

ОБЗОР

УДК 616-006.66

ПРОБЛЕМЫ КОСТНОМОЗГОВОГО МЕТАСТАЗИРОВАНИЯ
У БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

В.В. Родионов, О.А. Богомолова

*Областной клинический онкологический диспансер, Ульяновск
Ульяновский государственный университет*

В работе представлены современный взгляд на механизмы опухолевой прогрессии при раке молочной железы, анализ литературных данных по методам диагностики, частоте и клиническому значению выявления опухолевых клеток рака молочной железы в костном мозге, а также костномозговой реакции на опухолевые клетки.

Ключевые слова: микрометастазы, рак молочной железы, костный мозг.

Заболеваемость раком молочной железы в России, как и во многих странах мира, продолжает расти. В структуре онкологической заболеваемости женского населения рак молочной железы (РМЖ) устойчиво занимает 1-е ранговое место, составляя при этом 20,0 % [11]. В 2009 г. в стране заболело 52157 женщин, при этом, к сожалению, у 36,1 % пациенток на момент постановки диагноза заболевание уже было распространенным. В итоге, результаты лечения больных РМЖ остаются неудовлетворительными (прирост стандартизованного показателя смертности за последние 10 лет составил 15,02 %) [11].

Проблема современной онкологии заключается не в лечении первичного очага, а в терапии отдаленных метастазов, которые являются основной причиной гибели онкологических больных. Около 30 % больных раком молочной железы во время выявления первичной опухоли имеют клинически определяемые метастазы, кроме того, около 30–35 % больных имеют микрометастазы, которые в дальнейшем клинически манифестируют [24]. Таким образом, более 60 % больных РМЖ нуждаются в системном лечении заболевания.

Благодаря успехам биохимии и молекулярной биологии в настоящее время в арсенале исследователей и клиницистов имеется огромное количество биологически значимых

показателей, которые могут помочь в определении прогноза РМЖ и выборе терапии [1]. Однако пока основными прогностическими факторами остаются наличие и число пораженных метастазами лимфоузлов, а также размеры первичной опухоли, степень ее дифференцировки, уровень рецепторов половых гормонов, возраст и менструальная функция больной. В отличие от недавнего прошлого, сегодня всем больным операбельным РМЖ рекомендуется проведение адъювантной системной терапии (рекомендации VII Международной конференции по адъювантной терапии РМЖ в Санкт-Галлене). Целью адъювантной терапии является эрадикация микрометастазов после оперативного удаления первичной опухоли [4, 9]. Методы адъювантной терапии постоянно совершенствуются, в ежедневную практику входят новые препараты, в клинических исследованиях изучаются различные режимы химиотерапии. Однако, несмотря на это, значительная частота отдаленного метастазирования в различные сроки после адъювантной химиотерапии (особенно у больных из группы высокого риска) свидетельствует или о неспособности современной химиотерапии «искоренить» все скрытые микроочаги рака [8], или о недостаточно индивидуальном подборе вида системного лечения в связи с ограниченными воз-

возможностями современных прогностических факторов. Поэтому поиск новых маркеров, свидетельствующих о ранней диссеминации опухолевого процесса и позволяющих назначить индивидуальное, целевое системное лечение и оценить его эффективность, представляется очень перспективным направлением исследований. Одним из таких показателей могло бы стать содержание опухолевых клеток в периферической крови или костном мозге.

Канцеромиеломатоз – ключевое звено гематогенного метастазирования. Согласно теории В. Fisher [23], РМЖ является системным заболеванием, и даже при клинически ранних стадиях высока вероятность скрытой диссеминации опухолевого процесса. Метастазы РМЖ начинают развиваться при очень малых размерах первичной опухоли (менее 0,125 см³) [31].

По современным представлениям, процесс метастазирования состоит из следующих этапов: ангиогенеза в опухоли, инвазии, интравазации, экстравазации и роста опухолевого узла в паренхиме [6]. Как только у опухолевой клетки в первичном очаге появляется возможность интравазации и она попадает в кровоток, появляется потенциальная возможность метастазирования. В кровяном русле опухолевые клетки становятся чувствительными к различным защитным механизмам со стороны хозяина, включая лизис за счет лимфоцитов, моноцитов и естественных киллеров. Кроме того, происходит механическое повреждение опухолевых клеток в процессе завихрения крови и застревания в капиллярах. Выживает менее 0,01 % опухолевых клеток, которые, задерживаясь в капиллярной сети отдельных органов, дают начало развитию отдаленных метастазов. Первым органом, который встает на пути этих клеток, являются легкие. Причем большая часть опухолевых клеток успешно преодолевает этот рубеж, о чем косвенно свидетельствует высокая частота костных метастазов без поражения легких. Следующим барьером является костный мозг.

В 1889 г. Stephen Paget предположил, что свойства тканей, в которых развиваются метастазы, были определяющими в этом про-

цессе, и тем самым заложил основу так популярной в настоящее время теории «почвы и семени».

С одной стороны, для процессов метастазирования определенную роль играют свойства «семени», т.е. опухолевой клетки [37]. Как показали результаты исследований ряда японских ученых, клеточные линии рака молочной железы, в частности Н-31, способны вырабатывать протеолитические вещества, такие как коллагеназа, бета-3-интегрин, разрушающие слой остеоцитов и помогающие проникновению опухолевых клеток в кость [29]. С другой стороны, костная ткань вместе с костным мозгом является «плодородной почвой» для опухолевого роста. Известно, что синусоидальная структура внутри костного мозга больше «подходит» для образования метастатических очагов, чем простая артерио-венозная капиллярная сеть. Однако селезенка, также имеющая синусоидальную структуру, только в редких случаях поражается метастазами. Хотя, как было показано еще в старой литературе, частота микрометастазов в селезенку довольно велика (до 30 %) и вполне сравнима с таковой в печени. Очевидно, что здесь играют роль цитотоксические и цитостатические свойства микроокружения, которые весьма характерны для селезенки и которые препятствуют развитию в ней крупных узлов опухоли [5].

Кость является благоприятным местом из-за «богатых залежей» многих факторов роста, таких как трансформирующий фактор роста бета (TGF-beta), инсулиноподобные факторы роста (IGFs), тромбоцитарный фактор роста (PDGF), фактор роста фибробластов (FGF), костный морфогенетический белок (BMP), который вместе с коллагеновыми фрагментами притягивают клетки опухоли, и они начинают циркулировать в костном мозге [21].

Конкретных данных о взаимных влияниях гемопоэтической ткани и опухолевых клеток немного. Однако для гематологической патологии показано, что стромальные клетки костного мозга предотвращают апоптоз злокачественных клеток, усиливают их пролиферацию, модулируют дифференцировку, выделяя интерлейкины-3 и 6, и ростовые факторы (Г-КСФ, ГМ-КСФ, М-КСФ). Опухо-

левые клетки в свою очередь синтезируют интерлейкин- β и фактор некроза опухоли- α , индуцируя синтез стромальных цитокинов и, таким образом, замыкая петлю паракринной регуляции [22]. Кроме того, известно о существовании аутокринной стимуляции роста метастазов опухолей, поскольку некоторые линии мелкоклеточного рака легкого и РМЖ экспрессируют мРНК ростовых факторов (протоонкогенов *hst-1* и *c-kit*) [35].

Часть опухолевых клеток, осевших в костном мозге, дает начало развитию костных метастазов. Именно поэтому метастазы в кости скелета занимают первое место в структуре метастазирования. Другая часть опухолевых клеток продолжает находиться в костном мозге в «дремлющем» состоянии, о чем свидетельствует низкая экспрессия в них антигена Ki-67. Низкая пролиферативная активность опухолевых клеток в костном мозге еще больше усугубляет ситуацию, т. к. такие клетки плохо поддаются системному воздействию химиопрепаратов. Отсюда неудачи адьювантной, и даже высокодозной химиотерапии, в попытках элиминации микрометастазов в костный мозг [15, 26]. Через определенный промежуток времени – может пройти несколько лет или десятков лет – опухолевые клетки из костного мозга вновь попадают в кровеносное русло и приводят к развитию метастазов в других органах.

Подводя итог вышеизложенному, можно сделать вывод, что костный мозг является своеобразным «депо» опухолевых клеток и играет ключевую роль в процессах отдаленного метастазирования.

Кроме того, значительным препятствием для успешного лечения метастатического процесса является биологическая гетерогенность опухолей [31]. Известно, что первичный РМЖ состоит из биологически различных субпопуляций клеток. Эти субпопуляции отличаются по биологическим, генетическим, биохимическим, иммунологическим характеристикам, таким как скорость роста, кариотип, рецепторы на поверхности клетки, клеточная морфология, подвижность клеток, способность к инвазии и метастазированию, чувствительность к цитостатикам. Важной задачей является раннее выявление метаста-

зов опухоли, до достижения ими значительных размеров и гетерогенности клеточных субпопуляций. По данным G.L. Nicolson (1987), опухоль размером 1 см³ содержит примерно 1 миллиард опухолевых клеток. Даже если 99,9 % этих клеток будут уничтожены во время проведения системной терапии, останется 1 миллион опухолевых клеток, способных пролиферировать, инвазировать и продуцировать дальнейшие метастазы.

Методы диагностики и частота опухолевого поражения костного мозга. Первое сообщение об обнаружении метастазов опухоли в костный мозг относится к 1834 г. (Sanson M.); тогда это состояние получило название «раковый диатез» [2]. В 1908 г. Ryall характеризует опухолевое поражение костного мозга как «раковая инфекция» [40]. До середины XX века появлялись единичные сообщения, посвященные проблеме поражения костного мозга при опухолях, основанные на небольшом клиническом материале. Так, в 1936 г. K. Rohg и R. Hegglin выявили опухолевый процесс костного мозга у 11 из 13 больных с метастазами в кости. Небольшое количество таких работ объясняется несовершенством используемых в то время методов получения костного мозга. После того как в 1958 г. McFarland и Dameshek описали технику трепанбиопсии подвздошной кости, гистологическое исследование костного мозга стало рутинным методом.

Начиная с 1980-х гг., к проблемам канцеромиеломатоза обращено самое пристальное внимание, но путаница в терминологии, тем не менее, сохраняется. Говоря о метастазах в костный мозг, ученые прибегают к самым разным терминам – микрометастазы (термин был предложен Huvos A.G. в 1971 г.), оккультные метастазы, минимальная резидуальная болезнь, изолированные опухолевые клетки, диссеминированные эпителиальные клетки [12]. Нам наиболее приемлемой кажется позиция группы немецких ученых под руководством Paul Hermanek (1999) [27]. Эти авторы предлагают выделять микрометастазы и изолированные опухолевые клетки (ИОК). Речь о микрометастазах необходимо вести в тех случаях, когда произошла имплантация опухолевых клеток во «вторые органы» и оп-

ределяется картина экстравазации, пролиферации клеток опухоли с частой стромальной реакцией. Но главной отличительной чертой являются размеры очага. В случае микрометастазов размер кластера, в отличие от изолированных опухолевых клеток, достаточно велик, но не превышает 2 мм. Ясность в терминологии нужна, прежде всего, для правильного стадирования опухолевого процесса и, соответственно, для корректного лечения. Если мы имеем дело с ИОК в костном мозге, то это состояние классифицируется как M0 (i+) или M0 (mol+) в зависимости от метода исследования, а опухолевый процесс, соответственно, не может быть отнесен к IV стадии заболевания. Напротив, микрометастазы в костный мозг обозначаются как pM1(mi), таким образом, опухолевый процесс должен быть отнесен к IV стадии заболевания [27].

Для выявления опухолевого поражения костного мозга могут быть использованы следующие методы исследования:

1. Цитологический и гистологический методы позволяют обнаружить опухолевые клетки (только при их достаточно большом количестве) менее, чем у 4 % больных. Единичные же метастатические клетки методом световой микроскопии обнаружить либо сложно, либо невозможно. Повышение чувствительности выявления ИОК достигается при использовании следующих методов исследования.

2. Иммуноцитохимический метод (ИЦХ) основан на выявлении в мазках костного мозга с помощью моноклональных антител антигенов, нехарактерных для гемопоэтической ткани, но экспрессируемых клетками солидных опухолей [38]. Для иммунодетекции ИОК рака молочной железы в костном мозге используют моноклональные антитела к эпителиальному мембранному антигену (ЕМА), цитокератинам (СК), туморассоциированному гликопротеину 12 (TAG 12). Используя методику, основанную на применении моноклональных антител к указанным антигенам, возможно выявление 1–2 клеток рака в 1 млн нормальных клеток костного мозга. Чувствительность иммуноцитохимического исследования может ограничиваться низким уровнем

экспрессии антигенов опухолевыми клетками. В этом случае логичным представляется использование панели АТ для повышения чувствительности метода. Однако такой подход неизбежно приводит к снижению специфичности метода, поскольку известно, что МКА к ЕМА перекрестно реагируют с лимфоидными и ранними миелоидными клетками костного мозга, а СК-8 и СК-18-позитивные клетки встречаются в количестве 2–5 на 1 млн в костном мозге здоровых людей. Поэтому иммуноцитохимический метод может дать ложно-положительный результат у 2–10 % здоровых людей. Немаловажен тот факт, что на сегодняшний день в мире используется много коммерческих МКА с разной чувствительностью и специфичностью, что не позволяет стандартизировать метод и затрудняет сравнение результатов, полученных разными группами исследователей.

Для увеличения чувствительности иммуноцитохимического метода были разработаны методы обогащения популяции клеток-мишеней. Один из методов обогащения – метод градиентной сепарации Ficoll (рис. 1).

3. Полимеразная цепная реакция (ПЦР) предназначена для обнаружения в образце ткани заданной матричной РНК. Данная методика заключается в поиске мРНК некоторых генов (цитокератинов, РЭА), экспрессируемых метастатическими клетками, или поиске мРНК генов, мутации которых специфичны для опухолевых клеток (например, генов ERB B2, p53, k-ras и др.). По мнению ряда авторов, ПЦР является более чувствительной методикой для выявления микрометастазов рака молочной железы, чем ИЦХ. Вместе с тем, недостатком ПЦР является оценка генетической информации, а не наличия тех или иных живых клеток. В связи с этим при исследовании костного мозга, полученного после проведения курса химиотерапии, нужно быть уверенным, что обнаруженная РНК получена из живой, а не из погибшей опухолевой клетки. Кроме того, РНК не всегда экстрагируются из образцов, фиксированных в формалине и залитых в парафин, что затрудняет ретроспективный анализ.

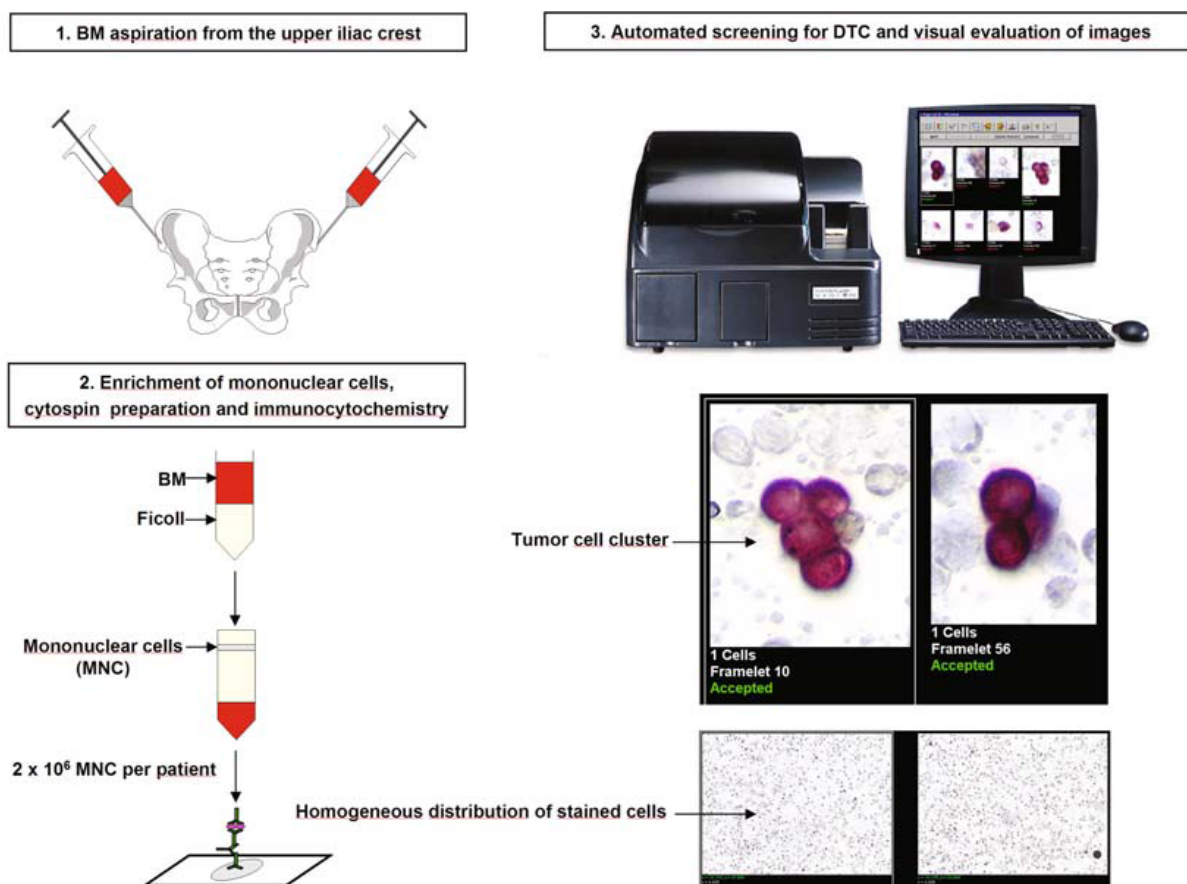


Рис. 1. Стандартизированный метод подготовки препарата костного мозга для выявления диссеминированных опухолевых клеток:

1. Аспирация костного мозга из задне-верхней ости подвздошной кости;
2. Обогащение мононуклеарных клеток, приготовление «цитоспинов» и иммуноцитохимическое исследование;
3. Автоматический скрининг диссеминированных опухолевых клеток и визуальная оценка изображений [40]

4. Для обнаружения опухолевых клеток в костном мозге методом проточной цитометрии взвесь опухолевых клеток обрабатывают мечеными красителем антителами к опухолевым антигенам и пропускают через цитофлюориметр, который автоматически распознает и подсчитывает окрашенные клетки. Метод позволяет обнаружить 1 опухолевую клетку среди 10–100 тыс. нормальных клеток костного мозга. Большим недостатком проточной цитометрии является необходимость выделения из костного мозга значительного числа живых опухолевых клеток, что не всегда возможно. Кроме того, до настоящего времени специфичность метода недостаточно высока.

5. При исследовании костного мозга методом клеточных культур в питательную среду помещают образцы, полученные при аспирационной биопсии. Нормальные клетки костного мозга при отсутствии привычного

для них микроокружения пролиферировать не будут. Если же в среде сформируются вторичные колонии, то это будет свидетельствовать о наличии в костном мозге опухолевых клеток, способных к автономному росту. Немаловажным фактором, ограничивающим использование культурального метода, является его техническая сложность и высокая стоимость.

По данным разных авторов, ИОК в костном мозге диагностируются в среднем у 30–35 % больных РМЖ [13, 25], варьируя от 1 до 82 %. От чего зависит частота выявления ИОК в костном мозге?

Так, А. Schoenfeld и соавт. [41] определяли микрометастазы в костном мозге больных операбельным РМЖ иммуноцитологическим методом с помощью антител к цитokerатину СК19 и методом ПЦР. Оказалось, что опухолевые клетки определялись в костном мозге у 22 % больных, по данным иммуноцитологи-

ческого метода, и у 35%, по данным ПЦР. В исследовании K. Fields с помощью ПЦР ретроспективно изучался замороженный материал, полученный из костного мозга больных II, III и IV стадиями РМЖ после индукционной химиотерапии до «сбора костного мозга» [28]. Во всех образцах, по данным стандартного гистологического исследования, метастазов не обнаружено. Частота обнаружения эпителиальных клеток в костном мозге составила, по данным ПЦР, 52% у 19 больных со II стадией заболевания, 57 % у 14 больных с III стадией и 82 % у больных с IV стадией.

Как показали результаты исследования О.В. Крохиной и соавт. (2002), существует вероятность обнаружения метастатических клеток в костном мозге больных раком молочной железы при различных стадиях заболевания [7]. Причем процент выявления метастазов возрастает от I к IV стадии. Наибольший процент микрометастазов отмечен при IV стадии РМЖ (62,5 %), наименьший – при IIIа стадии, что, по-видимому, объясняется малым числом больных в данной группе.

Отдаленные метастазы в значительной степени ассоциированы с опухолевым поражением костного мозга. Причем частота поражения костного мозга во многом зависит от локализации отдаленных метастазов. В работе M. Osborne (1994) микрометастазы в костный мозг обнаруживались у 38 % пациенток с IV стадией РМЖ при наличии метастазов в кости, у 20 % больных с внекостными отдаленными метастатическими очагами и у 10 % больных с первично операбельным раком молочной железы [36]. В одной из своих работ S. Braun и соавторы, при обследовании 33 больных РМЖ с висцеральными метастазами, обнаружили опухолевые клетки в костном мозге у 13 пациенток. В то же время микрометастазы в костный мозг были диагностированы у 18 из 19 больных с метастазами в кости и у 48 из 55 пациенток с одновременным метастатическим поражением скелета и висцеральных органов [14].

В следующей своей работе S. Braun (2005) провел мета-анализ 9 наиболее крупных исследований, включающих в общей сложности 4703 больных РМЖ [16]. При сравнении групп пациенток с опухолевым

поражением костного мозга и без него больные с микрометастазами в костный мозг имели больший размер опухолевого очага, более низкую степень дифференцировки, большую вероятность поражения регионарных лимфоузлов и более частый отрицательный рецепторный статус опухоли.

Клинические аспекты канцеромиеломатоза. Единичные эпителиальные клетки в костном мозге и периферической крови больных солидными опухолями изучаются по нескольким основным направлениям – как фактор прогноза рецидива и продолжительности жизни, а также как потенциальный маркер, позволяющий оценить эффективность системного лечения.

Особый интерес представляют исследования по изучению прогностического влияния оккультных метастазов в костный мозг на показатели общей и безрецидивной выживаемости. Ряд ученых считают, что такая связь существует [30, 41], другие придерживаются диаметрально противоположной точки зрения [20, 33]. Используя поликлональные ЕМА-антитела, J.L. Mansi и соавторы (1987) отметили существенное сокращение продолжительности безрецидивного периода у больных с микрометастазами в костный мозг в течение 28-месячного периода наблюдения. В течение 6-летнего срока наблюдения (медиана: 76 месяцев; размах: 34–108) многофакторный статистический анализ показал, что у больных с микрометастазами в костный мозг увеличивается вероятность развития костных метастазов ($p < 0,01$) и других отдаленных метастазов ($p < 0,001$), а также сокращается общая выживаемость ($p < 0,005$). Многофакторные анализы с использованием шестилетнего и более, чем 12-летнего, сроков клинического наблюдения показали, что наличие ЕМА-позитивных клеток в костном мозге является основополагающим независимым прогностическим фактором наравне с размером опухоли, степенью злокачественности и статусом регионарных лимфоузлов [32, 33].

В одном из исследований, основанном на изучении 727 больных первичным РМЖ в течение 36 месяцев (3–108), было заявлено, что наличие TAG-12-позитивных клеток коррелирует с плохим прогнозом ($p < 0,001$). Нали-

чие TAG-12 позитивных клеток в костном мозге было представлено в качестве независимого прогностического фактора, как для общей, так и для безрецидивной выживаемости. Причем этот показатель имел большее прогностическое значение, чем статус подмышечных лимфоузлов, размер опухоли и степень злокачественности.

Противоречивые литературные данные подняли вопрос о клинической ценности скринингового исследования костного мозга. Мета-анализ 2,494 пациентов из 20 исследований не позволил привести убедительных доказательств независимой прогностической роли метастатического поражения костного мозга в показателях общей и безрецидивной выживаемости [25]. Этот мета-анализ базировался на различных, существенно отличающихся друг от друга, методах диагностики опухолевых клеток в костном мозге. Обнаружение микрометастазов в костный мозг, а соответственно и прогностическая значимость данного фактора, во многом зависят от множества технических причин, таких как выбор антител, лабораторного оборудования, кроме того, имеет значение число исследуемых клеток, так же как и количество пациентов, включенных в исследование. В настоящее время наиболее часто используются антитела против мембранных муцинов [25] или моноспецифичные антитела, направленные против белковых цитокератинов, которые обладают меньшей чувствительностью, чем панель специфических антител [38]. N. Harbeck и соавторы (1994) диагностировали отдельные опухолевые клетки в костном мозге у 38 % пациентов (n=100), используя панель из моноклональных антител к ЕМА, TAG-12 и цитокератинам. По истечении 34-месячного (7–64 месяцев) срока наблюдения многофакторный анализ с использованием регрессионной модели Кокса подтвердил, что метастатическое поражение костного мозга было значимым прогностическим фактором для общей и безрецидивной выживаемости. Используя панель моноклональных антител к поверхностным антигенам и цитокератинам, R.J. Cote и соавт. (1988) отметили, что обнаружение микрометастазов в костный мозг является важным фактором риска [18].

Согласно полученным данным, обнаружение опухолевых клеток в костном мозге было единственным независимым предсказывающим фактором раннего рецидива ($p < 0,003$). Однако данное исследование насчитывало недостаточное число пациентов (n=49).

S.E. Come и L.E. Schnipper (1995) считают, что микрометастазы в костный мозг являются в большей степени показателем активности заболевания, чем независимым фактором прогноза развития явных метастазов.

Полагая, что обнаружение 1 изолированной опухолевой клетки в миллионе миелокариоцитов может быть диагностически незначимым, ряд исследователей попытался количественно определить «критическую» опухолевую нагрузку костного мозга, превышение которой достоверно было бы связано с ростом частоты рецидивирования заболевания. J.L. Mansi и соавт. (1987) не выявили связи между количеством злокачественных клеток и прогнозом. R.J. Cote и соавт. (1991) указывают, что количество рецидивов РМЖ резко возрастает при обнаружении в костном мозге 10 изолированных клеток.

При детальном статистическом анализе M.P. Osborn и соавт. (1993) обнаружили, что количество метастатических клеток (<14 или >14) является важным показателем в многофакторном анализе опухолевого поражения костного мозга при раке молочной железы.

В одном из проспективных исследований S. Braun изучил костный мозг у 552 первичных больных РМЖ с I–III стадиями заболевания, используя для этого антитела к цитокератинам [4]. Метастазы в костный мозг были диагностированы у 199 больной (36 %). Как показали результаты исследования, наличие опухолевых клеток в костном мозге после 4-х лет наблюдения было ассоциировано с высоким риском развития отдаленных метастазов и увеличением смертности от прогрессирования заболевания ($p < 0,001$), но не с риском развития местного рецидива ($p = 0,77$). Одновременно многофакторный регрессионный анализ выявил, что наличие occultных метастатических клеток в костном мозге является прогностическим фактором плохого прогноза независимо от статуса регионарных лимфоузлов. Поражение кост-

ного мозга встречалось так же часто при метастазах в регионарные лимфатические узлы, как и без них ($p=0,13$).

Как показали результаты исследования О.Б. Бжадуг и соавт., микрометастазы в костном мозге до лечения обнаруживаются в 54,8 % случаев РМЖ III–IV стадий; наличие микрометастазов в костном мозге больных на момент начала лечения не влияет на продолжительность интервала без прогрессирования и общую продолжительность жизни в этой группе больных; морфологически доказанное метастатическое поражение костного мозга при диссеминированном РМЖ достоверно ухудшает показатели выживаемости без прогрессирования по сравнению с больными без метастазов в костном мозге ($p=0,03$) [3].

Недавно были сообщены результаты большого многоцентрового проспективного исследования (ACOSOG Z0010) по анализу данных иммуноцитохимического исследования аспиратов костного мозга 3413 пациентов с N0-статусом. Как показали результаты, лишь у 3 % пациентов были выявлены диссеминированные опухолевые клетки, что в итоге коррелировало со снижением общей 5-летней выживаемости. Вместе с тем выявление этих клеток в сторожевых лимфатических узлах не влияло на показатели выживаемости [19, 39].

В исследовании К. Pantel (1993) было показано, что цитокератин-позитивные опухолевые клетки редко пролиферируют [38]. Последующие после оперативного вмешательства курсы химиотерапии могут не уничтожить дремлющие непролиферирующие опухолевые клетки, что может объяснить рецидив заболевания даже после высокодозной химиотерапии. Пациенты ($n=59$) с высоким риском рецидива (метастазы в более, чем 3-х лимфатических узлах, опухолевая инвазия лимфатических сосудов), которые получали таксаны или антрациклинсодержащие схемы, были мониторированы до и после лечения [38]. Из 59 больных у 29 (49,2 %) и у 26 (44,1 %) обнаружили ЦК-позитивные опухолевые клетки в костном мозге до и после химиотерапии соответственно. После проведенной химиотерапии менее чем у половины пациентов (14 из 29; 48,3 %) с наличием

ЦК-позитивных опухолевых клеток костный мозг стал ЦК-негативным, тогда как у 11 (36,7 %) из 30 исходно ЦК-негативных больных стали определяться опухолевые клетки. В двух пилотных исследованиях, посвященных высокодозной химиотерапии больных РМЖ с пересадкой стволовых клеток, в костном мозге после завершения лечения были обнаружены опухолевые клетки у 15 (83 %) и 3 (30 %) пациентов соответственно, у большинства из которых был зарегистрирован полный клинический ответ [28]. Эти данные еще раз показали на отсутствие тождества между клиническим эффектом и риском рецидива, который зависит от наличия в организме субклинических микрометастазов.

Приведенные данные указывают на то, что, скорее всего, обнаружение микрометастазов в костном мозге у больных РМЖ свидетельствует о высокой злокачественности процесса и дает возможность выделить группу больных с высоким риском рецидива. Кроме того, состояние костного мозга может использоваться для мониторинга больных, получающих адъювантную химиотерапию, с целью оценки ее эффективности. Дальнейшее изучение фенотипических характеристик и генотипа солитарных опухолевых клеток в костном мозге имеет значение для выбора новых методов лекарственной терапии с целью направленного воздействия на микрометастазы.

Реакция костного мозга на опухолевые клетки. Существует достаточно много публикаций по вопросу реакции кроветворной системы на присутствие макрометастазов в костном мозге. Однако имеются лишь единичные сообщения об анализе костномозговой реакции на отдельные опухолевые клетки.

А.И. Воробьев (1985) выделяет следующие типы изменения кроветворения: в результате раздражения опухолевыми клетками костный мозг может быть реактивным, с увеличением клеточности всех ростков кроветворения, или бедным (гипопластичным или апластичным) вследствие замещения костномозгового пространства метастатическими клетками. Лейкемоидные реакции на микрометастазы проявляются нейтрофильным лейкоцитозом и тромбоцитозом. При этом в пе-

риферической крови отмечается сдвиг до миелоцитов и метамиелоцитов. Часто наряду с патологическими элементами белой крови встречаются и патологические элементы красной крови (ассоциированная гранулоцитарная и эритробластическая реакция).

Две трети больных РМЖ с макрометастазами в костный мозг имеют изменения анализов периферической крови. Чаще всего встречается анемия. По данным М. Westberg и соавт. (1982), снижение уровня гемоглобина ниже 120 г/л наблюдается у 40–60 % больных с опухолевым поражением костного мозга по сравнению с 14 % больных IV стадией РМЖ без метастазов в костный мозг. Тромбоцитопения и лейкопения обнаруживаются у 12–25 % больных с метастатическими изменениями в костном мозге. Во всех случаях тромбоцитопении в костномозговом аспирате отмечается значительное снижение количества мегакариоцитов [17]. Реже в периферической крови наблюдается лейкоцитоз и моноцитоз.

Лейкоэритробластоз встречается у 12–50 % больных с макрометастазами в костный мозг. Он связан с инфильтрацией костного мозга неопластическими клетками, фибробластами и появлением в периферической крови предшественников эритроцитов и нейтрофилов (нормобластов, миелоцитов, метамиелоцитов), даже при отсутствии анемии. Миелофиброз обнаруживают у 80 % больных с лейкоэритробластозом. Фибробласты и опухолевые клетки замещают костномозговое пространство и нарушают гемопоэз, изменяя микроваскуляризацию костного мозга [43]. В биоптате и/или пунктате костного мозга наряду с миелофиброзом может наблюдаться миелосклероз и некроз. Присутствие фиброза в ассоциации с миелосклерозом даже в отсутствие четко выявляемых опухолевых клеток всегда подозрительно в отношении метастатической карциномы. Если в мазках также отмечается некроз, данный диагноз становится более вероятным. Обнаружение фиброза не всегда указывает на метастазы рака. Миелофиброз встречается и при других заболеваниях, таких как лейкоз, лимфома [42].

Изучение состояния костного мозга с микрометастазами рака с помощью цитохимического метода может дать ценную ин-

формацию о влиянии опухолевых клеток на биохимию клеток гемопоэза. Гистохимия (цитохимия) – это использование химических реакций для изучения химического строения тканей и клеток в микроскопических препаратах (обычно с помощью реакций, в процессе которых окрашивается субстрат). В ходе этих реакций не должно происходить повреждения тканей или клеток [10]. Необходимость применения морфоцитохимических методов исследования костного мозга для диагностики лейкозов не вызывает сомнений. Исследование костного мозга с помощью таких цитохимических реакций, как определение активности кислой фосфатазы, щелочной фосфатазы, миелопероксидазы, лактатдегидрогеназы, сукцинатдегидрогеназы, интенсивности ШИК-реакции и других, возможно, станет дополнительным методом скрининга больных раком молочной железы, позволяющим выявить косвенные признаки скрытой диссеминации опухолевого процесса.

Таким образом, метастатическое поражение костного мозга играет ключевую роль в патогенезе гематогенного метастазирования. Обнаружение микрометастазов РМЖ в костный мозг является независимым фактором неблагоприятного прогноза и сопровождается уменьшением общей и безрецидивной выживаемости.

Проблема опухолевого поражения костного мозга далека от разрешения. Микрометастазы в костный мозг являются основанием для проведения только консервативной противоопухолевой терапии или возможно выполнение радикальной мастэктомии в данной клинической ситуации? Чем микрометастазы в костный мозг отличаются от макрометастазов? Учитывая прогностическую ценность обнаружения микрометастазов, есть ли смысл включить исследование костного мозга в рутинную практику? Есть ли особенности проведения лекарственной терапии (химиотерапия, таргетная терапия) у больных с опухолевым поражением костного мозга? На эти и другие вопросы предстоит получить ответы в ближайшее время.

1. Артамонова, Е.В. Роль иммунофенотипирования опухолевых клеток в диагностике и прогнозе рака молочной железы: автореф. дис. ... д-ра мед. наук / Е.В. Артамонова. – М., 2003. – 48 с.
2. Берензон, Д.Г. Поражение костного мозга при солидных опухолях / Д.Г. Берензон, А.В. Колосков, В.А. Тарасов // Гематол. и трансфузиол. – 2000. – Т. 45. – № 5. – С. 35–37.
3. Бжадуг, О.Б. Иммунологическая характеристика и клиническое значение опухолевых клеток, циркулирующих в крови больных распространенным раком молочной железы: автореф. дис. ... канд. мед. наук / О.Б. Бжадуг. – М., 2007. – 30 с.
4. Гарин, А.М. Адьювантная и неадьювантная химиотерапия / А.М. Гарин // Противоопухолевая химиотерапия: справочник / под ред. Н.И. Переводчиковой. – М., 1996. – С. 176–177.
5. Манских, В.Н. Хоминг иммуноцитов и избирательность метастазирования рака молочной железы / В.Н. Манских // Доклады Академии наук. – М., 2009. – Т. 425. – № 1. – С. 126–128.
6. Моисеенко, В.М. «Естественная история» роста рака молочной железы / В.М. Моисеенко // Практическая онкология: избранные лекции / В.М. Моисеенко, С.А. Тюляндин. – СПб.: Центр-Томм, 2004. – С. 27.
7. Рак молочной железы. Микрометастазы в костный мозг / О.В. Крохина [и др.] // Вестник Российского онкологического научного центра им. Н.Н. Блохина РАМН. – М., 2002. – Т. 3. – С. 15–20.
8. Семиглазов, В.Ф. Адьювантная химиотерапия рака молочной железы / В.Ф. Семиглазов // Материалы IV Российской онкологической конференции. – М., 2000. – С. 35–40.
9. Тюляндин, С.А. Системная терапия операбельного рака молочной железы / С.А. Тюляндин // Практическая онкология: избранные лекции / В.М. Моисеенко, С.А. Тюляндин. – СПб.: Центр-Томм, 2004. – С. 73–83.
10. Хэйхоу, Ф. Гематологическая цитохимия / Ф. Хэйхоу, Д. Кваглино. – М.: Медицина, 1983. – 320 с.
11. Чиссов, В.И. Состояние онкологической помощи населению России в 2009 году / В.И. Чиссов, В.В. Старинский, Г.В. Петрова. – М.: ФГУ «МНИОИ им. П.А. Герцена Росмедтехнологий», 2010. – 196 с.
12. Relative microvessel area of the primary tumor, and not lymph node status, predicts the presence of bone marrow micrometastases detected by reverse transcriptase polymerase chain reaction in patients with clinically non-metastatic breast cancer / I.H. Benoy [et al.] // Breast Cancer Res. – 2005. – Vol. 7. – P. 210–219.
13. The relationship between micrometastases in the bone marrow, histopathologic features of the primary tumor in breast cancer and prognosis / U. Berger [et al.] // Am. J. Clin. Pathol. – 1988. – Vol. 90. – P. 1–6.
14. Cytokeratin-positive cells in the bone marrow and survival of patients with stage I, II or III breast cancer / S. Braun [et al.] // N. Engl. J. Med. – 2000. – Vol. 34. – № 2. – P. 525–533.
15. Lack of effect of adjuvant chemotherapy on the elimination of single dormant tumor cells in bone marrow of high-risk breast cancer patients / S. Braun [et al.] // J. Clin. Oncol. – 2000. – Vol. 18. – № 1. – P. 80–86.
16. A pooled analysis of bone marrow micrometastasis in breast cancer / S. Braun [et al.] // N. Engl. J. Med. – 2005. – Vol. 353. – P. 793–802.
17. Contreras, E. Value of the bone marrow biopsy in the diagnosis of metastatic carcinoma / E. Contreras, L.D. Ellis, R.E. Lee // Cancer. – 1972. – March. – Vol. 29. – P. 778–783.
18. Cote, R.J. Monoclonal antibodies detect occult breast carcinoma metastases in the bone marrow of patients with early stage disease / R.J. Cote, P.P. Rosen, T.B. Hakes // Am. J. Surg. Pathol. – 1988. – Vol. 2. – P. 633–640.
19. Z0010: a multicenter prognostic study of sentinel node (SN) and bone marrow (BM) micrometastases in women with clinical T1/T2 N0 M0 breast cancer / R. Cote [et al.] // J. Clin. Oncol. – 2010. – 28 Suppl. 18, (suppl; abstr CRA504).
20. Courtemanche, D.J. Monoclonal antibody LICR-LON-M8 does not predict the outcome of operable breast cancer / D.J. Courtemanche, A.J. Worth, R.W. Coupland // Can. J. Surg. – 1991. – Vol. 34. – P. 21–26.
21. Duffy, M.J. The role proteolytic enzymes in cancer invasion and metastasis / M.J. Duffy // Clin. Exp. Metastasis. – 1992. – Vol. 10. – P. 145–155.
22. Durhsen, U. Stromal abnormalities in neoplastic bone marrow diseases / U. Durhsen, D.K. Hossfeld // Annals of hematology. – 1996. – Vol. 73. – P. 53–70.
23. Fisher, B. Biological and clinical considerations regarding the use of surgery and chemotherapy in the treatment of primary breast cancer / B. Fisher // Cancer. – 1977. – Vol. 40. – P. 574–587.
24. Neoplasms of the breast / B. Fisher [et al.] // Cancer medicine / 3-d edition; ed. By J. Holland [et al.]. – 1993. – P. 1706–1774.
25. Funke, I. Meta-Analyses of Studies on Bone Marrow Micrometastases: An Independent Prognostic Impact Remains to Be Substantiated / I. Funke, W. Schraut // J. Clin. Oncol. – 1998. – Vol. 16. – P. 557–566.
26. Adoptive immunotherapy with monoclonal antibody 17–1A to reduce minimal residual disease in breast cancer patients after high-dose chemotherapy / D. Hempel [et al.] // Blood. – 1997. – Vol. 90. – P. 379B.

27. Classification of isolated tumor cells and micrometastasis / P. Hermanek [et al.] // *Cancer*. – 1999. – Vol. 86. – P. 2668–2673.
28. Prognostic significance of occult bone marrow micrometastases of breast cancer detected by quantitative polymerase chain reaction for cytokeratin 19 mRNA. / N. Ikeda [et al.] // *Jpn. J. Cancer Res.* – 2000. – Sep. 91(9). – P. 918–924.
29. *Kitazawa, S.* Development of skeletal metastases / S. Kitazawa, S. Maeda // *Clin. Orthop.* – 1995. – Vol. 312. – P. 45–50.
30. *Landys, K.* Prognostic value of bone marrow biopsy in operable breast cancer patients at the time of initial diagnosis: results of a 20-year median follow-up / K. Landys, S. Persson, J. Kovarik // *Breast Cancer Res. Treat.* – 1998. – Vol. 49. – P. 27–33.
31. *Liotta, L.A.* Principles of molecular cell biology of cancer: cancer metastases / L.A. Liotta, W.G. Stetler-Stevenson // In De Vita et al. (eds): *Cancer: Principles and practice of oncology*. – Philadelphia. – 1993. – P. 134–147.
32. *Mansi, J.L.* Bone marrow micrometastases in primary breast cancer: prognostic significance after 6 years' follow-up / J.L. Mansi, D. Easton, U. Berger // *Eur. J. Cancer*. – 1991. – Vol. 27. – P. 1552–1555.
33. *Mansi, J.L.* Outcome of primary-breast-cancer patients with micrometastases: a long-term follow-up / J.L. Mansi, H. Gogas, J.M. Bliss // *Lancet*. – 1999. – Vol. 354. – P. 197–202.
34. *Mathieu, M.C.* Immunohistochemical staining of bone marrow biopsies for detection of occult metastasis in breast cancer / M.C. Mathieu, S. Friedman, J. Bosq // *Breast Cancer Res. Treat.* – 1990. – Vol. 15. – P. 21–26.
35. Expression of the c-kit protein in human solid tumors and in corresponding fetal and adult normal tissues / R. Matsuda [et al.] // *Amer. J. Pathol.* – 1993. – Vol. 142. – P. 339–346.
36. *Osborne, M.* Detection and management of bone marrow micrometastases in breast cancer / M. Osborne, P. Rosen // *Oncology*. – 1994. – Vol. 8. – P. 25–36.
37. *Paget, S.* The distribution of secondary growths in cancer of breast / S. Paget // *Lancet*. – 1889. – № 1. – P. 571–573.
38. *Pantel, K.* Methodological analysis of immunocytochemical screening for disseminated epithelial tumor cells in bone marrow / K. Pantel, G. Schlimok, M. Angstwurm // *J. Hematother.* – 1994. – Vol. 3. – P. 165–173.
39. *Park, J.W.* Disseminated tumor cells: the method is the message / J.W. Park // *Breast Cancer Res. Treat.* – 2011. – Vol. 125. – P. 739–740.
40. *Ryall, C.* The technique of cancer operations, with reference to the danger of cancer infections / C. Ryall // *BMJ*. – 1908. – Vol. 2. – P. 1005–1008.
41. *Schoenfeld, A.* The detection of Micrometastasis in the Peripheral Blood and Bone Marrow of patients with Breast Cancer Using Immunohistochemistry and reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction for Keratin 19 / A. Schoenfeld [et al.] // *Eur. J. cancer*. – 1997. – Vol. 33(6). – P. 854–861.
42. *Webb, D.I.* Importance of bone marrow biopsy in the clinical staging of Hodgkin's disease / D.I. Webb, G. Ubogy, R. Silver // *Cancer*. – 1970. – Vol. 26 – P. 313–317.
43. *Yeatman, T.J.* Assessment and designation of breast cancer stage / T.J. Yeatman, K.I. Bland // *The breast. Comprehensive management of benign and malignant diseases*. – Philadelphia. – 1998. – Vol. 1. – Sect. VIII. – Ch. 21. – P. 400–417.

PROBLEMS OF BONE MARROW METASTASES IN BREAST CANCER PATIENTS

V.V. Rodionov, O.A. Bogomolova

*Regional clinical oncology center, Ulyanovsk
Ulyanovsk State University*

The paper presents a modern view on the mechanisms of tumor progression in breast cancer, analysis of published data on diagnostic methods, frequency and clinical significance of detection of breast cancer cells in the bone marrow and bone marrow response to tumor cells.

Key words: micrometastases, breast cancer, bone marrow.