

М.І. Хворостенко, О.В. Ковтуненко,
І.С. Шпонька, Д.В. Березнюк, С.М. Тимчук,
О.В. Пославська

ДЗ «Дніпропетровська медична академія
МОЗ України»

Прогностичне значення експресії маркерів міжклітинної адгезії у хворих на рак ротової частини глотки

Prognostic significance of intercellular adhesion markers expression in patients with cancer of oropharynx

Summary. The level of expression of intercellular adhesion markers (E-cadherin and β -catenin) in patients with squamous cell cancer of the oropharynx was performed with the purpose to reveal clinical morphological associations and analyze their significance for the efficacy of chemoradiation therapy. Prognostic significance of each marker as to the effect of radiation therapy was established.

Key words: cancer of oropharynx, E-cadherin, β -catenin.

Резюме. Проведено дослідження рівня експресії маркерів міжклітинної адгезії у хворих на плоскоклітинний рак ротової частини глотки для виявлення клініко-морфологічних зв'язків та аналізу їх значимості між рівнем експресії Е-кадгерина та β -катеніна та ефективністю хіміолучевого лікування. Установлено прогностичне значення кожного маркера відносно ефекта на проведенню хіміолучевого лікування.

Ключові слова: рак ротової частини глотки, Е-кадгерин, β -катенін.

Ключові слова: рак ротової частини глотки, Е-кадгерин, β -катенін.

Захворюваність на рак ротової частини глотки в Україні в 2009 році становила 4,3 випадку на 100 тис. населення (величина світового стандартного показника 2,9), рівень показника смертності хворих становив 3,2 на 100 тис. населення (величина світового стандартного показника 2,1), а не прожили 1 року з тих, хто вперше захворів, 50,4%. Найбільші темпи зростання захворюваності на злоякісні новоутвори серед чоловічого населення зареєстровано при злоякісних новоутворах глотки (6,4%) [1–3]. Зрозуміло, чому найбільш надійними клінічними факторами несприятливого перебігу плоскоклітинних раків ротової частини глотки (ПРРЧГ) є стадія місцевого поширення більше Т2 (діаметр пухлини 2–4 см) [4, 5] та наявність метастазів у лімфатичні вузли ший [6, 7], але не з'ясоване питання про клініко-морфологічні зв'язки експресії молекулярних маркерів пухлини.

У наукових працях описано, що трансмембранний глікопротеїн Е-кадгерин входить до родини білкових молекул клітинної адгезії та експресується на базальній і бічних поверхнях мембрани епітеліальних клітин. З актиновим цитоскелетом цитоплазматичний домен Е-кадгерину пов'язаний через вибірккову інтеграцію з α -, β -, γ -катенінами [8, 9]. Обособлення малігнізованих клітин із втратою Е-кадгерин-катенінзалежної міжклітинної адгезії теоретично призводить до збільшення фракції втрати пухлинних клітин, тому за мету ми ставили перевірку залежності клініко-морфологічних характеристик ПРРЧГ від зменшення експресії Е-кадгерину або β -катеніну.

Було вирішено вивчити рівень експресії маркерів міжклітинної адгезії в ПРРЧГ для виявлення клініко-морфоло-

гічних зв'язків та аналізу їх передбачуваної значущості між рівнем експресії Е-кадгерину і β -катеніну та ефективністю хіміопроменевого лікування.

У дослідженні було проведено ретроспективний аналіз первинного біопсійного матеріалу 72 пацієнтів (69 чоловіків—95,8% і 3 жінок—4,2%) з ПРРЧГ III стадії (Т3N0-2M0), що отримали курс радикального лікування в ЛОР-онкологічному відділенні Дніпропетровської обласної клінічної лікарні ім. І.І. Мечникова в період з 2000 по 2008 рр. Лікування всіх пацієнтів проводили комбінованим або комплексним методом за стандартами з використанням сучасних методів. За гістологічною будовою всі спостереження представлені плоскоклітинними раками високого ($n = 26, 36,1\%$), помірного ($n = 38, 57,8\%$) та низького ($n = 8, 11,1\%$) ступеня диференціювання. Для з'ясування можливих зв'язків генетичних порушень з ефектом хіміопроменевого лікування хворих було розподілено на 2 групи: першу — з позитивною відповіддю на хіміопроменево-лікування ($n = 40$) і другу — з відсутністю ефекту хіміопроменево-лікування ($n = 32$). Клінічний ефект лікування оцінювали на 14-й день після закінчення неoad'ювантного лікування (два курси поліхіміотерапії за схемою РВМФ) та 1/2 лікувального курсу променевої терапії (СОД = 40 Гр) за критеріями RECIST (Response Evaluation Criteria in Solid Tumors) Version 1.0 (2000) при врахуванні візуального (за даними орофарингоскопії, цифрової відеоендоскопії глотки з масштабною фотографією пухлини та регіонарних метастазів у лімфатичні вузли) і топічного (за даними КТ, УЗД) регресу новоутвору в комплексі зі шкалою лікувального патоморфозу пухлини та регіонарних метастазів у лімфатичні вузли (визначення ОДЖОП). Позитивний ефект від лікування визначали при клінічних ознаках наявності «часткового», «позитивного» або «повного» візуального і топічного регресу пухлини в поєднанні з наявністю 2–6 ступеня морфологічного лікувального патоморфозу (ОДЖОП $\leq 75\%$). Для отримання вірогідних даних дослідження групи хворих були ідентичними за основними параметрами.

При проведенні імуногістохімічного дослідження використовували формалін-фіксовані парафінові блоки біопсійного матеріалу ПРРЧГ, первинні моноклональні антитіла до Е-кадгерину, (клон EP700Y, Lab Vision) та β -катеніну (клон E247, Lab Vision) і систему візуалізації En Vision (DakoCytomation). Ідентифікацію реакцій проводили за допомогою хромогену DAB.

Для статистичного аналізу використовували сучасні математично-статистичні методи. Отримані дані опрацьовували за допомогою пакетів ліцензійних програм статистичного аналізу Statistica v.6.1 (Statsoft Inc., США, ліцензійний №AJAR909E415822FA), Microsoft® Office Excel® 2007 (12.0.6514.5000) SP2 MSO (12.0.6425.1000), (США, ліцензійний №89409-707-9902422-65234) і «Биостатистика» (Москва, 1998).

Для оцінки імуногістохімічного забарвлення використовували напівкількісний аналіз цифрових зображень (Semi-quantitative Digital Image Analysis) за методом, описаним у літературних джерелах [10–13]. Для кожної секції щонайменше 500, а звичайно — понад 1000 пухлинних клітин використовували медичну програму для опрацювання цифрових зображень ImageJ з плагіном Colour Deconvolution, що має вбудовану схему для аналізу забарвлень «Гематоксилін + ДАБ».

Якщо реакція була однорідною мембранною та за інтенсивністю однаковою з тією, що показав внутрішній контроль, забарвлення вважали «типовим». Коли реакція була негативною або слабкою, чи з іншими гетерогенностями (змішані поля позитивних та негативних клітин з «типовим» мембранним забарвленням) і/або зміненням клітинного

Показники експресії E-кадгерину в ПРРЧГ

Гістологічний діагноз	Кількість випадків (n)	Міжклітинна адгезія		Надекспресія внаслідок мутації
		збережена	втрачена	
ПРРЧГ з ефектом хіміопроменевого лікування	40	21	19	0
	M ± m (%)	52,5 ± 7,9	47,5 ± 7,9	0,0 ± 0,0
ПРРЧГ без ефекту хіміопроменевого лікування	32	8	17	7
	M ± m (%)	25,0 ± 7,7	53,1 ± 8,8	21,9 ± 7,3
Р груп 1–2		0,019	0,638	
Разом	72	29	36	7
	M ± m (%)	40,3 ± 5,8	50,0 ± 5,9	9,7 ± 3,5

Таблиця 2

Показники експресії β-катеніну в ПРРЧГ

Гістологічний діагноз	Кількість випадків (n)	Міжклітинна адгезія		Надекспресія внаслідок мутації
		збережена	втрачена	
ПРРЧГ з ефектом хіміопроменевого лікування	40	24	15	1
	M ± m (%)	60,0 ± 7,7	37,5 ± 7,7	2,5 ± 2,5
ПРРЧГ без ефекту хіміопроменевого лікування	32	17	12	3
	M ± m (%)	53,1 ± 8,8	37,5 ± 8,6	9,4 ± 5,2
Р груп 1–2		0,562	1,0	0,352
Разом	72	41	27	4
	M ± m (%)	56,9 ± 5,8	37,5 ± 5,7	5,6 ± 2,7

розподілу забарвлення (цитоплазматичного і/або ядерного забарвлення в понад 20% пухлинних клітин), забарвлення вважали «нетиповим» і трактували як втрату міжклітинної адгезії, згідно з рекомендаціями інших авторів [14].

Для кожного випадку, що показував «типову» модель сильного мембранного забарвлення, рівні реакції були розбиті відповідно на більше 75% та менше 75% забарвлених клітин, що відповідно було оцінено як збережену чи втрачену міжклітинну адгезію. Випадки, в яких внутрішній контроль показував недостатньо чисте забарвлення, із дослідження було виключено.

Також в окрему групу було віднесено ПРРЧГ, що показували підвищення експресії E-кадгерину або β-катеніну порівняно з внутрішнім контролем внаслідок мутації кадгеринових та катенінових рецепторів.

Таким чином, всі варіанти експресії E-кадгерину та β-катеніну були розподілені на три групи:

ПРРЧГ зі збереженням міжклітинної адгезії, куди ввійшли випадки, що показували «типову» модель сильного мембранного забарвлення понад 75% клітин;

із втрачанням міжклітинної адгезії, об'єднані у випадки з «типовою» моделлю сильного мембранного забарвлення менше 75% пухлинних клітин та випадки з «нетиповим» забарвленням (слабка та негативна реакція);

плоскоклітинні раки з підвищенням експресії E-кадгерину або β-катеніну порівняно з внутрішнім контролем внаслідок мутації кадгеринових та катенінових рецепторів.

Дані розподілу залежності експресії E-кадгерину та β-катеніну від клініко-морфологічних особливостей представлені в таблицях 1 і 2.

При дослідженні залежності розподілу експресії E-кадгерину від ефекту хіміопроменевого лікування виявилось, що в групі хворих без ефекту від такого лікування підвищен-

ня відносної кількості випадків з втратою міжклітинної адгезії не мало статистично вірогідної різниці ($p > 0,05$ лише в 1,1 разу), але відносна кількість випадків зі збереженням міжклітинної адгезії відносно групи з позитивною відповіддю зменшилася в 2,1 разу ($p = 0,019$), а всі спостереження з надекспресією E-кадгерину взагалі показали негативну відповідь на хіміопроменево-лікування ($p = 0,03$), що вірогідно можна вважати передбачуваним критерієм низького відсотку регресу ПРРЧГ.

При дослідженні групи з різним ефектом хіміопроменевого лікування, статистично вірогідної різниці у варіаціях експресії β-катеніну не знайдено ($p > 0,05$), на відміну від експресії E-кадгерину. Тому можна говорити, що розподіл значень експресії β-катеніну в ПРРЧГ залежно від клініко-морфологічних характеристик немає прогностичного значення.

Таким чином, у нашому дослідженні встановлено, що надекспресія E-кадгерину та скорочення відносної кількості випадків зі збереженням «типової» моделі його мембранної експресії є вірогідними прогностичними показниками ($p = 0,03$; $p = 0,352$) відсутності ефекту від хіміопроменевого лікування хворих на ПРРЧГ. Експресія β-катеніну в ПРРЧГ немає прогностичного значення.

Література

1. Новик А.В., Моисеєнко В. М. // *Практич. онкол.* – 2007. – Т. 8, № 3. – С. 109–117.
2. *Рак в Україні, 2009 – 2010. Захворюваність, смертність, показники діяльності онкологічної служби / За ред. проф. І. Б. Щепотіна // Бюл. нац. канцер-реєстру України. – Видання № 12. – К., 2011. – 116 с.*
3. Daisuke Sano, Jeffrey N. Myers // *Cancer metastasis rev.* – 2007. – Vol. 26, № 3–4. – P. 645–662.
4. Константинова М.М. // *Практич. онкол.* – 2003. – Т. 4, № 1. – С. 25–30.

5. Hirshberg A., Shnaiderman-Shapiro A., Kaplan I. et al. // *Oral. oncol.* – 2008. – Vol. 44, № 8. – P. 743–752.
6. Jianming Zhang, Wei Zhang, Ping Gao et al. // *Chinese journ. of clin. oncol.* – 2006. – Vol. 3, № 3. – P. 181–184.
7. Greene F.L., Sobin L.H. // *CA cancer J. Clin.* – 2008. – Vol. 58, № 3. – P. 180–190.
8. Аничков Н.М. // *Патол.* – 2006. – Т. 3, № 2. – С. 4–12.
9. Копнин Б.П. // *Биохим.* – 2000. – Т. 65. – С. 5–33.
10. Tanaka N., Odajima T., Ogil K. et al. // *Brit. J. of cancer.* – 2003. – Vol. 89. – P. 557–563.
11. Boldrup L., Coates P.J., Hedberg Y. et al. // *Int. J. Oncol.* – 2005. – Vol. 27, № 65. – P. 1661–1667.
12. Akihiro Katayama, Nobuyuki Bandoh, Kan Kishibe et al. // *Clin. cancer research.* – 2004. – Vol. 10. – P. 634–640.
13. Xiaofeng Zhou, Stephane Temam, Myungshin Oh et al. // *Neoplasia.* – 2006. – Vol. 8, № 11. – P. 925–932.
14. Pyo S.W., Hashimoto M., Kim Y.S. et al. // *J. Cranio-maxillofac.* – 2007. – Vol. 35, № 1. – P. 1–9.

М.І. Хворостенко, Ю.М. Хворостенко,
І.М. Кіхтенко

ДЗ «Дніпропетровська медична академія
МОЗ України»

Аналіз результатів комбінованого лікування раку шлунка залежно від локалізації пухлини

The analysis of combination treatment for gastric cancer depending on the tumor location

Summary. The results of combination treatment for gastric cancer are reported depending on the tumor location. Radiation therapy in the mode of medium fractionation was well tolerated. Increased doses up to 54–56 Gy allowed to improve long-term results and did not cause delay in surgery. The most prognostically favorable location is lower portion of the stomach.

Key words: gastric cancer, combination treatment, radiation therapy.

Резюме. Приведены данные результатов комбинированного лечения больных раком желудка в зависимости от локализации опухоли. Лучевая терапия в режиме среднего фракционирования переносится удовлетворительно. Увеличение дозы до 54–56 Гр позволяет улучшить отдаленные результаты и не приводит к отсрочке оперативного этапа лечения. Наиболее благоприятная локализация для прогноза — нижний отдел желудка.

Ключевые слова: рак желудка, комбинированное лечение, лучевая терапия.

Ключові слова: рак шлунка, комбіноване лікування, променева терапія.

Рак шлунка традиційно розглядається як переважно хірургічна проблема, але, за винятком ранніх стадій, віддалені результати лікування не можуть бути визнані задовільними.

При поширених формах (T2-4 N1-2) більшість хворих вмирає протягом 2–3 років після операції від прогресування хвороби і лише 10–30% пацієнтів переживають 5-річний термін [1].

Лікування хворих з пухлинним ураженням верхнього відділу шлунка (кардіоезофагальної зони) — одна з найбільш складних проблем клінічної онкології. Існує думка, що рак кардіоезофагальної зони і рак інших відділів шлунка — це зовсім різні захворювання [2], оскільки ці пухлини характеризуються більш високим рівнем інфільтрації стра-

воходу, метастазують не тільки в абдомінальні, але і в медіастинальні лімфатичні вузли, що дозволяє виділяти серед пухлин такої локалізації рак шлунка і рак стравоходу.

Віддалені результати лікування раку середнього відділу (тіла) шлунка також не можна визнати задовільними: 5-річна виживаність становить 16–45% [3–5]. Низький рівень виживаності пояснюється, в першу чергу, пізньою діагностикою, оскільки тривалий час відсутні патогномонічні симптоми, і різним трактуванням понять «тіло шлунка», «субтотальне» і «тотальне ураження», що становить дилему для хірурга щодо вибору об'єму оперативного втручання.

При локалізації пухлини в нижньому (антральному) відділі шлунка, залежно від стадії пухлинного процесу, більше 5 років живуть 23–48% хворих, у випадках розповсюдження пухлини на тіло цей показник зменшується до 19% [4].

Хірургічний метод є основним радикальним способом лікування. Однак незважаючи на появу більш сучасних методів пластики при кардіоезофагальному раці, формуванні стравохідних анастомозів, широкої лімфодисекції, створення надійних зшиваючих апаратів, електро-іплазмових коагуляторів, ці складні (розкриття двох порожнин) і часто ризиковані операції не привели до суттєвого поліпшення рівнів показників 5-річної виживаності [6, 7].

Поліпшення віддалених результатів лікування, поряд з удосконаленням хірургічної техніки, пов'язують із розвитком комбінованих методів впливу на пухлину [4, 8].

Передопераційна променева терапія є одним із визнаних методів, спрямованих на покращення результатів хірургічного лікування. Рандомізовані дослідження показали статистично вірогідне поліпшення віддалених результатів лікування раку шлунка при використанні комбінованого методу в порівнянні з хірургічним [9–11].

Представлене дослідження базується на ретроспективному аналізі даних обстеження, комбінованого лікування і спостереження за 218 особами віком 26–79 років, хворими на рак шлунка, із них 151 (69,3%) чоловік і 67 (30,7%) жінок. Комбінованим методом у випадках локалізації пухлини у верхній частині шлунка (кардіоезофагальний рак) проліковано 55 (25,2%) хворих, в середній (тіло) — 72 (33%), в нижній (антральний відділ) — 64 (29,4%), при одночасному ураженні середнього і нижнього відділу шлунка — 27 (12,4%). Розподіл хворих залежно від поширеності пухлини представлено в таблиці 1.

За винятком нижнього відділу шлунка, частіше зустрічається третя стадія.

У 121 (55,5%) хворого пухлина проростала всі стінки шлунка (таблиця 2).

Стан лімфатичних вузлів представлено в таблиці 3.

У 51,9% хворих спостерігали метастази в лімфатичні вузли, якщо пухлина уражала і середній, і нижній відділи.

Аденокарцинома різного ступеня диференціювання зустрічалася у 139 (63,8%), перснеподібний рак — у 31 (14,2%), недиференційована пухлина — у 48 (22,0%) хворих.

Опромінування перед операцією проводили на кобальтових апаратах Рокус-М, Агат-Р в статичному режимі двома зустрічними фігурними полями (абдомінальне і вертебральне) розміром 14 x 16 або 16 x 20 см, по 4 Гр через день, до сумарної осередкової дози (СОД) 32 і 40–44 Гр. При такому фракціонуванні доза в пухлині сягала 71 та 88–97 од. ЧДФ, що в перерахунку на традиційне фракціонування (по 2 Гр 5 разів на тиждень) — 42 і 54–56 Гр.

Променеву терапію 119 (54,9%) пацієнтів перенесли задовільно, у 55 (25,2%) була променева реакція середньої тяжкості і у 44 (20,2%) спостерігали тяжку реакцію.

У 95,3% хворих із пухлиною в нижньому відділі опера-