

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ГИСТОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ РЕАКЦИИ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ НА РАК ЯИЧНИКОВ И ЕГО ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Л.В. Халикова

ГБОУ ВПО Башкирский Государственный медицинский университет, г.Уфа

Халикова Лариса Вячеславовна,
аспирант кафедры онкологии с курсами онкологии и
патологической анатомии ИПО Башкирского
государственного медицинского университета,
450000, Россия, Респ. Башкортостан,
г. Уфа, ул. Ленина, д. 3,
e-mail: anifas09@mail.ru

Изучено прогностическое значение таких факторов, как параметры иммунных реакций, доступные оценке при световой микроскопии, без дорогостоящих иммуногистохимических и молекулярно-генетических методов. Выявлено три признака, позволяющих прогнозировать исход рака яичников - среднее количество лимфоцитов в поле зрения микроскопа x200 на границе опухоли/метастаза, наличие или отсутствие там же непрерывности лимфоцитарного вала и плазмациотов. Разработано уравнение регрессии для прогнозирования течения рака яичников, что должно способствовать улучшению результатов лечения.

Ключевые слова: рак яичников, иммунный ответ, гистология, морфометрия, прогноз.

QUANTITATIVE HISTOLOGICAL STUDY OF THE IMMUNE RESPONSE FOR OVARIAN CANCER AND ITS PROGNOSTIC SIGNIFICANCE

L.V. Khalikova

Bashkir State Medical University, Ufa, Russia

Studied the prognostic significance of factors such as the parameters of immune responses available evaluation under light microscopy, without costly immunohistochemical and molecular genetic methods. Identified three characteristics that predicted the outcome of ovarian cancer - the average number of lymphocytes in the field of view of the microscope x200 on the border of the tumor / metastasis, presence or absence of the same continuity and plasmacytoid lymphocytic shaft. Developed a regression equation to predict the course of ovarian cancer, which should contribute to improved health outcomes.

Keywords: ovarian cancer, immune response, histology, morphometry, forecast.

Введение

Среди всех других видов злокачественных поражений женских половых органов рак яичников характеризуется наиболее неоднозначным, трудноопределяемым прогнозом и самыми высокими показателями смертности [7].

Это делает актуальным поиск прогностических критериев, от которых во многом зависит выбор лечебной тактики [2,4].

Патоморфологические факторы в прогностическом аспекте до недавнего времени изучены не были. Встречались отдельные публикации о том, что прогноз зависит от гистологического типа опухоли, степени ее дифференцировки, пloidности опухолевых клеток, митотического индекса [5]. В

качестве количественных морфологических критериев прогноза серозных раков яичников предложены, помимо параметров опухоли, количественные показатели иммунокомпетентных клеток (CD 68 (+), CD 8(+), CD 20 (+)) (макрофагов, Т- и В-лимфоцитов) [6].

Но можно ли оценить лимфоцитарную реакцию на опухоль как прогностический фактор, не прибегая к иммуногистохимии? Ответа на этот вопрос в доступной литературе нам найти не удалось.

Цель исследования

Разработка критериев прогнозирования исхода рака яичников на основе данных количественного

гистологического исследования реакции иммунной системы на раковую инвазию.

Материалы и методы

Для исследования случайным методом было отобрано 68 наблюдений больных раком яичников в возрасте от 20 до 73 лет, выбранных случайным образом и проходивших терапию на базе РКОД МЗ РБ. Три пациентки, умершие от других заболеваний, были исключены из исследования. Из остальных 20 умерли, остальные на момент исследования (через 3-4 года после оперативного вмешательства) были живы, и признаков рецидива или метастазов у них не обнаружилось.

Для определения степени распространенности опухолевого процесса использовали классификации по системе TNM (2003) и по стадиям FIGO (1991). Морфологическая классификация опухолей яичника проводилась согласно Международной гистологической классификации ВОЗ (1973).

При патоморфологическом исследовании сначала изучали макропрепараты яичников и большого сальника, полученные при их хирургическом удалении. Затем проводили гистологическое светоптическое исследование на парафиновых срезах, окрашенных гематоксилином и эозином по стандартной методике.

Для морфометрического исследования выраженности иммунной реакции на опухоль использованы удаленные во время оперативного вмешательства образцы ткани яичников из области опухоли и тканей на границе с ней, а также метастазы в сальник и прилежащая к ним ткань, если метастазирование имело место.

Измерения проводились в процессе световой микроскопии на $\times 200$ [1] и включали оценку следующих параметров:

- количество лимфоцитов в поле зрения $\times 200$ на удалении от опухоли;
- количество лимфоцитов в поле зрения $\times 200$ на границе с опухолью;
- непрерывность лимфоцитарного вала на границе с опухолью (признак кодировался 1 при наличии и непрерывности, 0 при отсутствии);
- количество нейтрофилов в поле зрения $\times 200$ на границе с опухолью;
- наличие плазмочитов на границе с опухолью (признак кодировался 1 при наличии и непрерывности, 0 при отсутствии).

Для анализа бинарных признаков (наличие – 1, отсутствие – 0) вычисляли хи-квадрат, так как он является непараметрическим, т.е. независим от типа распределения исходных данных.

Для количественных признаков рассчитывали среднее арифметическое, стандартное отклонение и стандартную ошибку, а также медиану, эксцесс и асимметричность, чтобы выяснить, близок ли тип распределения к нормальному. Для всех исследованных признаков медиана была недостаточно близка к средней арифметической величине, но эксцесс и асимметричность были больше 1, что говорило об отличии распределения данных величин от нормаль-

ного. Ввиду отличия распределения данной величины от нормального применение критерия Стьюдента не представлялось корректным, поэтому для сравнения мы использовали непараметрические критерии Манна-Уитни (Т-критерий) и Крускала-Уоллиса для 1 степени свободы (т.е. для сравнения 2х групп) [3].

Вычисления произведены с помощью программы «Биостат», которая оценивает также достаточность размеров выборки для получения корректных результатов [3].

Для исследования взаимосвязи признаков вычисляли коэффициенты корреляции по Пирсону. Для регрессионного анализа мы выбирали параметры, которые имели наиболее высокие и статистически значимые коэффициенты корреляции с исходом и не имели существенной корреляции друг с другом [6].

Результаты и обсуждения

Были получены следующие результаты:

1. Количество лимфоцитов в поле зрения $\times 200$ на удалении от опухоли у выживших равнялось в среднем 492 (стандартная ошибка $m = 165,0$, стандартное отклонение 594,8, медиана 250), у умерших в среднем 682 (стандартная ошибка $m = 266,2$, стандартное отклонение 883,0, медиана 100). Т-критерий Манна-Уитни составил 133.5 ($p = 0.860$), критерий Крускала-Уоллиса $H = 0.055$ ($p = 0.814$). Таким образом, статистически значимых различий по этому признаку обнаружено не было.

2. Количество лимфоцитов в поле зрения $\times 200$ на границе с опухолью у выживших оставалось в среднем 595 (стандартная ошибка $m = 191,7$, стандартное отклонение 0,3, медиана 400), у умерших в среднем 5 (стандартная ошибка $m = 1,9$, стандартное отклонение 6,3, медиана 5).

При сравнении групп критерий Крускала-Уоллиса составил $H = 10.251$ ($p = 0.001$), Т-критерий Манна-Уитни 83.0 ($p = 0.002$), что говорит о значимости обнаруженного различия (рис. 1).

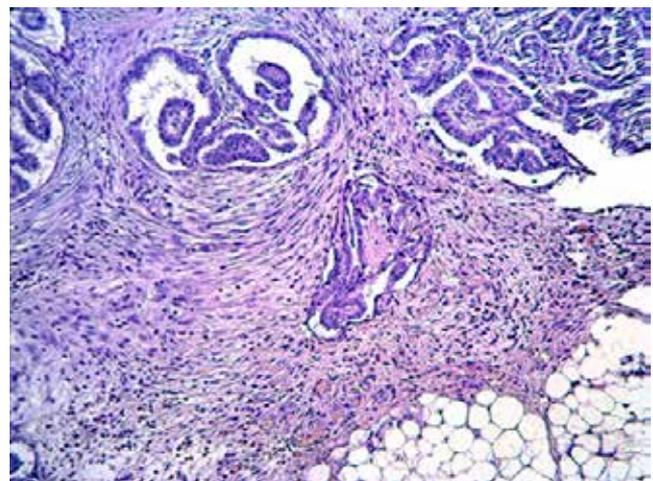


Рис. 1. Скучная лимфоцитарная реакция на метастаз в большой сальник. Исход – смерть. Микрофото, $\times 100$

3. Непрерывность лимфоцитарного вала на границе с опухолью.

Для выживших этот показатель составил 53,8%, для умерших – 0. Величина критерия хи-квадрат соответственно равнялась 8,36, что выше критического значения и означает, что значимость данного результата $P > 95\%$ ($p < 0,05$), что достаточно для признания результата значимым в медицине и биологии (рис. 2).

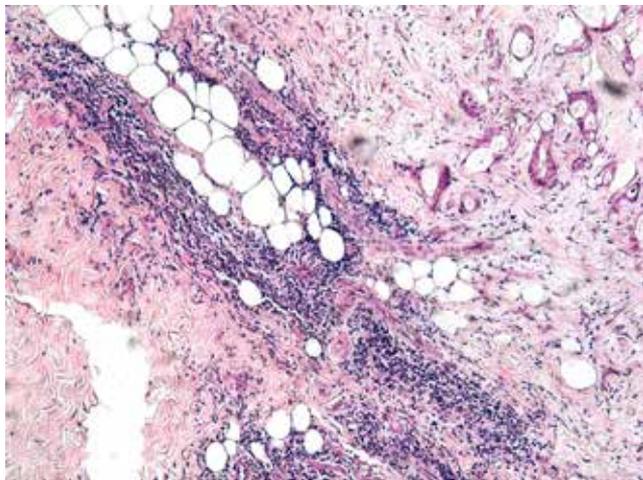


Рис. 2. Сплошной лимфоплазмозитарный вал на границе метастаза, микрофото x 100

4. Количество нейтрофилов в поле зрения x200 на границе с опухолью у выживших оставляло в среднем 0,2 (стандартная ошибка $m = 0,1$, стандартное отклонение 0,4, медиана 0), у умерших в среднем 5,5 (стандартная ошибка $m = 1,8$, стандартное отклонение 6,1, медиана 5).

При сравнении групп критерий Крускала-Уоллиса составил $H = 6.582$ ($p = 0.01$), Т-критерий Манна-Уитни 177.0 ($p = 0.011$), что говорит о значимости обнаруженного различия.

5. Наличие плазмочитов на границе с опухолью у выживших определялось в 30,8% наблюдений, у умерших не было обнаружено ни в одном. Величина критерия хи-квадрат составила 4,06, что выше критического значения. Таким образом, различие групп по этому признаку тоже достоверно ($p < 0,05$) (рис. 3).

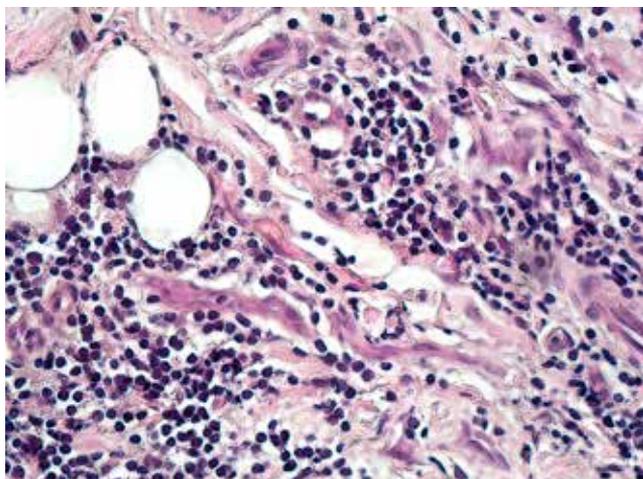


Рис. 3. Сплошной густой лимфоплазмозитарный вал на границе метастаза, микрофото, x 200

Гистофометрические данные тоже были также подвергнуты многомерному корреляционному (по Пирсону) и регрессионному анализу.

Регрессионный анализ позволил получить следующую формулу:

$$\text{Outcome} = 0,32 + 0,17 * \text{lymphocytesNear} + 0,37 * \text{lymphocytesNoDiscret} + 0,38 * \text{plasmocytes},$$

где:

Outcome – исход (0 - смерть, 1 – выживание в течение 5 лет);

lymphocytesNear – среднее количество лимфоцитов в поле зрения микроскопа x200 на границе опухоли/метастаза;

lymphocytesNoDiscret – наличие или отсутствие (наличие кодируется 1, отсутствие - 0) непрерывности лимфоцитарного вала на границе опухоли/метастаза;

plasmocytes – наличие или отсутствие (наличие кодируется 1, отсутствие - 0) плазмочитов на границе опухоли/метастаза;

* - знак умножения.

Таким образом, три признака, легко определяемые при световой микроскопии и отражающие состояние защитных сил организма, - среднее количество лимфоцитов в поле зрения микроскопа x200 на границе опухоли/метастаза, наличие или отсутствие там же непрерывности лимфоцитарного вала и плазмочитов, - позволяют прогнозировать исход рака яичников

Таким образом, выживают те больные раком яичников, у которых лимфоциты образуют непрерывный вал на границе с опухолью, их количество на границе с опухолью в поле зрения x200 составляет 400 и более, в составе вала имеются плазмочиты, а нейтрофилы отсутствуют или немногочисленны. Отдельные скопления лимфоцитов, особенно на отдалении от опухоли, на исход не влияют.

Объяснение таких результатов нам видится в защитной функции иммунной системы. Если она не истощена, то она реагирует на опухолевый рост формированием лимфоцитарного вала и его активностью, морфологическим признаком которой служит трансформация в плазмочиты. Истощение лимфоплазмозитарной реакции способствует опухолевому росту. Нейтрофилы не играют защитной роли, а их повышенное количество у умерших можно объяснить тем, что у них более интенсивный рост опухоли приводит к более сильному повреждению тканей на границе и к усиленной гибели самих опухолевых клеток, получающих недостаточно питания, на что и реагируют нейтрофилы.

Что касается скоплений лимфоцитов на отдалении от опухоли, то они, видимо, формируются без какой-либо связи с опухолью и не участвуют в реакции на нее.

Таким образом, местная реакция иммунной системы на опухоль играет важную роль в определении ее прогноза. При сохранной функции иммунной системы ей удастся задержать распространение опухоли до момента операции, и удаление первичного очага и метастазов ведет к излечению. Но у больных раком яичника часто обнаруживает-

ся истощение функциональных возможностей иммунной системы, морфологически проявляющееся атрофией лимфоидной ткани и заменой ее на жировую. В таких случаях стремительное распространение опухоли успевают произойти до операции, и последняя оказывается малоэффективной.

Заключение

Нами впервые изучено прогностическое значение таких факторов, как параметры иммунных реакций, доступные оценке при световой микроскопии, без дорогостоящих иммуногистохимических и молекулярно-генетических методов. Разработано уравнение регрессии для прогнозирования течения рака яичников, что должно способствовать улучшению результатов лечения.

Список литературы

1. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. Руководство. – М.: Медицина, 1990. – 384 с.
2. Ганцев Ш.Х. Метастазирование и лечение рака (новые данные и подходы к лечению) / Ш.Х. Ганцев // Креативная онкология и хирургия. – 2011. - №1. – URL: <http://eoncosurg.com/?p=101> (12.05.2012).

3. Гланц С. Медико-биологическая статистика. Пер. с англ. / Гланц С. – М., Практика, 1998. – 459 с.

4. Колосов А.Е. Опухоли яичников и прогноз для больных: Руководство для врачей / А.Е. Колосов. – Киров, 1996. – 240 с.

5. Паниченко И. В. Опыт применения клинических и биологических факторов прогноза у больных раком яичников // Практикующий врач. – 2002. - №2. - С. 35-38.

6. Сергеев А.В. Иммуногистохимическая характеристика иммунокомпетентных клеток стромы серозных раков яичников и прогноз заболевания / Сергеев А.В. // Материалы IV конференции российских патологоанатомов «Новые методы и разработки в онкоморфологии», посвященной 100-летию со дня рождения академика АМН СССР Н.А. Краевского. - М., 2005. - С.139-142.

7. Хамитова Г.В. Региональные особенности распространенности рака яичников в Республике Башкортостан и Республике Татарстан / Хамитова Г.В., Рахматуллина И.Р. // Креативная хирургия и онкология. – 2010. - №3. - С. 27-31.

ПЕРИОПЕРАЦИОННАЯ ОЦЕНКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ ЛИМФОУЗЛОВ ПРИ ПЛОСКОКЛЕТОЧНОМ РАКЕ ЯЗЫКА

Ш.И. Мусин, Р.Р. Фархутдинов

ГБОУ ВПО Башкирский государственный медицинский университет

Мусин Шамиль Исмагилович,

аспирант кафедры онкологии с курсами онкологии и патологической анатомии ИПО Башкирского государственного медицинского университета,
450000, Россия, Респ. Башкортостан, г. Уфа, ул. Ленина, д. 3,
тел. 8 (347) 272-11-60,

e-mail: musin_shamil@mail.ru

Фархутдинов Рафагат Равильевич,

зав. Центральной научно-исследовательской лабораторией Башкирского государственного медицинского университета,
д-р мед. наук, профессор,
450000, Россия, Республика Башкортостан,
г. Уфа, ул. Пушкина, д. 96/98,
тел.: 8 (347) 273-61-45,

e-mail: farkhutdinov@mail.ru

Высокая частота регионарного метастазирования рака полости рта в лимфатические узлы шеи формирует необходимость поиска новых информативных методов оценки состояния лимфатических узлов шеи. Одним из перспективных методов оценки состояния лимфоузлов шеи является исследование состояния свободнорадикального окисления методом регистрации хемилюминесценции. Исследование показателей хемилюминесценции в динамике - периоперационная оценка - позволяет оценить глубину нарушений в системе «свободнорадикальное окисление-антиоксидантная защита». Проведено исследование периоперационных показателей