

Є.О. Антонов¹
Л.Д. Гуменюк²
Л.А. Мамонтова²
Д.С. Осинський³

¹Миколаївський обласний
онкологічний диспансер,
Миколаїв

²Інститут експериментальної
патології, онкології
і радіобіології
ім. Р.Є. Кавецького
НАН України, Київ

³Київський міський клінічний
онкологічний центр, Київ,
Україна

Ключові слова: рак шлунка,
лімфатичні вузли, пухлинні
клітини, імуногістохімія.

ПУХЛИННІ КЛІТИНИ У РЕГІОНАРНИХ ЛІМФАТИЧНИХ ВУЗЛАХ ХВОРИХ НА РАК ШЛУНКА З КАТЕГОРІЄЮ N0 ТА ЇХ КЛІНІЧНЕ ЗНАЧЕННЯ

Вступ: приховані пухлинні клітини в регіонарних лімфатичних вузлах (РЛВ) не виявляють за допомогою звичайних гістологічних методів, що негативно впливає на діагноз та ефективність лікування. **Мета:** виявити пухлинні клітини у РЛВ хворих на рак шлунка (РШ) імуногістохімічним (ІГХ) методом, визначити наявність кореляції між позитивністю РЛВ і гіпоксіяасоційованими характеристиками первинної пухлини та оцінити клінічне значення прихованих пухлинних клітин у РЛВ. **Об'єкт і методи дослідження:** досліджено зразки тканини первинного РШ та РЛВ. 120 первинних хворих включено у дослідження (65 пацієнтів з категорією N0 та 45 — з N1–N2). Панцитокератинпозитивні (панЦК-позитивні) клітини у РЛВ, HIF-1 α -та CD34-позитивні клітини у пухлині визначали ІГХ методом. Усі хворі були проінформовані про дослідження та дали свою згоду, що було погоджено з місцевим комітетом з біоетики. **Результати:** панЦК-позитивні клітини у РЛВ (pN0) виявлено у 24% хворих. Встановлено, що у всіх пацієнтів з панЦК-позитивними клітинами у РЛВ були HIF-1 α -позитивні пухлини. Відзначали позитивну кореляцію між наявністю панЦК-позитивних клітин у РЛВ (pN0) та щільністю мікросудин у пухлині (p<0,01). Загальна виживаність хворих з категорією N0 була кращою, ніж у пацієнтів із категорією N1–N2 (p<0,01). Загальна виживаність хворих з панЦК-позитивними РЛВ, які отримували лише оперативне лікування, була гіршою, ніж в осіб з панЦК-позитивними РЛВ, у яких проведено хірургічне втручання та післяопераційну хіміотерапію (p<0,02). **Висновки:** ІГХ метод дозволяє виявити пухлинні клітини у РЛВ у 24% хворих на РШ з категорією pN0. Продемонстровано, що наявність метастазів у РЛВ асоціюється з деякими гіпоксіязалежними подіями у первинній пухлині. Наявність панЦК-позитивних РЛВ негативно впливає на виживаність.

Рак шлунка (РШ) залишається одним з найпоширеніших видів злоякісних пухлин у Європі, займаючи 5-те місце після раку легені, передміхурової залози, товстого кишечника та сечового міхура у чоловіків та пухлин молочної залози, товстого кишечника, легені та тіла матки у жінок [1]. В Україні у 2011 р. річний стандартизований показник захворюваності на РШ у чоловіків становив 21,5 на 100 тис. населення, посідаючи 4-те місце після раку легені, шкіри та передміхурової залози, та у жінок — 8,8 на 100 тис., займаючи 7-ме місце після пухлин молочної залози, шкіри, тіла матки, ободової кишки, шийки матки та прямої кишки [2]. Стандартизований показник смертності хворих на РШ у 2011 р. дорівнював 16,6 на 100 тис. населення у чоловіків та 6,3 на 100 тис. — у жінок (2-ге місце після раку легені у чоловіків та 3-ге — після пухлин молочної залози та ободової кишки у жінок) [2].

До головних факторів, які відповідають за перебіг первинного РШ та незадовільні результати лі-

кування, відносять глибину інвазії пухлини у стінку шлунка, наявність метастазів у регіонарних лімфатичних вузлах (РЛВ), віддалене метастазування та перитонеальну дисемінацію пухлинних клітин [3]. Слід також зазначити, що велику проблему становлять так звані приховані пухлинні клітини, які можуть бути виявлені у кістковому мозку, периферичній крові та лімфатичних вузлах (ЛВ) хворих навіть за умов відсутності як віддалених, так і регіонарних метастазів (N0, M0) після проведених радикальних оперативних втручань [4–6].

ЛВ, які видаляють під час гастректомії, зазвичай досліджують на наявність метастазів звичайними гістологічними методами. Дискретні поодинокі пухлинні клітини або їх малі агрегати при цьому важко ідентифікувати у забарвлених гематоксиліном та еозином зрізах [3]. Не в останню чергу це зумовлено наявністю в ЛВ клітин, близьких за цитоморфологічними ознаками до пухлинних, зокрема різних типів ретикулярних клітин, гістіоцитів, макрофагів,

імунобластів [7]. Оpubліковано роботи, які привернули увагу онкологів помилковістю визначення категорії N, що було спричинено наявністю пухлинних клітин у РЛВ, які не можуть бути ідентифіковані традиційними гістологічними методами [8]. Відомо, що 5-річна виживаність хворих з гістологічно виявленими позитивними ЛВ становить <30% [9]. Сьогодні завдяки досягненням імуноцитото- та імуногістохімічної, а також молекулярно-біологічної техніки можна виявляти так звані мікрометастази в ЛВ, використовуючи, насамперед, моноклональні антитіла (МкАТ) до цитокератинів (ЦК), які є невід'ємними складовими цитоскелета нормальних і злоякісно трансформованих епітеліальних клітин.

ЦК представлені щонайменше 19 різними за складом і специфічністю поліпептидами, які виявляють в нормальних епітеліальних і пухлинних клітинах у різних специфічних комбінаціях. Використання МкАТ до ЦК, які експресуються клітинами пухлин епітеліального походження, дозволяє ідентифікувати поодинокі ракові клітини навіть серед оточуючих їх 10^5 – 10^6 непухлинних клітин ЛВ. Таким чином, ЦК можна розглядати в якості надійних маркерів клітин епітеліальної природи [10]. Відомо, що в клітинах аденокарциноми шлунка експресуються ЦК 8; 18; 19; 7-го, іноді 20-го, а в клітинах недиференційованого раку — ЦК 8-го і 18-го типів [11]. МкАТ до ЦК (клон MNF116, «DakoCytomation», Данія) виявляють ЦК 5; 6; 8; 17-го і 19-го типів, тобто вони здатні визначати ЦК 8-го і 19-го, які є в тканині РШ.

Використання імуногістохімічних методів дозволило встановити, що у третини хворих на РШ, у яких звичайними гістологічними методами метастази в ЛВ не були визначені, у ЛВ присутні пухлинні клітини, тобто є регіонарні метастази [12–15]. За допомогою цих методів у ЛВ пацієнтів із РШ, у яких встановлено стадію пухлинного процесу T1–2N0M0, пухлинні клітини виявляються в 22–36% випадків, що вказує на необхідність корекції категорії N, тобто уточнення діагнозу захворювання [16]. Н. Takeuchi та співавтори [17], підсумовуючи опубліковані дані з цієї проблеми, зробили висновок, що майже у 80% хворих на РШ у I і II стадії захворювання є метастази у ЛВ, та підтримали думку ряду фахівців щодо визначення категорії N у системі TNM шляхом дослідження видалених ЛВ за допомогою імуногістохімічних та молекулярно-генетичних методів. Слід зазначити, що опубліковано поодинокі роботи, автори яких не виявили впливу імуногістохімічним методом визначених мікрометастазів у ЛВ хворих на РШ з категорією N0 на виживаність після гастректомії з D2-лімфодисекцією [18]. Водночас залежність тривалості життя хворих на РШ від статусу ЛВ чітко визначена, що вказує на необхідність доведення негативності РЛВ, яка може бути підтверджена з найбільшою часткою вірогідності саме за допомогою імуногістохімічних та молекулярних технологій [19].

Враховуючи ще існуючу певну суперечливість висновків щодо значення імуногістохімічного виявлення пухлинних клітин у «гістологічно негативних» ЛВ хворих на РШ, було вирішено провести дослідження з виявлення пухлинних клітин у РЛВ пацієнтів з РШ з категорією N0 та встановити їх значення для перебігу захворювання. Базуючись також на відомих даних про позитивний вплив гіпоксії первинної пухлини на метастазування [20–22], було проведено визначення зв'язку наявності «імуногістохімічних» мікрометастазів у РЛВ з деякими асоційованими з гіпоксією характеристиками РШ.

ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

У дослідженні використано зразки пухлинної тканини та РЛВ 120 хворих на первинний РШ (у 65 осіб діагностували категорію pN0 та у 55 — pN1–N2), які перебували на лікуванні у Миколаївському обласному онкологічному диспансері МОЗ України та у Київському міському клінічному онкологічному центрі МОЗ України (табл. 1). Пацієнти не одержували передопераційної терапії. Зразки тканини отримано відразу після видалення пухлини та ЛВ. Стадію захворювання визначали згідно з системою UICC (UICC — International Union Against Cancer), 2002 [23]. Гістологічний тип пухлини оцінювали за класифікацією WHO (World Health Organization), 2000 [24]. Усі дослідження проведено після поінформування хворих щодо характеру дослідження та одержання їх письмової згоди.

Операційний матеріал після фіксації у розчині 10% нейтрального формаліну піддавали гістологічній обробці за стандартною методикою. Гістологічні зрізи, забарвлені гематоксиліном та еозином, підлягали морфологічному аналізу. Імуногістохімічним методом у тканині ЛВ виявляли панцитокератинпозитивні клітини. В якості первинного антитіла використовували антипанцитокератинові МкАТ (MNF116, «DakoCytomation», Данія). У тканині РШ тих самих хворих визначали HIF-1 α -позитивні клітини та щільність мікросудин (ЩМС), використовуючи відповідні анти-HIF-1 α (H1alpha67, «Abcam») та анти-CD34 МкАТ (QVEnd 10 Class II, «DakoCytomation», Данія). В якості системи візуалізації використано ланцюговий метод із полімеразною кон'югацією EnVision/HRP («DakoCytomation», Данія) з субстрат-хромогеном 3,3'-діамінобензидин-тетрагідрохлоридом. Виявлення в ЛВ хворих на РШ панцитокератинпозитивних клітин було підставою для констатації наявності пухлинних клітин, тобто метастатичного ураження (рис. 1). Обчислення кількості CD34-позитивних клітин проводили за методом Weidner [25], перелічуючи мікросудини на 1 мм² (мкс/мм²). Відповідно до значення медіани значення ЩМС (142 мкс/мм²) пухлини умовно поділяли на гіпо- та гіперваскуляризовані.

Таблиця 1

Клінічна характеристика хворих на РШ

Показник		Кількість хворих, n (%)
Стать	Чоловіки	67 (56)
	Жінки	53 (44)
Гістологічна структура пухлини	Аденокарцинома	84 (70)
	Слизовий рак	14 (12)
	Перснеподібно-клітинний рак	5 (4)
	Недиференційований рак	17 (14)
	T1	6 (5)
Категорія pT	T2	16 (13)
	T3	69 (58)
	T4	29 (24)
Категорія pN	N0	65 (54)
	N1	23 (19)
	N2	32 (27)
Категорія M	M0	107 (89)
	M1	13 (11)
Стадія захворювання (pTNM)	I	19 (16)
	II	38 (32)
	III	36 (30)
	IV	27 (22)
Ступінь диференціації клітин пухлини (pG)	G1	13 (11)
	G2	51 (42)
	G3	38 (32)
	G4	18 (15)
Макроскопічний тип росту пухлини	Екзофітний	40 (33)
	Ендофітний	50 (42)
	Змішаний	30 (25)
Анатомічна локалізація пухлини	Верхня третина шлунка	24 (20)
	Середня третина шлунка	30 (25)
	Нижня третина шлунка	61 (51)
	Тотальне ураження шлунка	5 (4)

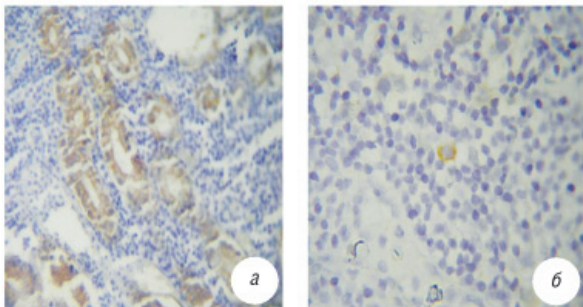


Рис. 1. ЦК-позитивні клітини в ЛВ хворих на РШ: а) імуногістохімічний препарат тканини ЛВ, категорія pN1 (хворий *Б.В.А.*), $\times 400$; б) імуногістохімічний препарат тканини ЛВ, категорія pN0 (хворий *К.В.І.*), $\times 400$

Статистична обробка. Статистичну обробку даних проводили з використанням пакета програм STATISTICA 6.0 та Prism 4.0. Вживаність хворих визначали за методом Каплана — Мейєра, розбіжності між кривими виживаності аналізували за допомогою тесту log-rank. Статистична значимість прийнята при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

ЦК-позитивну реакцію в ЛВ (pN0) виявлено у 24% хворих на РШ, що збігається з результатами, отриманими іншими дослідниками. Зокрема, за даними L.E. Harrison та співавторів, ЦК-позитивна реакція в ЛВ (pN0) була зареєстрована у 25% хво-

рих на РШ [13]. На рис. 2 представлено результати імуногістохімічного виявлення ЦК-позитивної реакції в тканині ЛВ хворого на РШ з категорією pN1 (з наявними метастазами — тканина позитивного контролю) та в тканині РЛВ пацієнта з категорією pN0.

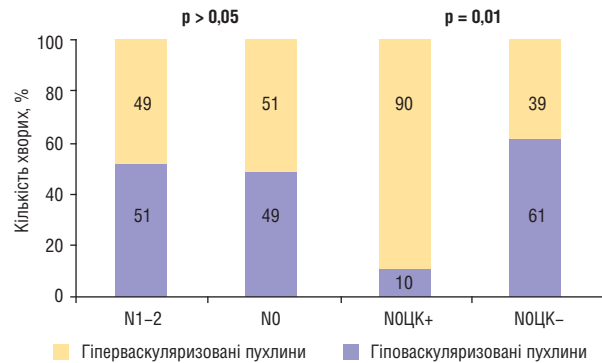


Рис. 2. Рівень неоваскуляризації первинної пухлини та наявність метастазів і ЦК-позитивних клітин в РЛВ хворих на РШ

Проведено аналіз зв'язку між наявністю пухлинних клітин в ЛВ (категорія pN0) хворих на РШ та кількістю HIF-1 α -позитивних клітин в первинній пухлині. Серед хворих, у яких в ЛВ не виявлено ЦК-позитивних клітин, у 17% пухлини були негативні (<10% HIF-1 α -позитивних клітин) щодо експресії HIF-1 α . Водночас у всіх хворих, у яких виявлено ЦК-позитивні клітини в ЛВ, пухлини були HIF-1 α -позитивними (табл. 2). Хоча ці відмінності виявилися недостовірними ($p = 0,21$), слід звернути увагу на відсутність ЦК-позитивних клітин у ЛВ хворих з HIF-1 α -негативними пухлинами.

Таблиця 2

Наявність ЦК-позитивних клітин в РЛВ хворих на РШ з HIF-1 α -негативними та HIF-1 α -позитивними пухлинами

Показник	HIF-1 α -негативні пухлини	HIF-1 α -позитивні пухлини	p
ЦК-негативні ЛВ, %	17	83	0,21
ЦК-позитивні ЛВ, %	0	100	

Встановлено вірогідний позитивний зв'язок між наявністю ЦК-позитивних клітин в ЛВ (категорія pN0) хворих на РШ та рівнем неоваскуляризації пухлини. Наявність мікрометастазів частіше виявляли у хворих з гіперваскуляризованими, ніж з гіповаскуляризованими пухлинами ($p < 0,01$), — у 90% хворих з ЦК-позитивною реакцією ЛВ пухлини були гіперваскуляризованими. Слід зазначити, що при порівнянні ЩМС пухлини у хворих з відсутністю (pN0) та наявністю (pN1–2) метастазів в ЛВ не було виявлено вірогідних відмінностей (рис. 3). У зв'язку з цим цілком виправдані є припущення, що наявність серед пацієнтів з категорією N0 значної кількості хворих з гіперваскуляризованими пухлинами та мікрометастазами в ЛВ зумовлює статистичну недостовірність відмінностей ЩМС в пухлині між N0 та N1–2 групами.

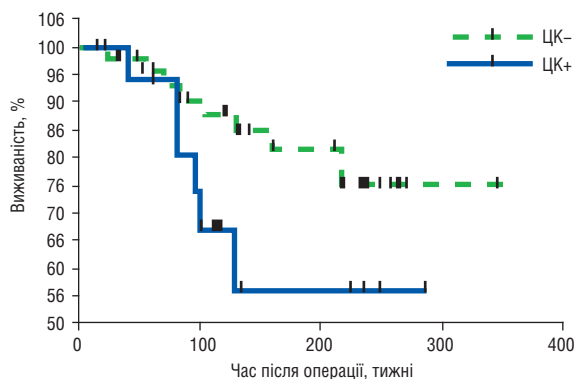


Рис. 3. Криві виживаності хворих на РШ відповідно до ЦК-позитивних та ЦК-негативних ЛВ. Проаналізовано усіх хворих без розподілу на категорію N та вид лікування. Метод Каплана — Мейєра (log-rank test, $\chi^2=2,779$; $p=0,0955$)

Таким чином, у 24% хворих на РШ, у яких за допомогою традиційного гістологічного методу діагностовано категорію N0, при використанні імуногістохімічного методу виявлено пухлинні клітини в РЛВ. При цьому зафіксовано відсутність ЦК-позитивних клітин у РЛВ у хворих з HIF-1 α -негативними пухлинами. Встановлено також, що високий рівень неоваскуляризації пухлини є фактором ризику наявності мікрометастазів у РЛВ хворих на РШ. Наші дані збігаються з результатами дослідження G.G. van den Eynden та співавторів, які показали, що ріст метастазів раку молочної залози у ЛВ залежить від ангиогенезу та гіпоксії у первинній пухлині [26].

Аналіз зв'язку між наявністю «прихованих» пухлинних клітин у РЛВ та виживаністю хворих на РШ виявив наступне. Як і слід було очікувати, показники виживаності у хворих із ЦК-позитивними ЛВ були значно гіршими, ніж у хворих із ЦК-негативними ЛВ. Більш цікавими та важливими виявилися дані про виживаність хворих із ЦК-позитивними ЛВ, які отримували одне лише оперативне лікування або піддавалися хірургічному втручанню з наступною хіміотерапією (рис. 4). Отримано статистично достовірні дані, які свідчать про те, що після виконання однієї лише операції у хворих із ЦК-позитивними ЛВ показники виживаності були значно гіршими за такі у хворих із ЦК-негативними ЛВ, які після операції одержували хіміотерапію. Слід при цьому зазначити, що у всіх хворих з ЦК-позитивними ЛВ, у яких проведено лише оперативне втручання, на підставі тільки гістологічного дослідження ЛВ оцінено як «негативні», тобто діагностовано категорію N0.

Слід підкреслити, що негативний статус ЛВ у хворих на РШ не завжди є сприятливим фактором прогнозу перебігу захворювання. Продемонстровано при дослідженні виживаності хворих на місцевопоширений РШ з негативними ЛВ, які були піддані курабельній гастректомії, що чіткими індикаторами несприятливого прогнозу є розмір пухлини,

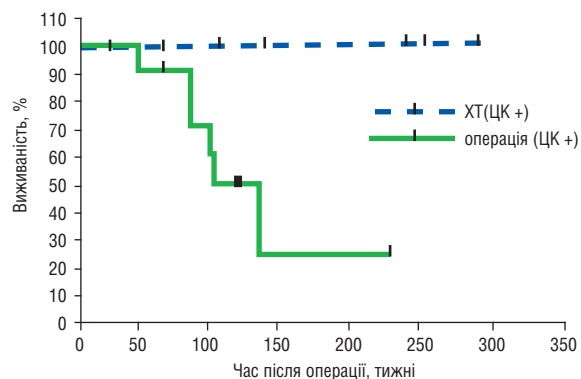


Рис. 4. Криві виживаності хворих на РШ з ЦК-позитивними ЛВ відповідно до типу лікування: тільки операція та операція з хіміотерапією (ХТ). Проаналізовано хворих з категорією N0. Метод Каплана — Мейєра (log-rank test, $\chi^2=4,970$; $p=0,0258$)

гістологічна структура та наявність інвазії у серозну оболонку [27]. Важливо зауважити, що імуногістохімічного дослідження ЛВ не проводили. Однак можна припустити, що ЦК-позитивність ЛВ, яка вірогідно мала місце, як погіршувала перебіг захворювання, так і дещо нівелювала значення прогностичних факторів.

Отримані в роботі дані свідчать про те, що настав час ставити питання щодо обов'язкового дослідження ЛВ, видалених під час операції та визначених як «негативні», на наявність прихованих пухлинних клітин імуногістохімічним методом з використанням МкАТ до ЦК. У такому випадку буде підтверджено або спростовано негативний статус ЛВ, що впливатиме на вибір тактики лікування.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

- Catalano V, Labianca R, Beretta GD, et al. Gastric cancer. Crit Rev Oncol/Hematol 2009; 71: 127–64.
- Рак в Україні, 2011–2012. Захворюваність, смертність, показники діяльності онкологічної служби. Бюл Нац канцерреєстру України, 2013; (14): 28–9.
- Ishida K, Katsuyama T, Sugiyama A, Kawasaki S. Immunohistochemical evaluation of lymph node micrometastases from gastric carcinomas. Cancer 1997; 79: 1069–76.
- Lin H, Balic M, Zheng S, et al. Disseminated and circulating tumor cells: role in effective cancer management. Crit Rev Oncol/Hematol 2011; 77: 1–11.
- Dardaai L, Shahsavani R, Ghavamzadeh A, et al. The detection of disseminated tumor cells in bone marrow and peripheral blood of gastric cancer patients by multimarker (CEA, CK20, TFF1 and MUC2) quantitative real-time PCR. Clin Biochem 2011; 44: 325–30.
- Bidard FC, Ferrand FR, Huguet F, et al. Disseminated and circulating tumor cells in gastrointestinal oncology. Crit Rev Oncol/Hematol 2012; 82: 103–15.
- Gipponi M. Clinical applications of sentinel lymph-node biopsy for the staging and treatment of solid neoplasms. Minerva Chir 2005; 60: 217–33.
- Horstmann O, Fuzesi L, Markus PL, et al. Significance of isolated tumor cells in lymph nodes among gastric cancer patients. J Cancer Res Clin Oncol 2004; 130: 733–40.
- Deng J, Liang H, Sun D, Pan Y. The prognostic analysis of lymph node-positive gastric cancer patients following curative resection. J Surg Res 2010; 161: 47–53.

10. Pantel K, Cote RJ, Fodstad O. Detection and clinical importance of micrometastatic disease. *J Natl Cancer inst* 1999; **91**:1113–24.

11. Руководство по иммуногистохимической диагностике опухолей. / Под ред.: СВ Петрова, НТ Райхлина / Казань: Титул, 2004, 384 с.

12. Cai J, Ukeguchi I, Tsujitani S, *et al.* Micrometastasis in lymph nodes of mucosal gastric cancer. *Gastric Cancer* 2000; **3**: 91–6.

13. Harrison LE, Choe JK, Goldstein M, *et al.* Prognostic significance of immunohistochemical micrometastases in node negative gastric cancer patients. *J Surg Oncol* 2000; **73**: 153–7.

14. Lee E, Chae Y, Kim I, *et al.* Prognostic relevance of immunohistochemically detected lymph node micrometastasis in patients with gastric carcinoma. *Cancer* 2002; **94**: 2968–73.

15. Yasuda K, Adachi Y, Shiraishi N, *et al.* Prognostic effect of lymph node micrometastasis in patients with histologically node-negative gastric cancer. *Ann Surg Oncol* 2002; **9**: 771–4.

16. Borch K, Jonsson B, Tarpila E, *et al.* Changing pattern of histological type location, stage and outcome of surgical treatment of gastric carcinoma. *Br J Cancer* 2000; **87**: 618–26.

17. Takeuchi H, Kitajima M, Kitagawa Y. Sentinel lymph node as a target of molecular diagnosis of lymphatic micrometastasis and local immunoresponse to malignant cells. *Cancer Sci* 2008; **99**: 441–50.

18. Fukagawa T, Sasako M, Man GB, *et al.* Immunohistochemically detected micrometastases of the lymph nodes in patients with gastric cancer. *Cancer* 2001; **92**: 753–60.

19. Huang C-M, Lin J-X, Zheng C-H, *et al.* Effect of negative lymph node count on survival for gastric cancer after curative distal gastrectomy. *Eur J Surg Oncol* 2011; **37**: 481–7.

20. Vaupel P, Mayer A. Hypoxia in cancer: significance and impact on clinical outcome. *Cancer Metastasis Rev* 2007; **26**: 225–39.

21. Chouaib S, Messai Y, Couve S, *et al.* Hypoxia promotes tumor growth in linking angiogenesis to immune escape. *Front Immunol* 2012; **3**: 1–10.

22. Osinsky S, Bubnovskaya L, Ganusevich I, *et al.* Hypoxia, Tumor Associated Macrophages, Microvessel Density, VEGF and Matrix Metalloproteinases in Human Gastric Cancer: Interaction and Impact on Survival. *Clin Trans Oncol* 2011; **13**: 133–8.

23. International Union Against Cancer. In: *LH Sobin, Ch Wittekind* (eds.) TNM classification of malignant tumors. 6th ed. New York, Chichester, Weinheim, Brisbane, Singapore, Toronto: Wiley-Liss Book, 2002.

24. Fenoglio-Preiser C, Carneiro F, Correa P, *et al.* Gastric carcinoma. / In: *SR Hamilton, LA Aaltonen* (eds.) / World Health Organization classification of tumors. Tumours of the Stomach, Lyon: IARC Press, 2000; 39–52.

25. Weidner N, Semple JP, Welch WR, *et al.* Tumor angiogenesis and metastasis. Correlation in invasive breast carcinoma. *N Eng J Med* 1991; **324**: 1–8.

26. van den Eynden GG, van der Auwera I, van Laere SJ, *et al.* Angiogenesis and hypoxia in lymph node metastases is predicted by the angiogenesis and hypoxia in the primary tumor in patients with breast cancer. *Br J Cancer* 2005; **93**: 1128–36.

27. Saito H, Kuroda H, Matsunaga T, *et al.* Prognostic indicators in node-negative advanced gastric cancer patients. *J Surg Oncol* 2010; **191**: 622–5.

TUMOR CELLS IN REGIONAL LYMPH NODES OF GASTRIC CANCER PATIENTS WITH NO CATEGORY AND THEIR CLINICAL RELEVANCE

E.O. Antonov, L.D. Gumenyuk, L.A. Mamontova, D.S. Osinsky

Summary. Introduction: the dormant tumor cells in regional lymph nodes (RLN) are not detected by conventional histological methods that negatively influences the diagnosis and treatment efficacy. **Aim:** to detect the tumor cells in RLN of gastric cancer patients by immunohistochemical (IHC) method, to study the correlation of LN-positivity with hypoxia-associated indices of primary tumor and evaluate their clinical relevance. **Material and methods:** the specimens of primary gastric cancer tissue and regional lymph nodes were investigated. 120 naïve patients were enrolled into study (65 patients — N0 category and 45 — N1–N2). Pancytokeratin-positive (panCK-positive) cells in RLN, HIF-1 α - and CD34-positive cells in tumor were detected by IHC method. All patients were thoroughly informed about the study that was approved by the local ethics committee. **Results:** panCK-positive cells in RLN (pN0) were detected in 24% patients. It was shown that all patients with panCK-positive cells in RLN had HIF-1 α -positive tumors. It was observed the positive correlation between panCK-positive cells in RLN (pN0) and microvessel density in tumor ($p < 0,01$). Overall survival of patients with N0 category were better than this of patients with N1N2 category ($p < 0,01$). Overall survival of patients with panCK-positive RLN who were undergone operation only was worse than patients with panCK-positive RLN who were treated with operation and adjuvant chemotherapy ($p < 0,02$). **Conclusion:** IHC method allows to detect the tumor cells in RLN у 24% gastric cancer patients with pN0 category. It was shown that metastasis in RLN, in partly, is associated with hypoxia-induced events in the primary tumor panCK-positive RLN impact negatively on survival.

Key words: gastric cancer, lymph nodes, tumor cells, immunohistochemistry.

Адреса для листування:

Гуменюк Л.Д.

03022, Київ, вул. Васильківська, 45

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

E-mail: Gumenyuk_lili@ukr.net

Одержано: 25.07.2013