УДК 616.62-006.6-085.849.1-089.163-091.8

ПАТОМОРФОЗ ІНВАЗИВНОГО РАКУ СЕЧОВОГО МІХУРА ПІД ВПЛИВОМ НЕОАД'ЮВАНТНОГО ПРОМЕНЕВОГО ЛІКУВАННЯ

А.В. Мальцев, В.І. Савенков

Харківський національний медичний університет

Вступ. Неухильне повсюдне зростання захворюваності на рак сечового міхура не знижує гостроти проблеми пошуку найбільш прийнятних та оптимальних способів його лікування [2, 4]. Особливо актуальна ця тематика в розвинених країнах Європи та Америки, де найбільшою мірою поширені етіологічні причини та фактори цього захворювання [5]. Питання про доцільність і можливість ефективного впливу на пухлини сечового міхура з використанням іонізуючого випромінювання зберігає свою актуальність не тільки у зв'язку зі зростанням частоти первинного раку даної локалізації, пізньою діагностикою та високою частотою рецидивів захворювання після хірургічного та комплексного лікування з використанням хіміотерапії [9, 10]. Це також пов'язано з еволюційним розвитком власне клінічної радіології, який сприяв створенню сучасної літературно-методичної бази променевої терапії та принципово нових радіобіологічних підходів до лікування на основі нетрадиційних програм опромінення [3, 6].

При оцінці ефективності променевої терапії в комбінованому і самостійному лікуванні раку сечового міхура сьогодні не вдалося прийти до єдиної думки про її істотний сприятливий вплив на результат захворювання. Аналіз літератури, наприклад, дозволяє визнати, що при множинних поверхневих пухлинах (pTa, pT1) і м'язово-інвазивному раку (pT2, pT3b) цистектомія, виконана після передопераційного опромінення у 100 пацієнтів (95 чоловіків), зумовила післяопераційну летальність у 8% хворих [4, 7].

У той же час деякі дослідники у певного контингенту хворих із високодиференційованими пухлинами спостерігали позитивний ефект передопераційного опромінення СОД 20 Гр, з п'ятирічною виживаністю 43 і 53% хворих [2].

Тим не менш, у даний час переважає точка зору про необхідність комплексного лікування хворих з інвазивними формами, а променевій терапії належить важлива роль у такому комплексі, при цьому 20–30% хворих з інвазивним раком сечового міхура можуть ефективно лікуватися тільки з зовнішнім опроміненням. Репрезентативні дослідження з променевої терапії хворих на інвазивний рак сечового міхура показали, що п'ятирічна виживаність може бути досягнута у 35% хворих при стадії A, 40% – B1, 35% – B2, 20% – C, 7% – D [8].

У цьому зв'язку сьогодні є нагальна необхідність розширення діапазону клінічних та морфологічних досліджень, спрямованих на розробку способів ефективного впливу на первинний поверхневий та інвазивний рак сечового міхура на тлі збереженої органної повноцінності для зниження частоти рецидивів захворювання, що і стало підставою для проведення цього дослідження.

Мета дослідження: встановити структурні зміни пухлинної тканини інвазивного перехідно-клітинного раку сечового міхура під впливом неоад'ювантної променевої терапії.

Матеріали і методи дослідження. Нами було проведене комплексне гістологічне, гістохімічне, поляризаційно-оптичне, імуногістохімічне та морфометричне дослідження тканини інвазивного перехідно-клітинного раку сечового міхура. Дослідницьку групу склали 14 пацієнтів з інвазивним перехідно-клітинним раком сечового міхура. Цим хворим у передопераційному періоді здійснювалося променеве лікування. Для визначення ступеня лікувального патоморфозу в даній групі проведене морфологічне дослідження тканини пухлини з кількісною оцінкою структурних змін. Для об'єктивної оцінки лікувального патоморфозу як «еталону» якісних і кількісних вихідних показників нами вивчена тканина інфільтративних форм раку сечового міхура 10 хворих, яким до операції не проводилося лікування (контрольна група). Забір матеріалу виконувався відразу після операції з видаленого препарату для кількісної характеристики змін, які відбуваються в тканині сечового міхура. Шматочки тканини операційного матеріалу фіксували в 10%-вому розчині холодного нейтрального формаліну (pH 7,4) протягом 24 годин. Фіксовані в формаліні шматочки зне-

воднювали, заливали в високо очищений парафін, а потім з парафінових блоків на ротаційному мікротомі виготовляли серійні гістологічні зрізи товщиною 5±1 мкм, які фарбували гематоксиліном та еозином, толуїдиновим синім при pH 5,3, ставили ШИК- реакцію з обробкою контрольних зрізів амілазою. З кожної групи були відібрані випадковим методом спостереження для імуногістохімічного дослідження експресії цитокератинів і проліферації з використанням полі- і моноклональних антитіл фірми Dako, Данія. Інтерпретацію результатів імуногістохімічного забарвлення проводили відповідно до типу реакції. При використанні МАТ до цитокератинів 7 і цитокератинів 20 оцінювали кольорові реакції в цитоплазмі епітеліальних клітин. При оцінці експресії PCNA за позитивне вважалося забарвлення у проекції ядер клітин коричневого кольору різної інтенсивності. При кількісній оцінці ступеня патоморфозу, питомого об'єму паренхіми, строми, судин МГЦР, мітотичного індексу, відсотка патологічних мітозів ми ґрунтувалися на класичних принципах морфометрії, викладених у монографії Г.Г.Автанділова (2002) [1].

Поляризаційна мікроскопія нами застосовувалася для вивчення гісто-фізичних властивостей колагенових волокон строми в перехідноклітинному раку сечового міхура. Дослідження виконувалося в лінійно- і еліптично-поляризованому світлі.

Результати та їх обговорення. При мікроскопічному дослідженні стінки сечового міхура в пацієнтів дослідницької групи відзначено наявність формально морфологічно збережених епітеліальних пухлинних комплексів не тільки в межах слизового, м'язового, серозного шарів, але й у прилягаючій жировій клітковині. Разом з тим питома частка пухлинної паренхіми, у порівнянні з аналогічними параметрами інфільтративного раку в групі осіб, які не одержували лікування, суттєво зменшена. Питомий об'єм пухлинних комплексів з повністю і частково збереженою структурою дорівнював 0,2160±0,0247, тобто регрес пухлинної паренхіми стосовно відповідного показника помірнодиференційованого раку без лікування склав 40,7±5,1%, а низькодиференційованого раку – 43,3±4,2% ($p \leq 0,001$). В окремих пухлинних комплексах (14,0±2,6% від загального питомого об'єму збереженої паренхіми) відзначений субтотальний некроз атипового епітелію: у центрі таких комплексів визначаються тільки контури пухлинних клітин, на інших ділянках – базофільні маси, уламки ядер і гемолізовані еритроцити.

Результати кількісної оцінки тканинної структури перехідно-клітинного раку сечового міхура після променевого лікування наведені в таблиці 1.

По периферії комплексу розташовуються поліморфні клітини з великими гіпехромними ядрами й невеликим ободком цитоплазми. Зустрічаються поодинокі пухлинні клітини з великими овальними гіпохромними ядрами й рівномірним розподілом еухроматину. У таких ядрах виявляються збережені великі базофільні ядра (рис. 1, а). У ряді комплексів виявляється достатня кількість кровоносних судин капілярного й синусоїдного типів з вираженою ектазією просвіту. Між капілярами розташовуються епітеліоїдні клітини, фібробласти й макрофаги (рис. 1, б).

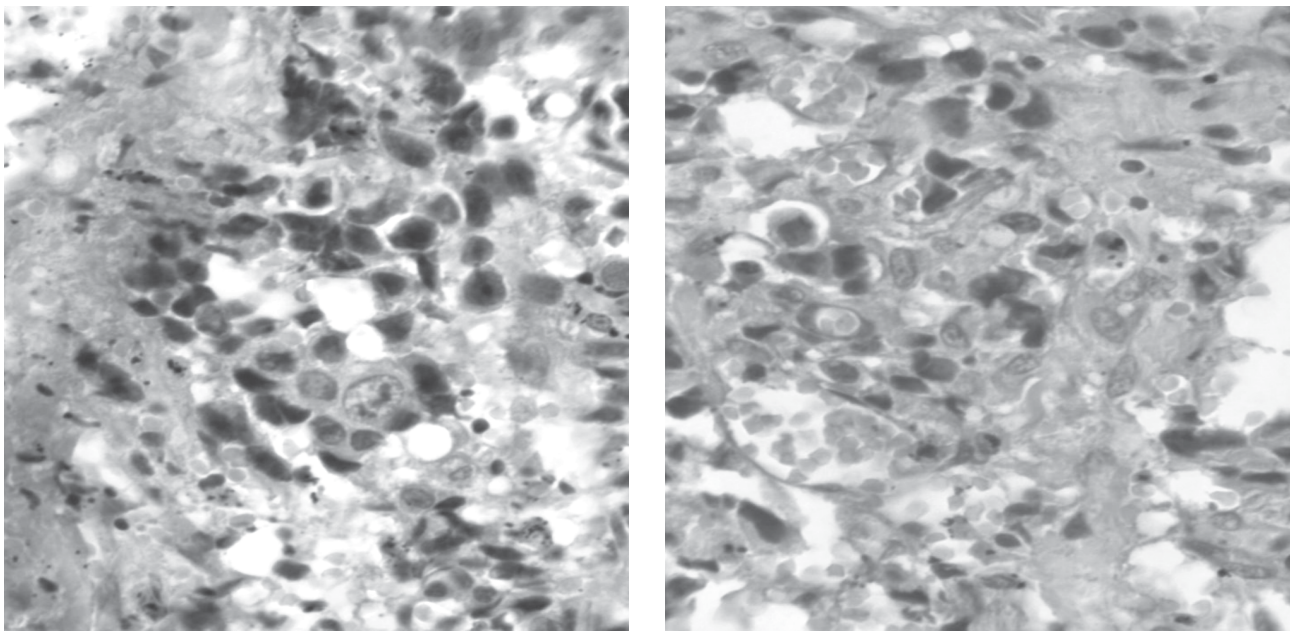
Деякі дрібні епітеліальні пухлинні комплекси оточені пучками колагенових волокон, інші замуровані в гіалінізовані гомогенні маси. У клітинах таких пухлинних паренхіматозних комплексів можна спостерігати всі етапи їхньої загибелі.

В окремих комплексах зберігаються виражений клітинний і ядерний поліморфізм, дисхромія ядер. Клітини широко варіюють за величиною й формою. Середня довжина перетину ядер пухлинних клітин дещо зменшена ($p \geq 0,005$) у порівнянні з пухлинними комплексами в контрольній групі, тобто в осіб, що не одержували променеву терапію, і становить 7,1±0,41 мкм (у помірно диференційованому перехідно-клітинному раку сечового міхура без лікування вона дорівнює 9,11±0,73 мкм, у низь-

Таблиця 1

Морфометричні параметри тканини перехідно-клітинного раку сечового міхура пацієнтів дослідницької групи

Назва показника	Значення показника(M±m)
Питомий об'єм паренхіми	0,2160±0,0247
Питомий об'єм строми	0,3449±0,0480
Питомий об'єм судин	0,0694±0,0321
Коефіцієнт васкуляризації	0,3213±0,0284
Питомий об'єм вогнищ некрозу	0,1465±0,0280



а б

Рис. 1. Рак сечового міхура після променевої терапії (дослідницька група): а – субтотальний некроз пухлинного комплексу, поліморфні клітини з великими гіпехромними ядрами й невеликим ободком цитоплазми, у центрі структурно збережена пухлинна клітина з великим овальним гіпохромним ядром; б – достатня кількість кровоносних судин капілярного й синусоїдного типу з вираженою ектазією просвіту. Забарвлення гематоксиліном + еозином. × 400

ко диференційованому – 8,67± 0,59 мкм) (різниця в показниках не достовірна). Відбувається зниження проліферативної активності епітеліальних пухлинних клітин. У цій групі спостережень відзначене зниження мітотичного індексу та числа апоптотичних тілець і кіст. Мітотичний індекс у середньому склав 4,12±1,3. Однак слід зазначити, що збережена пухлинна тканина характеризується чітко вираженими ознаками пухлинного мітотичного режиму, наявністю великої кількості патологічних фігур мітозу, переважно з затримкою його в метафазі (рис. 2, а, б). Відсоток клітин з позитивною реакцією зі специфічними антитілами до PCNA в епітеліальних комплексах раку сечового міхура коливався в межах від 29 до 43% і в середньому склав 34,0%±3,7%.

Збільшення ядерно-цитоплазматичного відношення на тлі зменшення середньої довжини перетину ядер пухлинних клітин, обумовлене атрофією зазвичай цитоплазми, що впливає на об'єм. Однак виявляються окремі гігантські пухлинні клітини, довжина перетину ядер яких перевищує 16 мкм (рис. 2, в).

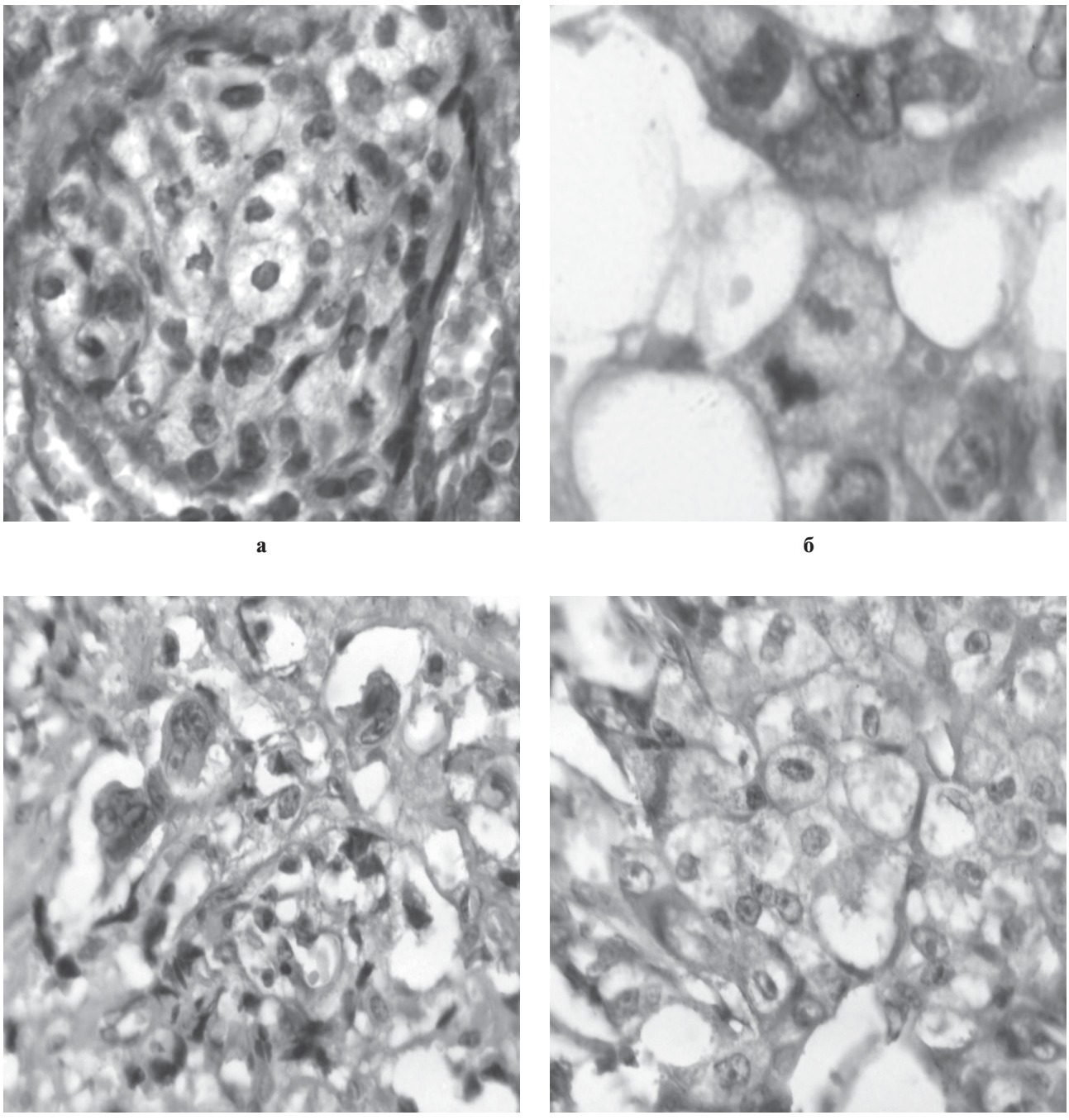
У пухлинних комплексах без ознак некрозу можна спостерігати практично всі види білкових паренхіматозних дистрофій. В одних комплексах домінує гіаліново-крапельна, в інших – гідропічна дистрофія (рис. 2, г).

Поряд з дистрофією в пухлинних клітинах виражені атрофічні процеси, що супроводжуються значним зменшенням паренхіми, яка зберігається у вигляді дрібних комплексів пухлинних клітин, оточених щільною рубцевою сполучною тканиною з різко вираженими вторинними змінами у вигляді гіалінозу, а місцями – брилчастого розпаду колагенових волокон. Сполучна тканина з аналогічними властивостями виявляється також усередині самих збережених пухлинних комплексів. Відсоток пухлинних комплексів, у яких домінують процеси атрофії й фіброзу, у спостереженнях дослідницької групи складає 61±7,5%.

Колагенові пучки усередині таких комплексів дуже широкі й довгі, розташовані хаотично, еозинофільні, ШИК-позитивні й пікринофільні, ортохроматичні при забарвленні толуїдиновим синім при pH 5,3. Більшість пучків колагенових волокон гіалінізовані, у деяких відзначений брилчастий розпад. У лінійно поляризованому світлі ці волокна мають яскраве білувато-блакитне світіння.

Кількісні поляризаційно-оптичні параметри колагенових волокон строми інфільтративного перехідно-клітинного раку сечового міхура після променевої терапії представлені в таблиці 2.

Крок подвійного променезаломлення колагенових волокон строми перехідно-клітинного раку сечового міхура в II групі склав – 5,7243±0,0809, фенольний індекс Ебнера ($Г_{ф}$) –



а **б**

в **г**

Рис. 2. Рак сечового міхура після променевої терапії (дослідницька група): а і б – патологічні фігури мітозу, переважно із затримкою його в метафазі; в – гігантські атипові клітини; г – гідропічна дистрофія пухлинних клітин. Забарвлення гематоксиліном + еозином. а, в, г – × 400; б – × 600

Таблиця 2

Поляризаційно-оптичні параметри колагенових волокон строми інфільтративного перехідно-клітинного раку сечового міхура дослідницької групи

Назва показника	Значення показника(M±m)
Вихідна оптична сила подвійного променезаломлення ($Г_0$)	5,7243±0,0809
Фенольний індекс Ебнера ($Г_ф$)	1,5211±0,0310
Індекс вмісту нейтральних мукополісахаридів (НМПС)	1,6604±0,0287
Індекс вмісту глікозаміногліканів (ГАГ)	1,5684±0,0707

1,5211±0,0310, індекс вмісту нейтральних мукополісахаридів (НМПС) – 1,6604±0,0287, глікозаміногліканів (ГАГ) – 1,5684±0,0707. Наведені основні параметри анізотропії трансформованого волокнистого компонента пухлинних комплексів під впливом променевої терапії вказують на те, що ці шари фіброзованої тканини представлені, головним чином, фібрилами, об'єднаними глікопротеїдами й волокнами, стабілізованими білково-мукополісахаридними комплексами.

Етапи загибелі пухлинних клітин і фіброзування пухлинних комплексів різноманітні як у часі, так і в топографо-анатомічному аспекті. Їх можна простежити в тому самому гістологічному препараті. Якоїсь певної закономірності в їхній топографії в сечовому міхурі нами не встановлено. Комплекси з однотипними структурними змінами й різними за виразністю променевого фіброзу одночасно можуть виявлятися у слизово-підслизовому, м'язовому, серозному шарах і навіть у прилягаючій жировій клітковині.

Частина пухлинних комплексів низькодиференційованого перехідно-клітинного раку сечового міхура наполовину складається із практично структурно збережених клітин, друга половина заміщена широким шаром рубцевої тканини, у щілинах якої виявляються одиничні атипові епітеліальні клітини з атрофованою цитоплазмою й пікнотичними ядрами (рис. 3, а). Деякі комплекси майже повністю заміщені молодою грануляційною й дозріваючою сполучною тканиною, у різних ділянках якої розташовуються атипові епітеліальні клітини на різній стадії загибелі (рис. 3, б). У окремих комплексах має місце субтотальне заміщення паренхіми перехідно-клітинного раку грануляційною тканиною й фіброзними шарами з ознаками мукоїдних, фібриноїдних змін та ослизнення (рис. 3, в). В інших – виявляється тотальна загибель атипового епітеліального комплексу й заміщення його рубцевою гіалінізованою тканиною із вторинними дистрофічними змінами. По периферії загиблого комплексу виявляються вогнища крововиливу а також дозріваюча сполучна тканина (рис. 3, г). На значній частині в стінці сечового міхура виявляються залишки великих епітеліальних пухлинних клітин, які гинуть, і вони ніби «замуровані» у шарах фіброзної тканини з явищами гіалінозу (рис. 3, ґ). У всіх випадках нами виявлені великі поля рубцевої гіалінізованої сполучної тканини в стінці сечового міхура на межі з оточуючою жировою клітковиною (рис. 3, д).

Спостерігається невідповідність між ступенем диференціювання стромальної фіброзної сполучної тканини та судинами капілярного й синусоїдного типу, стінка таких судин тонка, представлена одним шаром ендотеліальних або пухлинних клітин. Навколо таких судинних лакун відзначається проліферація перицитів, епітеліоїдних клітин і фібробластів.

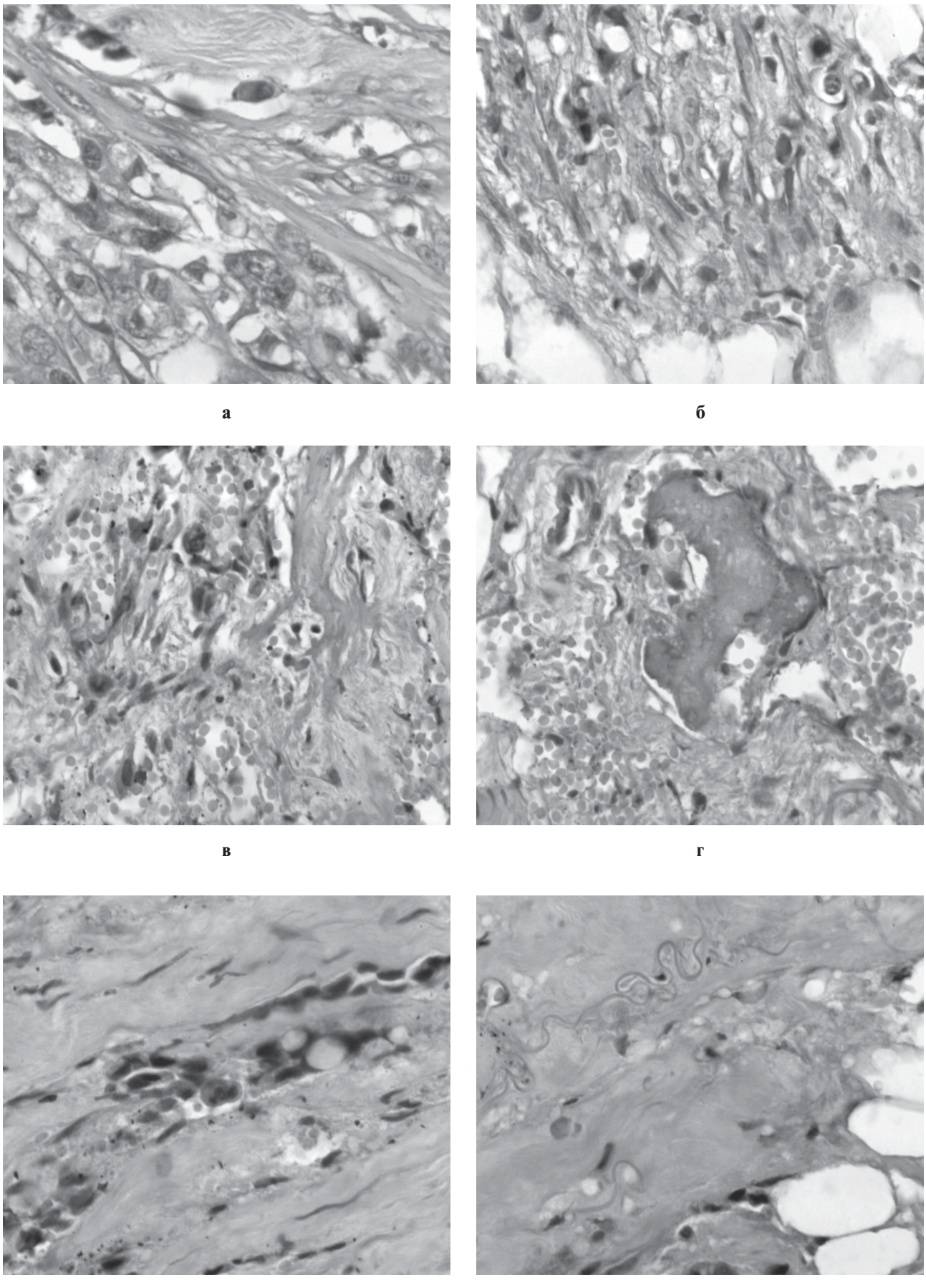
Питомий об'єм судин мікрогемоциркуляторного русла в пухлинних комплексах після променевої терапії досить низький (0,0694± 0,0321), однак з огляду на невеликий питомий об'єм паренхіми коефіцієнт васкуляризації становить 0,3213±0,0284, який хоча й знижений у порівнянні з показниками комплексів помірно- і низькодиференційованого перехідно-клітинного раку сечового міхура осіб, які не одержували променевого лікування (відповідно 0,4016± 0,0232 і 0,3654±0,0188), але цілком достатній для подальшої пухлинної прогресії.

Однак дія додаткового ушкоджуючого променевого чинника на пухлинні клітини й стінку судин МГЦР викликає розвиток мукоїдного набрякання, фібриноїдних змін, аж до фібриноїдного некрозу, гіалінових, аглютинаційних обтуруючих і пристінкових тромбів, а відповідно супроводжується збільшенням питомого об'єму вогнищ некрозу 0,1465±0,0280 (у помірно- і низькодиференційованих перехідно-клітинних раках без лікування цей показник, відповідно, дорівнює 0,1123±0,0114 і 0,1362± 0,0201. Навколо некротизованих ділянок пухлинної паренхіми виявляється також багато ділянок молодої грануляційної тканини, вогнища перифокального гнійного, фібринозно-гнійного запалення, дрібних діапедезних крововиливів. В одиничних комплексах формуються внутрішньоепітеліальні мікроабсцеси.

Кількість імунокомпетентних клітин на 1 мм^2 строми перехідно-клітинного раку сечового міхура в пацієнтів дослідницької групи значно знижена в порівнянні з аналогічними показниками хворих, які не одержували променевого лікування (помірнодиференційований – 181,5±11,3 і низькодиференційований – 132,6±19,4 диференційований перехідно-клітинний рак), і в середньому становить 68,3±12,7 ($p \geq 0,005$). Розподіл запальних та імунних інфільтратів і їхній якісний склад різноманітний. В одних інфільтратах домінують лімфоцити й макрофаги, в інших – ПЯЛ.

Висновки

1. У результаті проведеного морфологічного дослідження пухлинної тканини перехідно-клітинного раку сечового міхура пацієнтів, яким



а **б**

в **г**

ґ **д**

Рис. 3. Рак сечового міхура після променевої терапії (дослідницька група): етапи трансформації структурних компонентів інвазивного перехідно-клітинного раку сечового міхура під впливом променевої терапії (пояснення в тексті). Забарвлення гематоксиліном + еозином. × 400

на доопераційному етапі була застосована променева терапія, визначено ушкоджуючу її дію на пухлинні комплекси та судини.

2. Регрес пухлинної паренхіми склав 40,7%±5,1% і 43,3±4,2% (стосовно відповідного показника помірнодиференційованого і низькодиференційованого раку без променевого лікування раку) ($p \leq 0,001$).

3. У 14,0±2,6% пухлинних комплексів від загального питомого об'єму збереженої паренхіми нами відзначений субтотальний некроз атипового епітелію.

Список літератури

1. Автандилов Г.Г. Основы количественной патологической анатомии: Учеб. пособие / Г.Г. Автандилов. – М.: Медицина, 2002. – 240 с.

2. Волков А.Н. Влияние предоперационной крупнофракционной лучевой терапии перед трансуретральной резекцией на частоту рецидивирования рака мочевого пузыря и отдаленные результаты / А.Н. Волков // Онколог. журн. – 2008. – № 1. – С. 35–44.

3. Гуменецкая Ю.В., Мардынский Ю.С., Карякин О.Б., Гулидов И.А. Результаты радикальной дистанционной лучевой терапии у больных инвазивным раком мочевого пузыря //Сибирский Онкологический Журнал. – 2011. – № 5(47). – С. 13–17.

4. Ситдыкова М.Э., Зубков А.Ю., Нуриев И.Р. Органосохраняющее лечение инвазивного рака мочевого пузыря // Казанский медицинский журнал. – 2013. – Т. 94, № 4.

5. Advanced bladder cancer: New agents and new approaches. A review. / Volpe A., Racioppi M., D'Agostino D., D'Addessi A., Marangi F., Totaro A., Pinto F., Sacco E., Battaglia S., Chiloiro G., Bassi P.F. // Urol. Oncol. – 2013. – V. 31, N 1. – P. 9–16.

6. Granfors T., Tomic R., Ljungberg B. Downstaging and survival benefits of neoadjuvant radiotherapy before cystectomy for patients with invasive bladder carcinoma // Scand. J. Urol. Nephrol. – 2009. – V. 43, N 4. – P. 293–299.

7. Leow J.J., Fay A.P., Mullane S.A., Bellmunt J. Perioperative Therapy for Muscle Invasive Bladder Cancer // Hematol. Oncol. Clin. North. Am. – 2015. – V. 29, N 2. – P. 301–318.

8. Radical cystectomy with or without prior irradiation in the treatment of bladder cancer / W.F.Jr. Whitmore, M.A. Batata, M.A. Ghoneim et al. // J. Urol. – 1977. – V. 118, N 1(pt. 2). – P. 184–187.

9. Radical radiotherapy for muscle invasive transitional cell carcinoma of the bladder: failure analysis / M.K. Gospodarowicz, N.V. Hawkins, G.A. Rawlings et al. // J. Urol. – 1989. – V. 142, N 6. – P. 1448–1454.

10. Zapatero A., Martin De Vidales C., Arellano R., Ibacez Y., Bocardo G., Perez M., Rabadan M., Garcna Vicente F., Cruz Conde J.A., Olivier C. Long-term results of two prospective bladder-sparing trimodality approaches for invasive bladder cancer: neoadjuvant chemotherapy and concurrent radiochemotherapy // Urology. – 2012. – V. 80, N 5. – P. 1056–1062.

Реферат

ПАТОМОРФОЗ ИНВАЗИВНОГО РАКА МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ ПОД ВЛИЯНИЕМ НЕОАДЪЮВАНТНОЙ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ

А.В. Мальцев, В.И. Савенков

Работа базируется на морфологическом изучении наблюдений инвазивного переходноклеточного рака мочевого пузыря с использованием современных гистологических, морфометрических и методик исследования. В результате проведенного морфологического исследования опухолевой ткани переходно-клеточного рака мочевого пузыря пациентов, которым на дооперационном этапе была применена лучевая

Summary

PATHOMORPHOSIS OF THE INVASIVE BLADDER CANCER UNDER THE INFLUENCE OF NEOADJUVANT RADIATION THERAPY

A.V. Maltsev, V.I. Savenkov

The paper deals with morphological investigation of invasive transitional cell carcinoma of the bladder, using modern histological and morphometric techniques. The morphological study has revealed the damaging impact of preoperative radiotherapy on tumor complexes and vessels. The regression of tumor parenchyma was 40,7% ±5,1% and 43,3±4,2% (compared to the corresponding index of moderately differentiated and poorly

терапия, установлено повреждающее ее действие на опухолевые комплексы и сосуды. Регресс опухолевой паренхимы составил 40,7% ±5,1% и 43,3±4,2% (по отношению к соответствующему показателю умереннодифференцированного и низкодифференцированного рака без лучевого лечения) ($p \leq 0,001$). В 14,0±2,6% опухолевых комплексов от общего удельного объема сохранившейся паренхимы отмечен субтотальный некроз атипичного эпителия.

Ключевые слова: инвазивный переходноклеточный рак мочевого пузыря, неоадъювантная лучевая терапия, патоморфоз.

Адреса для листування

А.В. Мальцев
E-mail: glaras@mail.ru

differentiated cancer without radiation therapy) ($p \leq 0,001$). The subtotal necrosis of atypical epithelium was registered in 14,0±2,6% tumor complexes of the total volume of preserved parenchyma.

Keywords: of invasive transitional cell carcinoma of the bladder, neoadjuvant radiotherapy, pathomorphosis.