

УДК 616.35-006.6: 611.018 (575.2) (04)

ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПРИ ЛЕЧЕНИИ РАКА ПРЯМОЙ КИШКИ

М.О. Кузикеев, Э.К. Макимбетов

Рассмотрены иммуногистохимические аспекты рака прямой кишки (РПК) и приведены данные положительного влияния предоперационной лучевой терапии на иммуноморфологический фенотип при его лечении.

Ключевые слова: рак прямой кишки; химиотерапия; лучевая терапия; операция; опухолевые антигены.

Последние десятилетия во многих странах мира, в том числе и в странах СНГ, наблюдается рост заболеваемости раком прямой кишки (РПК) [1, с. 45–77]. Лечение РПК является актуальной и сложной проблемой в онкологии. Актуальность заключается в особенностях клинического течения (скрытый, длительный процесс, относительно большое число запущенных случаев), а также в различных подходах к терапии [2, с. 102–106]. Несмотря на то, что основным стандартом в терапии РПК является хирургический метод, многие аспекты данной проблемы решены не полностью. В последние годы многие клиники используют различные комбинации неоадьювантных методов лечения РПК [3, 4]. Современные концепции в лечении больных колоректальным раком должны основываться на использовании молекулярно-генетических данных о развитии злокачественных опухолей у человека. Современные разработки с привлечением иммуноморфологического анализа тканевых биомаркеров позволяют спрогнозировать эффективность проводимого лечения и своевременно его корректировать, изменяя лечебную тактику [5–7].

Цель исследования – совершенствование методов лечения РПК.

Материал и методы. Материалом исследования были сведения о 146 больных РПК, которым провели лечение в онкопроктологическом отделении Казахского НИИ онкологии и радиологии с 2006 по 2007 г. В анализируемую группу вошли 69 (47,2 %) женщин и 77 (52,7 %) мужчин в возрасте от 26 до 86 лет. Средний возраст мужчин составил $64,6 \pm 9,4$ года, женщин – $61,8 \pm 11,8$ года. В зависимости от вида проведенного лечения все больные были разделены на три группы: первая

группа (основная) – пациенты, которым проведена НХЛТ (44 человека); вторая группа (аналитическая) – пациенты, получившие НЛТ (52 человека); третья группа – пациенты, получившие только оперативное лечение (50 человек). Во всех группах были проведены радикальные операции. Исследование было нерандомизированным, поэтому принципиальным явились идентичность распределения больных в группах по полу и возрасту, морфологической структуре, распространенности опухолевого процесса, характеру оперативного вмешательства. Гистологически высокодифференцированные опухоли наблюдались в 18,5 %, умеренно-дифференцированные опухоли – в 38,4 и низко-дифференцированные – в 43,1 % случаев.

Пациентам основной группы ХТ проводилась тремя курсами с перерывом 2–3 недели в режиме FOLFIRI (иринотекан – 180 мг/м² в/в капельно в 1-й день; фолинат кальция ((лейковорин) – 200 мг/м² в/в в 1-й день; фторурацил – 400 мг/м² в/в струйно в 1-й день; затем фторурацил 2,4–3,0 г/м² – 24-часовая в/в инфузия), параллельно третьему курсу ХТ проводилась ЛТ. В аналитической группе использован режим классического фракционирования дозы: РОД 2 Гр ежедневно, пять раз в неделю до СОД 50 Гр. Статистическая обработка проведена с помощью методов санитарной статистики, а достоверность различий – по критерию Стьюдента. Выживаемость оценена по таблице дожития.

Опухоль исследовали до начала лечения (биопсия) и непосредственно удаленные препараты после оперативного вмешательства, с использованием различных вариантов неоадьювантного лечения.

Имуногистохимические исследования проведены с помощью набора моноклональных антител (МКАТ) к белку Ki-67, белку bcl-2, раково-эм-

бриональному антигену (РЭА), Е-кадгерину, CD68 (маркеру гистиоцитов/макрофагов), белку p21, антигену CD45RO и CD95/Fas.

Иммуногистохимические реакции на парафиновых срезах проводили с помощью систем стрептавидин-биотин (LSAB 2, DakoCytomation) и авидинбиотин (Novostain, Novocastra).

Результаты исследования и обсуждение.

До проведения лечения положительная экспрессия РЭА выявлена у всех больных в 100 % случаев, маркера клеточной пролиферации Ki-67 также в 100 %. Т-лимфоциты инфильтрируют строму аденокарциномы при реакции на CD45RO в группе больных с НЛТ, проявляя экспрессию слабой и умеренной активности, соответственно в 55,6 и 44,4 % случаев. В группе больных с НХЛТ слабая и умеренная экспрессия проявляется, соответственно, в 66,7 и 33,3 %. Уровень экспрессии в двух группах статистически не отличается ($P > 0,05$). При неoadьювантной лучевой терапии слабая и умеренная экспрессия маркера гистиоцитов CD68 выявлена, соответственно в 55,6 и 44,4 %, а в группе больных с НХЛТ соответственно в 66,7 и 33,3 %. При анализе не выявлено статистических различий между группами ($P > 0,05$). Положительная экспрессия гена p21 в группе больных с НЛТ без химиотерапии выявлена в 44,4 % случаев, отрицательная реакция – в 55,6 %. В группе больных с химиотерапией положительная экспрессия p21 зарегистрирована в 55,6 % случаев. Отрицательная реакция на е-кадгерин распределилась приблизительно равномерно в обеих группах больных, составив 66,7 и 68,1 % соответственно. Отрицательная реакция на моноклональные антитела наблюдалась к гену Bcl-2 и реакцию на АПО-1 (CD95) во всех случаях. В обеих группах экспрессия маркеров рака прямой кишки до начала лечения была одинаковой.

При сопоставлении полученных результатов двух групп в отношении РЭА не происходит изменений уровня экспрессии у больных и первой, и второй групп. Сохраняется яркая равномерная цитоплазматическая реакция до и после лечения.

При анализе маркера клеточной пролиферации Ki-67 получено резкое снижение уровня экспрессии в обеих группах больных ($P < 0,05$). В группе больных с НЛТ положительные опухолевые клетки определяются в $8,9 \pm 3,2$ % случаев, а в группе с использованием НХЛТ наблюдается еще большее уменьшение – до $1,7 \pm 1,2$ % ($P < 0,001$).

Незначительное увеличение инфильтрации опухоли у больных с НЛТ без статистически значимых изменений наблюдается при анализе экспрессии Т-лимфоцитов. При проведении

НХЛТ значительно увеличивается инфильтрация Т-лимфоцитами опухолевой ткани. В подавляющем числе случаев изменение слабой реакции до лечения на умеренную и высокую экспрессию Т-лимфоцитов зарегистрировано в 88,9 % случаев ($P < 0,05$).

Экспрессия е-кадгерина не изменяется у больных, получивших лучевую терапию. Во второй группе пациентов выявлено увеличение случаев повышенной экспрессии е-кадгерина до 88,9 % ($P < 0,05$).

В обеих группах больных отмечается изменение экспрессии гена p21. Увеличение отрицательной реакции с 55,6 до 100 % после НХЛТ ($P < 0,05$) и с 44,4 до 100 % во второй группе больных ($P > 0,05$).

Слабая и умеренная экспрессия маркера гистиоцитов CD68 не изменяется в процессе лечения в обеих группах больных.

Негативная реакция к гену Bcl-2 и CD95 в группах больных до лечения сохраняется при различных методах лечения у больных обеих групп.

Таким образом, при проведении предоперационной лучевой терапии отмечается подавление пролиферативной активности и уменьшение экспрессии p21 до негативной реакции во всех случаях. При НХЛТ отмечается уменьшение экспрессии p21, как и в группе больных без химиотерапии, подавление экспрессии Ki-67, но в большей степени, проявляя выраженный эффект подавления пролиферативной активности. Кроме изменений экспрессии данных тканевых маркеров отмечается повышение Т-клеточной инфильтрации, увеличение экспрессии е-кадгерина, маркера межклеточных контактов.

Выводы

1. Для ректального рака характерен широкий спектр биомаркеров опухолевого роста – высокий уровень экспрессии тканевого РЭА, пролиферативной активности – Ki-67, отсутствие выраженной Т-клеточной инфильтрации опухоли, отрицательная реакция на Bcl-2, p21 и е-кадгерин.

2. Применение предоперационной лучевой терапии изменяет иммуноморфологический фенотип рака прямой кишки в большей степени при добавлении химиотерапии, проявляющийся в снижении пролиферативной активности опухоли, усилении дифференцировки опухоли и повышении внутритканевого иммунитета.

Литература

1. Давыдов М.И. Заболеваемость злокачественными новообразованиями населения России и стран СНГ в 2004 г. / М.И. Давыдов, Е.М. Аксель // Вестник Рос. онкол. научн. центра РАМН. 2006. Т. 17. № 3, прилож. 1. С. 45–77.

2. *Kalofonos H.P., Aravantinos G., Kosmidis P. et al.* Irinotecan or oxaliplatin combined with leucovorin and 5-fluorouracil as first-line treatment in advanced colorectal cancer: A multicenter, randomized, phase II study // *Ann. Oncol.* 2005. Vol. 16. № 6. P. 869–877.
3. *Bir A., Tan W., Wilding G.E. et al.* 5-fluorouracil, leucovorin and oxaliplatin plus bevacizumab in the first-line treatment of metastatic colorectal cancer: A single-institute study // *Oncology.* 2007. Vol. 72. № 1–2. P. 4–9
4. *Hurwitz H., Fehrenbacher L., Novotny W. et al.* Bevacizumab plus irinotecan, fluorouracil and leucovorin for metastatic colorectal cancer // *N. Engl. J. Med.* 2004. Vol. 350. № 23. P. 2335–2342.
5. *Майстренко Н.А.* Онкомаркеры в диагностике злокачественных опухолей пищеварительного тракта / Н.А. Майстренко, А.А. Курыгин, Г.Н. Хрыков // *Вестник хирургии.* 2002. Т. 161. № 4. С. 102–106.
6. *Петров С.В.* Общие принципы иммуногистохимической диагностики и классификации опухолей: руководство по иммуногистохимической диагностике опухолей человека. 3-е изд., доп. и перераб. / С.В. Петров, Н.Т. Райхлин. Казань, 2004. С. 38–54.
7. *Hibi K., Robinson C.R., Booker S. et al.* Molecular detection of genetic alterations in the serum of colorectal cancer patients // *Cancer Res.* 1998. Vol. 58. № 7. P. 1405–1407.