

Л.А. Налескіна<sup>1</sup>  
 Н.Ю. Лук'янова<sup>1</sup>  
 Д.М. Сторчай<sup>1</sup>  
 Т.М. Яловенко<sup>1</sup>  
 Л.М. Кунська<sup>1</sup>  
 О.М. Кюсов<sup>2</sup>  
 В.Ф. Чехун<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України

<sup>2</sup>Київський міський клінічний онкологічний центр, Київ, Україна

**Ключові слова:** рак молочної залози, інвазивний компонент, внутрішньопухлинна гетерогенність, паренхіматозно-стромальні співвідношення, епітеліальні просторові структури, Ki-67, ER, E-кадгерин, лактоферин.

## ОСОБЛИВОСТІ ЦИТОАРХІТЕКТОНІКИ НОВОУТВОРЕНЬ ТА МОЛЕКУЛЯРНИЙ ПРОФІЛЬ ПУХЛИННИХ КЛІТИН ХВОРИХ НА РАК МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ

*Розширення можливостей об'єктивної оцінки інвазивного потенціалу пухлинних клітин (ПК) первинного осередку у хворих на рак молочної залози (РМЗ) для персоналізованого прогнозування перебігу пухлинного процесу є одним із першочергових завдань клінічної онкології. Мета: вивчити особливості архітекtonіки первинного осередку пухлин хворих на інвазивний протоковий РМЗ з урахуванням паренхіматозно-стромальних співвідношень і організації просторових структур в інвазивному компоненті та зіставити із показниками експресії у ПК лактоферину (ЛФ) та інших маркерів біологічної активності пухлин, зокрема антигену проліферації Ki-67, рецептора естрогенів (ER) та маркера адгезії E-кадгерину. Об'єкт і методи: дослідження проведено на клінічному матеріалі 116 хворих на РМЗ (T2N0M0–T2N1M0; II стадія) із верифікованим патоморфологічним діагнозом інвазивного протокового раку, G2. У 17 хворих виявлено метастази у регіонарні лімфатичні вузли (поодинокі або більшу їх кількість). Імуногістохімічні дослідження експресії ЛФ та маркерів Ki-67, ER, E-кадгерину проведено з використанням специфічних McAT із отриманням стандартних алгоритму та вимог. Результати: у межах однієї гістологічної форми РМЗ — інвазивного протокового раку — поряд із гетерогенністю загальної будови, клітинного складу та цитоархітекtonіки пухлини визначено гетерогенність молекулярного профілю новоутворень за показниками експресії Ki-67, ER, E-кадгерину, яка асоційована із різними рівнями експресії у ПК ЛФ. Висновки: отримані дані є фундаментальним підґрунтям для використання морфологічних характеристик інвазивного компонента первинного осередку інвазивного протокового РМЗ у поєднанні із дослідженими показниками молекулярного профілю як об'єктивних чинників при роботі алгоритму персоналізованого прогнозу перебігу пухлинного процесу.*

Проблема з'ясування першочергових причин високої смертності жінок від раку молочної залози (РМЗ), яка, за даними світової статистики, щорічно становить більше 1,5 млн випадків, залишається у центрі уваги дослідників із різних галузей медицини [1, 2]. Однією з таких причин є призначення стандартних схем лікування, що залишає поза увагою ті особливості пухлинної прогресії у первинному осередку, які з високим ступенем вірогідності зумовлюють рецидивування та метастазування [3]. Саме тому в останні роки визнано необхідність переходу до персоналізованого лікування та прогнозування перебігу пухлинного процесу у хворих на РМЗ [4, 5]. У зв'язку з цим надзвичайно зростає роль патоморфологічних досліджень щодо визначення кола особливостей архітекtonіки новоутворень та молекулярних маркерів, які б об'єктивно відображали ступінь агресивності фенотипу конкретної пухлини [6]. На сьогодні увага дослідників

зосереджена на інвазивних особливостях пухлинних клітин (ПК), оскільки інвазивність є невід'ємною складовою прогресування неопластичного процесу і асоціюється з їх міграцією [7].

Оскільки найбільш розповсюдженою (частота виникнення 65–80%) та, згідно зі спостереженнями клініцистів, агресивною гістологічною формою є інвазивний протоковий РМЗ без специфічного типу (IC NST) порівняно з інвазивним часточковим раком, при з'ясуванні можливостей оптимізації діагностики, прогнозу та лікування хворих основна увага дослідників зосереджується саме на цих новоутвореннях [8, 9]. Існує достатня кількість публікацій, у яких показано, що інвазивний протоковий рак, за рідкісним винятком, морфологічно суттєво відрізняється від інвазивного часточкового наявності різних за формою та клітинним складом просторових структур [10, 11]. На сьогодні таку внутрішньопухлинну гетерогенність пояснюють

з позицій двох гіпотез: ракової стовбурової клітини та моделі клональної еволюції [12, 13] у поєднанні з негенетичними, епігенетичними змінами, які часто підсилюють злоякісний потенціал ПК [14, 15]. Отже, гетерогенність вважають ключовою для РМЗ інвазивного протокового типу і розглядають як клінічно значиму щодо всебічного вивчення в аспекті лікувальної тактики, а також в плані прогнозу захворювання та виникнення рецидивів.

Питання неоднорідності цитоархітекτονіки РМЗ є не новим. Ще у минулому столітті за старою гістологічною класифікацією цієї патології морфолог при остаточному визначенні діагнозу вказував на наявність інших структур у межах одного новоутворення. Лише з розвитком молекулярно-біологічного напрямку досліджень стало можливим ретельно розглянути питання клітинної внутрішньопухлинної гетерогенності з погляду як походження, так і зв'язку із низкою клінічних особливостей перебігу пухлинного процесу. На сьогодні групою дослідників представлено досить систематизовані дані з цього питання [16]. З'ясовано, що розмір пухлини зумовлений не стільки сполученням різних морфологічних варіантів клітин, скільки загальною кількістю цих варіантів у пухлині: зі збільшенням загального розміру пухлини в інвазивному компоненті підвищується частота появи всіх типів просторових структур. Висловлено думку, що різноманіття просторових структур в інвазивному компоненті інвазивного протокового РМЗ відображає його фенотипову гетерогенність [17]. Дослідники вважають, що у процесі розвитку пухлини відбуваються зміни здатності експресійних можливостей ПК, перш за все молекул адгезії, з'являються нові варіанти пухлинних структур і пов'язують це з епітеліально-мезенхімальним переходом, завдяки чому клітини набувають інвазивних властивостей [18].

Уже достеменно відомо, що розвиток злоякісного новоутворення як на початку виникнення, так і на різних стадіях прогресії супроводжується ремоделюванням (змінami) не лише генетичних характеристик, але й метаболічних властивостей ПК. На сьогодні встановлено суттєві зміни деяких протеїнів-регуляторів обміну заліза, які відіграють важливу роль у здійсненні процесів диференціювання, інвазії, проліферації, міграції та апоптозу. На клінічному матеріалі хворих на РМЗ встановлено кореляційні зв'язки між експресією гепсидину, феритину та лактоферину (ЛФ) у ПК із такими клініко-патологічними характеристиками, як ступінь злоякісності або ступінь диференціювання новоутворення [19, 20]. Оскільки серед інших протеїнів-регуляторів обміну заліза найбільш активним вважається залізов'язуючий протеїн ЛФ, передбачається, що у перспективі він може бути використаний при застосуванні в екзогенній формі для корекції пухлиноасоційованих порушень. Всебічне вивчення змін експресії ЛФ у пухлинному осередку залежно від особливостей загальної будови та архітекτονіки новоутворень є важливим для персоналізованого здійснення прогнозу захворювання. Така

необхідність зумовлена ще й тим, що цей транспортер заліза насправді є ключовим фактором вродженого імунітету і володіє сукупністю життєво необхідних властивостей: імуномодулюючою, протизапальною та протипухлинною, а також здатен брати участь у механізмах, пов'язаних із розвитком та прогресією злоякісного росту [21].

Враховуючи вищезазначене, дослідження особливостей експресії ЛФ в аспекті внутрішньопухлинної гетерогенності новоутворень хворих на РМЗ та зіставлення зі станом відомих молекулярних маркерів біологічної активності пухлин вважаємо актуальним для з'ясування прогностичного значення цього протеїну, оскільки отримані дані дозволять розширити спектр об'єктивних показників злоякісного потенціалу пухлин хворих на РМЗ II стадії, яка найчастіше визначається у жінок при клінічному обстеженні.

Саме тому поставлено за мету вивчити особливості архітекτονіки первинного осередку пухлин хворих на інвазивний протоковий РМЗ з урахуванням паренхіматозно-стромальних співвідношень і організації просторових структур в інвазивному компоненті та зіставити із показниками експресії у ПК ЛФ та інших маркерів біологічної активності пухлин, зокрема антигену проліферації Ki-67, рецептора естрогенів (ER) та маркера адгезії E-кадгерину.

#### ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дослідження проведено на клінічному матеріалі 116 хворих на РМЗ II стадії (T2N0M0–T2N1M0), які проходили лікування у Київському міському клінічному онкологічному центрі протягом 2013–2015 рр. та у яких при морфологічному дослідженні у первинному осередку пухлин верифіковано інвазивний протоковий рак помірного ступеня диференціювання (G2). У 17 хворих в одному або більшій кількості регіонарних лімфатичних вузлів визначено метастатичне ураження. До оперативного видалення новоутворення хворі не отримували хіміо- та променевої терапії. Усі пацієнтки дали інформовану згоду на використання їхнього біологічного матеріалу в дослідницьких цілях.

Для встановлення морфологічного діагнозу операційний матеріал піддавали поетапній обробці за всіма існуючими стандартами гістологічної техніки. З парафінових блоків виготовляли зрізи, які забарвлювали гематоксиліном та еозином, а також за Ван Гізоном пікрофуксином для дослідження особливостей сполучнотканинного компонента пухлин. Крім того, проводили імуногістохімічне визначення експресії ЛФ, а також антигену проліферації Ki-67, ER та маркера адгезії E-кадгерину на парафінових зрізах із тих самих блоків, з яких виготовляли препарати для оглядового морфологічного дослідження. Імуногістохімічні реакції проводили за загальноприйнятим алгоритмом з використанням відповідних MkAT. Як первинні застосовували MkAT до E-кадгерину (клон NCH-38) (Thermo Scientific, USA), ER (клон 1D5), Ki-67 (клон MIB-1)

(Dako Cytomation, Данія), ЛФ (клон B97) (Thermo Scientific, USA). Для візуалізації результатів реакції використовували набір реактивів EnVision System (Dako LSAB2 system, Данія) відповідно до рекомендацій виробника, зрізи забарвлювали гематоксиліном Майєра. Статистичну обробку результатів проводили за допомогою математичної програми медико-біологічної статистики STATISTICA 6.0. Для оцінки достовірності отриманих результатів використовували t-критерій Стьюдента; достовірними вважали розбіжності при  $p < 0,05$ . Кореляційний аналіз проводили за допомогою розрахунку коефіцієнта кореляції Пірсона.

### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У дослідженні передбачено 2 етапи, одним з яких є оцінка рівня експресії ЛФ залежно від архітекtonіки інвазивного компонента пухлин хворих на РМЗ, другим — зіставлення особливостей експресії ЛФ у первинному осередку новоутворення з різним співвідношенням епітеліального та сполучнотканинного компонентів з експресією молекулярних маркерів біологічної активності неоплазії.

Усі 116 пухлин хворих на інвазивний протоковий РМЗ за загальною будовою, зокрема співвідношенням паренхіматозного та стромального компонентів у інвазивній частині новоутворення, були поділені на 3 підгрупи: в 1-й (49 пухлин) переважав епітеліальний компонент, у 2-й (29 пухлин) — сполучнотканинний, у 3-й (38 новоутворень) — ці складові були приблизно у рівних співвідношеннях.

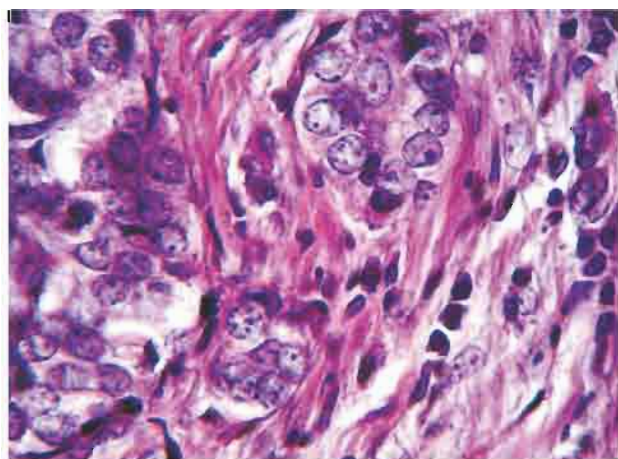
У літературі розглядається 5 типів внутрішньопухлинних просторових морфологічних структур, які характеризують цитоархітекtonіку інвазивної протокової форми раку без специфічного типу і свідчать про гетерогенність будови цих новоутворень: альвеолярні, тубулярні, трабекулярні, солідні структури та дискретні групи як самостійні одиниці або сполучення декількох із цих структур [8].

Результати власних морфологічних досліджень гістологічного матеріалу хворих на РМЗ показали,

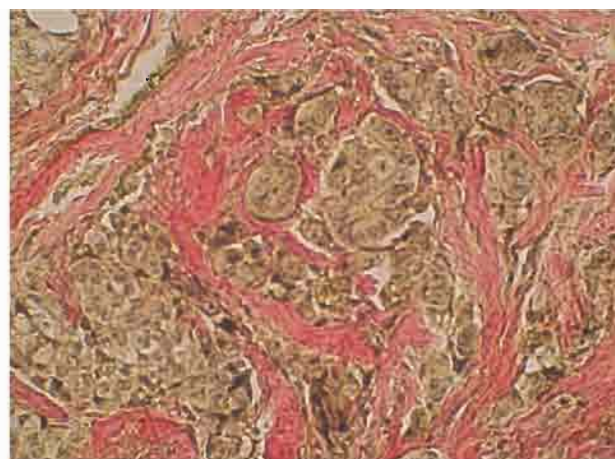
що у 1-й підгрупі пухлин з переважанням епітеліального компонента, у яких незначна частка строми мала вигляд тонких ниткоподібних перетинок, найбільшу кількість становили солідні просторові клітинні структури (часто у вигляді великих осередків росту суцільним пластом), які виявили у 82,7% пухлин. Значно меншими за чисельністю у порядку убавання були тубулярні (42,5%), трабекулярні (33,9%), альвеолярні (24,5%) просторові структури та дискретні групи клітин (18,8%).

У пухлинах 2-ї підгрупи (з перевагою в інвазивному компоненті великого масиву пухковолокнистої або грубоволокнистої, фіброзно, десмопластично зміненої сполучної тканини) співвідношення клітинних структур було іншим. Кількість пухлин, у яких вони визначалися, зменшувалася у такому порядку: альвеолярні (61,9%), трабекулярні (42,3%), дискретні (37,2%), тубулярні (19,2%), солідні (18,7%). Варто зазначити, що в інвазивному компоненті деяких пухлин, де переважав стромальний варіант, здебільшого з проявами десмоплазії, а також у окремих пухлинах, у яких епітеліальні структури і сполучна тканина визначалися майже у рівних частках, траплялися осередки зі скупченням ПК, які за морфологією були більш схожі на сполучнотканинні, зокрема гістіоцитарні елементи. Це, на нашу думку, з певною вірогідністю може бути розцінено як морфологічна ознака епітеліально-мезенхімального переходу (рис. 1). За сучасними уявленнями, одним з механізмів фіброзних змін у сполучній тканині, який розцінюють як десмоплазію, вважається епітеліально-мезенхімальний перехід, при якому епітеліальні клітини набувають фенотипових властивостей мезенхімальних клітин [22].

У пухлинах 3-ї підгрупи, де епітеліальний та стромальний компоненти визначалися майже у рівних частках, співвідношення пухлин з певними просторовими структурами було таким: з альвеолярними — 51,3, солідними — 39,8, тубулярними — 30,6, дискретними — 36,1, трабекулярними — 27,4% (рис. 2).

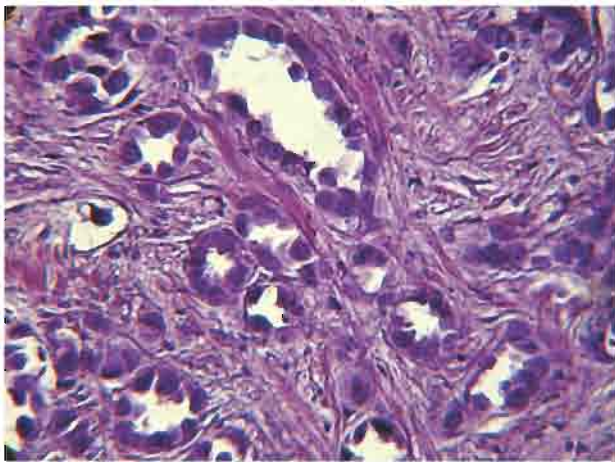


I

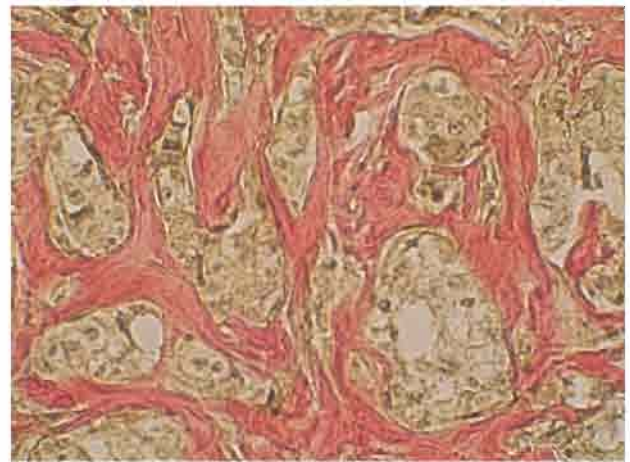


II

a

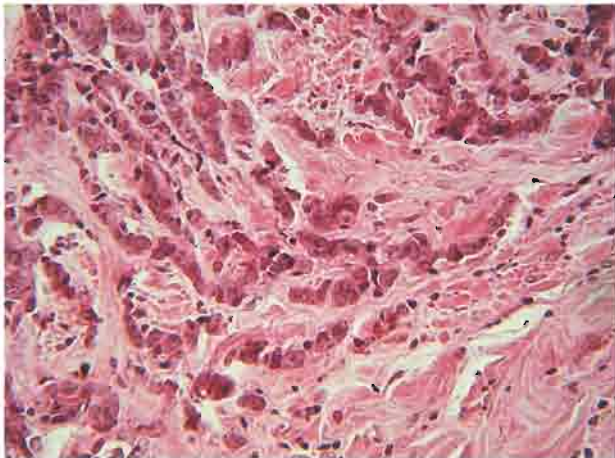


I

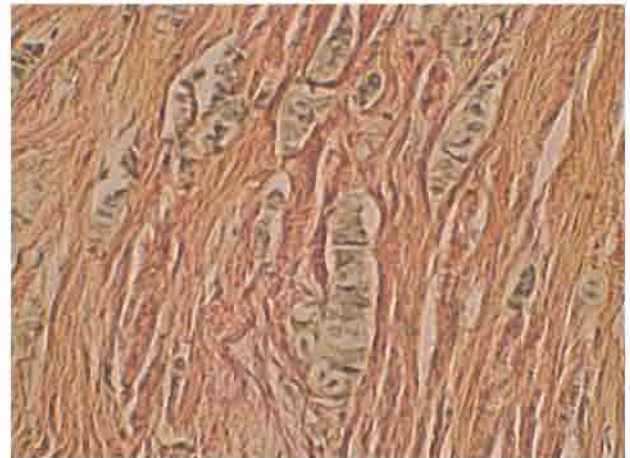


II

б

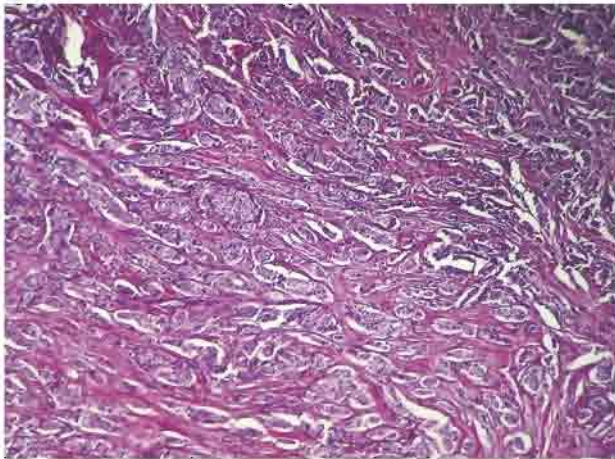


I

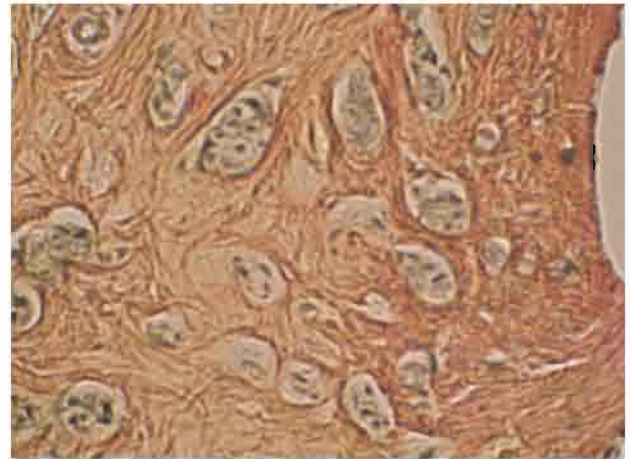


II

в



I

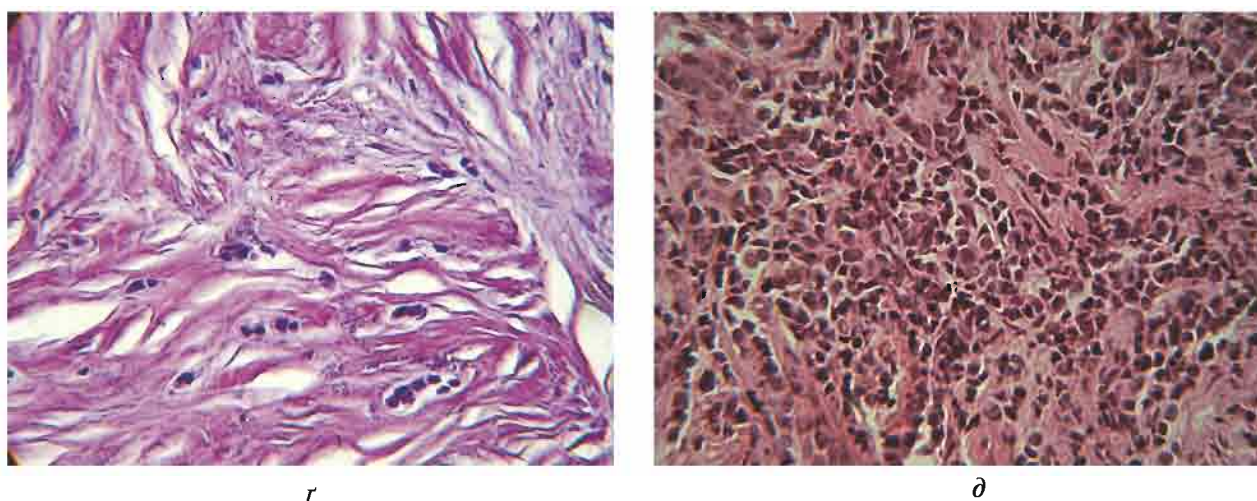


II

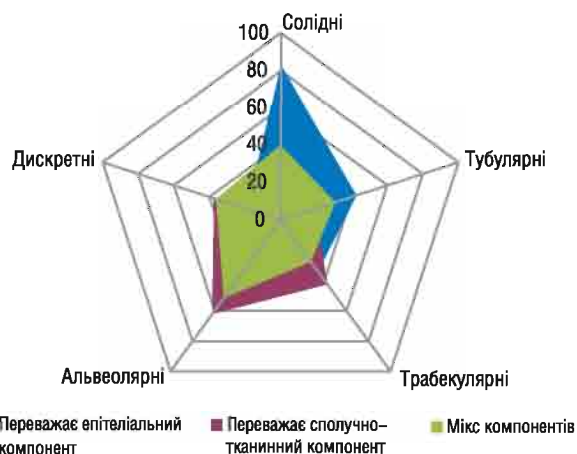
г

Аналіз частоти сполучення просторових клітинних структур у інвазивному компоненті РМЗ засвідчив, що у пухлинах з перевагою епітеліального компонента найчастіше (65,6%) траплялися солідні структури в сполученні з однією або декількома іншими структурами у різних співвідношеннях; у 20,0% пухлин — до 4–5 структур (тубулярні, трабекулярні, альвеолярні, дискретні) у межах однієї

неоплазії. «Ядро» комбінацій просторових клітинних структур у пухлинах 2-ї підгрупи (переважання сполучної тканини) становили альвеолярні компоненти (53,4%) у різних поєднаннях із трабекулярними, тубулярними, солідними та дискретними. У 3-й підгрупі пухлин певних закономірностей не визначено: виявлено різноманітні за складом і чисельністю просторові клітинні структури.



**Рис. 1.** Різні варіанти просторових клітинних структур в інвазивному протоковому РМЗ (інвазивний компонент): *a* — осередки солідних пухлинних структур, розділені між собою сполучною тканиною з різним станом фіброзних змін та клітинності (I — забарвлення гематоксиліном та еозином, зб. 40; II — забарвлення пікрофуксином за Ван Гізоном, зб. 20); *b* — тубулярні структури в інвазивному компоненті РМЗ (I — забарвлення гематоксиліном та еозином, зб. 40; II — забарвлення пікрофуксином за Ван Гізоном, зб. 20); *c* — численні трабекулярні структури (I — забарвлення гематоксиліном та еозином, зб. 20; II — забарвлення пікрофуксином за Ван Гізоном, зб. 40); *e* — скупчення альвеолярних структур у фіброзно зміненій сполучній тканині (I — забарвлення гематоксиліном та еозином, зб. 10; II — забарвлення пікрофуксином за Ван Гізоном, зб. 40); *r* — невеликі дискретні скупчення пухлинних клітин (забарвлення гематоксиліном та еозином, зб. 20); *d* — морфологічна картина, яка асоціюється з епітеліально-мезенхімальним переходом (забарвлення гематоксиліном та еозином, зб. 10)



**Рис. 2.** Частота спостереження просторових клітинних структур (%) в інвазивному компоненті інвазивного протокового РМЗ залежно від часткового співвідношення паренхіми та строми

Оцінка рівня експресії ЛФ у пухлинній тканині 1-ї підгрупи хворих на РМЗ показала, що позитивна експресія цього білка спостерігалася у 65,7% новоутворень і у середньому становила  $70,9 \pm 15,0\%$  (25,0–100,0%) (таблиця). У 60,0% пухлин основну частину становили ЛФ-позитивні ПК з експресією цього протеїну від 65,0 до 100,0%. У 34,3% пухлин експресію ЛФ не відмічали. У 2-й підгрупі експресія ЛФ визначена у 82,3% пухлин із середнім значенням  $56,1 \pm 12,7\%$  (індивідуальні коливання від 25,0 до 100,0%). Переважну частину (57,0%) 2-ї підгрупи становили новоутворення із коливаннями показника ЛФ у ПК від 35,0 до 68,0%. У 17,6% імуногістохімічна реакція була відсутньою. У 65,4% пухлин 3-ї підгрупи (мікс епітеліального

та стромального компонентів) середній рівень експресії ЛФ становив  $61,5 \pm 14,9\%$  із коливаннями від 25,0 до 90,0%. У 55,0% новоутворень цієї підгрупи кількість ПК з експресією ЛФ варіювалася від 45,0 до 75,0%. 34,6% пухлин були негативними за експресією ЛФ.

Отже, внутрішньопухлинний профіль клітинних просторових структур та їх сполучення у межах підгруп, виділених нами за співвідношенням епітеліального та сполучнотканинного компонентів інвазивної частини пухлини, свідчить про виражену гетерогенність інвазивного протокового РМЗ. За частотою позитивних за експресією ЛФ новоутворень та рівнем експресії цього білка достовірної різниці між підгрупами не виявлено (див. таблицю). Водночас спостерігається тенденція до підвищення частоти ЛФ-позитивних пухлин у підгрупі з переважанням сполучнотканинного компонента.

Вивчено кореляційні зв'язки між експресією ЛФ та структурними компонентами інвазивної частини РМЗ. З'ясовано, що кореляція експресії ЛФ із загальною кількістю просторових структур в цілому не суттєва ( $r = 0,2$ ), також недостовірною виявилася кореляція експресії цього протеїну з кількістю просторових структур у кожній із трьох підгруп ( $r = 0,10-0,25$ ). Визначення кореляційного зв'язку між рівнем експресії ЛФ і кожною із просторових структур новоутворень показало, що у пухлинах з переважанням строми і частою наявністю альвеолярних просторових структур був середній ступінь кореляційного зв'язку ( $r = 0,45$ ). Більш високий ступінь такого зв'язку характерний при верифікації у лімфатичних вузлах хворих цієї підгрупи ме-

тастазів, незалежно від кількості уражених вузлів ( $r = 0,6$ ). Наші дані не суперечать результатам досліджень інших авторів, які при вивченні прогностичного значення окремих просторових структур інвазивного протокового РМЗ показали, що переважання у пухлинах мікроальвеолярного компонента з великою вірогідністю пов'язане з лімфогенним метастазуванням [23].

Таблиця  
Експресія ЛФ в інвазивному компоненті інвазивного протокового РМЗ

Підгрупи за співвідношенням паренхіматозного та стромального компонентів	Кількість новоутворень, позитивних за експресією ЛФ, %	Рівень експресії ЛФ, %	Коливання експресії ЛФ, %
1-ша (переважання клітинних структур)	65,7	70,9 ± 15,0	25,0–100,0
2-га (переважання сполучної тканини)	82,3	56,1 ± 12,7	25,0–100,0
3-тя (відносно рівноцінне співвідношення компонентів структур 1-ї та 2-ї підгруп)	65,4	61,5 ± 14,8	25,0–90,0

Крім того, досліджено асоціативні зв'язки між особливостями експресії ЛФ та інших молекулярно-біологічних маркерів пухлинної прогресії (Ki-67, ER та E-кадгерину) у новоутвореннях із різними паренхіматозно-стромальними співвідношеннями і складом просторових структур. Показано, що за експресією перелічених маркерів наявні принаймні 2 варіанти фенотипового профілю інвазивного протокового РМЗ — з менш агресивним характером змін у ПК і з більш суттєвими проявами біологічної активності ПК. Так, якщо в пухлинах із переважанням епітеліального компонента визначали експресію ЛФ від 40 до 70%, то маркер проліферації не перевищував 30%, спостерігалася позитивна експресія ER (70,0–100,0%) та високі значення маркера адгезії E-кадгерину (70,0–100,0%) (рис. 3). Ці дані можуть слугувати поясненням та підтвердженням раніше виявленого нами факту, отриманого на іншому клінічному матеріалі хворих на РМЗ київської популяції: позитивна експресія ЛФ разом з позитивною експресією ER є сприятливим поєднанням молекулярних факторів, які асоціюються з кращою виживаністю пацієнтів з цією патологією [24]. На противагу цьому у пухлинах з більш високими показниками експресії ЛФ (до 100,0%) відмічали високі показники проліферативної активності (30,0–100,0%), відсутність або незначну кількість ER-позитивних клітин (0,0–10,0%) і низькі показники експресії E-кадгерину (20,0–40,0%).

У підгрупі хворих на РМЗ із переважанням строми встановлено, що у тій частині пухлин (10 спостережень), де стромальний компонент був у вигляді пухкволокнистої сполучної тканини з добре вираженою клітинністю, а показники експресії ЛФ у ПК знаходилися у межах 50,0–70,0%, експресія Ki-67 характеризувалася переважанням середніх та низь-

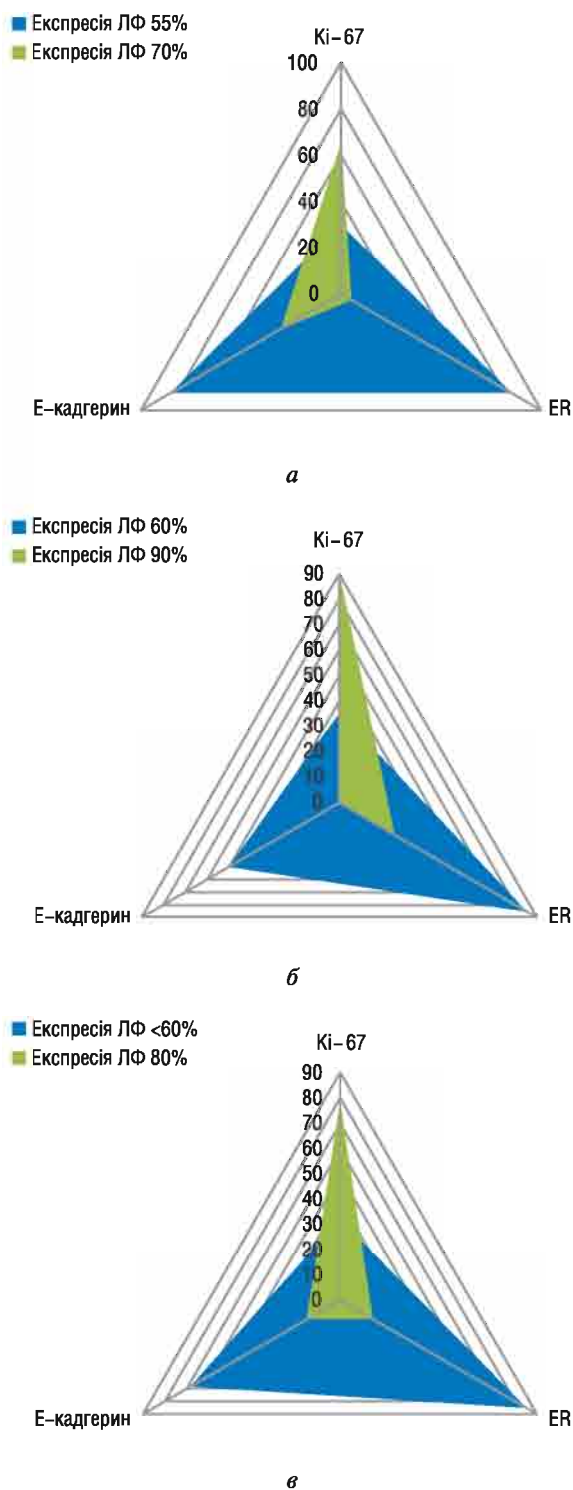


Рис. 3. Особливості експресії молекулярних маркерів у пухлинних клітинах РМЗ з різним паренхіматозно-стромальним співвідношенням і складом просторових структур: а — переважання в інвазивному компоненті пухлин клітинних структур; б — переважання в інвазивному компоненті пухлин сполучної тканини; в — відносно рівноцінне співвідношення в інвазивному компоненті пухлин клітинних структур та сполучної тканини

ких значень (20,0–50,0%), експресія ER коливалася у діапазоні 70,0–100,0%, а E-кадгерину — від 10,0 до 90,0%. У інших 19 спостереженнях цієї підгрупи, де сполучнотканинному компоненту притаман-

ні ознаки десмоплазії, експресія ЛФ була вищою (80,0–100,0%). Такий рівень ЛФ асоціювався із високими показниками експресії Ki-67 (80,0–100,0%), відсутністю або середніми значеннями експресії ER (0–50,0%) та відсутністю експресії E-кадгерину. З огляду на зазначену відмінність експресії ЛФ у поєднанні з особливостями експресії інших молекулярних маркерів біологічної активності пухлин варто припустити, що саме десмоплазія як феномен, характерний для РМЗ, може індукувати зміни біологічних властивостей ПК у бік зростання їх злоякісного потенціалу. Наша думка асоціюється із повідомленнями деяких дослідників, які вважають, що саме сполучна тканина може виступати одним із чинників, який визначає напрям та будову пухлини, а також впливає на метаболізм ПК [25]. Крім того, є повідомлення про те, що здатністю до інвазивного росту у певний проміжок часу володіє лише частина ПК із загальної популяції [26].

У підгрупі пухлин, де епітеліальні структури та сполучна тканина були майже у рівних співвідношеннях, епітеліальний компонент в одних пухлинах міг бути переважно представлений солідними, тубулярними структурами, у інших — альвеолярними у поєднанні з іншими просторовими компонентами. Тому цим новоутворенням були притаманні молекулярно-біологічні асоціативні зв'язки між експресією ЛФ та інших молекулярних маркерів біологічної активності пухлин, характерні як для першої, так і другої підгруп неоплазій, більш різноманітні за проявами.

Таким чином, одержані результати засвідчили гетерогенність проявів асоціативних зв'язків між експресією ЛФ та експресією Ki-67, ER та E-кадгерину у ПК інвазивного компонента інвазивного протокового РМЗ і дозволили визначити наявність різних за агресивністю фенотипів пухлин, що дає підставу говорити про необхідність персоналізації клінічного перебігу РМЗ з урахуванням сукупності досліджених молекулярних маркерів.

## ВИСНОВКИ

1. За співвідношенням паренхіматозного та стромального компонентів у інвазивній частині протокового РМЗ ці неоплазії розподіляються на три варіанти: із перевагою в пухлинах просторових епітеліальних структур; із перевагою сполучної тканини з різним станом фіброзних змін; з поєднанням майже у рівних співвідношеннях обох складових.

2. Встановлено відмінності виділених підгруп за співвідношенням внутрішньопухлинних морфологічних просторових структур із переважанням солідних у пухлинах з більш вираженою часткою епітеліального компонента, альвеолярних і трабекулярних структур — у новоутвореннях із суттєво більшою часткою стромального компонента.

3. Виявлено варіабельність експресії ЛФ в інвазивному протоковому РМЗ залежно від співвідношення епітеліального та стромального компонентів

пухлини. Встановлено середній ступінь кореляції ( $r = 0,45$ ) експресії ЛФ із переважанням у пухлинні строми і альвеолярних просторових структур; за наявності метастазів таких пухлин у регіонарних лімфатичних вузлах кореляційний зв'язок зростає ( $r = 0,6$ ).

4. Визначено молекулярну гетерогенність пухлин із різним співвідношенням епітеліального та стромального компонентів на підставі даних експресії ЛФ, антигену проліферації Ki-67, ER та маркера адгезії E-кадгерину. Як у пухлинах, де переважає епітеліальний компонент, так і в новоутвореннях з переважанням сполучнотканинної структури більш високий (70,0–100,0%) рівень експресії ЛФ асоціювався з вищим рівнем експресії маркера проліферації Ki-67, зниженням експресії ER і маркера адгезії E-кадгерину.

5. Отримані дані є фундаментальним підґрунтям для використання морфологічних характеристик інвазивного компонента первинного осередку інвазивного протокового РМЗ у поєднанні із показниками молекулярного профілю (експресією ЛФ, Ki-67, ER та E-кадгерину) як об'єктивними факторами для персоналізованого прогнозу перебігу пухлинного процесу.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. World Health Organization (WHO) (<http://www.who.int/cancer/>).
2. Makki J. Diversity of breast carcinoma: histological subtypes and clinical relevance. *Clin Med Insights Pathol* 2015; **8**: 23–31.
3. Beca F, Polyak K. Intratumor heterogeneity in breast cancer. *Adv Exp Med Biol* 2016; **882**: 169–89.
4. Roulot A, Héquet D, Guinebretière JM, et al. Tumoral heterogeneity of breast cancer. *Ann Biol Clin (Paris)* 2016; **74** (6): 653–60.
5. Bondarenko IN, Elhaji MH, Prokhach AV, et al. Breast cancer. From molecular biology to personified therapy. *Morphologia* 2016; **10** (1): 18–25 (in Russian).
6. Ryška A. Molecular pathology in real time. *Cancer Metastasis Rev* 2016; **35** (1): 129–40.
7. Brabrand A, Kariuki II, Engström MJ, et al. Alterations in collagen fibre patterns in breast cancer. A premise for tumour invasiveness? *APMIS* 2015; **123** (1): 1–8.
8. Gerashchenko TS, Zavyalova MV, Denisov EB, et al. Intratumor morphological heterogeneity of invasive breast cancer: formation and molecular genetic features. *Med Academic Journal* 2012; **12** (4): 668 (in Russian).
9. Wang K, He J, Wang H, et al. Prognostic value of poorly differentiated clusters in invasive breast cancer. *World J Surg Oncol* 2014; **12**: 310.
10. Zavyalova MV, Denisov EV, Tashireva L, et al. Phenotypic drift as a cause for intratumoral morphological heterogeneity of invasive ductal breast carcinoma not otherwise specified. *BioResearch open access* 2013; **2** (2): 148–54.
11. Hofmeyer S, Pekár G, Gere M, et al. Comparison of the subgross distribution of the lesions in invasive ductal and lobular carcinomas of the breast: a large-format histology study. *International Journal of Breast Cancer* 2012; **2012** (2012): 7 p.
12. Martelotto LG, Ng CK, Piscuoglio S, et al. Breast cancer intra-tumor heterogeneity. *Breast Cancer Res* 2014; **16** (3): 210.
13. Esparza-López J, Escobar-Arriaga E, Soto-Germes S, Ibarra-Sánchez MJ. Breast cancer intra-tumor heterogeneity: one tumor, different entities. *Rev Invest Clin* 2017; **69** (2): 66–76.

14. Koren S, Bentires-Alj M. Breast tumor heterogeneity: source of fitness, hurdle for therapy. *Mol Cell* 2015; **60** (4): 537–46.
15. Aleskandarany MA, Vandenberghe ME, Marchiò C, et al. Tumour heterogeneity of breast cancer: from morphology to personalised medicine. *Pathobiology* 2018; **85** (1–2): 23–34.
16. Gerashchenko TS, Denisov EV, Litviakov NV, et al. Intratumoral heterogeneity: nature and biological significance. *Biochemistry* 2013; **78** (11): 1531–49 (in Russian).
17. Denisov EV, Gerashchenko TS, Tashireva LA, et al. The significance of intratumor morphological heterogeneity in breast cancer progression and pathogenetic mechanisms. *Ann Oncol* 2015; **26** (9): 153–5.
18. Krakhmal NV, Zavyalova MV, Denisov EV, et al. Cancer invasion: patterns and mechanisms. *Acta Naturae* 2015; **7** (2): 17–28.
19. Chekhun SV, Lukyanova NY, Sobchenko SO, et al. The relationship of serum and tumor ferritin levels with clinico-morphological characteristics and molecular subtype of tumors in patients with breast cancer. *Oncologia* 2014; **16** (4): 275–82 (in Ukrainian).
20. Chekhun VF, Yalovenko TN, Pavlova AA, Lukianova NU. The clinical significance of the level of metal-containing proteins in the blood serum of patients with breast cancer. *Oncological Journal* 2016; **10** (2): 7–13 (in Russian).
21. Hwang SM, Chung IY, Jo JH, et al. Comparison of proliferative effect of human lactoferrin and its proteolytic peptide on normal and transformed epithelial cells. *Appl Biochem Biotechnol* 2016; **178** (1): 44–57.
22. Škovierová H, Okajčeková T, Strnádel J, et al. Molecular regulation of epithelial-to-mesenchymal transition in tumorigenesis. *Int J Mol Med* 2018; **41** (3): 1187–200.
23. Gerashchenko TS, Zavyalova MV, Denisov EV, et al. Intratumoral morphological heterogeneity of breast cancer as an indicator of the metastatic potential and tumor chemosensitivity. *Acta Naturae* 2017; **9** (1): 56–67.
24. Naleskina LA, Lukianova NY, Sobchenko SO, et al. Lactoferrin expression in breast cancer in relation to biologic properties of tumors and clinical features of disease. *Exp Oncol* 2016; **38** (3): 181–6.
25. Conklin MW, Keely PJ. Why the stroma matters in breast cancer: insights into breast cancer patient outcomes through the examination of stromal biomarkers. *Cell Adh Migr* 2012; **6** (3): 249–60.
26. Krakhmal NV, Zavyalova MV, Perelmuter VM, et al. Heterogeneous expression of markers associated with invasive breast cancer. *Siberian Journal of Oncology* 2016; **15** (4): 56–61 (in Russian).

#### FEATURES OF ARCHITECTONICS OF NEOPLASMS AND MOLECULAR PROFILE OF TUMOR CELLS IN PATIENTS WITH BREAST CANCER

L.A. Naleskina<sup>1</sup>, N. Yu. Lukianova<sup>1</sup>, D.M. Storchai<sup>1</sup>,  
T.M. Yalovenko<sup>1</sup>, L.M. Kunska<sup>1</sup>, O.M. Kliusov<sup>2</sup>,  
V.F. Chekhun<sup>1</sup>

<sup>1</sup>R.E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology,  
Oncology and Radiobiology, NAS of Ukraine

<sup>2</sup>Kyiv City Clinical Cancer Center, Kyiv, Ukraine

**Summary.** Expansion of possibilities for an objective assessment of the invasive potential of primary cancer cells

(CC) in breast cancer (BC) patients process is one of the primary tasks of clinical oncology for personalized prognosis of cancer course. **Objective:** to study the features of the architectonics of the primary CC obtained from tumors of patients with invasive ductal BC, taking into account parenchymal-stromal ratios and the organization of spatial structures of the invasive component, and to compare the expressions of tumor lactoferrin (LF) and other markers of biological activity of tumors, in particular the antigen of proliferation of Ki-67, estrogen receptor (ER) and E-cadherin adhesion marker in CC. **Object and methods:** the study was conducted on the clinical material from 116 patients with BC (T2N0M0–T2N1M0; stage II) with a verified pathomorphological diagnosis — invasive ductal cancer, G2. In 17 patients, metastases were detected in one and more regional lymph nodes. Immunohistochemical studies of LF expression and markers of biological activity of tumors (Ki-67, ER, E-cadherin) were performed using monoclonal antibodies specific to the indicated markers, keeping the algorithm and the requirements provided for such studies. **Results:** within the one histological form of BC — invasive ductal cancer, in addition to heterogeneity of the general structure of the tumor, as well as intracellular cell diversity of their cytoarchitectonics, heterogeneity of the molecular profile of tumors was determined according to the expression of tumor biological activity markers (Ki-67, ER, E-cadherin), which is associated with various manifestations of LF expression in tumor cells, which, according to the literature, has modulatory properties. **Conclusions:** the obtained data are a fundamental basis for the use of morphological characteristics of the invasive component of the primary cells of the invasive ductal BC in conjunction with the parameters of the molecular profile: expression of LF, Ki-67, ER, and E-cadherin, as objective factors for the personalized forecast of the course of tumor the process.

**Key Words:** breast cancer, invasive component, intratumoral heterogeneity, parenchymal-stromal ratios, epithelial spatial structures, Ki-67, ER, E-cadherin, lactoferrin.

Адреса для листування:

Лук'янова Н.Ю.

03022, Київ, вул. Васильківська, 45

Інститут експериментальної патології,  
онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького  
НАН України

E-mail: nataluk10@gmail.com

Одержано: 17.08.2018