	0,53±0,1	0,74
Щелочная фосфатаза	0,08±0,06	0,19±0,12	0,06
ШИК-реакция	1,99±0,01	1,98±0,2	0,64

Заключение

- Анализ миелограмм, трепанобиоптатов костного мозга, данные цитохимических реакций у больных РМЖ не выявили статистически достоверные различия между группами больных с наличием и отсутствием диссеминированных опухолевых клеток в костном мозге
- Дальнейшее накопление данных, возможно, позволит выявить косвенные признаки присутствия опухолевых клеток в костном мозге

Благодарю за внимание!

