

2. Залуцкий, И. В. Алгоритмы диагностики и лечения злокачественных новообразований / И. В. Залуцкий // Алгоритмы диагностики и лечения злокачественных новообразований; под ред. И. В. Залуцкого, Э. А. Жаврида. — Мн., 2007. — Гл. 11. — С. 129–138.

3. Кохнюк, В. Т. Колоректальный рак в Республике Беларусь: заболеваемость, смертность, диагностика / В. Т. Кохнюк, И. В. Ануфреенок // III съезд онкологов и радиологов СНГ: Материалы съезда, Минск, 25–28 мая 2004 г.: в 2 ч. — Мн., 2004. — Ч. 1. — С. 231.

4. Напалков, Н. П. Демографический процесс и злокачественные новообразования / Н. П. Напалков // III съезд онкологов

и радиологов СНГ: материалы съезда, Минск, 25–28 мая 2004 г.: в 2 ч. — Мн., 2004. — Ч. 1. — С. 15–30.

5. Злокачественные новообразования в Беларуси 1997–2006 / С. М. Поляков [и др.] // Злокачественные новообразования в Беларуси 1997–2006: сб. статистич. / БЕЛЦМТ; под ред. А. А. Граковича, И. В. Залуцкого. — Мн., 2007. — С. 43–58.

6. Prognostic significans of clinical and pathomorphological factors in colorectal cancer: a uni — and multivariate analysis / B. Szynglarewicz [et al.] // Pol. Merkurisuz Lek. — 2004. — Vol. 17. — P. 586–589.

7. Remmele, W. Kolorektale Tumoren / W. Remmele // Pathologie, Verdauungstrakt / W. Remmele. — Berlin, 1995. — Bd. 2. — P. 630–674.

Поступила 01.08.2008

УДК 616.34-006-071-089.17

ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИХ И МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ РАКА ПРЯМОЙ КИШКИ

С. Л. Ачинович¹, Э. А. Надыров²

¹Гомельский областной клинический онкологический диспансер

²Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека, г. Гомель

Изучены взаимосвязи между клинико-морфологическими и иммуногистохимическими параметрами у больных раком прямой кишки II–III стадии после предоперационной лучевой терапии. Показано значение иммуногистохимических маркеров, отражающих показатели местного иммунитета в опухолевой ткани, а также маркеров пролиферации и апоптоза для прогноза заболевания.

Ключевые слова: рак прямой кишки, иммуногистохимические маркеры, прогноз.

PROGNOSTIC IMPORTANCE OF IMMUNOHISTOCHEMICAL AND MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF THE CANCER OF RECTUM

S. L. Achinovich¹, E. A. Nadyrov²

¹Gomel Regional Clinical Oncological Dispensary

²Republican Research Center for Radiation Medicine and Human Ecology, Gomel

We researched correlations between morphological characteristics and immunohistochemical factors of prognosis of the cancer of rectum 2–3 stadium after preoperative radiation therapy. Correlative dependencies between apart prognostic factors were estimated. Prognostic importance of immunogistochemical markers of proliferation and apoptosis and local immunity was revealed.

Key words: cancer, rectum, radiation therapy, factors of prognosis.

Введение

Колоректальный рак (КРР) в настоящее время занимает в структуре онкологических заболеваний в экономически развитых стран мира одно из первых мест. Рак ректосигмоидной области составляет более 50% всех КРР [5]. В последние десятилетия в Республике Беларусь отмечается рост заболеваемости раком прямой кишки (РПК). В 1993 году заболеваемость РПК здесь составила 13,7 на 100 тыс. жителей, а в 2002 году — 16,8. В структуре онкологической заболеваемости всего населения в 2002 году РПК составил 4,8%. В Гомельской области заболеваемость РПК для всего населения в 2006 году составила 19,6 на 100 тыс. жителей [4]. В

2005 году в Республике Беларусь РПК заболело 1334 человека: 658 мужчин и 676 женщин. Из вновь выявленных больных у 172 пациентов (12,9%) была установлена I стадия заболевания, у 685 (51,3%) — II [3]. Значительная часть больных уже при первичном обращении имеют местнораспространенный характер заболевания. Применение в этих условиях изолированного хирургического лечения дает большое число (10–20%) местных и регионарных рецидивов [1]. Лучевая терапия как компонент комбинированного лечения больных РПК показана, если опухоль распространяется за пределы мышечной оболочки кишечной стенки и/или при имеющихся метастазах в регионарных лимфати-

ческих узлах. По литературным данным, к числу факторов, определяющих результаты радикального лечения больных раком РПК, относятся: стадия заболевания, степень дифференцировки, глубина инвазии, метастатическое поражение регионарных лимфатических узлов.

В последние годы для определения прогноза заболевания широко используются иммуногистохимические методы исследования. Гиперэкспрессия протеина p53 коррелирует с развитием рецидивов, метастазов и низкой выживаемостью [8]. В одном из исследований была выявлена связь между позитивной экспрессией белка bcl-2 и хорошим прогнозом. Позитивная экспрессия bcl-2 была выявлена у 27% больных, страдавших КРР I–III стадии, а также определялась корреляция между экспрессией bcl-2, Ki-67 и коллагеном IV типа [9]. Большую роль в функционировании опухолевой ткани играет стромальный компонент. В то же время значение эндотелия сосудов в гиперэкспрессии p53, Ki-67, bcl-2, циклина D1 и паренхиматозно-стромальные взаимоотношения в данном процессе изучены недостаточно. Наличие в КРР гиперэкспрессии p53, отсутствие экспрессии bcl-2 и повышенная васкуляризация опухоли связаны с ранним развитием метастазов и местным распространением опухоли [7]. Интраэпителиальная инфильтрация ткани КРР S100 позитивными дендритическими клетками коррелирует с повышенным количеством в опухоли CD8⁺ клеток и ассоциируется с благоприятным прогнозом [6]. Прогнозирование результатов лечения больных РПК связано с необходимостью определения оптимального объема диагностических мероприятий, направленных на выявление распространенности опухолевого процесса. Определение прогноза необходимо также для выработки оптимальной лечебной тактики и формирования однородных групп больных, что нужно для сравнительного анализа отдаленных результатов лечения.

Цель исследования: определить характер взаимосвязей между основными клинико-морфологическими и иммуногистохимическими показателями и их влияние на результаты радикального лечения больных РПК.

Материал и методы исследования

Материалом для исследования стали 45 наблюдений РПК II–III стадии, выявленных у жителей Гомельской области в 1996–2001 гг. в возрасте от 50 до 69 лет. Средний возраст пациентов составил $60,86 \pm 3,72$ года. Всем пациентам было произведено радикальное хирургическое лечение с предоперационной лучевой терапией, согласно имеющимся протоколам

лечения, с подведением к первичному очагу суммарной дозы 25 Гр концентрированным курсом. Для клинической характеристики новообразований была использована медицинская документация Гомельского областного клинического онкологического диспансера, в котором данные больные проходили необходимое обследование и лечение. Среди 45 пациентов, страдавших РПК, мужчин было 21, женщин — 24.

Все пациенты были разделены на 2 группы: первая — с выживаемостью до 3 лет (14 пациентов, среди которых женщин — 5, мужчин — 9), вторая — более 3 лет (31 пациент, среди которых женщин было 18, мужчин — 13). Гистологическому исследованию подвергалась ткань опухоли, края резекции и лимфатические узлы. Образцы тканей окрашивались гематоксилином и эозином по традиционной методике. Исследовались следующие критерии прогноза: возраст, экспрессия маркера пролиферации Ki-67, мутантного протеина апоптоза p53, CD68, S100, CD 34, bcl-2, Циклин D1, CD3, CD20. Исследования проводились иммуногистохимическим стрептавидин-биотинным методом с использованием моноклональных антител корпорации «DAKO Citomation». В качестве визуализирующей системы использовали набор LSAB-2 корпорации «DAKO Citomation» с диаминобензидином. Для выявления сосудов микроциркуляторного русла использовали иммуногистохимическое окрашивание гистологических срезов с применением моноклональных мышиных антител корпорации «DAKO Citomation»: CD 34, которые экспрессируются эндотелиальными клетками (клон QBEnd 10). Для выявления циклина D1 использовались мышиные моноклональные антитела анти-D1 (клон DCS), для оценки степени пролиферации — антитела к рецепторам Ki-67 (клон MIB-1). Для морфометрического исследования микропрепараты фотографировали в 5 полях зрения (объектив 40, окуляр 10) с разрешением 1600 на 1200 пикселей при помощи микроскопа MICROS и цифровой камеры Pixera.

Статистический анализ проводился с использованием пакета программ «Statistica» 6.0. Цифровые данные проверялись на нормальность распределения (параметричность), с учетом оценки параметричности был использован непараметрический метод определения корреляций по Спирмену, сравнительный анализ между группами проводился по Манн-Уитни.

Результаты исследований

Экспрессия иммуногистохимических маркеров у пациентов с различной выживаемостью представлена в таблице 1.

Таблица 1 — Показатели экспрессии иммуногистохимических маркеров в группах пациентов с различной выживаемостью

Показатель	Выживаемость	
	до 3 лет	более 3 лет
Ki-67 (эндотелий), %	4,05 ± 0,285	3,871 ± 0,198
Ki-67 (паренхима), %	26,007 ± 4,251	18,805 ± 3,388
p53 (эндотелий), %	4,771 ± 0,481	3,735 ± 0,442 (p = 0,004)
p53 (паренхима), %	68,236 ± 3,339	41,973 ± 5,791 (p = 0,002)
CD68 (центр)	39,979 ± 6,023	32,835 ± 1,205
CD68 (периферия)	124,993 ± 19,298	190,471 ± 14,601 (p = 0,004)
Bcl 2 (эндотелий)	1,636 ± 0,331	1,082 ± 0,215
Bcl 2 (паренхима)	4,707 ± 1,347	2,324 ± 0,426
Циклин D1 (эндотелий), %	8,193 ± 2,532	6,677 ± 0,679
Циклин D1 (паренхима), %	14,621 ± 5,833	7,671 ± 2,123
CD 3 (центр)	6,700 ± 0,879	7,071 ± 0,863
CD3 (периферия)	33,01 ± 4,885	42,394 ± 3,369 (p = 0,009)
CD 20 (центр)	2,307 ± 0,299	2,418 ± 0,195
CD 20 (периферия)	14,900 ± 0,954	29,906 ± 3,162 (p = 0,02)
S 100 (центр)	4,171 ± 0,481	4,088 ± 0,346
S 100 (периферия)	9,336 ± 0,560	12,053 ± 0,415 (p = 0,001)
CD 34	17,279 ± 1,120	15,147 ± 0,274

Как видно из таблицы 1, у пациентов с выживаемостью менее 3 лет определялись статистически значимые различия между экспрессией иммуногистохимических маркеров. Показатели экспрессии p53 в эндотелии сосудов микроциркуляторного русла и паренхиме опухоли были значимо выше по сравнению с группой с выживаемостью более 3 лет (p = 0,004 и p = 0,002 соответственно). В научной литературе имеются многочисленные данные о неблагоприятном влиянии гиперэкспрессии p53 в паренхиме опухоли. Полученные нами данные указывают на значимость гиперэкспрессии данного маркера в эндотелии сосудов микроциркуляторного русла при прогрессировании заболевания.

Исследование экспрессии маркеров опухолеассоциированных макрофагов (CD 68) и дендритических клеток (S100) показало значимое снижение указанных показателей в группе больных с неблагоприятным прогнозом (p = 0,004

и p = 0,001 соответственно). Определение экспрессии маркеров Т-лимфоцитов (CD3) и маркеров В-лимфоцитов (CD 20) выявило аналогичную тенденцию (p = 0,009 и p = 0,02 соответственно). Следует отметить, что указанные изменения выявлялись только по периферии опухоли. Принимая во внимание, что количество Т-лимфоцитов, В-лимфоцитов, опухолеассоциированных макрофагов и дендритических клеток отражают напряженность местного иммунитета в ткани опухоли, можно предположить, что снижение общего количества данных клеток ассоциируется с неблагоприятным прогнозом.

Особый интерес представляло изучение взаимосвязей иммуногистохимических параметров в группах пациентов с различной выживаемостью. Показатели коэффициентов корреляции между иммуногистохимическими маркерами в группе пациентов с РПК с выживаемостью до 3 лет, отражены в таблице 2.

Таблица 2 — Показатели коэффициентов корреляции между иммуногистохимическими маркерами в группе пациентов РПК с выживаемостью до 3 лет

Показатели	Kendall	Z	p-level
Ki-67 эндотелий, % & p53 эндотелий, %	0,457	2,277	0,022
Ki-67 эндотелий, % & bcl-2 эндотелий, %	0,563	2,806	0,005
Ki-67 эндотелий, % & bcl-2 паренхима, %	0,425	2,119	0,034
p53 эндотелий, % & bcl-2 эндотелий, %	0,655	3,265	0,001
CD68 центр опух. & CD68 периферия опух.	0,429	2,135	0,033
CD68 центр опух. & S100 центр опух.	-0,473	-2,354	0,019
CD68 периферия опух. & Циклин D1 эндотелий, %	-0,442	-2,202	0,028
S100 центр опух. & CD68 центр опух.	-0,473	-2,354	0,018
Bcl-2 эндотелий, % & bcl2 паренхима опух., %	0,693	3,453	0,001
Bcl-2 паренхима опух., % & Ki-67 эндотелий, %	0,425	2,12	0,034
Bcl-2 паренхима опух., % & Циклин D1 эндотелий, %	-0,551	-2,743	0,006
Bcl-2 паренхима опух., % & CD34 строма опух.	0,438	2,183	0,029
CyclinD1 паренх. опух., % & CyclinD1 эндотелий, %	0,522	2,602	0,009
Циклин D1 эндотелий, % & bcl2 паренх. опух., %	-0,551	-2,742	0,006

Изучение взаимосвязей маркера пролиферации Ki-67 и маркера Cyclin D1 показало наличие положительных связей между его экспрессией в эндотелии сосудов микроциркуляторного русла и экспрессией p53 и bcl-2 в эндотелии, а также bcl-2 в паренхиме опухоли. Данные взаимосвязи, вероятно, отражают усиление пролиферативной активности опухолевой ткани. Усиление пролиферативной активности на фоне предшествующей лучевой терапии и связанное с этим увеличение уровня экспрессии маркеров апоптоза свидетельствуют об относительной резистентности опухоли к предоперационной лучевой терапии.

Известно, что предоперационная лучевая терапия способствует уменьшению объемной доли лимфоцитов и увеличению объемной доли плазматических клеток гистиоцитарного ряда как в центре, так и по периферии опухоли [2].

Исходя из вышеизложенного, имеющиеся взаимосвязи между экспрессией CD 68 в центре опухоли и его экспрессией по периферии, а также с S100 и циклином D1 в эндотелии, отражают данную тенденцию.

Взаимосвязь маркера апоптоза bcl-2 и маркера пролиферации Ki-67 в эндотелии сосудов микроциркуляторного русла, выявленная в нашем исследовании, по-видимому, отражает степень чувствительности сосудистого микроциркуляторного русла к лучевой терапии. О недостаточной эффективности предоперационной лучевой терапии также свидетельствует наличие отрицательной корреляционной связи между экспрессией циклина D1 в эндотелии и bcl-2 в паренхиме.

Показатели коэффициентов корреляции между иммуногистохимическими маркерами в группе пациентов с РПК с выживаемостью более 3 лет отражены в таблице 3.

Таблица 3 — Показатели коэффициентов корреляции между иммуногистохимическими маркерами в группе пациентов РПК с выживаемостью более 3 лет

Показатели	Kendall	Z	p-level
Ki67 эндотелий, % & CD3 центр опух.	-0,409	-2,293	0,022
p53 эндотелий, % & CD68 центр опух.	-0,388	-2,174	0,030
p53 эндотелий, % & S100 периферия опух.	-0,562	-3,148	0,002
CD68 центр опух. & bcl2 эндотелий, %	0,382	2,141	0,032
CD68 центр опух. & bcl2 паренхима опух.	0,424	2,374	0,018
CD68 центр опух. & CD20 центр опух.	0,385	2,158	0,031
CD68 центр опух. & S100 центр опух.	0,513	2,874	0,004
CD68 центр опух. & S100 периферия опух.	0,450	2,522	0,012
CD68 периферия опух. & CyclinD1 паренх.оп.	-0,361	-2,022	0,043
CD68 периферия опух. & CD20 центр опух.	0,403	2,258	0,024
CD68 периферия опух. & S100 центр опух.	0,337	1,888	0,059
Bcl-2 эндотелий, % & bcl-2 паренхима опух.	0,773	4,329	0,001
Bcl-2 эндотелий, % & CyclinD1 паренхима опух.	0,357	2,002	0,045
Bcl-2 эндотелий, % & CD20 периферия опух.	0,337	1,889	0,059
Bcl-2 паренхима опух. & bcl-2 эндотелий, %	0,773	4,329	0,000
CyclinD1 паренх.оп. & CD20 периферия опух.	0,433	2,425	0,015
CD3 центр опух. & CD3 периферия опух.	0,470	2,633	0,008
CD3 центр опух. & CD20 периферия опух.	0,576	3,227	0,001
CD3 периферия опух. & CD3 центр опух.	0,470	2,633	0,008
CD3 периферия опух. & S100 центр опух.	0,349	1,958	0,050

Как видно из таблицы 3, характер корреляционных связей в группе больных с благоприятным прогнозом отражает степень участия иммунокомпетентных клеток в реакциях местного иммунитета. Об этом свидетельствует наличие прямых корреляционных связей между экспрессией CD 68 в центре опухоли и bcl-2 в эндотелии и паренхиме соответственно. Кроме того, имеются положительные корреляционные связи с маркерами CD 20 в центре и S100 в центре и по периферии опухоли. Степень напряженности местных иммунных ре-

акций в данной группе больных РПК проявляется в наличии положительных корреляционных связей между клетками, принимающими участие в реакциях клеточного и гуморального иммунитета и антигенпредставляющими клетками (S100). Степень пролиферативной активности клеток опухоли коррелирует с высоким уровнем апоптоза, что отражается в наличии прямых корреляционных связей между маркерами bcl-2 в эндотелии сосудов микроциркуляторного русла и паренхиме и циклином D1 в паренхиме.

Выводы

1. Иммуногистохимически выявляемая экспрессия маркеров пролиферации и апоптоза имеет значимое различие в группах с хорошей и низкой выживаемостью.

2. Характер корреляционных связей в группе больных с низкой выживаемостью отражает недостаточную чувствительность опухолевой ткани к лучевой терапии, что проявляется в более высокой степени пролиферативной активности эндотелия сосудов микроциркуляторного русла и паренхимы опухоли.

3. В группе больных с хорошей выживаемостью количество Т и В-лимфоцитов, опухолеассоциированных макрофагов и дендритических клеток было значимо выше, корреляционные связи между иммунокомпетентными клетками свидетельствуют о более высокой степени напряженности противоопухолевого иммунитета.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Ефетов, В. М. Рецидивы рака прямой кишки / В. М. Ефетов, С. В. Ефетов, О. Н. Черипко // Онкология. — 2006. — Т. 8, № 2. — С. 176–180.

2. Загребин, В. М. Морфометрическая характеристика клеток воспалительного инфильтрата необлученного и облученного рака прямой кишки / В. М. Загребин // Мед. радиология. — 1986. — Т. 31, № 3. — С. 41–43.

3. Залуцкий, И. В. Алгоритмы диагностики и лечения злокачественных новообразований / И. В. Залуцкий, Э. А. Жаврид. — Мн., 2007. — С. 128–136.

4. Поляков, С. М. Злокачественные новообразования в Беларуси 1997–2006 / С. М. Поляков, Л. Ф. Левин, Н. Г. Шебеко; под ред. А. А. Граковича, И. В. Залуцкого. — Мн.: БЕЛЦМТ, 2007. — С. 56–60.

5. Пальцев, М. А. Атлас патологии опухолей человека / М. А. Пальцев, Н. М. Аничков. — М.: ОАО «Медицина», 2005. — С. 213–223.

6. Dadabayev, A. R. Dendritic cells in colorectal cancer correlate with other tumor-infiltrating immune cells / A. R. Dadabayev [et al.] // Cancer Immunol. Immunother. — 2004. — Vol. 53(11). — P. 978–986.

7. Giatromanolaki, A. Combined role of tumor angiogenesis, bcl-2, and p53 expression in the prognosis of patients with colorectal carcinoma / A. Giatromanolaki, G. P. Stathopoulos, E. Tsiobanou et al. // Cancer. — 1999. — Vol. 86(8). — P. 1421–1430.

8. Jurach, M. T. Expression of the p53 protein and clinical and pathologic correlation in adenocarcinoma of the rectum / M. T. Jurach, L. Meurer, L. F. Moreira // Arq. Gastroenterol. — 2006. — Vol. 43 (1). — P. 9–14.

9. Immunohistochemical expression of bcl-2 in UICC stage I and III colorectal carcinoma patients: correlation with c-erbB-2, p 53, CD44, laminin and collagen IV in evaluating prognostic significance / H. Zavrides [et al.] // Pol. J. Pathol. — 2006. — Vol. 57(3). — P. 149–156.

Поступила 01.08.2008

УДК 616.98:618.146–055.2

ТИПОСПЕЦИФИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПАПИЛЛОМАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ У ЗДОРОВЫХ ЖЕНЩИН И ПАЦИЕНТОК С ПАТОЛОГИЕЙ ШЕЙКИ МАТКИ

О. В. Аль-Яхири¹, А. К. Аль-Яхири², В. Н. Беляковский¹, Е. В. Воропаев¹

¹Гомельский государственный медицинский университет

²Гомельский областной клинический онкологический диспансер

Изучены типоспецифические особенности папилломавирусной инфекции у 311 женщин. Все обследованные женщины были разделены на две основные группы, I группа — здоровые вирусоносители — 101 женщина, II группа — пациентки с различной патологией шейки матки (койлоцитозом многослойного плоского эпителия, койлоцитарной дисплазией I–III степени, внутриэпителиальным и инвазивным раком шейки матки) — 210 пациенток. При изучении частоты и особенностей вирусоносительства у здоровых пациенток, выявлено, что инфицированность в данной группе составила 36,6 ± 5,0% (37 женщин). Наиболее частым типом в группе здоровых женщин явился ВПЧ ВКР 16 (59,4 ± 8,1%); практически с одинаковой частотой встречались ВПЧ ВКР 56 (16,22 ± 6,1%) и ВПЧ СКР 31 и 58 типов (18,92 ± 6,4% и 16,22 ± 6,1% соответственно), в то время как 18 тип выявлен лишь у 4 женщин (10,8 ± 5,1%). У женщин с ВПЧ ассоциированной патологией шейки матки ВПЧ ВКР диагностированы у 75,68 ± 7,0%, причем наиболее часто у больных раком шейки матки — 95,4 ± 2,6%. Среди ВПЧ ВКР наиболее часто встречается ВПЧ 16 типа — 64,7 ± 3,3% (p < 0,05); среди ВПЧ СКР выделяется ВПЧ 58 типа, встречаясь чаще как в общей группе (18,1 ± 2,6%), так и у больных инвазивным раком шейки матки (31,8 ± 5,7%), причем различия частоты встречаемости ВПЧ 58 типа у больных инвазивным раком шейки матки, HSIL и LSIL статистически значимы (p = 0,005 и 0,02 соответственно). Этот факт также можно отнести к эпидемиологической особенности нашего региона.

Ключевые слова: здоровые женщины и пациентки с патологией шейки матки, папилломавирусная инфекция, типоспецифичность.

A TYPE IS SPECIFICITY THE FEATURE OF PAPILLOMAVIRUS INFECTION FOR HEALTHY WOMEN AND PATIENTS WITH PATHOLOGY OF CERVICAL UTERUS

O. V. Al-Yakhiri¹, A. K. Al-Yakhiri², V. N. Belyakovski¹, E. V. Voropaev¹

¹Gomel state medical university

²Gomel regional clinical oncologic dispensary

The type is specificity features of papillomavirus infection are studied in 311 women. All inspected women were parted on two basic groups, I group — healthy virus-transmitter is a 101 woman, the II group is patients with different pathology the cervical of uterus (koilocytosis of multi-layered flat epithelium, koilocyte CIN I–III, intraepithelial