

МІКРОСУДИННА ЩІЛЬНІСТЬ В ТКАНИНІ РАКУ ШЛУНКА ЛЮДИНИ ТА ЇЇ ЗВ'ЯЗОК З ДЕЯКИМИ КЛІНІЧНИМИ ХАРАКТЕРИСТИКАМИ ЗАХВОРЮВАННЯ

Л.Д. Гуменюк

Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України (Київ)

Вступ

Ангіогенез (поряд з гліколізом) є одним з двох адаптаційних феноменів, які є універсальними характеристиками солідних пухлин та найважливішими для пухлинної прогресії. Коли нова пухлина досягає 1-2 мм, її ріст потребує формування нових кровоносних судин для забезпечення постачання кисню та речовин, необхідних для росту. Неоваскуляризація призводить до адаптації пухлинних клітин до гіпоксичних умов, які є постійною рисою мікрооточення клітин майже всіх солідних пухлин, та може активно впливати на розвиток метастазів [1-3].

Ангіогенну активність пухлини відображає ступінь інтрамуральної мікросудинної щільності (МСЩ). Кореляції між ангиогенезом і ростом пухлини, її метастатичним потенціалом та прогнозом перебігу захворювання базуються на величині МСЩ, визначеної підрахунком кількості мікросудин за допомогою імуногістохімічних методів з використанням моноклональних антитіл. На сьогодні немає єдиного підходу до використання тих чи інших антитіл, головним чином використовуються антитіла до фактору VIII (фактор Віллебранда), білків CD31, CD34, PECAM-1, рідше до інтегрину $\alpha_v\beta_3$ чи CD105 [1,4]. При цьому і досі не існує єдиного погляду на методику підрахунку кількості судин у пухлинах [4-7].

Для різних пухлин людини показано, що МСЩ може мати незалежне прогностичне значення злоякісного перебігу хво-

роби та метастазування, особливо при раку молочної залози та легенів [4, 5, 7-9]. Іншими дослідниками [4, 5, 10] не виявлено кореляції між інтенсивністю ангиогенезу і прогнозом хвороби у хворих на злоякісні пухлини молочної залози, в той час, як вивчення ангиогенезу як фактору клінічного прогнозу раку гортані показало, що безрецидивний перебіг хвороби корелював з кількістю судин у "гарячих ділянках" пухлини: при наявності пухлини з кількістю судин більше 130 на 1мм² дослідники спостерігали рецидиви через певний час після хірургічного або комбінованого лікування [11]. В цілому можна сказати, що на сьогодні інформація щодо ефективності оцінки ангиогенезу за допомогою визначення МСЩ різними методами, а також прогностичного значення МСЩ досить суперечлива. Автори узагальнюючих оглядів літератури з цього питання пояснюють сильні розбіжності результатів переважно відмінностями в методології оцінки МСЩ [4, 5].

Метою нашої роботи було визначення МСЩ в тканинах пухлин хворих на рак шлунка та виявлення її зв'язку з деякими клінічними характеристиками захворювання.

Матеріали та методи дослідження

Зразки пухлинної тканини у хворих на рак шлунка були отримані після їх інформування про мету дослідження. Досліджено 81 хворий (клінічна характеристика наведена в таблиці 1). Величину МСЩ визначали шляхом підрахунку забарвлених мікросудин з використанням CD34 в якості маркера ендотеліальних клітин. Експресію CD34 визначали імуногістохімічним (ІГХ) методом у парафінових зрізах тканини, що фіксувалися в 4% забуференому формаліні. Гістологічні зрізи товщиною 4 мкм депарафінувалися в ксилолі. Для ІГХ виявлення білка CD34 був використаний ланцюговий метод із полімеразною кон'югацією (EnVision/HRP, "DakoCytomation", Denmark). В якості первинних антитіл використовували мишині моноклональні антитіла (MкАТ) проти CD34 (клас II, клон QBEnd, "DakoCytomation", Данія) у розведенні [1:100]. Позитивним контролем слугували MкАТ проти цитокератинів (клон MNF116, "DakoCytomation", Данія), в негативному контролі первинні MкАТ не наносили.

Характеристика хворих

Показник	Кількість хворих, n (%)
Середній вік (роки, ряд)	60 (31-80)
Чол.	50 (62)
Жін.	31 (38)
<i>pT категорія</i>	
T1	2 (2)
T2	9 (11)
T3	50 (62)
T4	20 (25)
<i>pN категорія</i>	
N+	43 (53)
N-	38 (47)
<i>Віддалені метастази</i>	
M+	9 (11)
M-	72 (89)
<i>Стадія TNM</i>	
I	11 (14)
II	23 (28)
III	26 (32)
IV	21 (26)
<i>Гістологічна структура</i>	
Аденокарцинома	51 (63)
Слизовий рак	6 (7)
Недиференційований	19 (25)
Перстневидно-клітиний	4 (5)
<i>Ступінь диференціювання</i>	77
G1	2 (3)
G2	16 (20)
G3	36 (47)
G4	23 (30)

Підрахунок кількості мікросудин проводили за Weidner [1] з використанням окулярної сітки 20x20 квадратів, площею 1 см². Спочатку при малому збільшенні (x65) ідентифікували області з самою високою щільністю мікросудин ("гарячі ділянки"), розглядаючи весь гістологічний зріз. Потім кількість індивідуальних мікросудин підраховували при великому збільшенні (x160) на площі 0,625 мм². Кожна зафарбована ендотеліальна клітина чи групи, окремі від суміжної судини, підраховувались як одна мікросуди-

на, навіть за відсутності просвіту судини. Індекс васкуляризації визначали, перераховуючи кількість мікросудин на 1 мм². Вживаність хворих визначали методом Каплана - Майера.

Отримані результати та їх обговорення

Результати експериментів виявили високий рівень МСЦ в пухлинах, що вказує на активний ангиогенез у тканині раку шлунка людини, а також на більшу ефективність використання CD34 в якості ендотеліального маркера. Так, в нашому дослідженні, МСЦ коливалась від 62,93 до 419,7 мікросудин/мм², медіана - 148,0 мікросудин/мм². Значення МСЦ в межах 95% довірчого інтервалу: 151,89 - 184,51.

Для дослідження взаємозв'язку МСЦ з деякими клінічними характеристиками захворювання ми умовно виділяли високий та низький рівень неоваскуляризації, що ґрунтувався на виявленій медіані (> 148 і < 148 мікросудин/мм²). Результати аналізу взаємозв'язку МСЦ з клініко-патологічними характеристиками у хворих на рак шлунка представлені в таблиці 2, на рисунках 1-3.

Хоча не виявлено вірогідної кореляції між рівнем МСЦ та такими показниками, як розмір пухлини, стадія процесу, ступінь диференціації пухлинних клітин, статус лімфатичних вузлів та метастазування (p>0,1) певні тенденції взаємозв'язку між вказаними показниками прослідковуються. Так, при менших розмірах пухлини (T1/T2) кількість хворих з високою МСЦ більша, ніж з низькою (63,63% та 36,37% відповідно). При збільшенні розміру пухлин (T3/T4) кількість хворих з високою МСЦ зрівнюється з кількістю хворих з низьким рівнем неоваскуляризації. Аналіз середнього значення МСЦ в тканинах пухлин в залежності від їх розміру виявив зменшення МСЦ при рості пухлин з T1 до T3 (168,54; 150,89; 142,7 мікросудин/мм² відповідно). При рості пухлин з T3 до T4 МСЦ зростає до 173,47 мікросудин/мм² (рисунок 2). Можливо це обумовлено тим, що саме на ранній стадії росту пухлин відбувається активний ангиогенез, і при відносно невеликому розмірі пухлини МСЦ є дуже високою. В подальшому (T1-T3), ріст пухлини може дещо випереджати активність

неоваскуляризації, тому не виключено, що це також є однією з причин, які призводять до зміни показників МСЦ. За даними літератури, найбільша активність ангиогенезу спостерігається при переході передраку в рак, що показано при вивченні щільності судин при цервікальній інтраепітеліальній неоплазії та її прогресії у рак [12]. Хоча провідну роль у зміні особливостей мікросудинного русла надають тривалості пухлинного процесу, а не об'єму пухлини [13].

Таблиця 2

Взаємозв'язок мікросудинної щільності пухлин з деякими клініко-патологічними характеристиками хворих на рак шлунка

	Мікросудинна щільність, мікросудин/мм ²	
	Низький рівень <148, хворих, n (%)	Високий рівень >148, хворих, n (%)
<i>pT категорія</i>		
T1	0 (0)	2 (100)
T2	4 (44,44)	5 (55,56)
T3	27 (54)	23 (46)
T4	9 (45)	11 (55)
T1/T2	4 (36,36)	7 (63,64)
T3/T4	36 (51,43)	34 (48,57)
<i>Ступінь диференціації</i>		
G1	1(50)	1(50)
G2	8(50)	8(50)
G3	20(56)	16(44)
G4	10(43,48)	13(56,52)
G1/G2	9 (50)	9 (50)
G3/G4	30 (50,85)	29 (49,15)
<i>Стадія TNM</i>		
I	4(36,37)	7(63,63)
II	11(47,83)	12(52,17)
III	13(50,00)	13(50,00)
IV	11(52,00)	10(48,00)
I/II	15 (44,12)	19 (55,88)
III/IV	24 (51,06)	23 (48,94)
<i>pN категорія</i>		
N+	24 (55,81)	19 (44,19)
N-	16 (42,11)	22 (57,89)
<i>pM категорія</i>		
M+	7 (77,78)	2 (22,22)
M-	34 (47,22)	38 (52,78)

Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології

Незважаючи на те, що не виявлено відмінностей в кількості хворих з високим і низьким рівнем МСЦ при G3-G4 порівняно з G1-G2, кількість хворих з G4 та високим рівнем МСЦ збільшується порівняно G3 (табл. 2, рис. 1), що свідчить про тенденцію позитивної кореляції МСЦ із ступенем диференціації. На нашу думку статистична достовірність відмінностей може бути досягнута при збільшенні кількості спостережень.

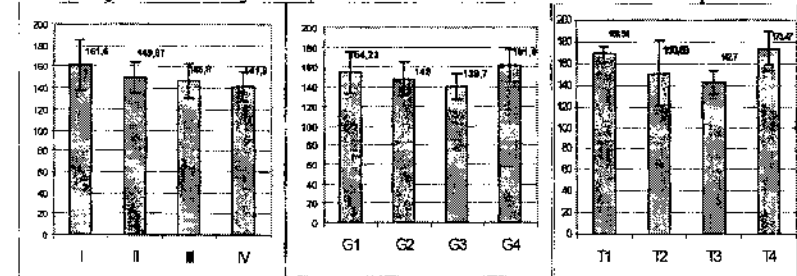


Рис. 1. Середні значення МСЦ в пухлинах хворих на рак шлунка при різних стадіях захворювання, ступені диференціації пухлинних клітин та розмірі пухлин.

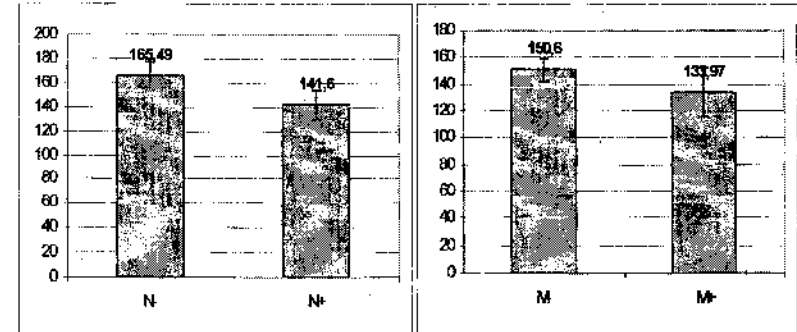


Рис. 2. Середні значення МСЦ в пухлинах хворих з наявністю та без метастаз в регіонарні лімфатичні вузли та віддалених метастаз.

При оцінці виживаності враховувались дані, отримані у 69 хворих. Смерть одного хворого спричинена кардіогенним шоком, а одинадцять вибуло з обліку. Виявлено відмінності в кількості померлих хворих з різним рівнем МСЦ. Так, з 34 хворих з низьким рівнем МСЦ за досліджуваний період померло 29,4%, а з 35 хворих з високим рівнем МСЦ - 40%.

Екологічні проблеми експериментальної та клінічної медицини

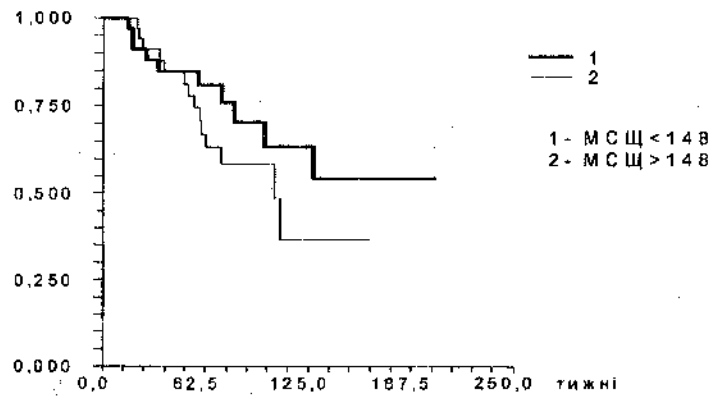


Рис. 3. Загальна виживаність хворих з різним рівнем МСЦ.

Однофакторний аналіз виживаності свідчить, що рівень МСЦ зворотно корелює з тривалістю життя хворих (рис. 3).

Висновки

1. Виявлено високий рівень мікросудинної щільності в пухлинах хворих (від 62,93 до 419,7 мікросудин/мм², медіана - 148,0 мікросудин/мм²), що вказує на активний ангиогенез у тканині раку шлунка людини.

2. Не виявлено статистично достовірної кореляції МСЦ з такими клініко-патологічними характеристиками процесу як стадія захворювання, ступінь диференціації пухлинних клітин, розмір пухлин, наявність метастаз в регіонарні лімфовузли та віддалених метастаз.

3. В той же час високий рівень МСЦ є фактором несприятливого перебігу захворювання. Для отримання чітких і достовірних прогностичних кореляцій необхідна більша кількість спостережень.

Література

1. Weidner N. Intratumoral microvessel density as a prognostic factor in cancer // *Am. J. Pathol.* - 1995. - 147. - P. 9-19.
2. Ueda M., Ueki K., Kumagai K. et al. Angiogenesis and metastasis // *Eur. J. Cancer.* - 1996. - № 32A. - P. 2451.
3. Benoy I. H., Salgado R., Elst H. et al. Relative microvessel area of the primary tumour, and not lymph node status, predicts

the presence of bone marrow micrometastases detected by reverse transcriptase polymerase chain reaction in patients with clinically non-metastatic breast cancer // *Breast. Cancer Res.* - 2005. - Vol. 7(2). - P. 210-219.

4. Uzzan B., Nicolas P., Cucherat M., Perret G.Y. Microvessel Density as a Prognostic Factor in Women with Breast Cancer A Systematic Review of the Literature and Meta-Analysis // *Cancer Research.* - 2004. - Vol. 64. - P. 2941-2955.

5. Meert A.P., Paesmans M., Martin B. et al. The role of microvessel density on the survival of patients with lung cancer: a systematic review of the literature with meta-analysis // *Br. J. Cancer.* - 2002. - Vol 87. - P. 694-701.

6. Chalkley H.W. Method for the quantitative morphologic analysis of tissues // *J. Natl. Cancer Inst.* - 1993. - Vol 4. - P. 47-53.

7. Weidner N., Semple J.P., Welch W.R., Folkman J. Tumor angiogenesis and metastasis. Correlation in invasive breast carcinoma // *N. Engl. J. Med.* - 1991. - Vol. 324. - P. 1-8.

8. Weidner N. Tumoural vascularity as a prognostic factor in cancer patients: the evidence continues to grow // *J. Pathol.* - 1998, Vol. 184. - P. 119-122.

9. Weidner N. Angiogenesis as a predictor of clinical outcome in cancer patients // *Hum. Pathol.* - 2000. - Vol. 31. - P. 403-405.

10. Goede V., Flecktnstein G., Dietrich M. et al. Prognostic value of angiogenesis in mammary tumors // *Anticancer Res.* - 1998. - Vol. 18. - P. 2199-2202.

11. Beatrice F., Cammarota R., Giordano C. et al. Angiogenesis: prognostic significance in laryngeal cancer // *Anticancer Res.* - 1998. - Vol. 18. - P. 4727-4740.

12. Dobbs S.P., Johnson I.R., Hewett P., Murray J.C. Angiogenesis as a prognostic indicator in cervical intraepithelial neoplasia // *Eur. J. Gynecol. Oncol.* - 1997. - Vol. 18. - P. 220.

13. Дубина М.В. Влияние дексаметазона на функциональные свойства микрососудов у крыс с лимфосаркомой Плисса // *Вопр. онкологии.* - 1999. - 45. - С. 655-659.

Резюме

Гуменюк Л.Д. *Мікросудинна щільність в тканині раку шлунка людини та її зв'язок з деякими клінічними характеристиками захворювання.*

Досліджували рівень мікросудинної щільності (МСЩ) в тканинах пухлин хворих на рак шлунка та її зв'язок з деякими клінічними характеристиками захворювання. Виявлено високий рівень МСЩ в пухлинах хворих (медіана - 148,0 мікросудин/мм²), який є фактором несприятливого протікання захворювання. Не виявлено вірогідної кореляції МСЩ з стадією захворювання, ступенем диференціації, розміром пухлин, наявністю метастазів в регіонарні лімфовузли та віддалених метастазів.

Ключові слова: рак шлунка, мікросудинна щільність, клініка, патогенез, прогноз.

Резюме

Гуменюк Л.Д. *Мікрососудистая плотность в ткани рака желудка человека и ее связь с некоторыми клиническими характеристиками заболевания.*

Исследовали уровень микрососудистой плотности (МСП) в тканях больных раком желудка и ее связь с некоторыми клиническими характеристиками заболевания. Выявлен высокий уровень МСП в опухолях больных (медiana - 148,0 мкс/мм²), который является фактором неблагоприятного протекания заболевания. Не выявлено статистически значимой корреляции МСП со стадией заболевания, уровнем дифференциации, размером опухоли, наличием метастазов в регионарные лимфоузлы и отдаленных метастазов.

Ключевые слова: рак желудка, микрососудистая плотность, клиника, патогенез, прогноз.

Summary

Gumenyuk L.D. *Microvascular density (MVD) in tissue sick of a gastric cancer and its communication with some clinical characteristics of disease.*

Investigated of microvascular density (MVD) in tissue sick of a gastric cancer and its communication with some clinical characteristics of disease. High level MVD in tumours of patients (a median - 148,0 mcv/mm²) which is the factor of the adverse forecast is revealed. It is not revealed statistically significant correlation MVD with a stage of disease, a level of differentiation, the size of a tumour, presence of lymph node metastasis and the remote metastasis.

Key words: gastric cancer, microvascular density, clinic, pathogenesis, prognosis.

КЛИНИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ ХРОНИЧЕСКОГО ОБСТРУКТИВНОГО ЗАБОЛЕВАНИЯ ЛЕГКИХ, СОЧЕТАННОГО С СИНДРОМОМ РАЗДРАЖЕННОГО КИШЕЧНИКА

Л.Н. Иванова, О.И. Арбузова

Луганский государственный медицинский университет

Вступление

В настоящее время хроническое обструктивное заболевание легких (ХОЗЛ) имеет широкую распространенность в мире, в том числе и в Украине (5-23%) [3,6,7]. Значительный уровень инвалидизации, высокая стоимость лечения и медицинской реабилитации больных, снижение качества и продолжительности жизни делают проблему ХОЗЛ не только медицинской, но и социально-экономической [2,7].

Больные ХОЗЛ, как правило, страдают сопутствующими заболеваниями: гипертонической болезнью (20%), аритмиями (20%), депрессивными настроениями, частыми головными болями, бессонницей, связанными с гипоксической энцефалопатией. Развитие и прогрессирование сопутствующей патологии объясняется наличием иммунного воспаления, поражающего не только легкие, но и другие органы и системы, что со временем приводит к необратимой гипоксии тканей и системной декомпенсации [3,6,7].

В то же время, синдром раздраженного кишечника (СРК) встречается почти у 30% населения развитых стран и представляет собой, согласно Римскому Консенсусу III (2006), функциональное кишечное расстройство, в основе которого лежит взаимодействие психосоциального влияния и сенсорной дисфункции, проявляющееся абдоминальной болью, ассоциирующейся с дефекацией и ее изменениями [1,4,5].

Связь работы с научными программами, планами, темами. Работа выполняется в соответствии с основным пла-