

нако характер их не совсем ясен. В группе БИ СОЭ ($8,4 \pm 1,32$ мм/ч) не имеет достоверных отличий от других групп. При ЛИ ($7,69 \pm 0,66$ мм/ч) и ТИА ($8,9 \pm 0,64$ мм/ч) этот параметр выше, чем в группе ИБС ($5,68 \pm 1,03$ мм/ч; $p < 0,05$ по сравнению с ЛИ; $p < 0,01$ — с ТИА) и НПОП ($5,83 \pm 0,61$ мм/ч; $p < 0,05$ по сравнению с ЛИ; $p < 0,01$ — с ТИА). При этом достоверно значимых различий для пациентов с ЦГК и ТГА выявлено не было.

Таким образом, в процессе исследования было показано наличие воспалительного ответа у пациентов с ПНМК, который, в соответствие с литературными данными [8], может формировать прокоагуляционную направленность гомеостаза, обуславливающую возможность образования тромба в сосудах головного мозга.

Выявленные изменения у лиц с ПНМК согласуются с указанными в литературных источниках данными в отношении ИМ и дисциркуляторной энцефалопатии, при которых тяжесть клинической картины коррелирует с нейтропенией и лимфоцитозом [13, 14]. При этом обращает на себя внимание меньшая степень выраженности клинической картины при больших изменениях в лабораторном спектре пациентов с ишемией головного мозга, что предполагает у этих категорий лиц различную степень выраженности церебрального резерва и будет являться предметом наших дальнейших исследований. Интересен тот факт, что наши результаты соотносятся с данными литературных источников, посвященных изучению неврологических осложнений при аутоиммунной патологии. Согласно последним, при ревматических заболеваниях, таких как системная красная волчанка, с нарастанием стажа болезни наблюдается уменьшение в качестве осложнений процента ПНМК и нарастание частоты развития ИМ [15].

Сравнительный анализ подтипов ПНМК указывает на сходство лабораторной картины у лиц с ТИА и ЦГК с таковыми при ИМ, в большей

степени — с ЛИ, что определяет перспективы поиска дополнительного диагностического критерия повреждения головного мозга в случае быстрой редукции неврологического дефицита.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Транзиторные ишемические атаки в клинической практике: диагностика и неотложная помощь в XXI веке / В. А. Яворская [и др.] // Практическая ангиология. — 2006. — № 1 (2). — С. 3–9.
2. Лихачёв, С. А. Транзиторные ишемические атаки: этиология, патогенез, классификация, клиника, диагностика / С. А. Лихачёв, А. В. Астапенко, Н. Н. Белявский // Мед. новости. — 2003. — № 10. — С. 31–37.
3. Болезни нервной системы: рук-во для врачей: в 2 т. / под ред. Н. Н. Яхно, Д. Р. Штульмана. — М.: Медицина, 2001. — Т. 1. — С. 253–256.
4. Неврология / под ред. М. Самуэльса. — М.: Практика, 1997. — 640 с.
5. Виберс, Д. Руководство по цереброваскулярным заболеваниям / Д. Виберс, В. Фейгин, Р. Браун; пер. с англ. — М.: Бинном, 1999. — 672 с.
6. Транзиторная глобальная амнезия. Очаговые изменения на диффузионно-взвешенных томограммах и цереброваскулярные заболевания / К. Энзингер [и др.] // Stroke (Инсульт). — 2008. — № 5. — С. 68–71.
7. Возможности методов искусственного интеллекта для дифференциальной диагностики подтипов транзиторных ишемических атак / В. В. Евстигнеев [и др.] // ARS MEDICA. — 2009. — № 3 (13). — С. 60–72.
8. Суханов, В. А. Воспалительно-коагуляционный ответ как часть синдрома системной воспалительной реакции / В. А. Суханов // Интенсивная терапия. — 2006. — № 1. — С. 1–5.
9. Гусев, Е. И. Ишемия головного мозга / Е. И. Гусев, В. И. Скворцова. — М.: Медицина, 2001. — 327 с.
10. Синдром острой церебральной недостаточности (ОЦН) / А. А. Белкин [и др.] // Интенсивная терапия. — 2006. — № 4. — С. 127–134.
11. Юршевич, Е. А. Артериальная гипертензия как фактор риска острой и хронической ишемии мозга / Е. А. Юршевич // ARS MEDICA. — 2009. — № 3 (13). — С. 119–131.
12. Влияние инфекционных факторов на активацию провоспалительных цитокинов при хронической сердечной недостаточности / С. Н. Мамаев [и др.] // Клини. и лаб. диагностика. — 2009. — № 10. — С. 37–39.
13. Гаркави, Л. Х. Адаптационные реакции и резистентность организма / Л. Х. Гаркави, Е. Б. Квакина, М. А. Уколова. — Ростов н/Д: РГУ, 1990. — 224 с.
14. Пизова, Н. В. Острые нарушения мозгового кровообращения при системных ревматических заболеваниях / Н. В. Пизова, Н. Н. Спирин // Журн. неврол. и психиатрии. — 2006. — № 6. — С. 16–19.
15. Кашаева, Л. Н. Иммунологические нарушения при церебральных инсультах и их коррекция: метод. рекомендации / Л. Н. Кашаева, Л. М. Карзакова, В. Н. Саперов. — Чебоксары, 2005. — 27 с.

Поступила 30.03.2011

УДК 616.35–006.6–08–039.76–097

ОСОБЕННОСТИ МЕСТНОГО ИММУНИТЕТА У ПАЦИЕНТОВ С РАКОМ ПРЯМОЙ КИШКИ ПОСЛЕ РАДИКАЛЬНОГО ЛЕЧЕНИЯ

Э. А. Надыров³, Т. С. Угольник², С. Л. Ачинович¹,
Ж. А. Чубуков², Т. Н. Чубукова²

¹Гомельский областной клинический онкологический диспансер

²Гомельский государственный медицинский университет

³Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека, г. Гомель

Рак прямой кишки является одной из актуальных проблем современной онкологии. Проведен анализ различий по клинико-морфологическим и гистохимическим показателям в группах пациентов из Гомельского региона, получавших различные виды лечения по поводу рака прямой кишки I–III стадии. По ряду показателей выявлены статистически значимые различия. Проведен анализ выживаемости в изучаемых группах.

Ключевые слова: рак прямой кишки, иммуногистохимические прогностические факторы, выживаемость.

FEATURES OF LOCAL IMMUNITY IN PATIENTS
WITH RECTAL CANCER AFTER RADICAL TREATMENTE. A. Nadyrov³, T. S. Ugolnik², S. L. Achinovich¹,
Zh. A. Chubukov², T. N. Chubukova²¹Gomel Regional Clinical Oncologic Dispensary²Gomel State Medical University³Republican Research Center for Radiation Medicine and Human Ecology, Gomel

Rectal cancer is one of the topical problems of modern oncology. The analysis of the differences in clinical, morphological and histochemical indicators in the groups of patients from Gomel region, which underwent different types of treatment for cancer of the rectum I–III stages has been carried out. A number of indicators revealed statistically significant differences. The survival analysis in the investigated groups was performed.

Key words: rectal cancer, immunohistochemical prognostic factors, survival analysis

Введение

Рак прямой кишки (РПК) остается одной из актуальных проблем современной онкологии. В Республике Беларусь (РБ) в последние десятилетия отмечается постоянный рост заболеваемости колоректальным раком (КРР) и РПК. В 2000 г. заболеваемость РПК в РБ составила 17,9 случая на 100 тыс. жителей, а в 2009 г. — 19,2. В Гомельской области заболеваемость РПК для всего населения в 2000 г. составила 16,6 на 100 тыс. жителей, а в 2009 г. — 20,1 [1]. В настоящее время в онкологии большое внимание уделяется изучению перспектив использования молекулярно-генетических маркеров и поиску критериев прогноза клинического течения РПК, а также анализу взаимосвязей между прогностическими маркерами. Особенности местного иммунного ответа при РПК остаются недостаточно изученными. Так, по данным Y. Funada и соавторов [2], наличие в ткани РПК выраженной макрофагальной инфильтрации прямо коррелирует с хорошей выживаемостью, отсутствием метастазов в лимфоузлах и слабой выраженностью инвазии сосудов. По данным J. C. Kong и соавторов [3], наличие выраженной макрофагальной инфильтрации в ткани РПК является признаком плохого прогноза и маркером прогрессии опухолевого роста.

Цель исследования

Изучение различий по клинико-морфологическим и иммуногистохимическим показателям в группах пациентов после различных видов радикального лечения РПК.

Материал и методы

Изучены образцы опухолевой ткани пациентов из Гомельского региона, которым было проведено радикальное лечение по поводу РПК I–III стадии в Гомельском областном клиническом онкологическом диспансере (ГОКОД) в период с 1996 по 2001 гг.

Радикальное хирургическое лечение с предоперационной лучевой терапией было проведено 44 пациентам (группа 1), согласно имеющимся протоколам, с подведением к первич-

ному очагу суммарной дозы 25 Гр концентрированным курсом. В контрольную группу вошли 60 пациентов, которым произведено радикальное хирургическое вмешательство без предоперационной лучевой терапии (группа 2). Данные о клиническом течении заболевания были получены из медицинской документации ГОКОД.

В исследование были включены только опухоли, имеющие гистологическое строение аденокарциномы согласно гистологической классификации ВОЗ (2000 г.). Забор материала проводился в день операции. В дальнейшем образцы тканей фиксировали в 10 % нейтральном формалине и подвергали стандартной проводке с заливкой в парафин. Из данных блоков готовили срезы толщиной 4 мкм, окрашивали их гематоксилин-эозином и проводили обзорную микроскопию. Для детализации структур стромы и паренхимы срезы выборочно окрашивали пикрофуксином по Ван-Гизону, проводились ШИК-реакция и серебрение по Футу. Иммуногистохимическим (ИГХ) методом изучали экспрессию p53, Ki-67, CD3, CD20, CD68, bcl-2, Cyclin D1, Chromogranin A, CD34, IgA с использованием наборов корпорации «DAKO Citomation» (Дания).

В качестве визуализирующей системы использовали набор LSAB+ корпорации «DAKO Citomation» (Дания). Для морфометрии применялся микроскоп Nikon Eclipse 50i с цифровой камерой Ds-Fi1 и пакетом прикладных программ анализа изображения «analySIS getIT 5.0».

На основе полученной информации была разработана электронная база данных. Результаты исследований и клинические данные занесены в таблицы и обработаны статистически с использованием пакета прикладного программного обеспечения «Statsoft Statistica», 8.0.

Для определения соответствия распределения изучаемых параметров нормальному закону использовали критерий Шапиро-Уилка. Так как распределение большинства изучаемых показателей отличалось от нормального, для статистической обработки применяли непараметрические методы и критерии. Пара-

метры описательной статистики представлены в виде медианы и квартилей — Me (Q1; Q3).

Анализ различий в двух независимых группах по количественным признакам, распределение которых отличалось от нормального, проводили с использованием критерия Манна-Уитни. Анализ различий частот между двумя независимыми группами проводили с использованием точного двустороннего критерия Фишера. Анализ различий частот между несколькими независимыми группами проводили с использованием критерия χ^2 . Анализ взаимосвязи проводили, рассчитывая коэффициент ассоциации τ Кендалла. Анализ выживаемости проводили с использованием метода Каплана-Майера. Статистическую значимость различий выживаемости в двух независимых группах проводили с использованием критерия Гехана-Вилкоксона.

Результаты и обсуждение

Проведена статистическая обработка полученных данных о 104 пациентах (из них 47 мужчин и 57 женщин) в возрасте от 40 до 70 лет, медиана возраста составила 63 (58; 66) года. Статистически значимых различий по возрасту в группах с различными видами лечения выявлено не было ($U = 1053$; $Z = -1,757$; $p = 0,079$). I стадия РПК выявлена в 8 (7,69 %) случаях, II стадия — в 64 (61,54 %) случаях, III стадия — в 32 (30,77 %) случаях. Статистически значимых различий по частоте встречаемости различных стадий РПК в группах с различными видами лечения выявлено не было ($\chi^2 = 3,240$; $df = 2$; $p = 0,198$).

Опухоль инфильтрировала мышечную оболочку (T2) в 18 (17,31 %) случаях, распространялась на серозную оболочку (T3) в 68 (65,38 %) случаях, на другие органы и структуры (T4) — в 18 (17,31 %) случаях. Статистически значимых различий по степени распространения первичной опухоли (T) в группах с различными видами лечения выявлено не было ($\chi^2 = 0,264$; $df = 2$; $p = 0,876$).

Наличие метастазов в регионарных лимфоузлах не было обнаружено (N0) в 74 (71,16 %) случаях, метастазы в 1–3 регионарных лимфо-

узлах (N1) выявлены в 28 (26,92 %) случаях, в 4 и более регионарных лимфоузлах (N2) — в 2 (1,92 %) случаях. Статистически значимых различий по наличию метастазов в регионарных лимфоузлах (N) в группах с различными видами лечения выявлено не было ($\chi^2 = 0,572$; $df = 2$; $p = 0,972$).

Хорошо дифференцированные новообразования (G1) встречались в 3 (2,88 %) случаях, умеренно дифференцированные (G2) — в 81 (77,88 %) случае, низкодифференцированные (G3) — в 20 (19,24 %) случаях. Были выявлены статистически значимые различия по степени дифференцировки между группами пациентов, получавших различные виды лечения ($\chi^2 = 12,362$; $df = 2$; $p = 0,002$). В 1 группе умеренно дифференцированные опухоли (G2) выявили в 29 (65,9 %) случаях, низкодифференцированные (G3) — в 15 (34,1 %) случаях, высокодифференцированные опухоли (G1) выявлены не были. Во 2 группе высокодифференцированные РПК (G1) были выявлены в 3 (5 %) случаях, умереннодифференцированные РПК (G2) — в 52 (86,67 %), низкодифференцированные РПК (G3) — в 5 (8,33 %).

В верхнеампулярном отделе прямой кишки (ПК) новообразование локализовалось в 31 (29,81 %) случае, в среднеампулярном — в 34 (32,69 %) случаях, в нижнеампулярном — в 39 (37,5 %) случаях. Были выявлены статистически значимые различия по локализации неоплазий в группах пациентов, получавших разные виды лечения ($\chi^2 = 27,120$; $df = 2$; $p < 0,001$). В 1 группе РПК в верхнеампулярном отделе ПК выявили в 23 (52,27 %) случаях, в среднеампулярном — в 16 (36,36 %), в нижнеампулярном — в 5 (11,36 %). Во 2 группе в верхнеампулярном отделе ПК новообразование выявили в 8 (13,33 %) случаях, в среднеампулярном — в 18 (30 %), в нижнеампулярном — в 34 (56,67 %).

Данные описательной статистики количественных показателей, полученные при анализе результатов гистологического и ИГХ-исследований, приведены в таблице 1.

Таблица 1 — Количественные показатели пациентов с РПК

Показатель, единицы измерения	Медиана	Нижний квартиль	Верхний квартиль
Экспрессия Ki-67 ⁺ , %	20,35	8,25	35,05
Экспрессия p53 ⁺ , %	22,30	8,45	43,60
Cyclin D1 ⁺ , кл/ед. площади	11,70	5,75	17,85
CD3 ⁺ , кл/ед. площади	61,25	40,65	78,40
CD20 ⁺ , кл/ед. площади	19,50	11,75	25,10
IgA ⁺ , кл/ед. площади	23,80	17,80	46,10
CD34 ⁺ , сосудов/ед. площади	16,90	15,00	18,90
Chromogranin A ⁺ , кл/ед. площади	1,55	1,30	2,15
CD68 ⁺ , кл/ед. площади	172,05	133,60	209,90
S100 ⁺ , кл/ед. площади	11,55	9,90	12,60
Размер опухоли, см	4,50	4,00	6,00
bcl2 ⁺ , кл/ед. площади	8,70	6,95	26,00

Окончание таблицы 1

Показатель, единицы измерения	Медиана	Нижний квартиль	Верхний квартиль
Площадь сосудов (CD34 ⁺), мкм ²	5789,54	4661,55	7097,34
Периметр сосудов (CD34 ⁺), мкм	874,78	802,38	1006,26
Площадь ядер, мкм ²	285,01	251,33	311,00
Периметр ядер, мкм	74,35	69,49	79,57
Площадь паренхимы, мкм ²	56040,17	48773,90	60837,55
Площадь стромы, мкм ²	79729,98	75034,58	86600,00

Примечание: за единицу площади принята площадь изображения, полученного при фотографировании объекта с увеличением ×400, равная 135770 мкм².

По ряду количественных показателей были выявлены статистически значимые различия между 1 и 2 группами пациентов. Результаты расчетов приведены в таблице 2.

Таблица 2 — Количественные показатели в группах пациентов с РПК, получавших различные виды лечения

Показатель, единицы измерения	Медиана в группе ЛТ	Медиана в группе ХЛ	U	Z	p
Экспрессия Ki-67 ⁺ , %	9,50	23,50	924,5	-2,602	0,009
CD3 ⁺ , кл/ед. площади	35,35	74,35	86,5	-8,115	< 0,001
CD34 ⁺ , сосудов/ед. площади	15,10	18,50	482,0	-5,513	< 0,001
CD68 ⁺ , кл/ед. площади	133,60	180,30	778,0	-3,566	< 0,001
bcl2 ⁺ , кл/ед. площади	7,98	9,30	946,5	-2,457	0,014
Площадь сосудов (CD34 ⁺), мкм ²	4617,53	6343,11	417,0	-5,941	< 0,001
Периметр сосудов (CD34 ⁺), мкм	866,80	890,88	958,0	-2,381	0,017
Площадь ядер, мкм ²	309,40	272,70	818,5	3,299	0,001
Площадь паренхимы, мкм ²	47573,98	58634,41	514,0	-5,303	< 0,001
Площадь стромы, мкм ²	87797,92	77543,59	573,0	4,914	< 0,001

Примечание: за единицу площади принята площадь изображения, полученного при фотографировании объекта с увеличением ×400, равная 135770 мкм².

При оценке выживаемости в целом по выборке с использованием метода Каплана-Майера медиана вероятности наступления летального исхода не достигнута, нижний квартиль составил 30,7 месяцев. Результаты расчетов представлены на рисунке 1.

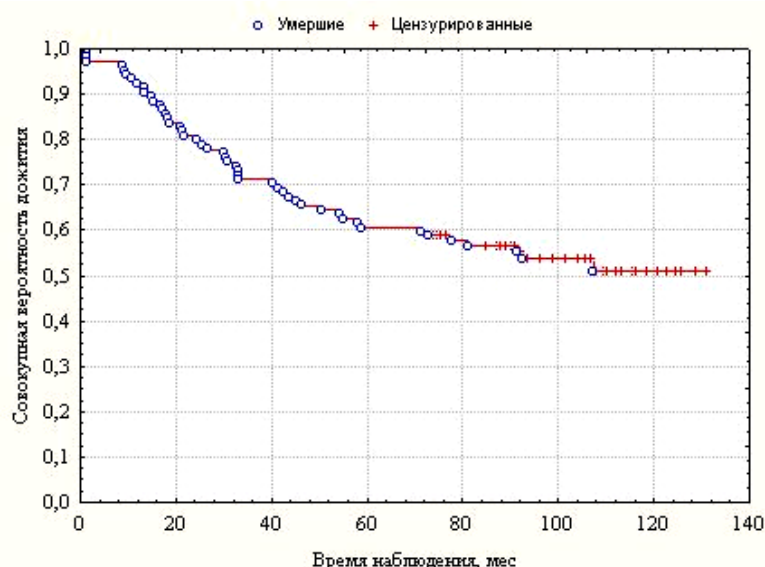


Рисунок 1 — Выживаемость пациентов с РПК по выборке в целом

Статистически значимых различий по показателю выживаемости между группами пациентов, получавших различные виды лечения, выявлено не было ($W = -1,441$; $p = 0,149$). Результаты расчетов приведены на рисунке 2.

По данным ряда авторов, пролиферативная активность Ki-67 при РПК находится в обратной взаимосвязи со степенью дифференциров-

ки опухоли и благоприятным прогнозом. Пролиферативная активность, определяемая ИГХ-методом путем оценки степени ядерной экспрессии протеина Ki-67, в ткани РПК в 1 группе была снижена более чем в два раза относительно значений аналогичного показателя во 2 группе, что соответствует результатам, которые были получены другими исследователями [4].

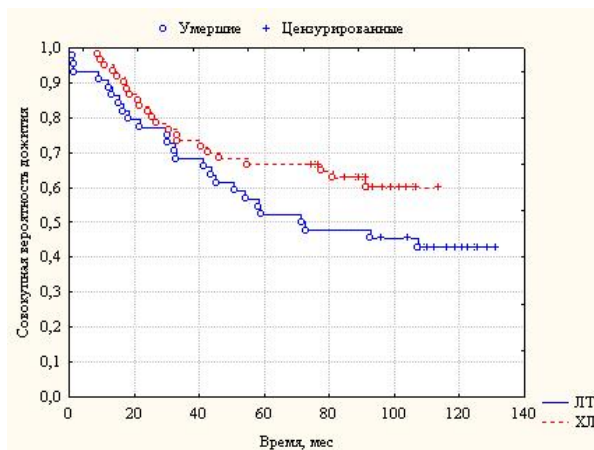


Рисунок 2 — Выживаемость в группах пациентов, получавших различное лечение

Высокая экспрессия Vcl-2 прямо коррелирует с благоприятным прогнозом при РПК [5]. В группе пациентов без предоперационной лучевой терапии уровень экспрессии Vcl-2 был выше, чем значение аналогичного показателя в группе с предоперационной лучевой терапией.

Данные, полученные при изучении ряда эпителиальных опухолей желудочно-кишечного тракта, свидетельствуют, что содержание лимфоцитов $CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$ неоднородно отражает клиническое течение и до сих пор четкой связи этих показателей со стадиями заболевания, локализацией и гистологическим строением опухолей не обнаружено [6]. Полученные в результате исследования данные указывают на то, что содержание $CD3^+$ лимфоцитов в ткани РПК во 2 группе более чем в два раза превышает значения аналогичного показателя в 1 группе.

По данным проведенного исследования, площадь сосудов микроциркуляторного русла, определяемая по экспрессии CD34, в 1 группе была меньше, чем во 2 группе, площадь ядер опухолевых клеток в 1 группе оказалась большей, чем во 2 группе, что совпадает с данными, полученными другими исследователями [7, 8].

В ткани РПК пациентов 1 группы количество макрофагов $CD68^+$ на единицу площади показателя во 2 группе. Результаты других исследователей противоречивы [2, 3] и не позволяют однозначно охарактеризовать влияние данного показателя на прогноз заболевания.

Заключение

Таким образом, проведение предоперационной лучевой терапии способствует снижению пролиферативной активности ткани РПК,

но вместе с тем снижает экспрессию проапоптотических протеинов семейства Vcl-2. После проведения предоперационной лучевой терапии происходит уменьшение количества $CD3^+$ лимфоцитов и $CD68^+$ макрофагов, наблюдается уменьшение площади сосудов микроциркуляторного русла, увеличение площади стромы и уменьшение площади паренхимы РПК. Эти данные не могут расцениваться прогностически однозначно и требуют дальнейшего изучения.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Злокачественные новообразования в Беларуси 2000–2009 / С. М. Поляков [и др.]; под ред. М. М. Сачек, А. И. Ларионова. — Минск: РНПЦ МТ, 2010. — 205 с.
2. Prognostic significance of $CD8^+$ T-cell and macrophage peritumoral infiltration in colorectal cancer / Y. Funada [et al.] // *Oncol.Rep.* — 2003. — Vol. 10. — P. 309–313.
3. Intratumoral macrophage counts correlate with tumor progression in colorectal cancer / J. C. Kang [et al.] // *J.Surg. Oncol.* — 2010. — Vol. 102. — P. 242–248.
4. Maksimovic, S. Laboratory-immunology indicators according as prognostic factors of patients with colon and rectum cancer / S. Maksimovic // *Med. Arch.* — 2005. — Vol. 59. — P. 7–10.
5. Прогностическое значение маркеров пролиферативной активности и апоптоза при аденоматозном полипозе и колоректальном раке / О. Н. Касьяненко [и др.] // *Сахаровские чтения 2008 г.: экологические проблемы XXI в.: Материалы 8-й междунар. науч. конф., Минск, 22–23 мая 2008 г.* / под ред. С. П. Кундаса, С. Б. Мельникова, С. С. Позняка. — Минск: МГЭУ им А. Д. Сахарова, 2008. — С. 63.
6. Олейник, Е. К. Динамика экспрессии маркеров активации лимфоцитов больных с опухолями желудочно-кишечного тракта на различных стадиях заболевания / Е. К. Олейник, М. И. Шибасев, В. М. Олейник // *Вопр. онкол.* — 2005. — Т. 51, № 5. — С. 571–574
7. Association of microvessel density and blood vessel invasion with the prognosis in rectal carcinoma at stages I to II / Y. J. Zhou [et al.] // *Zhonghua Wei Chang Wai Ke Za Zhi.* — 2010. — Vol. 13. — P. 516–519.
8. The radiation-induced changes in rectal mucosa: hyperfractionated vs. hypofractionated preoperative radiation for rectal cancer / J. J. Starzewski [et al.] // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol.Phys.* — 2006. — Vol. 64. — P. 717–724.

Поступила 30.05.2011