

**РЕПЕРТУАР КОСТНОМОЗГОВЫХ КЛЕТОК ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ,
АССОЦИИРОВАННЫХ С ЛИМФОГЕННЫМ МЕТАСТАЗИРОВАНИЕМ У БОЛЬНЫХ
ИНВАЗИВНОЙ КАРЦИНОМОЙ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОГО ТИПА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

А.В. Бузенкова, Р.Х. Мухамеджанов, Л.А. Таширева

Научный руководитель: д-р. мед. наук, ведущий научный сотрудник отделения общей и молекулярной патологии О.Е. Савельева

Научно-исследовательский институт онкологии Томского национального исследовательского
медицинского центра Российской академии наук,

Россия, г. Томск, ул. Савиных, 12/1, 634028

E-mail: Angelina1993-21@mail.ru

**THE REPERTORY OF BONE MARROW PROGENITOR CELLS ASSOCIATED WITH
LYMPHOGENIC METASTASIS IN PATIENTS WITH INVASIVE CARCINOMA OF NO SPECIAL
TYPE**

A.V. Buzenkova, R.K. Mukhamedzhanov, L.A. Tashireva

Scientific Supervisor: Doctor of medical sciences, leading scientific worker of Department of General and
Molecular Pathology, O.E. Savel'eva

Cancer Research Institute of Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences
Russia, Tomsk, Savinykh str., 12/1, 634028

E-mail: Angelina1993-21@mail.ru

Abstract. *The high mortality of patients with breast cancer is determined by metastatic disease. It is thought that the metastatic disease development associated with the repertory of bone marrow progenitor cells in breast cancer patients. In our study the correlation between the bone marrow progenitor cells presences in the tumor and blood of patients and the lymphogenic metastasis development was studied. The main clinical and pathological parameters of 24 patients with invasive breast carcinoma of non-specific type were analyzed. Endothelial progenitor cells, mesenchymal stem cells, macrophage precursors, hematopoietic progenitor cells were detected with specific antibodies against CD34, CD133, CD90, VEGFR1, CD11b, CD45, CD202 in the cell-rich fluid from frozen tumor. The amount of MCP-1 in the patients blood serum was assessed by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), at a wavelength of 450 nm. The cytokines concentration was calculated from the calibration plot. The program package Statistica 10.0. was used for statistical data processing. The high risk of lymphogenic metastasis in patients who didn't complete a neoadjuvant chemotherapy course was associated with the number of HPC, EPC and MSC in tumor and MCP-1 in blood.*

Введение. Преобладающей причиной смертности при раке молочной железы является метастазирование. Согласно современным представлениям наиболее точно механизмы метастазирования объясняет гипотеза S.Paget о «семенах и почве», в соответствие с которой локализация будущих метастазов определяется премеастатическими нишами. В этой связи изучение состава и функционирования опухолевых и премеастатических ниш особенно актуально.

Преметастатические и опухолевые ниши являются сложными системами, в которых различные клеточные популяции, а именно: рекрутируемые под влиянием опухолевых хемокинов костномозговые клетки предшественники, эндотелиальные клетки, фибробласты и клетки иммунной системы непрерывно взаимодействуют с компонентами внеклеточного матрикса и сосудистой сетью [1]. Кроме того, слаженное функционирование данной системы обеспечивает поддержание пролиферативной активности опухолевых клеток и активацию процессов неоангиогенеза. Все эти события способствуют прогрессии первичной опухоли, а также созданию благоприятных условий для отдаленного метастазирования [2].

Прямая идентификация преметастатических ниш в организме человека на сегодняшний день недоступна для исследователя. Однако существует мнение, согласно которому собственно опухолевая ниша и её вклад в развитие лимфогенного метастазирования являются отражением событий, происходящих в преметастатической нише [3].

Целью исследования являлось изучение состава опухолевой ниши, ассоциированной с развитием лимфогенных метастазов у больных инвазивной карциномой неспецифического типа молочной железы.

Материал для исследования. В исследование были включены 24 больных инвазивной карциномой неспецифического типа молочной железы T1-4N0-3M0 в возрасте от 29 до 70 лет. Из 24 пациентов предоперационное лечение получали 8 больных. У 11 пациентов были обнаружены лимфогенные метастазы, у 13 пациентов метастазы отсутствовали. Выполнялось морфологическое исследование материала, удаленного во время операции радикальной мастэктомии или секторальной резекции молочной железы. Материал фиксировался в 10% растворе нейтрального формалина. Проводка материала и изготовление гистологических препаратов осуществлялось по стандартной методике. Соотношение паренхиматозного и стромального компонентов новообразования оценивалось по трёхбалльной системе. Одним баллом (слабо выраженный фиброз) оценивали случаи, когда доля паренхиматозного компонента превышала 70%, двумя баллами (умеренно выраженный фиброз) – когда доля паренхиматозного компонента составляла 10–70%, тремя баллами (резко выраженный фиброз) – когда доля паренхиматозного компонента составляла менее 10%. В строме опухоли оценивалась выраженность гиалиноза и воспалительной инфильтрации по трех балльной системе (1 балл – слабо, 2 балла – умеренно, 3 балла – резко выражен). Из образцов свежемороженого операционного опухолевого материала готовили суспензии, в которых с помощью специфических антител против CD34, CD133, CD90, VEGFR1, CD11b, CD45, CD202 выявляли эндотелиальные клетки-предшественники, мезенхимальные стволовые клетки, предшественники макрофагов, кроветворные клетки предшественники. Содержание MCP-1 в сыворотке крови пациентов оценивали с помощью твердофазного ИФА согласно протоколам производителей тест-систем на микропланшетном фотометре Multiskan EX (Thermo Fisher Scientific) при длине волны 450 нм. Концентрацию цитокинов вычисляли по калибровочной кривой. Для статистической обработки был использован пакет программ Statistica 10.0.

Результаты. Используя многофакторный метод обработки данных (метод логистической регрессии) был выявлен комплекс взаимоотношений между изучаемыми параметрами, который связан с высоким риском развития лимфогенных метастазов у пациенток с инвазивной карциномой неспецифического типа молочной железы, не получавших неoadъювантную терапию. В математическую модель, характеризующую саму опухолевую нишу, вошли такие переменные, как: выраженность

фиброза стромы, количество гемопоэтических клеток предшественников (НРС), эндотелиальных клеток предшественников (ЕРС) и мезенхимальных стволовых клеток (MSC) в строме опухоли, а также уровень моноцитарного хемоаттрактантного протеина-1 (MCP-1) в крови. Степень достоверности данной модели составила $\chi^2 = 552,9$; $p = 0,0000$, чувствительность – 100%, специфичность – 100%. Наличие у пациентов лимфогенных метастазов можно рассматривать в качестве индикатора эффективности возникновения в опухолевой нише «семян» (клеток с повышенным метастатическим потенциалом), поскольку в лимфатических узлах, как полагают, премеастатическая ниша предуготована. Аналогичные события в премеастатической нише, вероятно, могли бы способствовать и развитию гематогенных метастазов.

Выводы. Мы показали, что опухолевая ниша представляет собой набор клеток (НРС, ЕРС, MSC), цитокины которых имеют отношение к развитию воспаления, включая рекрутирование моноцитов (MCP-1), а также секреции факторов, способствующих как росту опухоли, так и лимфогенному метастазированию.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Barcellos-Hoff, M., Lyden, D., Wang, T. (2013). The evolution of the cancer niche during multistage carcinogenesis [Electronic version]. *Journal of Native Review Cancer*, no. 13, pp. 511-518.
2. Plaks, V., Kong, N., Werb, Z. (2015). The Cancer Stem Cell Niche: How Essential is the Niche in Regulating Stemness of Tumor Cells [Electronic version]. *Journal of Cell Stem cell*, no.16, pp. 225-238.
3. Psaila, B., Lyden, D. (2009). The metastatic niche: adapting the foreign soil [Electronic version]. *Journal of Native Review Cancer*, no.9, pp. 285-293.