

Т.П. ЯКИМОВА

Інститут медичної радіології  
ім. С.П. Григор'єва  
АМН України,  
м. Харків

## Імуноморфологічні особливості раку грудної залози при променевої терапії

Immunomorphological characteristics of breast  
cancer at radiotherapy

**Цель работы:** Сравнение морфологических характеристик опухолей в зависимости от наличия экспрессии рецепторов апоптоза на лимфоцитах крови больных, которые осуществляют противоопухолевый иммунитет.

**Материалы и методы:** Сравнительные морфологические исследования проведены у 71 больной раком грудной железы (РГЖ) с I–III стадиями заболевания до и после лучевой терапии (ЛТ) в ритме крупного фракционирования. Кроме того, у 50 больных было проведено сопоставление данных лучевого патоморфоза с наличием или отсутствием рецепторов апоптоза на лимфоцитах крови, выявленных иммуноферментным методом.

**Результаты:** Установлены угнетение пролиферативных свойств опухоли и активация гистиоцитарной реактивности синусов лимфатических узлов под влиянием ЛТ в ритме крупного фракционирования. Наличие рецепторов апоптоза на лимфоцитах крови снижает эффект лучевого воздействия на опухоль и негативно сказывается на степени распространения опухолевого процесса.

**Выводы:** Предоперационная ЛТ в ритме крупного фракционирования — эффективное противоопухолевое средство, снижающее биологические свойства опухоли. Феномен апоптоза в регрессии РГЖ является весьма незначительным, но наличие рецепторов апоптоза на лимфоцитах периферической крови существенно снижает радиорезистентность опухоли и угнетает резистентность организма, что обуславливает более частое метастазирование в регионарные лимфатические узлы.

**Ключевые слова:** рак грудной железы, апоптоз, лучевой патоморфоз, CD95 рецепторы на лимфоцитах крови.

**Objective:** To compare the morphological characteristics of the tumors depending on expression of blood lymphocyte apoptosis receptors, which are responsible for anti-tumor immunity.

**Material and Methods:** Comparative morphological study involved 71 patients with stage I-III breast cancer (BC) before and after radiation therapy with large fractions. In addition, the data of radiation pathomorphism were compared with the presence or absence of apoptosis receptors on the blood lymphocytes revealed using immunoenzyme method.

**Results:** Inhibition of proliferative properties of the tumor and activation of histiocyte reactivity of sinuses of the lymph nodes under the influence of radiation therapy with large fractions was established. The presence of apoptosis receptors on the blood lymphocytes reduced the effect of radiation therapy and affected the degree of tumor dissemination.

**Conclusion:** Pre-operative radiation therapy with large fractions is an effective anti-tumor remedy, which reduced biological properties of the tumor. Apoptosis in BC regression is inconsiderable but the presence of apoptosis receptors on the peripheral blood lymphocytes considerably reduces radioresistance of the tumor and inhibits the organism resistance, with is responsible for more frequent tumor metastasizing to the regional nodes.

**Key words:** breast cancer, apoptosis, radiation pathomorphism, CD95 receptors of blood lymphocytes.

Рак грудної залози (РГЗ), що становить найактуальнішу проблему сучасної онкології у жінок, посідає перше місце за частотою [1, 2]. Незважаючи на великий досвід світової медицини, новітні методи діагностики та лікування, досягнення фармацевтичної промисловості, яка надала медикам ефективні ліки для гормоно-, імуно- та хемотерапії, основним залишається комбінований метод лікування, який включає різноманітні схеми променевої терапії (ПТ) в поєднанні з різними об'ємами хірургічного втручання [3–7]. На сьогодні не існує чітких знань про клінічну значущість зміни імунітету при РГЗ, як і про метод досконалої імунотерапії.

Вчені-онкологи всього світу намагаються оптимізувати результати комбінованого ліку-

вання РГЗ, які протягом майже півстоліття залишаються стабільними. Більше п'яти років переживає у стані видужання лише близько 50 % хворих [2, 7].

Останнім часом увага вчених прикута до запрограмованої природної смерті клітин — апоптозу з метою посилення його у ракових клітинах [8–12]. Але ще немає досить переконливих даних щодо цього феномену у різних клітинах організму та пухлинах. Отже, метою нашого дослідження стало порівняння морфологічних характеристик пухлин залежно від наявності експресії рецепторів апоптозу на лимфоцитах крові хворих, які здійснюють проти-пухлинний імунітет. У наших більш ранніх роботах показано значення місцевих та загальних імунних реакцій у перебігу РГЗ [7, 13].

## Методика дослідження

Обстежено 71 хвору на РГЗ віком 30–72 роки з I–III стадіями процесу (T1N0M0–T1–3N0–2M0), з яких 51 отримала комбіноване лікування з інтенсивним коротким курсом у передопераційному періоді (по 5 Гр на пухлину та 4 Гр на регіонарні лімфатичні вузли до сумарної осередкової дози (СОД) 25 Гр на пухлину та 20 Гр на підпахвові лімфатичні вузли). Після операції ПТ проводили по 2 Гр 5 разів на тиждень до СОД 48–50 Гр на над-, підключичні та парастернальні лімфатичні вузли. Двадцять жінок на першому етапі одержали хірургічне лікування. Морфологічне дослідження пухлин та підпахвових лімфатичних вузлів проводили після традиційної целоїдинової обробки біоматеріалу та виготовлення з нього тонких зрізів, завтовшки 5–7 мкм, які забарвлювали гематоксиліном та еозином за методом Ван-Гізона. Променевий патоморфоз вивчали методом, розробленим Т.П. Якимовою (1989) [13]. Рецептори апоптозу на лімфоцитах периферичної крові визначали за допомогою моноклональних антитіл у 42 хворих, які отримали передопераційну ПТ [14]. Статистичну обробку матеріалу проводили за Фішером-Стьюдентом.

## Результати та їх обговорення

Як показали наші дослідження, розміри пухлин становили від 1,5 до 4,5 см. Метастази в підпахвові лімфатичні вузли виявлено у 36,84 % хворих. За морфологічною структурою пухлини вельми варіабельні, найпоширеніший — прострумний рак — 31,57 %. Другим за частотою був часточковий рак — 28,96 %, медулярний рак та тубулярна аденокарцинома поділили 3-тє місце — по 13,16 %, рак з метаплазією плоскоклітинного типу на 4-му місці (7,89 %). Колоїдний та рак з вираженим променевим патоморфозом поділили 5-тє місце і виявлялися рідко — по 2,63 %. Морфологічні характеристики раку, який не підлягав терапевтичному впливу (інтактні пухлини), і новоутвору після ПТ суттєво відрізнялися між собою (табл. 1).

Як видно з даних, наведених у табл. 1, ПТ збільшує кількість пухлин з регресією, і вираженість останньої порівняно зі спонтанною регресією пухлини удвічі; у 5 разів більше пухлин набувають ознак дистрофії в цитоплазмі та ядрі і вираженості її значно більшої за спонтанну. Дистрофічні зміни в клітинах виявлялися у вигляді жирової або гідропічної дистрофії цитоплазми і ядра, гетерохромії, коли дистрофічно змінені клітини, навпаки, посилено адсорбують барвники. Має місце каріолізис, каріорексис, а також, у невеликій кількості, апоптоз у вигляді фрагментації ядер і цитоплазми, при якому розрізнені частки клітини мають свою мембрану, яка їх оточує.

Регресія пухлин на тканинному рівні виглядає як загибель частини паренхіми та розростання сполучної тканини на місці регресії пухлин. На нашому матеріалі спонтанна регресія пухлин, яка під впливом захисних сил організму та недосконалого ангиогенезу була вельми незначною, виглядала як зменшення та зникнення поодиноких малих комплексів клітин.

Після ПТ має місце регресія пухлин від незначної до вираженої, коли залишаються поодинокі невеликі ділянки пухлин та комплекси клітин, що складають 25 % і менше від початкового об'єму новоутвору. Помірно виражена регресія пухлин на нашому матеріалі визначена у 67 % хворих.

Променева терапія діє також на проліферативну активність пухлин, знижуючи мітотичну активність та підвищуючи кількість патологічних мітозів, які, певно, сприятимуть загибелі цих клітин. Більш вираженою ( $1,92 \pm 0,29$  умов. од.) та у більшій кількості

Таблиця 1

Морфофункціональна характеристика РГЗ до і після променевої терапії  
Morphofunctional characteristics of BC before and after radiation therapy

Група хворих	Регресія пухлини. Частота, %, та вираженість, умов. од.	Дистрофія. Частота, % та вираженість, умов. од.	Мітотичний індекс, ‰	Патолог. мітози, %	Стромальні клітинні реакції, вираженість, умов. од.	Частота	
						метастазів у лімфовузлах, %	апоптозу, %, та апопт. індекс
Операція ± ПТ (n = 20)	33,93 ± 2,14 1,33 ± 0,13	11,12 ± 1,37 1,0 ± 0,01	2,33 ± 0,57	42,83 ± 2,81	1,33 ± 0,75	22,2 ± 3,18	66,67 ± 3,45 1,28 ± 0,89
ПТ ± операція (n = 51)	67,86 ± 4,13 p < 0,05 1,82 ± 0,22	64,29 ± 3,96 p < 0,05 1,63 ± 0,11	1,74 ± 0,42	72,56 ± 3,62 p < 0,05	1,46 ± 0,36	42,31 ± 3,96 p < 0,05	62,96 ± 4,41 2,45 ± 0,73

Примітка. Вірогідна різниця порівняно з інтактними пухлинами, p < 0,05.

новоутворів ( $88,46 \pm 4,72$  %) стає місцева імунна реакція в стромі, яка зі слабкої перетворюється на помірну. Апоптоз виражений дуже слабо і тільки при певних пухлинах. Так, його добре видно лише при прострумовому раці з вираженим прострумовим компонентом. Цікаво, що при інших формах новоутворів апоптоз найбільше зачіпає міоепітеліальні клітини, роль яких у виникненні РГЗ дискутується. Хоч апоптоз слабо виражений при всіх видах раку, крім comedocarcinoma, апоптичний індекс у пухлинах дещо зростає після променевої терапії РГЗ.

Найімовірніше, більший апоптичний індекс опромінених пухлин зумовлений зниженням біологічного потенціалу новоутворів та вираженістю протипухлинного імунітету, місцевим проявом якого є лімфоїдна інфільтрація стромі пухлин і ефективність гістіоцитарної системи. Аналіз морфологічних змін у пухлинах РГЗ після ПТ дає можливість дійти висновку про ефективність її короткого курсу і адекватну методику лікування раку, оскільки значній кількості новоутворів ( $67,86$  %) притаманні помірні ознаки девіталізації. Але ступінь ураженості пухлин (який оцінюють комплексно з урахуванням ступеня регресії, дистрофії, зниження мітотичної активності, зростання кількості патологічних мітозів) був досить помірним, а не значним, що можна пояснити коротким курсом ПТ. Остання викликає значне збільшення вираженості апоптозу. Апоптичний індекс зростає з  $1,28 \pm 0,89$  до  $2,45 \pm 0,73$ . Щодо реактивних змін у лімфатичних вузлах, то вони виявлені у  $62$ – $64$  % хворих у вигляді фолікулярної гіперплазії, тобто реакції з боку В-лімфоцитів, а також у наявності та ступені вираженості синусового гістіоцитозу, який характеризується кількістю вільних і фіксованих макрофагів у синусах лімфатичних вузлів. Так, фолікулярна гіперплазія, яка є проявом реакції з боку В-системи імунітету, виявлена у  $37,5$  % випадків, і ступінь її вираженості був від слабкого до помірного. Частіше виявляли гіперплазію мононуклеарних фагоцитів — гістіоцитів, яка свідчить про активну участь лімфатичних вузлів в елімінації продуктів розпаду в пухлинах. Інтенсивність цього процесу в опромінених ( $1,50 \pm 0,73$  умов. од.)

та інтактних ( $1,97 \pm 0,67$  умов. од.) пухлин не різко відрізнялася, але кількість хворих з таким активним фагоцитозом після ПТ зросла в  $1,5$  рази (з  $42,85 \pm 3,56$  % до  $62,96 \pm 6,98$  %). Це свідчить про те, що імунні реакції у хворих на РГЗ існують, і у понад половини випадків є досить вираженими та інтенсивними.

Як відомо, прогностичні ознаки РГЗ базуються на інтегральних показниках, що охоплюють оцінку стадії захворювання, розмірів пухлин, наявності та кількості уражених метастазами лімфатичних вузлів, гістологічну структуру та ступінь регресії новоутворів, вираженість дистрофічних змін у їх клітинах, стан імунореактивності організму як локальної, так і загальної пухлини, стан реактивних змін у лімфатичних вузлах, що нами і було використано для оцінки наявності експресії рецепторів апоптозу на лімфоцитах. Наявність таких рецепторів периферичної крові у хворих на РГЗ виявлено у  $48,78$  % ( $20$  із  $41$  пацієнта).

З огляду на роль імунних реакцій у появі та розвитку пухлин, нами проведено вивчення і встановлено наявності рецепторів апоптозу на лімфоцитах периферичної крові у  $48,78$  % хворих. Ми простежили морфофункціональний стан РГЗ залежно від наявності чи відсутності рецепторів апоптозу на лімфоцитах. Результати цих досліджень представлені в табл. 2.

Порівняльний аналіз морфофункціональних характеристик пухлин з наявністю рецепторів апоптозу на лімфоцитах крові (CD95) і без них виявив між ними значну різницю. Як видно, кращі ці показники у II групі хворих, які не мали рецепторів апоптозу на лімфоцитах крові. Регресія пухлин на тканинному рівні була в  $1,5$  рази частішою та вираженішою, а дистрофічні зміни в  $2$  рази частішими та значнішими, ніж аналогічні в групі жінок із рецепторами апоптозу на лімфоцитах крові. У II групі пацієнток більше придушена була і мітотична активність пухлинних клітин. Водночас у пухлинах II групи показник апоптичного індексу відрізнявся дуже малою тенденцією до збільшення, хоча кількість пухлин з наявністю апоптозу була однаковою, а саме вираженість апоптозу — мінімальною в обох групах хворих.

Але що найважливіше, у групі хворих, у яких виявлено рецептори апоптозу на лімфоцитах

Морфофункціональна характеристика РГЗ залежно від наявності чи відсутності рецепторів апоптозу (CD95) на лімфоцитах крові  
 Morphofunctional characteristics of BC depending on presence or absence of apoptosis receptors (CD95) on blood lymphocytes

Група хворих	Регресія пухлини. Частота, %, та вираженість, умов. од.	Дистрофія клітин. Частота, %, та інтенсивність, умов. од.	Мітотичний індекс, %	Патолог. мітози, %	Лімфоцити. Частота, %; вираженість, умов. од.	Ступінь клітинних реакцій у стромі, умов. од.	Частота метастазів у лімфовузлах, %	Частота	
								апоптозу, %, та апопт. індекс	син. гістіоцитозу, %, та вираженість, умов. од.
I-рецептори CD95 на лімфоцитах	47,06 ± 0,57 1,63 ± 0,13	29,41 ± 1,43 1,4 ± 0,22	2,39 ± 0,73	57,0 ± 0,62	73,33 ± 5,21 2,0 ± 0,19	1,33 ± 0,34	52,94 ± 1,84	68,75 ± 3,52 1,61 ± 0,19	52,94 ± 4,96 2,44 ± 0,94
II-рецепторів апоптозу на лімфоцитах немає	65,0 ± 4,72 1,96 ± 0,84	60,0 ± 4,19 р < 0,05 1,69 ± 0,16	1,54 ± 0,52	73,28 ± 5,02 р < 0,05	78,95 ± 8,9 1,87 ± 0,73	1,60 ± 0,58	23,81 ± 0,98	70,00 ± 5,12 1,74 ± 0,08	65,07 ± 7,37 2,54 ± 0,89

периферичної крові, зареєстрована більша як удвічі кількість осіб з метастазами в підпахвові регіонарні вузли, що зумовлює подальший перебіг хвороби. Наявність метастазів у регіонарних лімфатичних вузлах не тільки переводить процес у більш тяжкий, а й свідчить про те, що пухлина могла прометастазувати у віддалені органи.

Таким чином, наявність рецепторів апоптозу на лімфоцитах периферичної крові хворих на РГЗ — несприятливий фактор, який, можливо, призводить до руйнування лімфоцитів, зниження їх функції, а можливо, й загибелі, що позначається на загальній протипухлинній реактивності організму.

## Висновки

1. Передопераційна променева терапія РГЗ — ефективний протипухлинний засіб, який знижує біологічні властивості пухлини шляхом впливу на генетичний апарат клітин та призводить до розвитку дистрофічних змін у ядрі й цитоплазмі, що сприяє регресії пухлин та активізації гістіоцитарної активності в лімфатичних вузлах.

2. Феномен апоптозу в пухлинах РГЗ вельми незначний, хоч і зустрічається у чималій кількості пухлин, яким властива переважно структура прострумного раку або інша з наявністю прострумного компонента.

3. Наявність рецепторів апоптозу на лімфоцитах периферичної крові пригнічує протипухлинну резистентність організму, що зумовлює

пригнічення клітинних стромальних реакцій і більшу стійкість пухлин до ендо- і екзогенних протипухлинних впливів та сприяє метастазуванню.

## Література

1. Заридзе Д. // *Вопр. онкол.* — 2003. — № 4–5. — С. 489–495.
2. Шалимов С.О., Федоренко З.П., Гулак Л.О. // *Онкол.* — 2002. — № 2–3. — С. 91–95.
3. Лелягин В.П. // *Там же.* — 1998. — № 5. — С. 632–636.
4. Литвиненко О.О., Галахин К.О., Лялькин С.А., Литвиненко О.О. // *Альманах клін. мед.* — 2002. — № 2. — С. 140–143.
5. Семглазов В.Ф. // *Вопр. онкол.* — 1997. — № 1. — С. 22–26.
6. Фільчиков Ф.В. // *Лаб. діагност.* — 2001. — № 2. — С. 42–45.
7. Якимова Т.П., Таран Н.М. // *УРЖ.* — 1995. — Т. IV, вип. 3. — С. 223–227.
8. Владимирская Е.Б. // *Клин. лаб. діагност.* — 2002. — № 11. — С. 25–32.
9. Фільчиков А.А., Стойка Р.С. *Апоптоз и рак.* — К.: Морион, 1999. — 184 с.
10. Kerr J.F.R., Winterfold C.D., Harmon R.V. // *Cancer (Philad).* — 1994. — Vol. 73. — P. 2013–2026.
11. Salganik R.I., Aldright C.D., Rodgers J. et al. // *Carcinogen.* — 2000. — № 21. — P. 909–914.
12. Sen S., D'Incalci M. // *FEBS Lett.* — 1992. — Vol. 307. — P. 122–127.
13. Якимова Т.П. *Морфологические критерии оценки эффективности лучевого лечения и прогноза при раке молочной железы.* // *Информ. письмо.* — К., 1986. — 2 с.
14. Поповська Т.Н., Якимова Т.П., Костя П.І., Прохач Н.Е., Рязанцев В.В. *Морфологічні особливості раку грудної залози після передопераційної променевої терапії у хворих з підвищеною експресією рецепторів апоптозу (CD 95) на периферичних лімфоцитах // Тези доп. наук.-практ. конф. «Онкологія-XX» з міжнар. участю (Київ, 9–10 жовтня, 2003 р.).* — К., 2003. — С. 73–80.

Надходження до редакції 06.12.2004.

Прийнято 28.03.2005.

Адреса для листування:  
 Якимова Тамара Петрівна,  
 ІМР ім. С.П. Григор'єва АМНУ, вул. Пушкінська, 82,  
 Харків, 61024, Україна