

ВЛИЯНИЕ НЕОАДЪЮВАНТНОЙ ХИМИОЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ НА ПРОЛИФЕРАТИВНУЮ И АПОПТОТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ РАКА ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Проф. Ю. А. Винник, А. Р. Васько, проф. В. Н. Горбенко, проф. В. В. Гаргин*

Харьковская медицинская академия последипломного образования,
*Харьковский национальный медицинский университет

Результаты лечения местно распространенного рака щитовидной железы остаются неудовлетворительными. Изучены последствия неoadъювантной химиолучевой терапии для пролиферативных и апоптотических процессов. Данный способ лечения ведет к выраженным изменениям изучаемых параметров, что является перспективным для дальнейшего изучения относительно радиоiodрезистентности некоторых опухолей щитовидной железы. Перспектива будущих исследований состоит в выявлении корреляционных взаимосвязей между клиническим и патоморфологическим эффектами предложенной нами неoadъювантной химиолучевой терапии.

Ключевые слова: рак щитовидной железы, неoadъювантная химио-лучевая терапия, белок Ki-67, белок bcl-2.

ВПЛИВ НЕОАДЪЮВАНТНОЇ ХІМІОПРОМЕНЕВОЇ ТЕРАПІЇ НА ПРОЛІФЕРАТИВНУ Й АПОПТОТИЧНУ АКТИВНІСТЬ РАКУ ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ

Проф. Ю. О. Вінник, А. Р. Васько,
проф. В. М. Горбенко, проф. В. В. Гаргин*

Результати лікування місцево поширеного раку щитоподібної залози залишаються незадовільними. Вивчено наслідки неoad'ювантної хіміопроменевої терапії для проліферативних і апоптотичних процесів. Цей спосіб лікування веде до помітних змін досліджуваних параметрів, що є перспективним для подальшого вивчення щодо радіоiodрезистентності деяких пухлин щитоподібної залози. Перспектива досліджень полягає у виявленні кореляційних взаємозв'язків між клінічним і патоморфологічними ефектами запропонованої нами неoad'ювантної хіміопроменевої терапії.

Ключові слова: рак щитоподібної залози, неoad'ювантна хіміопроменева терапія, білок Ki-67, білок bcl-2.

NEOADJUVANT CHEMORADIOTHERAPY EFFECT ON PROLIFERATIVE AND APOPTOTIC ACTIVITY OF THE THYROID CANCER

Ju. A. Vinnyk, A. R. Vasko,
V. N. Gorbenko, V. V. Gargin*

Results of treatment of locally advanced thyroid cancer remains unsatisfactory. This paper studied the neoadjuvant chemoradiotherapy effects on proliferative and apoptotic processes. Such method of treatment leads to marked changes in the studied parameters, is promising for further study in radioiodine resistant thyroid tumors. The prospect for further research is to identify the correlation relationships between clinical and pathomorphological effects of our proposed neoadjuvant chemoradiotherapy.

Keywords: thyroid cancer, neoadjuvant chemoradiotherapy, protein Ki-67, protein bcl-2.

За последние десятилетия имеются существенные достижения в проблеме изучения патогенеза, клиники и лечения рака щитовидной железы (РЩЖ) [5, 13]. Тем не менее, РЩЖ в настоящее время продолжает занимать одно из наиболее проблемных мест в медицине с точки зрения выбора тактики ведения больного.

При этом одним из основных методов лечения больных РЩЖ является хирургический с I-131-терапией, которая почти всегда дает удовлетворительные результаты при хорошо дифференцированных формах, однако ее результаты для низко и недифференцированных форм трудно назвать приемлемыми [7, 12].

Именно потребность в более благоприятных исходах лечения РЩЖ обуславливает разработку более эффективных методов лечения, особенно у больных с радиоiodрезистентностью, в частности разработку методов неoadъювантной химиолучевой терапии (НХЛТ), обоснованность применения которых, безусловно, требует доказательств.

В настоящее время большое значение приобретают анализ экспрессии иммуногистохимических (ИГХ) маркеров для выявления и интерпретации клеток опухоли, обоснования прогноза поведения опухоли [6].

Цель работы — изучение последствий неоадьювантной химиолучевой терапии для пролиферативных и апоптотических процессов при РЩЖ.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования послужила ткань щитовидной железы (ЩЖ) с гистологически подтвержденным РЩЖ. В каждом случае ткань представлена состоянием до начала лечения (биопсийный материал) и после лечения (операционный материал). Было проведено гистологическое, иммуногистохимическое и морфометрическое исследование ЩЖ пациентов, которые в зависимости от гистологической формы РЩЖ были распределены на 5 групп (по 10 случаев): папиллярная карцинома (ПК), фолликулярная карцинома (ФК), медуллярный рак (МР), низко дифференцированная карцинома (НДК), анапластическая карцинома (АК) в соответствии с гистологической классификацией опухолей ЩЖ (ВОЗ, Лион, 2004) [11].

Способ неоадьювантной химио-лучевой терапии проводили таким образом: за 24 часа до начала курса облучения больному внутривенно капельно вводили доцетаксел в разовой дозе 20 мг/м² в 100 мл физиологического раствора. Облучение патологического очага проводили дробными фракциями по 2 Гр в течении 5 дней (СОД — 40 Гр).

В препаратах, обработанных ИГХ методом и дополнительно окрашенных гематоксилином Майера [7], изучали интенсивность экспрессии белка Ki-67, bcl-2. Положительной считали реакцию, проявляющуюся коричневой окраской. Оценка ИГХ реакции основывалась на интенсивности окрашивания и распределении иммуноположительных клеток согласно рекомендациям других авторов по шкале: «-» — экспрессия отсутствует, «+» — слабая экспрессия, «++» — умеренная экспрессия, «+++» — интенсивное окрашивание [10]. Также с помощью программы Olympus DP-soft 3.2 проводили морфометрическое исследование с определением окрашенных клеток в 4–9 случайных полях зрения на большом увеличении микроскопа (объектив ×40), где подсчитывали общее число опухолевых клеток (не менее 1000) и количество иммунопозитивных клеток к Ki-67 и bcl-2 с последующим вычислением их процентного соотношения. С помощью этой же программы вычисляли митотический и апоптотический индексы.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Количественное определение уровня экспрессии белков, регулирующих процессы пролиферации и клеток апоптоза, основанное на исследовании величин оптической плотности клеток с экспрессией Ki-67 и bcl-2 злокачественных опухолей ЩЖ, позволяет объективно оценить соотношение этих факторов, выявить их взаимосвязь и наличие прямой или обратной корреляции.

Одним из важных показателей морфофункционального состояния опухоли является степень выраженности митотической активности популяции опухолевых клеток РЩЖ. Этот параметр взаимосвязан с пролиферативной активностью, что нами выявлялось иммуногистохимически с моноклональными антителами Ki-67.

Наиболее высокие митотический индекс и пролиферативная активность в исходном (биопсийном) материале выявлены при изучении анапластической карциномы. Большое количество митозов выявляется также в фолликулярных раках, несмотря на относительную мономорфность их клеток. Получены показатели апоптотической активности различных гистологических вариантов злокачественных новообразований ЩЖ (табл. 1). Следует отметить, что наши данные совпадают с исходным уровнем клеточной активности у других авторов [1]. Данные, полученные для групп АК, с нашей точки зрения, являются интересными, так как малоизучены.

Показатели экспрессии антиапоптотического белка bcl-2 имеют такие результаты. Позитивное окрашивание как ядра, так и цитоплазмы выявлено в 38,78 % папиллярных карцином и в 50,21 % фолликулярных карцином. При С-клеточном раке — 71,43 %. При низко дифференцированных формах цитоплазматическая и ядерная экспрессия bcl-2 наблюдалась в 28,57 % случаев, при недифференцированном раке — в 23,08 %.

После проведенной противоопухолевой терапии важным морфофункциональным показателем изменения состояния опухоли является, как известно, степень изменения пролиферативной, митотической и апоптотической активности (табл. 2).

В ходе терапии отмечается и изменение антиапоптотического потенциала опухоли, о чем свидетельствует изменение показателя экспрессии антиапоптотического белка bcl-2.

Таблица 1

Показатели пролиферативной, митотической и апоптотической активности различных гистологических вариантов злокачественных новообразований щитовидной железы

Параметр	ПК	ФК	МР	НДК	АК
Митотический индекс	6,48±0,42	8,11±0,22	10,31±0,23	12,17±0,51	15,02±1,01
Относительный объем клеток с позитивным окрашиванием Ki-67, %	16,13±1,26	19,92±3,05	28,32±1,02	43,42±4,24	79,56±5,03
Апоптотический индекс, %	4,12±0,43	4,53±0,39	5,13±0,26	5,47±0,87	6,11±0,43

Таблиця 2

Показатели пролиферативной, митотической и апоптотической активности различных гистологических вариантов злокачественных новообразований щитовидной железы после модифицированной неоадьювантной химиолучевой терапии

Параметр	ПК	ФК	МР	НДК	АК
Митотический индекс	3,67	4,26	9,38	4,93	5,63
Относительный объем клеток с позитивным окрашиванием Ki-67, %	11,24	13,07	25,87	21,81	24,12
Апоптотический индекс, %	6,68	6,21	6,01	9,31	9,97

Таблиця 3

Результаты иммуногистохимического выявления экспрессии антиапоптотического белка bcl-2, %

Схема лечения	ПК	ФК	МР	НДК	АК
Модифицированная неоадьювантная химиолучевая терапия	55,56	66,67	71,98	42,85	30,77

Несмотря на неоднородность экспрессии, в ядрах и цитоплазме при проведении иммуногистохимического исследования выявляется повышение процентного числа клеток с позитивным окрашиванием (табл. 3).

Анализируя результаты оценки патоморфологических изменений в опухоли, выявлен достаточно неожиданный результат с максимально выраженным эффектом НХЛТ в группе с анапластическим раком, при этом сопоставление морфологических изменений и клинического эффекта оказались идентичными.

При оценке пролиферативной и антиапоптотической активности, с нашей точки зрения, особое внимание следует уделить именно состоянию опухолевых клеток для определения их потенциальных возможностей после НХЛТ. Предложенная нами оценка, включает как качественную, так и количественную оценку изменений агрессивных свойств опухоли на тканевом и клеточном уровнях и определения степени повреждения по оценочной шкале, что может быть применено для подтверждения ответа опухоли (ОО) на проводимое лечение, в том числе и на основании проведенных нами ранее исследований [3]. Для повышения объективности ОО определяется объем индуцированных вторичных изменений в опухоли, изменение объемов жизнеспособной, дистрофизированной и дисконкомплексированной составляющих в остаточной опухолевой ткани, состояние митотической активности, апоптоза, характеристика и степень выраженности воспалительной реакции. Ведущими среди этих факторов, на наш взгляд, можно считать пролиферативную и апоптотическую активность остаточной ткани опухоли [2].

Объем жизнеспособной ткани в остаточной опухоли характеризует ткань новообразования, которая не отреагировала на НХЛТ и является потенциалом для прогрессии и генерализации процесса. В свою очередь, объем поврежденной ткани в остаточной опухоли отражает удельный вес нежизнеспособных элементов [2, 4, 11]. Изменение митотической активности является общепринятой характеристикой пролиферативной

активности опухоли [2, 8]. Степень апоптоза опухолевых клеток является показателем изменения запрограммированного механизма гибели онкоцитов в ответ на проведенную терапию. Исследование клеточной реакции стромы опухоли обеспечивает оценку местного иммунологического контроля, где особую роль имеет выявление именно тех реакций, которые происходят в результате противоопухолевой терапии, и которое, помимо прямого или косвенного воздействия на структуру опухоли, не всегда положительно влияет на общую реактивность организма [9]. При существенной клеточной инфильтрации стромы отмечается относительно благоприятный прогноз у больных злокачественными новообразованиями различных локализаций. Анализ патоморфологической картины именно остаточной опухолевой ткани как самой стойкой к проведенной терапии позволяет оценить ее химио- и/или радиорезистентность, а затем — целесообразность коррекции или прекращения дальнейшего лечения по этой схеме, определить степень «агрессивности» опухоли, т. е. оценить ее пролиферативный и метастатический потенциал [1, 2]. В свою очередь, это придает полученным результатам прогностическую ценность, а вместе с остальными описанными критериями подтверждает ее высокую достоверность.

ВЫВОДЫ

Применение неоадьювантной химиолучевой терапии существенно влияет на пролиферативную и апоптотическую активность РЩЖ. Данный способ лечения ведет к наиболее значимым изменениям изучаемых параметров при низко дифференцированных и недифференцированных формах рака, что является перспективным для дальнейшего изучения относительно их резистентности к традиционным методам лечения РЩЖ.

Перспектива дальнейших исследований состоит в выявлении корреляционных взаимосвязей между клиническим и патоморфологическим эффектами предложенной нами неоадьювантной химиолучевой терапии.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Афанасьева З. А.* Иммуноморфологические исследования в диагностике опухолей щитовидной железы / З. А. Афанасьева, С. В. Петров, Р. Ш. Хасанов // Российский онкологический журнал. — 2005. — № 5. — С. 50–54.
2. *Ланцов Д. С.* Пролиферативная активность папиллярной микрокарциномы щитовидной железы / Д. С. Ланцов // Архив патологии. — 2006. — № 5. — С. 16–19.
3. Оценка ответа злокачественных опухолей щитовидной железы на противоопухолевую терапию / Ю. А. Винник, В. Н. Горбенко, А. Р. Васько, В. В. Горгін // Экспериментальна та клінічна медицина. — 2014. — № 1. — С. 144–149.
4. Пат. № 23830. Спосіб оцінки лікувального патоморфозу злоякісної пухлини / О. А. Суховерша, І. В. Біленький, С. М. Чекан. — установа Дніпропетровська медична академія. — Заява. 11.12.2006. Опуб. 11.06.2007. — Бюл. № 8.
5. Патологоанатомическая диагностика опухолей человека: рук-во для врачей / под ред. Н. А. Краевского, А. В. Смольяникова, Д. С. Саркисова [и др.]. — М.: Медицина, 1993. — Т. 2. — 686 с.
6. *Пинский С. Б.* Анапластический (недифференцированный) рак щитовидной железы / С. Б. Пинский, В. В. Дворниченко, О. Р. Репета / Сибирский медицинский журнал. — 2008. — № 8. — С. 14–20.
7. Руководство по иммуногистохимической диагностике опухолей человека / под ред. С. В. Петрова, Н. Т. Райхлина. — 3-е изд. — Казань: Титул, 2004. — 456 с.
8. Ультраструктурные и иммуногистохимические особенности рака щитовидной железы / Т. В. Павлова, Е. А. Смирнова, Л. Е. Гуревич, И. А. Павлов // Архив патологии. — 2008. — № 4. — С. 10–13.
9. Химиотерапевтический патоморфоз злокачественных опухолей / К. А. Галахин, О. Г. Югринов, Е. Г. Курик [и др.] // Укр. хіміотерапевт. журн. — 2000. — № 4(8). — С. 8–12.
10. *Dabbs D. J.* Diagnostic immunohistochemistry / D. J. Dabbs. — Churchill Livingstone. — 2006. — 828 p.
11. *DeLellis R. A.* Eng C Pathology and Genetics of tumours of endocrine organs / R. A. DeLellis, R. V. Lloyd, P. U. Heitz // World Health Organization classification of tumors — IARC Press, Lyon. — 2004. — P. 49–105.
12. *Rosai J.* Ackerman's Surgical Pathology. — 8th Edition, Ch. 9 / J. Rosai // Thyroid gland. — St. Louis: Mosby. — 1996. — Vol. 1. — P. 493–588.
13. The management of thyroid nodules: a retrospective analysis of health insurance data / R. Wienhold, M. Scholz, J. R. Adler [et al.] // Dtsch. Arztebl. Int. 2013. — Vol. 6. — № 110(49). — P. 827–834.