О.В. Пославська
І.С. Шпонька
П.О. Гриценко
П.В. Савченко

ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»

DOI: https://doi.org/10.26641/1997-9665.2018.3.127-132

УДК: 616-006.04-076-097.3-079.4

КАРЦИНОМИ НЕВІДОМОЇ ПЕРВИННОЇ ЛОКАЛІЗАЦІЇ З ІЗОЛЬОВАНИМ ОДНОСТОРОННІМ УРАЖЕННЯМ ПАХВОВИХ ЛІМФАТИЧНИХ ВУЗЛІВ У ЖІНОК

Дослідження виконано в рамках науково-дослідної роботи «Розробка діагностичних та прогностичних критеріїв новоутворень різних локалізацій з урахуванням біологічних показників активності пухлинного процесу» (номер державної реєстрації 0116U002827).

Надійшла: 17.08.2018
Прийнята: 15.09.2018

© Morphologia. – 2018. – Т. 12, № 3. – С. 127-132.
© О.В. Пославська, І.С. Шпонька, П.О. Гриценко, П.В. Савченко, 2018
✉ alexandra.poslavskaya@gmail.com

Poslavska O.V., Shponka I.S., Hritsenko P.O., Savchenko P.V. Carcinomas of unknown primary localization with isolated unilateral lesion of axillary lymph nodes in women.
ABSTRACT. Background. Among the most important achievements of recent decades in understanding the biology of cancers of unknown primary localization was the finding of favorable clinical and pathological subgroups occurring in 10-20%. Women with metastatic breast carcinoma, which affects only the axillary lymph nodes, represent a relatively small cohort of patients with long-term survival prospects. **Objective.** The aim is to investigate the complex of morphological, immunohistochemical and morphometric characteristics of carcinomas of unknown primary localization with lesions of isolated unilateral axillary lymph nodes in women in comparison with primary breast tumors to improve diagnostic algorithms. **Methods**. A retrospective analysis of the characteristics of biopsy material of 29 patients with unilateral lesion of isolated axillary lymph nodes without known primary tumor localization at the age of 32 to 86 years (mean 61.52 ± 14.42, median 60) and 48 observations of the postoperative material of patients with primary a breast tumor at the age of 30 to 89 years (mean 55.43 ± 12.19, median 56) for the period 2015 - 2017. **Results.** Carcinoma of unknown primary localization with unilateral lesion of isolated axillary lymph nodes in women revealed a significant advantage of Cytokeratin, Pane AE1, AE3 + / cytokeratin 7 + / ER + / PGR + / Her-2-new cases of metastatic carcinomas with the mammary phenotype. Like the primary breast tumors, the metastatic carcinomas had a morphological structure, as well as the area, perimeter and roundness of the nuclei (all $p < 0.05$), but differed in the phenotypic distribution of the combination of prognostic markers of the "gold standard" ER, PGR, Her-2- new ($p = 0.03746$). **Conclusions.** With the decrease in the degree of differentiation, the primary and metastatic AK of the mammary gland can acquire a "triple-negative" status, given the high percentages of adenocarcinomas and undifferentiated cancers among the observations (28% and 10%, respectively), the immunohistochemical panel needs to be expanded with organ-specific breast markers and exclusion markers.
Key words: cancer unknown primary site, isolated lesion of axillary lymph nodes, CK7, ER.

Citation:
Poslavska OV, Shponka IS, Hritsenko PO, Savchenko PV. [Carcinomas of unknown primary localization with isolated unilateral lesion of axillary lymph nodes in women]. Morphologia. 2018;12(3):127-32. Ukrainian.
DOI: https://doi.org/10.26641/1997-9665.2018.3.127-132.

Вступ

Метастатичний процес представляє собою поширення, виживання і розмноження злоякісних клітин, що походять з первинної пухлини, в далеких від неї анатомічних місцях. Сучасні дослідження констатують, що майже кожен з трьох хворих на рак має віддалені метастази під час клінічного діагнозу. У більшості випадків первинна пухлина та метастази ідентифікуються одночасно, але для деяких пацієнтів первинне ураження не може бути виявлено на етапі первинної клінічної оцінки. У цих випадках проводиться діагностика раку невідомої первинної локалізації (РНПЛ) [1-3]. Така клінічна ситуація досить важко управляється через відсутність стандартного лікування в контексті початкового терапевтичного підходу. Серед найбільш важливих досягнень останніх десятиріч у розумінні біології РНПЛ було виявлення сприятливих клінікопатологічних підгруп (фенотипів), що зу-

стрічаються в 10-20% спостережень пацієнтів з РНПЛ [4-6]. Аденокарцинома або недиференційована карцинома, виявлена в ізольованих однобічних пахвових лімфатичних вузлах без відомої первинної пухлини є складною проблемою для лікаря та пацієнта. Стандартизований діагностичний підхід до дослідження первинного джерела та стадії включає двобічну мамографію, КТ грудної клітини / черевної порожнини / тазу, доповнену додатковими рентгенологічними та ендоскопічними дослідженнями [2,5]. Жінки з карциномою молочної залози, що уражують тільки пахвові лімфатичні вузли, являють собою порівняно рідку когорту РНПЛ пацієнтів, які мають перспективи довгострокового виживання. Але виникає питання про наявність біологічних відмінностей між таким варіантом вузловопозитивного раку з молочної залози та РНПЛ.

Мета – дослідити комплекс морфологічних, імуногістохімічних та морфометричних характеристик карцином невідомої первинної локалізації з ураженням ізольованих однобічних пахвових лімфатичних вузлів у жінок, порівняно із первинними пухлинами молочної залози, для вдосконалення діагностичних алгоритмів.

Матеріали і методи

В роботі проведено ретроспективний аналіз клінічних даних, гістологічних та імуногістологічних характеристик біопсійного матеріалу 29 пацієнток з ураженням ізольованих однобічних пахвових лімфатичних вузлів без відомої первинної локалізації, віком від 32 до 86 років (середнє 61,52±14,42; медіана 60) й 48 спостережень післяопераційного матеріалу пацієнток з первинною пухлиною молочної залози, віком від 30 до 89 років (середнє 55,43±12,19; медіана 56) на базі морфологічного відділу лікувально-діагностичного центру ТОВ «Аптеки медичної академії» (м. Дніпро) за період 2015 – 2017 рр.

Для морфометричного методу використовувалась камера мікроскопу Zeiss Primo Star - Axiocam ERC 5s з ліцензованим програмним забезпеченням ZEN 2 blue edition, інформативні поля зору були зафіксовані в форматі .jpg і оброблені в програмі ImageJ з визначенням периметру, площі та круглості ядер, згідно методики описаної в інших публікаціях [7-8]. Імунногістохімічне дослідження проводилось згідно протоколів компанії TermoScientific (TS), (США). У зрізах завтовшки 4 мкм використовували систему візуалізації Lab Vision Quanto (TS, США) з виявленням білкового ланцюга за допомогою DAB Quanto Chromogen (TS, США). Характеристики моноклональних антитіл занесені в таблицю 1.

Таблиця 1

Первинні моноклональні антитіла

Первинні антитіла	Клон (розведення)	Локалізація реакції
Cytokeratin, Pan	AE1/AE3(1:50)	Цитоплазма
Vimentin	Ab-2/sp20 (1:200)	Цитоплазма
CD45	Ab-3 (1:200)	Мембрана
S100	Ab-1 (1:1000)	Цитоплазма
ER	Ab-1/sp-1 (1:200)	Ядро
PGR	YR85 (1:200)	Ядро
Ki-67	sp6 (1:250)	Ядро
Her-2-new	Ab-1 (1:100)	Мембрана
Cytokeratin 7 (CK7)	RCK105 (1:100)	Цитоплазма
Cytokeratin 20 (CK20)	Ks 20.8 (1:100)	Цитоплазма

Статистичний аналіз параметрів площин, периметрів та коефіцієнту круглості клітин проводили в програмах ImageJ та Microsoft Excel з розрахунком мінімального, максимального, медіани, середнього арифметичного та стандартного відхилення [7-8]. Статистичну значущість відмінності результатів у групах було перевірено за допомогою тесту Фішера в програмі R version 3.4.1 (2017-06-30) -- "Single Candle" Copyright (C) 2017; The R Foundation for Statistical Computing Platform: x86_64-w64-mingw32/x64 (64-bit, з метою визначення сили зв'язку між показниками використовувався коефіцієнт кореляції Пірсона (С). Значення $p<0,05$ було прийнято статистично значущим.

Результати дослідження

Всі відібрані спостереження метастатичних аденокарцином були проаналізовані за патернами гістологічної будови і відповідали «епітеліоідній» морфології Cytokeratin, Pan AE1,AE3+ / Vimentin- / CD45 - / S100- та здебільшого фенотипу карциноми молочної залози CK20- / CK7+ / ER+,- / PGR+,- / Her-2-new+,- після діагностичної імуногістохімічної панелі антитіл (рис. 1 А-Г).

Аналіз розподілу фенотипів метастатичних АК у жінок виявив перевагу аденокарцином молочної залози: 22 із 29 (75,86%), 14 з яких (63,64%) припало на помірнодиференційовані аденокарциноми, а інші 8 (36,36%) були аденокарциноми низького ступеня диференціації. Інші 7 спостережень мали фенотипи метастазів плос-

коклітинного раку (Cytokeratin, Pan AE1,AE3+ / Vimentin- / CK7+ / CK HMB+ (2 із 6); раку яєчників (Cytokeratin, Pan AE1,AE3+ / Vimentin+,- / CK20- / CK7+ / ER+,- CA125+) (2 із 6); та 3 недиференційовані раки з сумнівними фенотипами (Cytokeratin, Pan AE1,AE3+ / Vimentin+,- /? - K20+,- / CK7+,- (рис. 2).

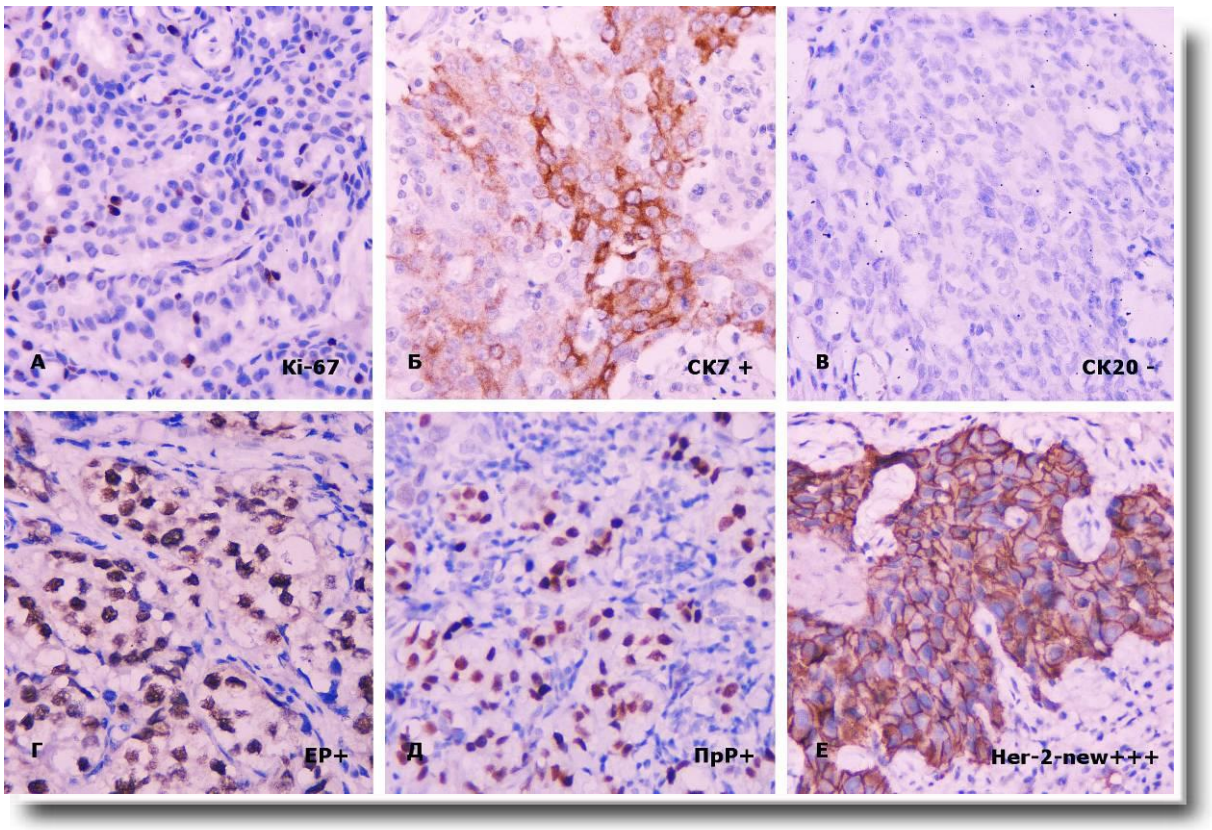

Рис. 1. А. Карцинома невідомої первинної локалізації з ураженням ізольованих однобічних пахвових лімфатичних вузлів фенотипу раку молочної залози, помірна проліферативна активність, інтрануклеарна експресія Ki-67, ІГХ метод з гематоксиліном Майєра (×400). Б. Мембрано-цитоплазматична позитивна реакція з CK7, ІГХ метод з гематоксиліном Майєра (×400). В. Негативна реакція з CK20, ІГХ метод з гематоксиліном Майєра (×400). Г. Інтрануклеарна експресія естрогенових рецепторів (ЕР), ІГХ метод з гематоксиліном Майєра (×400). Д. Інтрануклеарна експресія прогестеронових рецепторів (ПрР), ІГХ метод з гематоксиліном Майєра (×400). Б. Мембранна позитивна реакція з Her-2-new, ІГХ метод з гематоксиліном Майєра (×400).

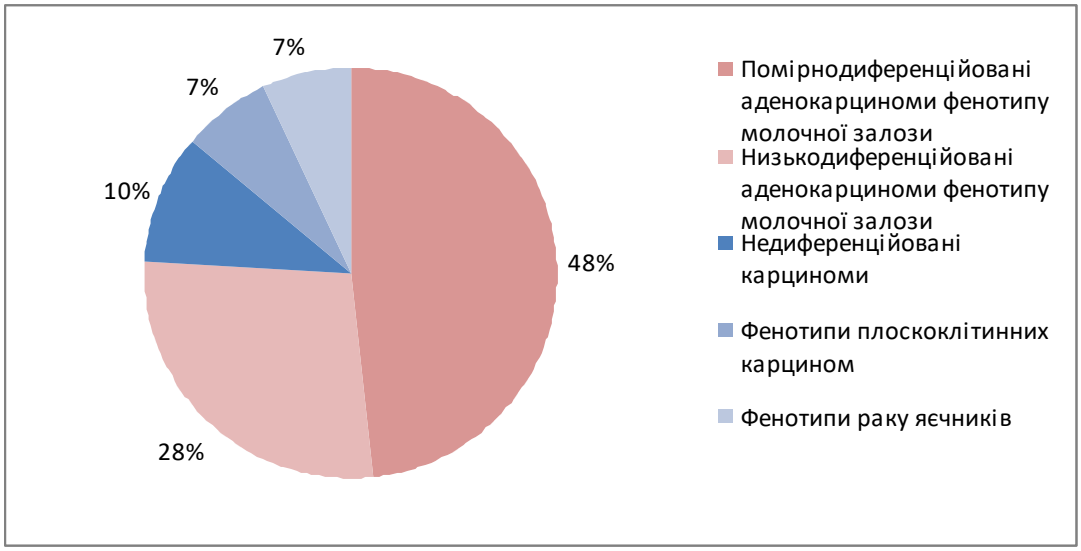

Рис 2. Розподіл фенотипів метастатичних карцином невідомої первинної локалізації з ураженням ізольованих однобічних пахвових лімфатичних вузлів у жінок, %.

Розподіл за комбінаціями прогностичних маркерів «золотого стандарту» діагностики раку молочних залоз, а саме рецепторів естрогенів, прогестеронів та епідермального фактору росту Her-2-new в метастатичних та первинних аденокарциномах молочної залози виявив наявність шести можливих варіацій з твердою перевагою позитивного на гормони і негативного за епідермальним фактором росту фенотипу (ER+/ PGR+/ Her-2-new-) в обох групах (табл. 2).

Таблиця 2

Розподіл фенотипів за комбінацією прогностичних маркерів «золотого стандарту» діагностики раку молочних залоз, n (%)

Тип комбінації прогностичних маркерів	Первинна АК молочної залози, n (%)	Метастатична АК молочної залози, n (%)	p
ER+/ PGR+/ Her-2-new+	2 (4,17)	3 (13,64)	
ER+/ PGR+/ Her-2-new-	29 (60,42)	8 (36,36)	
ER+/ PGR-/ Her-2-new+	1 (2,08)	3 (13,64)	
ER+/ PGR-/ Her-2-new-	6 (12,50)	4 (18,18)	p=0,03746
ER-/ PGR-/ Her-2-new+	2 (4,17)	3 (13,64)	
ER-/ PGR-/ Her-2-new-	8 (16,67)	1 (4,55)	
Всього:	48	22	

Примітка: АК – аденокарцинома, різниця між групами вважалась вірогідною при p<0,05.

Таким чином, імуногістохімічний профіль карцином молочної залози визначив найбільш специфічними маркерами Cytokeratin, Pan AE1,AE3 і цитокератин 7 (100% реакцій), а також маркер рецепторів до естрогену, що був позитивним у 38 із 48 (79,17%) при первинних АК та 18 із 22 (81,82%) при метастатичних АК. Рецептори до прогестерону експресувались в значно меншій кількості: в первинних АК - 31 із 48 (64,58%) та в метастатичних АК – 11 із 22 (50%). До того ж треба звернути увагу на три-негативні спостереження карцином, що склали 16,67% первинних АК та 4,54% метастатичних АК. Останні безумовно потребують розширення діагностичної ІГХ панелі в напрямку органоспецифічності (GATA3, ERM GCDFP-15, TFF1, MGB та інші) для знаходження первинного джерела. Згідно точного тесту Фішера знайдена статистично достовірна різниця між групами (p=0,03746). Не зважаючи на це, подібність гістологічної будови первинних та метастатичних АК молочної залози знайшла своє відображення в подібності показників їх морфометричного дослідження програмою ImageJ, всі p>0,05 (табл. 3).

Таблиця 3

Показники морфометричного дослідження спостережень первинних та метастатичних аденокарцином молочної залози в програмі ImageJ

Тип аденокарциноми	Площа (мкм^2) χ±SD	Периметр (мкм) χ±SD	Коефіцієнт «круглості» (параметр ImageJ) χ±SD
Первинні АК молочної залози	41,115±9,673	25,522±2,963	0,703±0,125
Метастатичні АК молочної залози	30,951±11,026	22,257±3,924	0,648±0,138
p	p>0,05	p>0,05	p>0,05

Примітка: χ±SD – середнє значення ± стандартне відхилення, АК – аденокарцинома, різниця вважалась вірогідною при p<0,05.

Підсумок

Дослідження карцином невідомої первинної локалізації з ураженням ізольованих однобічних пахвових лімфатичних вузлів у жінок виявило значну перевагу Cytokeratin, Pan AE1,AE3+ / цитокератин 7+/ ER+/ PGR+/ Her-2-new- випадків метастатичних АК фенотипу молочної залози. Подібно до первинних пухлин молочної залози, метастатичні карциноми мали морфологічну будову і показники площини, периметру та круглості ядер (всі p>0,05), але відрізнялися розподілом фенотипів за комбінацією прогностичних маркерів «золотого стандарту» діагностики раку молочної залози ER, PGR, Her-2-new (p=0,03746). Жі-

нки із ураженням ізольованих однобічних пахвових лімфатичних вузлів карциномою з фенотипом молочної залози в середньому на п'ять років старші, ніж жінки з первинною пухлиною молочної залози, що також може мати вплив на гормональний статус новоутворення.

З падінням ступеня диференціювання первинні та метастатичні АК молочної залози можуть набувати «три-негативного» статусу, що з огляду на високі відсотки низькодиференційованих аденокарцином і недиференційованих раків серед спостережень (28% і 10% відповідно) потребує розширення ІГХ панелі органоспецифічними маркерами молочної залози (GATA3, ERM GCDFP-15, TFF1, MGB) та маркерами виключення (наприклад CA-125, CK HMW, CDX2 та ін.).

Перспективи подальшого дослідження

Визначення прогностичних факторів стрімкої дисемінації карцином з ураженням ізольованих однобічних пахвових лімфатичних вузлів у жінок, порівняно із первинними пухлинами молочної залози, є перспективним напрямком подальшого дослідження цієї категорії раків невідомої первинної локалізації.

Літературні джерела
References

1 Tomuleasa C, Zaharie F, Muresan M-S, Pop L, Fekete Z, Dima D, Frinc I, Trifa A, Berce C, Jurj A, Berindan-Neagoe I, Zdrenghea M, Ciuleanu T-E. How to Diagnose and Treat a Cancer of Unknown Primary Site. J Gastrointestin Liver Dis. 2017;26(1):69-79.

2 Pentheroudakis G, Lazaridis G, Pavlidis N. Axillary nodal metastases from carcinoma of unknown primary (CUPAx): a systematic review of published evidence. Breast Cancer Res Treat. 2010;119:1–11.

3 Okani U, Dreadin-Pulliam J, Shams Z, Adams M, Mancuso P. Breast Cancer as Isolated Axillary Lymphadenopathy. The Internet Journal of Advanced Nursing Practice. 2012;11(2):1-11.

4 Vajdic CM, Goldstein D. Cancer of unknown primary site. Aust Fam Physician. 2015;44(9):640-3.

5 Lin F, Haiyan Liu. Immunohistochemistry in Undifferentiated Neoplasm / Tumor of Uncertain Origin. Arch Pathol Lab Med. 2014;138:1583-610.

6 Zaun G, Schuler M, Herrmann K, Tannapfel A. CUP syndrome – metastatic malig nancy with unknown primary tumor. Dtsch Arztebl Int. 2018;115:157-62.

7 Poslavskaya OV. [Determination of linear dimensions and square surfaces areas of morphological objects on micrographs using ImageJ software]. Morphologia. 2016;10(3):377-81. Ukrainian.

8 Poslavska OV, Shponka IS, Gritsenko PO, Alekseenko OA. [Morphometric analysis of pancytokeratin-negative neoplastic damages of the lymphatic nodes of the neck]. Medicni perspektivi. 2018;23(1):30-7. Ukrainian.

Послявська А.В., Шпонька І.С., Гриценко П.О., Савченко П.В. Карциноми невідомої первинної локалізації з ізольованим одностороннім ураженням пахвових лімфатичних вузлів у жінок.

РЕФЕРАТ. Серед найбільш важливих досягнень останніх десятиріч у розумінні біології раків невідомої первинної локалізації було виявлення сприятливих клінікопатологічних підгруп (фенотипів), що зустрічаються в 10-20%. Жінки з карциномою молочної залози, що уражує тільки пахвові лімфатичні вузли, являють собою порівняно рідку когорту пацієнтів, які мають перспективи довгострокового виживання. **Матеріали і методи.** В роботі проведено ретроспективний аналіз характеристик біопсійного матеріалу 29 пацієнток з ураженням ізольованих однобічних пахвових лімфатичних вузлів без відомої первинної локалізації, віком від 32 до 86 років (середнє 61,52±14,42; медіана 60) й 48 спостережень післяопераційного матеріалу пацієнток з первинною пухлиною молочної залози, віком від 30 до 89 років (середнє 55,43±12,19; медіана 56) за період 2015 – 2017 рр. **Результати дослідження.** Дослідження карцином невідомої первинної локалізації з ураженням ізольованих однобічних пахвових лімфатичних вузлів у жінок виявило значну перевагу Cytokeratin, Pan AE1,AE3+ / цитокератин 7+/ ER+/ PGR+/ Her-2-new- випадків метастатичних карцином фенотипу молочної залози. Подібно до первинних пухлин молочної залози, метастатичні карциноми мали морфологічну будову і показники площини, периметру та круглості ядер (всі p>0,05), але відрізнялися розподілом фенотипів за комбінацією прогностичних маркерів «золотого стандарту» ER, PGR, Her-2-new (p=0,03746). **Висновки.** З падінням ступеня диференціювання первинні та метастатичні АК молочної залози можуть набувати «три-негативного» статусу, що з огляду на високі відсотки низькодиференційованих аденокарцином і недиференційованих раків серед спостережень (28% і 10% відповідно), потребує розширення ІГХ панелі органоспецифічними маркерами молочної залози та маркерами виключення.

Ключові слова: раки без первинної локалізації, ізольоване ураження пахвових лімфатичних вузлів, СК7,ЕР.

Пославская А.В., Шпонька И.С., Гриценко П.А., Савченко П.В. Карциномы неизвестной первичной локализации с изолированным односторонним поражением подмышечных лимфатических узлов у женщин.

РЕФЕРАТ. Среди наиболее важных достижений последних десятилетий в понимании биологии раков неизвестной первичной локализации было нахождение благоприятных клинико-патологических подгрупп, встречающихся в 10-20%. Женщины с метастатической карциномой молочной железы, которая поражает только подмышечные лимфатические узлы, представляют собой сравнительно небольшую когорту пациентов с перспективами долгосрочного выживания. **Материалы и методы.** В работе проведен ретроспективный анализ характеристик биопсийного материала 29 пациенток с односторонним поражением изолированных подмышечных лимфатических узлов без известной первичной локализации опухоли в возрасте от 32 до 86 лет (среднее 61,52 ± 14,42; медиана 60) и 48 наблюдений послеоперационного материала пациенток с первичной опухолью молочной железы в возрасте от 30 до 89 лет (среднее 55,43 ± 12,19; медиана 56) за период 2015 – 2017. **Результаты.** Исследование карцином неизвестной первичной локализации с односторонним поражением изолированных подмышечных лимфатических узлов у женщин выявило значительное преимущество Cytokeratin, Pan AE1, AE3 + / цитокератин 7 + / ER + / PGR + / Her-2-new- случаев метастатических карцином с фенотипом молочной железы. Подобно первичным опухолям молочной железы, метастатические карциномы имели морфологическое строение, а также показатели площади, периметра и круглости ядер (все $p<0,05$), но отличались распределением фенотипов по комбинации прогностических маркеров «золотого стандарта» ER, PGR, Her-2-new ($p=0,03746$). **Выводы.** С падением степени дифференцировки первичные и метастатические АК молочной железы могут приобретать «три-негативный» статус, учитывая высокие проценты низкодифференцированных аденокарцином и недифференцированных раков среди наблюдений (28% и 10% соответственно), имуногистохимическая панель нуждается в расширении органоспецифическими маркерами молочной железы и маркерами исключения.

Ключевые слова: раки без первичной локализации, изолированное поражение подмышечных лимфатических узлов, СК7, ЭР.