

Л.А. Налєскіна
Т.В. Задворний
Л.М. Кунська
Н.Ю. Лук'янова

Інститут експериментальної
патології, онкології і
радіобіології ім. Р.Є. Кавецько-
го НАН України,
Київ, Україна



Надійшла: 04.09.2021

Прийнята: 20.09.2021

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2021.3.119-124>

УДК: 618.19-006-007.7:616-036.4

МОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ІН- ВАЗІЇ ПУХЛИННИХ КЛІТИН ІНВА- ЗИВНОГО ПРОТОКОВОГО РАКУ МО- ЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ

Naleskina L.A.  ✉, Kunska L.M. , Zadvornyi T.V. , Lukianova N.Y.  Morphological features of invasion of tumor cells of invasive ductal breast cancer.

Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine.

ABSTRACT. Background. Nowadays, it has been proven that along with the invasion of individual tumor cells, their group migration occurs in the invasive front of the tumor, and this is an important factor in tumor progression. **Objective:** to determine the features of tumor cell invasion in the invasive front (IF) of invasive ductal breast cancer (BCa) without special specific features (IC NST) and to establish associative links between them and the clinical and pathological characteristics of the disease. **Methods.** The study was performed on BCa samples (after hematoxylin and eosin stained) from 120 patients with invasive ductal BCa I-II stage with G2 grade of tumor differentiation that didn't receive neoadjuvant chemotherapy. **Results.** Tumors were divided into 3 groups: with predominance of parenchymal component (PC), with the larger component of connective tissue, and relatively equivalent ratio of these components. Within the IF of the studied tumors of patients with II stage of the tumor process, group invasion of tumor structures was mainly determined, both separately and in combination. In particular, an increase in solid structures in tumors with a predominance of the PC, and in neoplasms with expressed desmoplastic changes in connective tissue and their advantage, - alveolar, tubular, discrete. **Conclusion.** In tumors of patients with invasive ductal BCa in the invasive front is dominated by collective migration of tumor cells, which is the starting mechanism of tumor progression and the first step of the metastatic process. Defined associative links between the features of tumor cell invasion and the clinical and pathological characteristics of the tumor process in BCa patients can be used in predicting this form of cancer.

Key words: invasive ductal breast cancer, invasion of tumor cells, solid, alveolar, tubular, trabecular, discrete structures, parenchymal-stromal relationships, desmoplasia.

Citation:

Naleskina LA, Kunska LM, Zadvornyi TV, Lukianova NY. [Morphological features of invasion of tumor cells of invasive ductal breast cancer]. Morphologia. 2021;15(3):119-24. Ukrainian.

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2021.3.119-124>

 Naleskina L.A. 0000-0002-8623-4419;  Zadvornyi T.V. 0000-0003-3033-3976

 Kunska L.M. 0000-0002-5396-6066;  Lukianova N.Y. 0000-0002-3698-3868

✉ Naleskina@ukr.net

© Dnipro State Medical University, «Morphologia»

Вступ

Загальновідомо, що у межах злоякісного новоутворення, як правило, визначається посилення росту пухлинних клітин з інвазією їх у оточуючі тканини. Вже доведено, що міграція злоякісно трансформованих клітин може здійснюватись різними способами і певним чином залежить від гістогенезу та морфоструктурних особливостей пухлин [1].

Довгий час вважалося, що інвазія відбувається лише за рахунок окремих клітин або невеликої їх кількості, коли вони набувають агресивного фенотипу, але останнім часом багатьма дослідженнями доведено існування групової інвазії пухлинних клітин, а також встановлено переваги такого способу щодо пухлинної прогресії [2].

Це показано при вивченні раку різної ло-

калізації. Зокрема, опубліковані дані про групове (колективне) переміщення у оточуючі тканини пухлинних клітин раку шлунка, товстої кишки, порожнини рота, передміхурової залози, тощо, та про наявність кореляційних зв'язків між цим біологічним явищем і виникненням регіонарних метастазів [3-5].

Отже, на сьогоднішній день неперечним є факт, що інвазію, особливо колективну, можна розцінювати як пусковий механізм прогресії пухлини та вирішальний крок на шляху до метастазування, перш за все, регіонарного. Тобто інвазія і метастазування є дві невід'ємні складові онкогенезу.

Метою власного дослідження було визначити співвідношення просторових клітинних компонентів та особливості інвазії їх в інвазивному фронті інвазивного протокового раку молочної залози (PMЗ) без особливих специфічних ознак (IC NST) і встановити асоціативні зв'язки між ними та клінікопатологічними характеристиками перебігу захворювання.

Матеріали та методи

Дослідження проведено на клінічному матеріалі жінок, хворих на PMЗ I-II-ї стадії з морфологічно верифікованим діагнозом — інвазивний протоковий PMЗ без особливих специфічних ознак (IC NST) із G2 ступенем диференціювання (120 осіб), які знаходились на лікуванні у Київському міському клінічному онкологічному центрі. Усі хворі надали інформовану згоду на використання даних щодо перебігу захворювання та біологічного матеріалу для проведення наукових досліджень. Згідно висновку комісії з біоетики Інституту експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України, наведені у статті матеріали відповідають вимогам щодо конфіденційності даних про онкологічних хворих, дотримання їх прав та біоетичних норм згідно положень чинного законодавства України (2001 р.) та принципів Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації (2008 р.).

До оперативного втручання пацієнтки не отримували неoad'ювантної терапії. Первинні осередки пухлин та лімфатичні вузли піддавались традиційній гістологічній обробці із подальшим виготовленням гістологічних зразків і фарбуванням їх гематоксилином та еозином. У 17 пацієнток при морфологічному дослідженні лімфатичних вузлів були визначені метастатичні ураження від 1 до 10 вузлів. Цифровий матеріал оброблений методом варіаційної статистики з використанням математичної програми медико-біологічної статистики STATISTICA 6.0.

Результати та їх обговорення

Світлооптичне дослідження кожного новоутворення хворих на інвазивний протоковий PMЗ показало, що всі вони різняться між собою, перш за все, за загальною архітектонікою. Зокрема, в одних пухлинах переважав паренхіма-

тозний компонент, тобто клітинні структури, в інших — стромальний, сполучно-тканинний, у частині новоутворень ці компоненти зустрічались майже у рівних співвідношеннях. За даними літератури, проявом реакції сполучної тканини на розвиток епітеліальної пухлини є фіброз сполучної тканини із підвищенням її жорсткості, яка пов'язана із щільною продукцією та відкладенням молекул позапухлинного матриксу, зокрема колагену I типу, і відбувається за участі міофібробластів, кількість яких при цьому значно підвищується [6]. Крім того, показано, що на процес фіброзних змін у стромальному компоненті злоякісної пухлини, тобто на її десмоплазію, суттєво впливають пухлиноасоційовані фіброласти [7-9]. Отже, створені таким чином умови в оточенні пухлини разом із механічною напругою, під якою здебільшого знаходиться сполучна тканина і про яку говорять автори у ряді публікацій, сприяють міграції, інвазії злоякісно трансформованих клітин і подальшому метастазуванню, а отже відіграють ключову роль у пухлинній прогресії [10].

З другого боку, внутрішньопухлинний профіль інвазивного фронту досліджених новоутворень, певним чином, відрізнявся за складом просторових клітинних структур. Загалом це були солідні, трабекулярні, тубулярні, альвеолярні клітинні структури, а також поодинокі клітини та такі, що утворювали дискретні групи. Висловлено думку, що зазначене різноманіття просторових структур в інвазивному компоненті інвазивного протокового PMЗ відображає його фенотипову гетерогенність [11]. З цього приводу існує припущення, що у процесі розвитку пухлини відбуваються зміни здатності експресійних можливостей пухлинних клітин, перш за все, молекул адгезії, завдяки чому з'являються нові варіанти пухлинних структур, які пов'язують з епітеліально-мезенхімальним переходом, внаслідок чого клітини набувають інвазивних властивостей [12].

На власному матеріалі більшість просторових клітинних структур у різних комбінаціях визначалась в межах одного новоутворення, деякі були відсутні в одних пухлинах, але спостерігались в інших. Встановлено певні особливості комбінаторики та кількісного співвідношення епітеліальних просторових структур в залежності від переважання у пухлинах паренхіматозного або стромального компонентів (табл. 1).

Слід зазначити, що у всіх новоутвореннях, незалежно від співвідношень строми та паренхіми, інвазія пухлинних клітин у інвазивному фронті здебільшого носила груповий характер для всіх просторових структур за виключенням дискретних, які дифузно мігрували у сполучній тканині.

Так, у пухлинах з переважанням паренхіма-

тозного компоненту спостерігалась колективна інвазія пухлинних клітин за рахунок солідних

структур (рис. 1), які з найбільшою перевагою зустрічались у цих новоутвореннях (78,8%).

Таблиця 1

Частота спостереження просторових клітинних структур (%) в інвазивному компоненті інвазивного протокового РМЗ в залежності від дольового співвідношення паренхіми та строми

Просторові структури	Кількість просторових структур (%) в інвазивному компоненті пухлин з різним дольовим співвідношенням паренхіми та строми		
	А	Б	В
Солідні	78,8	48,2	59,5
Альвеолярні	37,5	62,9	51,3
Тубулярні	33,3	25,9	24,3
Трабекулярні	16,7	44,4	32,4
Дискретні	14,6	70,4	59,5

Примітка: А — переважання в інвазивному компоненті пухлин клітинних структур, Б — переважання в інвазивному компоненті пухлин сполучної тканини, В — відносно рівноцінне співвідношення А і Б в інвазивному компоненті пухлин.

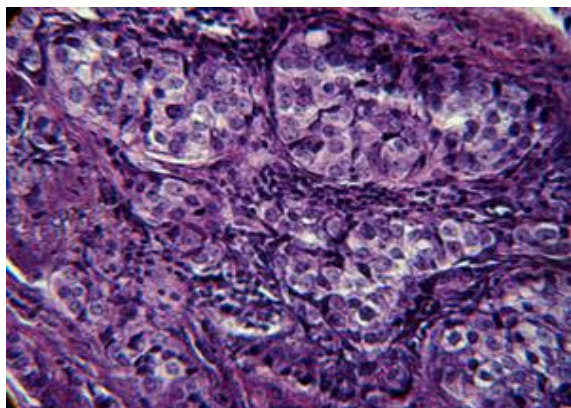


Рис. 1. Групова інвазія солідних осередків пухлинних клітин в інвазивному компоненті інвазивного протокового РМЗ. Забарвлення гематоксилином та еозином. $\times 400$.

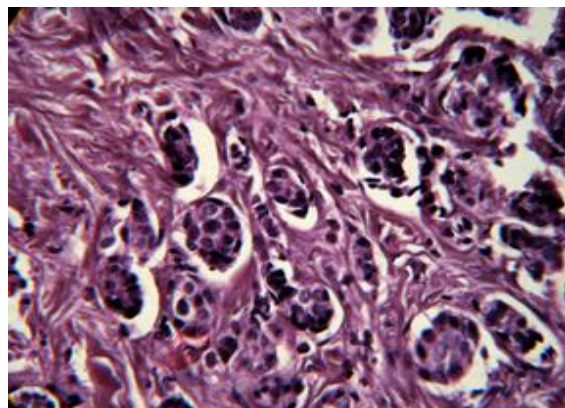


Рис. 2. Інвазія альвеолярних структур в інвазивному фронті інвазивного протокового РМЗ з переважанням сполучнотканинного компоненту. Забарвлення гематоксилином та еозином. $\times 400$.

У той же час у пухлинах із суттєво більшою часткою сполучно-тканинного компоненту з ознаками десмоплазії і новоутвореннях з рівноцінним співвідношенням паренхіматозно-стромального компоненту також визначалась інвазія пухлинних клітин, але здійснювалась вона шляхом міграції невеликих угруповань (рис. 2, 3), у вигляді альвеолярних структур (62,9% та 51,3%, відповідно), а також тубулярних.

Як вже було вище сказано, у сполучній тканині груп пухлин із значно вираженим стромальним компонентом у великій кількості спостерігалась інвазія дискретних структур та поодиноких клітин, яка мала дифузний характер і за кількістю становила 70,4% та 59,5%, відповідно, порівняно із кількістю таких клітин (14,6%) у пухлинах із переважанням солідного компоненту (рис. 4).

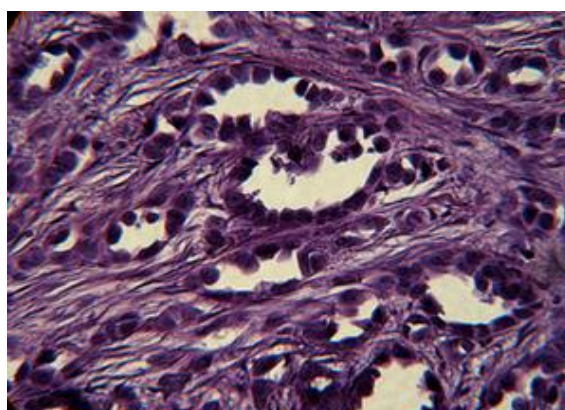


Рис. 3. Тубулярні структури в інвазивному фронті волокнистої сполучної тканини інвазивного протокового РМЗ. Забарвлення гематоксилином та еозином. $\times 400$.

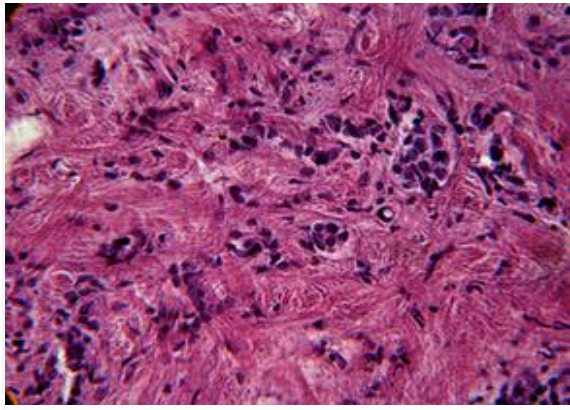


Рис. 4. Інвазія дискретних угруповань та окремих пухлинних клітин в інвазивному фронті десмопластично зміненої сполучної тканини інвазивного протокового РМЗ. Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 400$.

Зазначені особливості можна вважати свідченням активної кооперативної інвазії пухлинних клітин у інвазивному фронті зазначених спостережень, який розцінюється як межа між тканинними системами через яку клітини взаємодіють [13]. Підтвердженням цього є те, що у 2-х наведених групах пухлин порівняно з новоутвореннями, в яких переважав паренхіматозний компонент, у мікрооточенні спостерігався посилений неоангіогенез, а також наявність реактивних лімфоцитарно-гістіоцитарних інфільтратів як локального, дифузного, так і поширеного характеру (рис. 5).

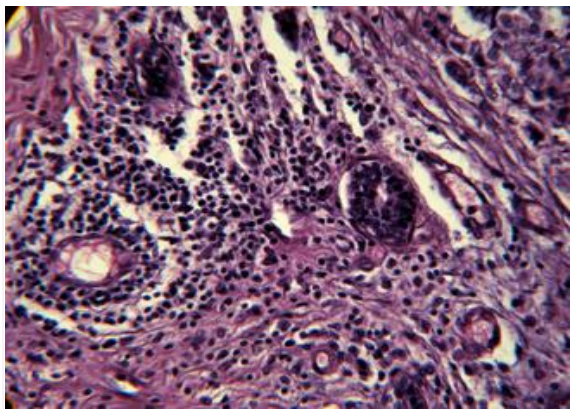


Рис. 5. Локальні муфтоподібні навколо судин та дифузні лімфоцитарні інфільтрати в інвазивному компоненті інвазивного протокового РМЗ. Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 400$.

У деяких пухлинах, зокрема хворих з метастатичним ураженням лімфатичних вузлів, у судинах були помічені метастатичні емболи (рис. 6).

Оскільки у всіх хворих на інвазивний протоковий РМЗ при клінічному обстеженні було встановлено I та здебільшого II стадію пухлинного процесу та G2 ступінь диференціювання

новоутворень, тобто у певній мірі одноманітні клініко-морфологічні ознаки захворювання, було проведено індивідуалізоване зіставлення морфологічних особливостей інвазивних пухлинних структур в інвазивному фронті з такими клініко-патологічними характеристиками як ураження метастазами регіонарних лімфатичних вузлів та молекулярні підтипи пухлин.

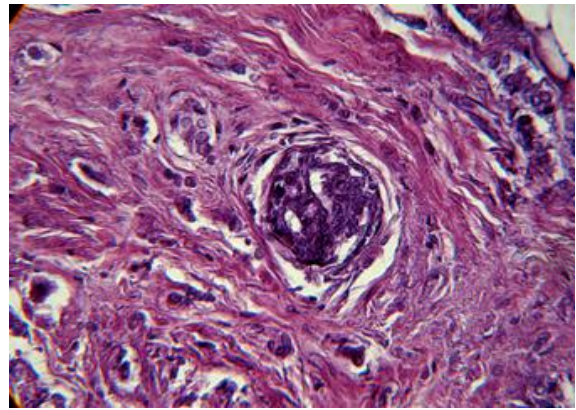


Рис. 6. Ембол з конгломерату пухлинних клітин у судині інвазивного компоненту інвазивного протокового РМЗ. Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 400$.

За результатами зіставлення морфологічних даних з клінічними проявами пухлинного процесу у хворих на інвазивний протоковий РМЗ, в новоутвореннях, в яких виявлено високий відсоток альвеолярних структур в інвазивному фронті, частіше визначалось ураження метастазами регіонарних лімфатичних вузлів. Паралельно з цим, зазначено, що високий відсоток альвеолярних структур в інвазивному фронті був характерний для пухлин з люмінальним В та базальним молекулярними підтипами.

Висновки

1. Встановлено, що інвазія пухлинних клітин, особливо колективна, у первинному осередку хворих на РМЗ є стартовим механізмом пухлинної прогресії і першим кроком метастатичного процесу.

2. Визначені нами особливості інвазії пухлинних клітин у межах новоутворень та асоціативні зв'язки між зазначеними особливостями та станом мікрооточення і клініко-морфологічними характеристиками при інвазивному протоковому РМЗ можуть бути використані при прогнозуванні цієї форми раку. Таке ствердження узгоджується з існуючими в літературі повідомленнями про наявність кореляційних зв'язків між певними клітинними структурами інвазивного компоненту інвазивного протокового РМЗ, зокрема альвеолярними і трабекулярними, та перебігом захворювання.

Джерела фінансування

Дослідження проведено в рамках науководослідних тем «Молекулярно-біологічні фактори

гетерогенності злоякісних клітин та варіабельність клінічного перебігу гормонозалежних пухлин» (номер державної реєстрації 0117U002034), «Роль маркерів ремоделювання кісткової тканини у формуванні ступеня злоякісності найбільш розповсюджених гормонозалежних новоутво-

рень» (номер державної реєстрації 0118U005468).

Інформація про конфлікт інтересів

Потенційних або явних конфліктів інтересів, що пов'язані з цим рукописом, на момент публікації не існує та не передбачається.

Літературні джерела

References

1. Jiang WG, Sanders AJ, Katoh M, Ungefroren H, Gieseler F, Prince M, Thompson SK, Zollo M, Spano D, Dhawan P, Sliva D, Subbarayan PR, Sarkar M, Honoki K, Fujii H, Georgakilas AG, Amedei A, Niccolai E, Amin A, Ashraf SS, Ye L, Helferich WG, Yang X, Boosani CS, Guha G, Cirio- lo MR, Aquilano K, Chen S, Azmi AS, Keith WN, Bilsland A, Bhakta D, Halicka D, Nowsheen S, Pantano F, Santini D. Tissue invasion and metastasis: Molecular, biological and clinical perspectives. *Semin Cancer Biol.* 2015;35:244-275. DOI:10.1016/j.semcancer.2015.03.008.
2. Lintz M, Muñoz A, Reinhart-King CA. The mechanics of single cell and collective migration of tumor cells. *J Biomech Eng.* 2017;139(2):210051–210059. DOI:10.1115/1.4035121
3. Gerashchenko TS, Novikov NM, Krakhmal NV, Zolotaryova SY, Zavyalova MV, Cherdyntseva NV, Denisov EV, Perelmuter VM. [Markers of Cancer Cell Invasion: Are They Good Enough]. *J Clin Med.* 2019;8(8):1092. Russian. DOI:10.3390/jcm8081092.
4. Shimizu S, Miyazaki A, Sonoda T, Koike K, Ogi K, Kobayashi J-I, Kaneko T, Igarashi T, Ueda M, Dehari H, Miyakawa A, Hasegawa T, Hiratsuka H. Tumor budding is an independent prognostic marker in early stage oral squamous cell carcinoma: With special reference to the mode of invasion and worst pattern of invasion. *PLoS One.* 2018;13(4):e0195451. DOI:10.1371/journal.pone.0195451.
5. Lino-Silva LS, Salcedo-Hernández RA, Gamboa-Domínguez A. Tumour budding in rectal cancer. A comprehensive review. *Contemp Oncol (Pozn).* 2018;22(2):61–74. DOI:10.5114/wo.2018.77043.
6. Yavuz BG, Pestana RC, Abugabal YI, Krishnan S, Chen J, Hassan MM, Wolff RA, Rashid A, Amin AM, Kaseb AO. Origin and role of hepatic myofibroblasts in hepatocellular carcinoma Oncotarget. 2020;11:1186-1201. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.27532>.
7. Attieh Y, Clark AG, Grass C, Richon S, Pocard M, Mariani P, Elkhatib N, Betz T, Gurchenkov B, Vignjevic DM. Cancer-associated fibroblasts lead tumor invasion through integrin-beta3-dependent fibronectin assembly. *J Cell Biol.* 2017;216(11):3509-3520. DOI:10.1083/jcb.201702033.1–12.
8. Lo A, Wang L-CS, Scholler J, Monslow J, Avery D, Newick K, O'Brien S, Evans RA, Bajor DJ, Clendenin C, Durham AC, Buza EL, Vonderheide RH, June CH, Albelda SM and Puré E. Tumor-promoting Desmoplasia is disrupted by depleting FAP-expressing stromal cells. *Cancer Res.* 2018;5(14):2800–2810. DOI:10.1158/0008-5472.CAN-14-3041.
9. Karagiannis GS, Poutahidis T, Erdman SE, Kirsch R, Riddell RH, Diamandis EP. Cancer-Associated Fibroblasts Drive the Progression of Metastasis through both Paracrine and Mechanical Pressureon Cancer Tissue. *Mol Cancer Res.* 2012;10(11):1403–1418.
10. Najgebauer H, Liloglou T, Jithesh PV, Giger OT, Varro A, Sanderson CM. Integrated omics profiling reveals novel patterns of epigenetic programming in cancer-associated myofibroblasts. *Carcinogenesis.* 2019;40(4):500–512. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgz001>.
11. Denisov EV, Gerashchenko TS, Tashireva LA, Pautova DN, Zavyalova MV, Cherdyntseva NV, Perelmuter VM. [The significance of intratumor morphological heterogeneity in breast cancer progression and pathogenetic mechanisms]. *Ann Oncol.* 2015;26(9):153–155. Russian.
12. Krakhmal NV, Zavyalova MV, Denisov EV, Vtorushin SV, Perelmuter VM. [Cancer invasion: patterns and mechanisms]. *Acta Naturae.* 2015;7(2):17–28. Russian.
13. Sanegre S, Eritja N, de Andrea C, Diaz-Martin J, Diaz-Lagares A, Jácome MA, Salguero-Aranda C, Ros DG, Davidson B, Lopez R, Melero I, Navarro S, Caja SR, de Alava E. Characterizing the Invasive Tumor Front of Aggressive Uterine Adenocarcinoma and Leiomyosarcoma. *Front. Cell Dev.* 2021;9:5.

Налескіна Л.А., Задворний Т.В., Кунська Л.М., Лук'янова Н.Ю. Морфологічні особливості інвазії пухлинних клітин інвазивного протокового раку молочної залози.

РЕФЕРАТ. Актуальність. На сьогодні доведено, що поряд з інвазією окремих пухлинних клітин відбувається їх групова міграція в інвазивному фронті (ІФ) новоутворення, і це є вагомим фактором що-

до пухлинної прогресії. **Мета.** Визначити особливості інвазії пухлинних клітин в ІФ інвазивного протокового раку молочної залози (РМЗ) без особливих специфічних ознак (IC NST) та встановити асоціативні зв'язки між ними та клініко-патологічними характеристиками перебігу захворювання. **Методи.** Досліджено гістологічний матеріал, забарвлений гематоксилином та еозином, 120 хворих на інвазивний протоковий РМЗ I-II стадії із G2 ступенем диференціювання новоутворення, які не отримували неоад'ювантну хіміотерапію. **Результати.** Згідно світлооптичному аналізу гістологічного матеріалу, пухлини розподілені на 3 групи: з переважанням паренхіматозного компоненту (ПК), з більшою складовою сполучної тканини, відносно рівноцінним співвідношенням цих компонентів. У межах ІФ досліджених пухлин пацієнтів із II стадією здебільшого зазначено групову інвазію пухлинних структур, як окремо взятих, так і у комбінації. Зокрема, перебільшення солідних структур у пухлинах з переважанням ПК, а у новоутвореннях із вираженими десмопластичними змінами сполучної тканини і їх перевагою, - альвеолярні, тубулярні, дискретні. **Висновки.** У пухлинах хворих на інвазивний протоковий РМЗ в ІФ переважає колективна міграція пухлинних клітин, яка є стартовим механізмом пухлинної прогресії і першим кроком метастатичного процесу. Визначено асоціативні зв'язки між особливостями інвазії пухлинних клітин та клініко-патологічними характеристиками перебігу пухлинного процесу у хворих на інвазивний протоковий РМЗ, що може бути використано при прогнозуванні цієї форми раку.

Ключові слова: інвазивний протоковий рак молочної залози, інвазія пухлинних клітин, солідні, альвеолярні, тубулярні, трабекулярні, дискретні структури, паренхіматозно-стромальні співвідношення, десмоплазія.

Налескина Л.А., Задворный Т.В., Кунская Л.Н., Лукьянова Н.Ю. Морфологические особенности инвазии опухолевых клеток инвазивного протокового рака молочной железы.

РЕФЕРАТ. Актуальность. Доказано, что наряду с инвазией отдельных опухолевых клеток происходит их групповая миграция в инвазивном фронте (ИФ) новообразования, и это является весомым фактором опухолевой прогрессии. **Цель.** Определить особенности инвазии опухолевых клеток в ИФ инвазивного протокового рака молочной железы (РМЖ) без особых специфических признаков (IC NST) и установить ассоциативные связи между ними и клинико-патологическими характеристиками течения заболевания. **Методы.** Исследован гистологический материал, окрашенный гематоксилином и эозином, 120 больных инвазивным протоковым РМЖ I-II стадии с G2 новообразованиями, которые не получали неоадъювантной химиотерапии. **Результаты.** Опухоли распределены на 3 группы: с преобладанием паренхиматозного компонента (ПК), с большей долей соединительной ткани (СТ), относительно равноценным соотношением этих компонентов. В рамках ИФ опухолей пациенток с II стадией опухолевого процесса преобладала групповая инвазия опухолевых структур, как отдельно взятых, так и в комбинации, в частности, солідных структур в опухолях с превалированием ПК, в новообразованиях с выраженными десмопластическими изменениями СТ и их преимуществом, - альвеолярных, тубулярных, дискретных. **Выводы.** В опухолях больных инвазивным протоковым РМЖ в инвазивном фронте преобладает коллективная миграция опухолевых клеток, которая является стартовым механизмом опухолевой прогрессии и первым шагом метастатического процесса. Определены ассоциативные связи между особенностями инвазии опухолевых клеток и клинико-патологическими характеристиками течения опухолевого процесса у больных инвазивным протоковым РМЖ, что может быть использовано при прогнозировании этой формы патологии.

Ключевые слова: инвазивный протоковый рак молочной железы, инвазия опухолевых клеток, солідные, альвеолярные, тубулярные, трабекулярные, дискретные структуры, паренхиматозно-стромальные соотношения, десмоплазия.