

## ОНКОЛОГІЯ

УДК 616.33-006.6-089-085.277.3

*С.И. Киркилевский<sup>1</sup>, А.А. Машуков<sup>1,2,3</sup>, Н.А. Орел<sup>3</sup>,  
А.А. Биленко<sup>2</sup>, А.Н. Згура<sup>3</sup>, Д.В. Рацборский<sup>3</sup>,  
В.Е. Максимовский<sup>2</sup>, А.И. Рыбин<sup>1,2</sup>, В.В. Бошкова<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>*Национальный институт рака, г. Киев*

<sup>2</sup>*Одесский национальный медицинский университет*

<sup>3</sup>*КУ «Одесский областной онкологический диспансер»*

### НАБЛЮДЕНИЕ БОЛЬНЫХ РАКОМ ЖЕЛУДКА С РАЗЛИЧНЫМИ КАЧЕСТВЕННЫМИ И КОЛИЧЕСТВЕННЫМИ НАРУШЕНИЯМИ ГЕНОТИПА

Изучали гистологические, иммуногистохимические и генетические свойства рака желудка. Интерес представляло как количественное изучение выраженности того или иного маркера в популяции больных раком желудка, так и корреляция между этими двумя группами. Гистологическая панель насчитывала 16 маркеров: степень дифференцировки первичной опухоли; локализацию опухоли в желудке; степень прорастания опухолью стенки желудка; стадию; количество удаленных при лимфодиссекции лимфатических узлов; количество пораженных метастазами лимфоузлов; размер опухоли, измеренный морфологом в процессе первичной обработки удаленного операционного материала; вид роста и четкость границы роста в окружающих тканях; лимфатическую инвазию; венозную инвазию; резидуальную опухолевидную болезнь; гистологическую классификацию опухоли по МКБ; склонность рака желудка к перинеуральному опухолевому росту в стенке желудка; наличие эмболов в сосудах лимфатического и венозного типов; взаимоотношения стромы/паренхимы; вид опухолевого роста по JGCA (I–V). Исследованы иммуногистохимические маркеры: p53, Ki-67, HER2/new, VEGFR-1, VEGFR-3. Только у 6 больных к моменту написания этой работы имелись исследования наличия более сложных генетических тестов, в том числе ERCC1, TS, CDH1, MLH1, MSH2, topo2 $\alpha$ , BRCA-1, PIC3CA. В конце концов изучали влияние экспрессии маркеров на выживаемость и сравнивали выживаемость больных раком желудка с комбинациями маркерных характеристик. Единственное значение очень сильной корреляции в исследовании представленной группы больных (n=26) получено при исследовании взаимосвязи продолжительности жизни и экспрессии белка E-кадгерина, отражающей наличие генетически стабильной формы рака желудка.

**Ключевые слова:** рак желудка, иммуногистохимия, онкобелки, нарушения генотипа.

#### Введение

Новая (8-я) редакция классификации TNM Американского объединенного комитета по изучению рака (AJCC) вступила в силу 1 января 2018 года. Группа экспертов AJCC сдела-

ла вывод о том, что достижения молекулярной медицины и онкологии ставят под сомнение исключительно анатомо-гистологический подход к стадированию рака желудка (РЖ). Становится общепризнанным факт, что новая

© С.И. Киркилевский, А.А. Машуков, Н.А. Орел и др., 2018

система классификации следующей (8-го пересмотра) редакции будет основываться на анатомических факторах TNM с включением различных биомедицинских маркеров [7]. Когда это доступно, включение мультигенных панелей (в частности Mammaprint для рака молочной железы) становится модификатором стадии опухоли.

**Целью** исследования было формирование понимания целостной картины изменений в клетках при раке желудка с помощью выполнения гистологического и иммуногистохимического исследований, а также генетических тестов; оценка возможностей дальнейшего воздействия на опухоль с помощью индивидуализации программ специального, в том числе и химиотерапевтического лечения.

#### **Материал и методы**

В исследование было включено 26 больных, которые были прооперированы в КУ ООД в период 2011–2017 годов. Изучали гистологические, иммуногистохимические (ИГХ) и в ряде случаев генетические свойства удаленных опухолей. Интерес представляло как количественное изучение выраженности того или иного маркера в популяции больных раком желудка (РЖ), так и корреляция между этими тремя группами. Целью данного исследования было изучение влияния экспрессии маркеров на выживаемость и сравнение выживаемости больных РЖ с комбинациями маркерных характеристик.

Возраст больных колебался от 43 до 79 лет и в среднем составлял 60,85 года. По поводу рака кардии оперированы 3 (11,54 %) человека, по поводу рака антрального отдела желудка – 12 (46,15 %) человек, рака тела желудка – 7 (26,92 %) больных, опухоли, поражающей весь желудок, – 1 (3,85 %), еще в 3 случаях опухоли занимали более одного анатомического отдела. С помощью программы Microsoft Office Excel 12 вычисляли коэффициент корреляции Спирмена для оценки выраженности корреляционной взаимосвязи между соответствующими табличными значениями маркеров.

Корреляционный анализ проводили с помощью критериев корреляции Пирсона  $r$  ( $r$  – Pearson) или Спирмена  $r$  ( $r$  – Spearman's). Величина коэффициента лежит в пределах от -1 до +1. Для гуманитарных наук высокой корреляцией считается число -0,6 или +0,6. Отрицательная корреляция также бывает сильной.

Значение 0,9 соответствует почти абсолютной корреляции между выборками. Критерий корреляции Пирсона  $r$  и критерий ранговой корреляции Спирмена  $r$  рассчитываются для групп с числом членов 5 и более. В представленной работе использована шкала Чеддока: количественная мера тесноты связи 0,1–0,3 соответствует (качественной характеристики) слабой связи, 0,3–0,5 – умеренной, 0,5–0,7 – заметной, 0,7–0,9 – высокой, 0,9–0,99 – весьма высокой связи.

Для изучения использовали классификацию Японской ассоциации по изучению рака желудка 2-го (1998) и 3-го (2011) изданий под редакцией Takeshi Sano и Yasuhiro Kodera. Напомним, что 1-е издание General Rules for Gastric Cancer Study («Общих правил по изучению рака желудка»), данной классификации) увидело свет в далеком 1963 году и было опубликовано Японским исследовательским сообществом Japanese Research Society for Gastric Cancer [5].

#### **Результаты и их обсуждение**

Чаще всего при гистологическом исследовании удаленного операционного материала морфологически выявлялась аденокарцинома желудка – 7 (26,92 %) больных. В 5 (19,23 %) случаях диагностирован перстневидно-клеточный рак, в 6 (23,08 %) случаях – смешанная аденокарцинома с перстневидными клетками, у 3 (11,54 %) больных – так называемый аденогенный рак желудка, еще в 5 (19,23 %) случаях – более редкие формы РЖ: железисто-солидный, тубуло-папиллярный, альвеолярно-солидный, инфильтративно-солидный, крибозно-ацинарный. В 3 случаях среди представленных форм имелось слизеобразующее, наблюдался бифокальный рак, в 2 препаратах отмечались опухолевые некрозы, у 4 больных в удаленных опухолях имелась выраженная иммунная перипухолевая реакция, лимфоцитарная инфильтрация. Вид опухоли имел обратную корреляцию с экспрессией  $\text{topo2}\alpha$ ,  $r_{\text{Пирсона}} = -74,67\%$ . В популяции больных присутствовало 2 пациента с особенностями морфологической структуры опухоли.

В 10 (38,46 %) случаях имел место низкодифференцированный рак ( $G_3$ ), в 2 (7,69 %) – высокодифференцированный рак ( $G_1$ ), в 4 (15,39 %) случаях степень дифференцировки в патоморфологическом исследовании не бы-

ла определена ( $G_x$ ), в 1 (3,85 %) случае удаленная опухоль была представлена анаплазированной недифференцированной карциномой ( $G_4$ ). В 4 (15,39 %) случаях имел место смешанный умеренно-низкодифференцированный рак ( $G_2-G_3$ ), в 1 (3,85 %) – смешанный высоко-умеренно-дифференцированный ( $G_1-G_2$ ) рак. В 4 (15,39 %) случаях диагностирован умеренно-дифференцированный РЖ ( $G_2$ ). Прослеживалась средней степени выраженности корреляция между степенью дифференцировки опухоли ( $G$ ) в группе и экспрессией маркера Ki-67 ( $\rho_{\text{Спирмена}} = 51,59\%$ ;  $r_{\text{Пирсона}} = 53,05\%$ ), а также сильная отрицательная корреляция с наличием экспрессии в опухоли белка E-кадгерина. Слабая (коэффициент корреляции Спирмена  $\rho = 47,16\%$ ) ранговая корреляция между степенью дифференцировки и соотношением опухоль/строма.

Размеры опухоли в желудке, измеренные морфологом, колебались от 0,5 до 12 см. Размер опухоли незначительно коррелировал со степенью поражения регионарных лимфатических капилляров (Iy, рубрика 2.1.6.3.1, «лимфатическая инвазия», по японской классификации: General Rules for Gastric Cancer Study, Japanese Research Society for Gastric Cancer, 3-е издание, 2011) –  $r_{\text{Пирсона}} = \rho_{\text{Спирмена}} = 48,73\%$ . Коэффициент ранговой корреляции между размерами опухоли, измеренной морфологом во время вырезки материала, и маркером TS был

высоким и составил  $r_{\text{Пирсона}} = \rho_{\text{Спирмена}} = 79,32\%$ ; близкая к высокой корреляция имела в данном случае с количеством пораженных метастазами лимфоузлов, коэффициент корреляции  $r_{\text{Пирсона}} = \rho_{\text{Спирмена}} = 68,49\%$ .

Во время операции удаляли регионарные лимфатические узлы, наиболее часто – 16 лимфатических узлов. Диссекция лимфоузлов носила превентивный и стадирующий характер. Выполняли наиболее часто в объеме  $D_2$ . Количество удаленных лимфатических узлов, подсчитанное в макропрепарате гистологом, колебалось от 6 до 20. Среднее количество составило  $m_0 = 13,19 \pm 3,10$  удаленных лимфоузлов. Что касается пораженных метастазами лимфоузлов, то их количество среди удаленных составляло от 1 до 9, в среднем 2,12 лимфоузла, при этом вообще не было пораженных метастазами лимфоузлов (классическая превентивная лимфодиссекция) у 9 (34,62 %) больных. Отмечена высокая ( $\rho_{\text{Спирмена}} = r_{\text{Пирсона}} = -74,43\%$ ) обратная корреляция количества пораженных метастазами лимфоузлов в каждом конкретном случае с маркером ERCC1: т. е. чем больше была выражена его экспрессия, тем меньшее количество регионарных лимфатических узлов было поражено (рис. 1).

Оценив больных по критерию N, учитывая VII редакцию TNM Американского объединенного комитета по изучению рака, мы установили, что 8 (30,77 %) больных имели

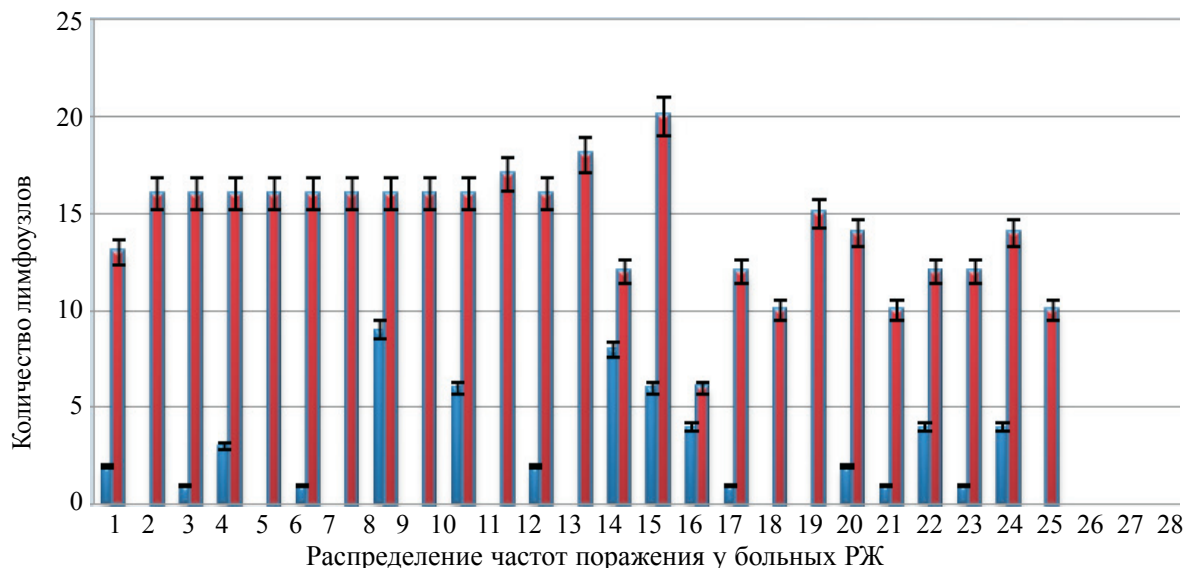


Рис. 1. Сопоставление количества удаленных во время лимфодиссекции лимфоузлов и лимфоузлов, которые были поражены метастазами: красным – общее количество удаленных лимфоузлов; синим – количество лимфоузлов, пораженных метастазами

$N_1$  (1–2 пораженных) степень поражения лимфатических узлов, у 6 (23,08 %) –  $N_2$  степень поражения (3–6 пораженных),  $N_{3a}$  выявлено у двоих (7–15 пораженных), что составило 7,69 %,  $N_{3b}$  не было ни у кого (более 16 пораженных метастазами лимфоузлов). Индекс  $N_0$  был установлен у 9 (34,69 %) больных РЖ. Один больной исключен по причине недостатка данных.

Таким образом, IA стадия была диагностирована у 3 (11,54 %) больных, IB – у 3 (11,54 %) больных, ПА – у 4 (15,39 %), ПВ – также у 4 (15,39 %) больных РЖ, ПИА – у 6 (23,08 %) больных, ПИБ – у 3 (11,54 %), ПИС – еще у 2 (7,69 %), т. е. чаще всего диагностировалась ПИА стадия. Корреляция с глубиной прорастания стенки желудка  $T \rho_{\text{Спирмена}} = 85,62 \%$ , наличием метастатического поражения регионарных лимфатических узлов  $N \rho_{\text{Спирмена}} = \gamma_{\text{Пирсона}} = 80,11 \%$ , размером опухоли  $\rho_{\text{Спирмена}} = 61,63 \%$ ,  $ly \rho_{\text{Спирмена}} = \gamma_{\text{Пирсона}} = 59,98 \%$ . Индекс  $\gamma_{\text{Пирсона}} = 85,62 \%$  свидетельствовал о прямой сильной корреляции стадии и критерия T.

Наконец, вид инфильтрации желудочной стенки классифицировали в соответствии с японской классификацией РЖ на 3 типа: «а», «b» и «g» (сокращение INF и греческие буквы во 2-й редакции классификации JGCA; в 3-й редакции буква «а» соответствует « $\alpha$ », «b» соответствует « $\beta$ » и «с» соответствует « $\gamma$ »). Альфа-инфильтрация (« $\alpha$ ») имела в 1 удаленной опухоли (3,85 %), бета (« $\beta$ ») – в 3 (11,54 %) и чаще всего имела наиболее злокачественная – гамма-инфильтрация (« $\gamma$ ») – у 11 (42,31 %) больных. В остальных случаях вид инфильтрации не классифицировался патологом как один из трех видов: смешанные формы и т. д. Наиболее часто морфолог диагностировал гамма-инфильтрацию (« $\gamma$ »).

Резидуальная опухолевая болезнь выявлена у 3 (11,54 %) больных: у 2 при исследовании удаленного препарата имелся опухолевый рост в проксимальном крае резекции, у 1 – в дистальном.

Кроме того, исследовали такие до сих пор мало встречающиеся в медицинской литературе, посвященной РЖ, показатели, как наличие периневрального и периваскулярного опухолевого роста, а также наличие опухолевых эмболов в венах и лимфатических сосудах опухолевого окружения.

В 11 из 26 случаев, что составило 42,31 %, имелся периневральный опухолевый рост при микроскопическом исследовании макропрепарата [2, 3]. Биологическая склонность РЖ к периневральной инвазии (mPNI, периневральный рост в стенке желудка [1]) коррелировала с экспрессией маркера ERCC1, высокая корреляция,  $\gamma$  Спирмена = -68,59 %. Соотношение опухоль/строма коррелировало с наличием периневрального опухолевого роста mPNI, коэффициент корреляции Спирмена  $\gamma = 50,53 \%$ .

Вовлечение в патологический процесс сосудистой стенки классифицировалось по 4 степеням – от 0 до 3. Степень вовлеченности  $v_0$  прослежена у 8 (30,77 %) больных нашей группы,  $v_1$  – у 4 (15,39 %),  $v_2$  – у 6 (23,08 %),  $v_3$  – еще у 3 (11,54 %), в 5 случаях морфолог не квалифицировал степень вовлеченности микрососудистого русла никак вообще. Это наиболее коррелирующий с другими частями исследуемых показателей маркер. Из 20–22 исследованных взаимосвязей 3 имели значимую взаимосвязь: слабая  $v/p53 = -49,92 \%$ , средняя, близкая к высокой,  $v/TS \gamma_{\text{Спирмена}} = 66,67 \%$ , отрицательная средняя, близкая к высокой, у  $v/topo2\alpha \rho = -65,47 \%$ . И редкое в нашем исследовании полное отсутствие корреляции между вовлечением в патологический процесс сосудистой стенки с экспрессией маркера CDH1:  $v/CDH1 = 0$ . Слабая корреляция вовлечения в патологический процесс сосудистой стенки с экспрессией маркера p53  $\gamma_{\text{Пирсона}}$  около 50 %.

Степень вовлеченности лимфатических сосудов оценивали в соответствии с критериями японской классификации от  $ly_0$  до  $ly_3$ . Всего из 26 больных данный критерий оценен у 19. При этом  $ly_0$  наблюдался у 7 (26,92 %) больных РЖ,  $ly_1$  – у 3 (11,54 %),  $ly_2$  – у 1 (3,85 %), наконец  $ly_3$  – в 8 (30,77 %) случаях. С помощью программы Microsoft Office Excel 12 вычислен коэффициент корреляции Спирмена для оценки выраженности корреляционной взаимосвязи между соответствующими табличными значениями маркеров. Отрицательно коррелировала степень вовлеченности лимфатических сосудов с ИГХ экспрессией маркера ERCC1, умеренно выраженное отрицательное значение  $\rho_{\text{Спирмена}} = -67,46 \%$ , средняя корреляция с количеством пораженных лимфатических узлов  $\rho_{\text{Спирмена}} = 64,10 \%$ ;

близкая к средней корреляция с размерами опухоли, коэффициент корреляции Спирмена  $\rho = 48,73\%$ , слабая корреляция со стадией  $r_{\text{Пирсона}} = 59,98\%$ .

Наконец, наличие опухолевых эмболов в сосудах самой опухоли имелось у 8 (30,77 %) больных: в 6 (23,08 %) случаях – в сосуды венозного типа, в 2 (7,69 %) случаях имелись опухолевые эмболы в сосудах лимфатического типа, в 1 (3,85 %) – и в тех и в других. Количество эмболов, чтобы не усложнять классифицирование, оценивали как условные «много» (++) – 7 (26,92 %), «мало» (+) – 1 (3,85 %) больной или отсутствовали вообще (-) – у 18 (69,23 %). Значимая прямая корреляция ( $r_{\text{Пирсона}} = 72,76\%$ ) с экспрессией маркера ERCC1 в опухоли.

Оставшиеся три морфологических маркера: макроскопический вид опухоли, соотношение опухоль/стромы и гистологический фенотип рака – завершали гистологическую часть исследования. Оставшиеся маркеры исследовали с помощью ИГХ или же генетических тестов.

Макроскопическая классификация Японской ассоциации по изучению рака желудка [5] включает 5 различных типов роста РЖ.

Тип 0 – поверхностный (обычно T<sub>1</sub>), подразделяющийся на подтипы 0-I (выступающий), 0-IIa (поверхностный приподнятый), 0-IIb (поверхностный плоский), 0-IIc (поверхностный углубленный) и 0-III (углубленный); в нашем исследовании 1 такой больной с образованием желудка размерами 0,5×0,8 см, тип 0-III (3,85 %).

Тип 1 – массивный, полиповидная опухоль, четко демаркированная от окружающих тканей; всего 4 больных, что составило 15,39 % от общего количества.

Тип 2 – язвенный, изъязвленные опухоли с приподнятыми краями с четкими границами, утолщением желудочной стенки; из 26 больных было 4; 15,59 %.

Тип 3 – инфильтративно-язвенный, изъязвленные опухоли с приподнятыми краями без четких границ, утолщением желудочной стенки, индурацией краев язвы; 9 больных, что составило 34,62 % от общего количества больных.

Тип 4 – диффузно-инфильтративный, опухоли без сколько-нибудь заметного изъязвления или поднятия краев, есть утолщение

стенки, индурация краев не прослеживается, 6 больных (23,08 % от всех пациентов).

Тип 5 – неклассифицируемый, опухоль не может быть проклассифицирована в вышеизложенные подгруппы, 2 больных из 26, что составило 7,69 %.

Соотношение опухоль/строма [6] классифицировалось на три подтипа:

1) скirrosный тип, много стромального компонента, обозначение sci, всего 6 (23,08 %) таких больных из 26;

2) медуллярный тип, бедный стромальным компонентом, обозначение med – всего в общей сложности 15 (57,69 %) больных;

3) промежуточный тип, количество стромального компонента находится в промежутке между скirrosным и медуллярным типом, обозначение int – 5 больных, что составило 19,23 %.

Этот показатель (sci/med/int) коррелировал со степенью дифференцировки G (коэффициент корреляции Спирмена  $\rho = 47,16\%$ ), экспрессией ERCC1 ( $\rho_{\text{Спирмена}} = 58,55\%$ ), экспрессией CDH1/E-кадхерина ( $\rho_{\text{Спирмена}} = 58,13\%$ ), отрицательно коррелировал с наличием биологической склонности РЖ к периневральному опухолевому росту, mPNI ( $\rho_{\text{Спирмена}} = 50,53\%$ ).

Японская классификация гистологических вариантов РЖ включает главных 9 наиболее частых и 8 специальных типов [6].

Главными типами считали:

1) папиллярная (шифр 8260/3 по Международной классификации болезней, далее МКБ) аденокарцинома, сокращенно pap;

2) тубулярная аденокарцинома (шифр 8211/3), сокращенно tub, включающая высокодифференцированную (tub1) и умереннодифференцированную (tub2) формы;

3) низкодифференцированная аденокарцинома, сокращенно rog, которая разделена на солидный (rog1) и несольный (rog2) типы;

4) перстневидно-клеточная карцинома (шифр 8490/3), сокращенно sig;

5) слизепродуцирующий вариант, muc (шифр 8489/3).

Из 26 больных: pap – 1 (3,85 %), tub<sub>1</sub> – 3 (11,54 %), tub<sub>2</sub> – 5 (19,23 %), rog<sub>1</sub> – 2 (7,69 %), rog<sub>2</sub> – 2 (7,69 %), sig – 9 (34,61 %), muc – 3 (11,54 %). Из специальных форм в группе отмечен 1 случай недифференцированной G<sub>4</sub> карциномы желудка (3,85 %), выявленный у

больного 67 лет: опухоль диаметром 6,0 см, расположенная в теле желудка, где из 17 удаленных регионарных лимфатических узлов метастазов не было обнаружено ни в одном, с высокой экспрессией VEGFR<sub>3</sub> – 3+, максимальной в группе экспрессией p53 80 %, индексом Ki-67 55 %, без признаков периневральной и периваскулярной инвазии или эмболов в сосудах лимфатического и венозного типов (шифр по МКБ 8020/3). Это также единственный больной в группе, у которого наблюдался R<sub>1</sub> рост в дистальном крае резекции. При анализе ранговых корреляций гистологический вариант опухоли сильно отрицательно коррелировал с экспрессией маркера topo2 $\alpha$ ,  $\rho_{\text{Спирмена}} = -74,67$  %.

Специальные виды злокачественных опухолей включали: карциноидную опухоль (шифр 8240/3); эндокринную карциному (шифр 8401/3); карциному с лимфоидной стромой; гепатоидную аденокарциному; аденосквамозную карциному (шифр 8560/3); плоскоклеточную карциному (шифр 8070/3); недифференцированную и неклассифицируемую карциному.

Ki-67 колебалось от полностью отрицательного значения экспрессии, минимальное значение положительной экспрессии составило 10 %, максимальное – 90 %. Для оценки его экспрессии в опухоли был использован ИГХ реактив МІВ-1. Уровень 0–9 наблюдался у 3 больных, 10–19 – у 3, 20–29 – у 5 больных, 30–39 – у 2 больных, 40–49 – у 6 больных, 50–59 – у 3 больных РЖ, 60–69 – у 3, 70–79 –

у 1, 80–89 и 90–99 – не было. Среднее значение экспрессии маркера Ki-67 в группе составило  $m_0 = 33,35 \pm 20,54$ . С помощью программы Microsoft Office Excel 12 вычислен коэффициент корреляции Спирмена для оценки выраженности корреляционной взаимосвязи между соответствующими табличными значениями маркеров. Маркер коррелировал с экспрессией p53 ( $\rho_{\text{Спирмена}} = 63,83$  %), TS ( $\rho_{\text{Спирмена}} = -51,81$  %), степенью дифференцировки G ( $\rho_{\text{Спирмена}} = 51,59$  %,  $r_{\text{Пирсона}} = 53,05$  %), видом инфильтрации стенки (сокращенное обозначение INF японской классификации),  $\rho_{\text{Спирмена}} = -59,78$  %, topo2 $\alpha$   $r_{\text{Пирсона}} = 47,08$  %, ERCC1  $r_{\text{Пирсона}} = -47,82$  %.

Распределение различных частот экспрессии маркера, учитывая его гетерогенность в популяции, показано на рис. 2. Наглядная визуализация помогает понять, что наиболее часто встречались больные с уровнем Ki-67 в опухоли от 40 до 50 %. Указанные взаимные корреляции отражены на рис. 2.

Экспрессию иммуногистохимического маркера p53 оценивали в популяции больных в процентах. Для оценки экспрессии в опухоли были использованы моноклональные антитела DO-7. Минимальное значение экспрессии составило 5 %, максимальное – 80 %. У 7 больных экспрессия данного маркера не была выявлена совсем или не оценивалась. Среднее значение оказалось равным  $m_0 = 24,81$ . Единственная сильная корреляция,  $\rho_{\text{Спирмена}} = 84,04$  %, отмечена между уровнями p53 и уровнями TS (сравнивали 2 группы).

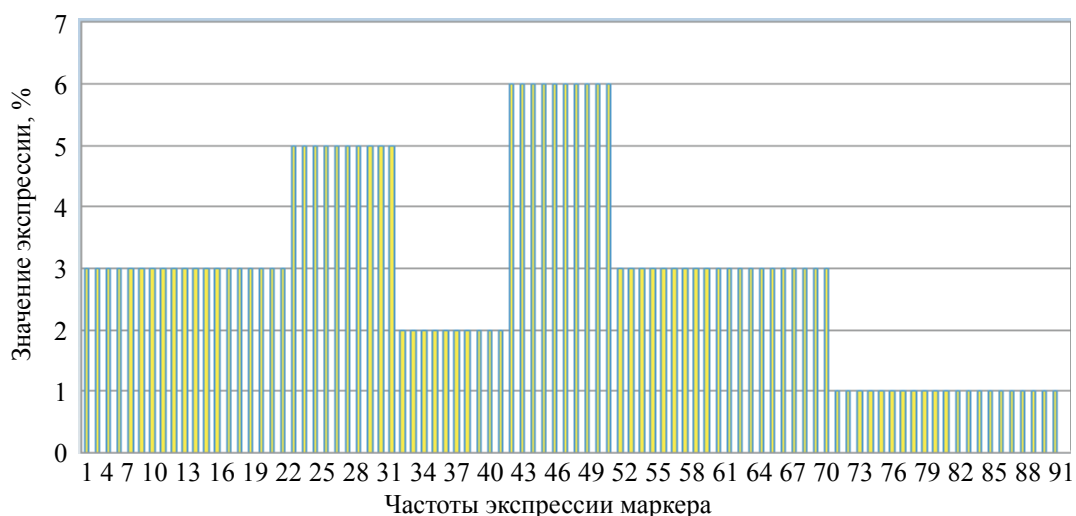


Рис. 2. Распределение частоты экспрессии маркера Ki-67 в популяции больных РЖ

Частота различной экспрессии иммуногистохимического маркера p53, выраженная в процентах от 1 до 88 %, представлена на рис. 3. Значение подобной визуализации в возможности увидеть, что наиболее часто p53 слабо выражен: значения от 1 до 25 занимают примерно 60–70 % суммарной экспрессии.

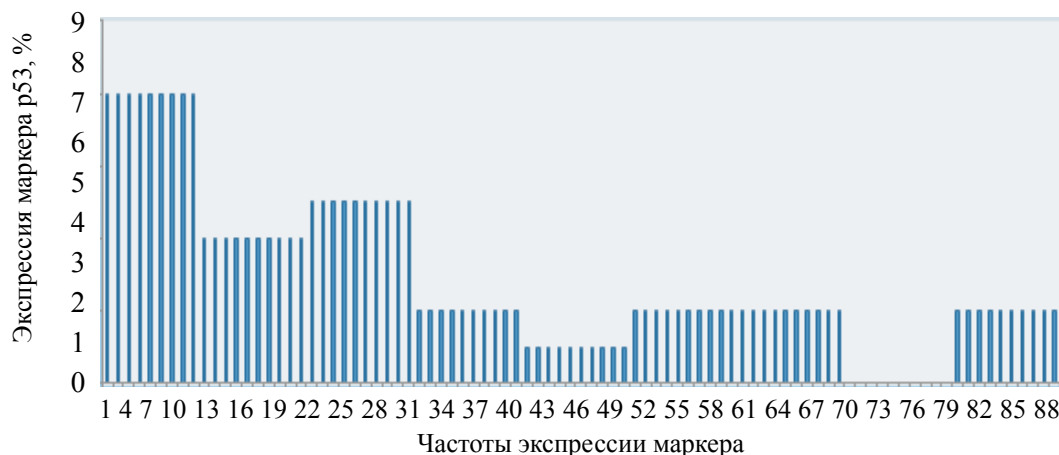


Рис. 3. Разнородность экспрессии маркера p53 в популяции больных РЖ

Что же касается маркеров HER2/new и VEGFR, то чаще всего их экспрессия была отрицательной и практическая значимость их оценки имела значения в целях назначения в послеоперационном периоде больным РЖ адьювантной специальной терапии трастузумабом и бевацизумабом. Для оценки экспрессии HER2/new в опухоли были использованы моноклональные антитела CB11. Позитивный HER2/new отмечен у 4 больных из 26, при этом сильная его экспрессия выявлена у 3 больных (3+, «+++»), у 1 больного – 1 «+», слабая корреляция,  $r_{\text{Пирсона}} = 41,68\%$  с наличием периневрального опухолевого роста.

Маркер VEGFR является гетерогенным по своему составу, и практическую значимость представляли 2 его фракции: VEGFR1 и VEGFR3. VEGFR1 являлся маркером чувствительности терапии сунитинибом, VEGFR3 мог характеризовать «неолимфангиогенез» с точки зрения образования неолимфатических капилляров в опухоли. Для оценки его экспрессии VEGFR3 в опухоли были использованы моноклональные антитела KLT-9 и для оценки VEGFR1 – VG1. Мы постарались отследить, была ли связь между экспрессией VEGFR и наличием: периваскулярного опухолевого роста; экстравазатов и опухолевых эмболов в сосудах лимфатического и венозного

типов; выраженности лимфогенных метастазов в парагастральных коллекторах, в том числе феномена Уилла–Роджерса.

Маркер активности фермента тимидилатсинтазы (TS, синоним – метилентетрагидрофолат метилтрансфераза) оценен как «положительный» у всех 6 больных, вошедших в

исследование по поводу РЖ. Фермент катализирует метилирование дезоксиуридинмонофосфата (дУМФ) с превращением его в тимидинмонофосфат (ТМФ). Данное его свойство актуально с точки зрения оценки эффективности терапии фторпиримидинами (в частности фторафуром, капецитабином, 5-фторурацилом и др.). Использовали клон моноклональных антител компании DACO – TS106. Оценивали выраженность реакции в определенном количестве клеток, например: положительная реакция умеренной степени (2 балла) приблизительно в 80 % клеток опухоли (3 балла), общий балл  $2 \cdot 3 = 6$  – экспрессия умеренная (2+). Указанные взаимные корреляции отражены в таблице.

Наличие белка Е-кадгерина и, соответственно, ИГХ позитивный по маркеру CDH1 РЖ выявлен во всех 6 случаях диагностики. Экспрессия «++» отмечена у 1 больной, «+» – у 5 больных РЖ. Анализ проведен с помощью моноклональных антител NCH38 компании DACO. Данный вид экспрессии был необходим для того, чтобы выделить так называемый генетически стабильный РЖ. Наряду с топо2α участвует в трансдукции сигнала, адгезии, регуляции клеточного цикла, дифференцировки и миграции клеток при РЖ. Отмечается сильная отрицательная корреляция степени

Зависимость вида ИГХ маркера и чувствительности РЖ к конкретному виду химиопрепарата

Вид маркера, экспрессируемого в опухоли	Расшифровка	
	чувствителен	резистентен
Иринотекан	Высокий** ТОР01	Низкий** ТОР01
Доксорубицин	Высокий** ТОР2А	Низкий** ТОР2А
Оксалиплатин	Низкий** ERCC1	Высокий** ERCC1
Фторпиримидины 1	Низкий** TS	Высокий** TS
Фторпиримидины 2	Mut DPD	Wild DPD
Таксаны 1	Низкий** TUBB3	Высокий** TUBB3
Таксаны 2	Высокий** TLE3	Низкий** TLE3

\*\* Уровень экспрессии маркера в опухоли.

дифференцировки опухоли (G) и экспрессии CDH1,  $\rho_{\text{Спирмена}} = -79,86\%$ . Ранговая корреляция с типом соотношения опухоль/строма составляла  $\rho_{\text{Спирмена}} = 58,13\%$ . И, наконец, очень высокая корреляция CDH1 и продолжительности жизни ( $\rho_{\text{Спирмена}} = 97,17\%$ ).

Топоизомераза 2 $\alpha$  (полное название топоизомераза ДНК 2 альфа, сокращенно топо2 $\alpha$ ) отражает чувствительность опухоли желудка к химиотерапии антрациклинами. Кодировается геном TOP2A, локализованным на хромосоме 17. Нами наблюдалась корреляционная связь с маркером Ki-67 и отсутствие корреляционной связи с HER2/new. Коррелирует с высокой степенью злокачественности и высоким p53. При ИГХ анализе оценивали ко-

личество клеток опухоли желудка в процентах, с положительной окраской на топо2 $\alpha$ : 100; 5; 5; 50 и 0 %. При анализе корреляций между маркерными кривыми выявлено следующее: топо2 $\alpha$ /v  $\rho_{\text{Спирмена}} = -65,47\%$ , а для топо2 $\alpha$ /ERCC1 коэффициент ранговой корреляции Спирмена  $\rho$  составил  $-47,63\%$ . Указанные взаимные корреляции отражены на рис. 4.

Для оценки генетических тестов BRCA-1 и PIK3CA собрано недостаточно материала. К настоящему времени все больные РЖ, которым был проведен данный анализ, не имели данных мутаций, т. е. имели wild статус.

Средняя продолжительность жизни больных, учитывая, что они оперированы в 2011–

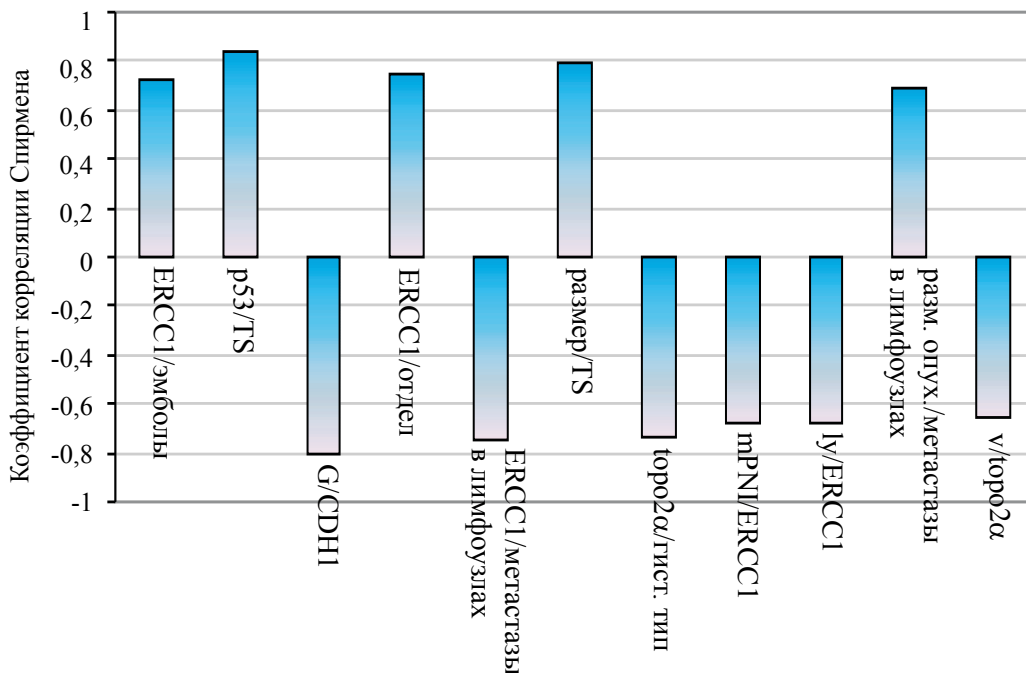


Рис. 4. Наибольшая корреляция между гистологическими и ИГХ критериями



2017 годах, составила (27,19±20,19) месяца. Медиана составила 19,5 месяца, мода – 7,0 месяцев, максимальное значение выживаемости – 80 месяцев, минимальное – 5 месяцев. С помощью программы Microsoft Office Excel 12 вычисляли коэффициент корреляции Спирмена для оценки выраженности корреляционной взаимосвязи между продолжительностью жизни больных РЖ, соответствующей их числовым значениям (в месяцах), и табличными значениями маркеров. Ран-

говая корреляция составила: с маркером *CDH1*  $\rho_{\text{Спирмена}} = 97,17\%$ , *TS*  $\rho_{\text{Спирмена}} = 64,59\%$ , *ERCC1*  $\rho_{\text{Спирмена}} = 52,70\%$ .

#### Выводы

Единственное значение очень сильной корреляции в исследовании представленной группы больных (n=26) получено при исследовании взаимосвязи продолжительности жизни и экспрессии белка Е-кадгерина, отражающей наличие генетически стабильной формы рака желудка.

#### Список литературы

1. *España-Ferrufino A.* Extramural perineural invasion in pT3 and pT4 gastric carcinomas / *A. España-Ferrufino, L. S. Lino-Silva, R. A. Salcedo-Hernandez* // *J. Pathol. Transl. Med.* – 2017. – Nov. 9. – DOI: 10.4132/jptm.2017.11.01.
2. Prognostic value of perineural invasion in gastric cancer: a systematic review and meta-analysis / *J. Deng, Q. You, Y. Gao [et al.]* // *PLoS One.* – 2014. – Vol. 9 (2). – e88907. – DOI: 10.1371/journal.pone.0088907. eCollection 2014.
3. Prognostic significance of the concomitant existence of lymphovascular and perineural invasion in locally advanced gastric cancer patients who underwent curative gastrectomy and adjuvant chemotherapy / *J. E. Hwang, J. Y. Hong, J. E. Kim [et al.]* // *Jpn. J. Clin. Oncol.* – 2015. – Vol. 45 (6). – P. 541–546. – DOI: 10.1093/jjco/hyv031.
4. Reevaluating significance of perineural invasion in gastric cancer based on double immunohistochemical staining / *Z. H Zhou, G. F. Xu, W. J. Zhang [et al.]* // *Arch. Pathol. Lab. Med.* – 2014. – Vol. 138 (2). – P. 229–234. – DOI: 10.5858/arpa.2012-0669-OA.
5. *Tsuburaya A.* Points of revision in the new Japanese treatment guidelines for gastric cancer / *A. Tsuburaya, T. Hayashi, T. Yoshikawa* // *Nihon Rinsho.* – 2012. – Vol. 70 (10). – P. 1758–1762.
6. Japanese classification of gastric carcinoma: 3rd English edition // *Gastric Cancer.* – 2011. – Vol. 14. – P. 101–112. – DOI: 10.1007/s10120-011-0041-5.
7. The 8 edition AJCC Cancer staging manual: continuing to build a bridge from a population-based to a more «Personalized» approach to cancer staging / *Mahul B. Amin, Frederick L. Greene, Stephen B. Edge [et al.]* // *CA CANCER J. CLIN.* – 2017. – Vol. 67. – P. 93–99.

**С.І. Кіркільєвський, А.О. Машуков, Н.О. Орел, А.А. Біленко, А.Н. Згура, Д.В. Раціборський, В.Є. Максимовський, В.В. Бошкова**

#### СПОСТЕРЕЖЕННЯ ХВОРИХ НА РАК ШЛУНКА З РІЗНИМИ ЯКІСНИМИ І КІЛЬКІСНИМИ ПОРУШЕННЯМИ ГЕНОТИПУ

Вивчали гістологічні імуногістохімічні та генетичні властивості раку шлунка. Інтерес представляло як кількісне вивчення вираженості того чи іншого маркера в популяції хворих на рак шлунка, так і кореляція між цими трьома групами. Гістологічна панель налічувала 16 маркерів: ступінь диференціювання первинної пухлини; локалізацію пухлини в шлунку; ступінь проростання пухлиною стінки шлунка; стадію; кількість вилучених при лімфодиссекції лімфатичних вузлів; кількість уражених метастазами лімфовузлів; розмір пухлини; вимірний морфологом у процесі первинної обробки видаленого операційного матеріалу; вид зростання і чіткість межі росту в оточуючих тканинах; лімфатичну інвазію; венозну інвазію; резидуальну пухлинну хворобу; гістологічну класифікацію пухлин за МКБ; схильність раку шлунка до периневрального пухлинного росту в стінці шлунка; наявність емболів у судинах лімфатичного і венозного типів; взаємозв'язки строми / паренхіми; вид пухлинного росту за JGCA (I–V). Досліджено імуногістохімічні маркери: p53, Ki-67, HER2/new, VEGFR-1, VEGFR-3. Тільки у 6 хворих до моменту написання цієї роботи були дослідження наявності більш складних генетичних тестів, у тому числі ERCC1, TS, CDH1, MLH1, MSH2, tоро2, BRCA-1, PIC3CA. Врешті-решт вивчали вплив експресії маркерів на виживаність і порівнювали виживання хворих на рак шлунка з комбінаціями маркерних характеристик.

Єдине значення дуже сильної кореляції в дослідженні поданої групи хворих (n=26) отримано при дослідженні взаємозв'язку тривалості життя й експресії білка E-кадгерину, що висвітлює наявність генетично стабільної форми раку шлунка.

**Ключові слова:** рак шлунка, імуногістохімія, онкобілки, порушення генотипу.

*S.I. Kirkilevskiy, A.A. Mashukov, N.A. Orel, A.A. Bilenko, A.N. Zgura, D.V. Ratsiborskiy, V.Ye. Maksimovskiy, A.I. Rybin, V.V. Boshkova*

#### OBSERVATION OF PATIENTS WITH GASTRIC CANCER WITH VARIOUS QUALITATIVE AND QUANTITATIVE DISORDERS OF THE GENOTYPE

Histological, immunohistochemical, and genetic properties of stomach cancer have been studied. Interest was presented as a quantitative study of the marker expression in the population of patients with stomach cancer, and the correlation between these three groups. The histological panel consisted of 16 markers: the degree of differentiation of the primary tumor; localization of the tumor in the stomach; degree of infiltration of stomach wall; stage; number of lymph nodes removed during lymph node dissection; the number of metastatic lymph nodes; the tumor size measured by the morphologist; type of growth; lymphatic invasion; venous invasion; residual tumor disease; histological classification of the tumor according to the ICD-O; the tendency of stomach cancer to perineural tumor growth in the wall of the stomach; the presence of emboli in the vessels of the lymphatic and venous type; relationship between stroma/parenchyma; type of tumor growth according to JGCA (I–V). The immunohistochemical markers studied were p53, Ki-67, HER2/new, VEGFR-1, VEGFR-3. Only in 6 patients at the time of this writing there were studies of the presence of more complex tests, including ERCC1, TS, CDH1, MLH1, MSH2, topo2, BRCA-1, PIC3CA. Eventually the effect of marker expression on survival were studied and the survival of patients with stomach cancer with combinations of marker characteristics were compared. The only value of a very strong correlation in the study of the presented group of patients (n=26) was obtained by studying the relationship between the lifespan and the expression of the E-cadherin protein reflecting the presence of a genetically stable form of stomach cancer.

**Keywords:** gastric cancer, immunohistochemistry, oncoproteins, genotype disorders.

Надійшла 06.03.18

#### Відомості про авторів

*Кіркільєвський Станіслав Ігоревич* – доктор медичних наук, професор, завідувач науково-дослідним відділенням пухлин грудної порожнини Національного інституту раку.

Адреса: 03022, м. Київ, вул. Ломоносова, 33/43.

Тел.: +38(044)257-93-15.

ORCID: 0000-0002-2074-1936.

*Машуков Артем Олексійович* – лікар вищої категорії, кандидат медичних наук, асистент кафедри онкології з курсом променевої діагностики, терапії та радіаційної медицини Одеського національного медичного університету, ординатор абдомінального відділення Одеського обласного онкологічного диспансеру.

Адреса: 65069, м. Одеса, пр. Добровольського, 75, кв 4.

Тел.: +38(068)256-06-96.

E-mail: mashukster@gmail.com.

ORCID: 0000-0001-6925-4218.

*Орел Наталія Олександрівна* – лікар вищої категорії, завідувач патоморфологічним бюро Одеського обласного онкологічного диспансеру.

Адреса: 65069, м. Одеса, вул. Нежданової, 32.

Тел.: +38(048)720-26-11.

ORCID: 0000-0001-7031-8119.

*Біленко Олександр Анатолійович* – доцент кафедри онкології з курсом променевої діагностики, терапії та радіаційної медицини Одеського національного медичного університету.

Адреса: 65055, м. Одеса, вул. Нежданової, 32а.

Тел.: +38(048)720-26-96.

ORCID: Rt2-moH-TRG-GxX.

*Згура Олександр Миколайович* – лікар вищої категорії, заслужений лікар України, завідувач абдомінального відділення Одеського обласного онкологічного диспансеру.

Адреса: 65055, м. Одеса, вул. Нежданової, 32а.

Тел.: +38(048)720-26-04.

ORCID: 0000-0002-3324-1690.

*Раціборський Дмитро Вікторович* – лікар вищої категорії, співробітник абдомінального відділення Одеського обласного онкологічного диспансеру.

Адреса: 65055, м. Одеса, вул. Нежданової, 32а.

Тел.: +38(097)902-51-67.

ORCID: 0000-0002-6892-8505.

*Максимовський В'ячеслав Євгенійович* – лікар вищої категорії, кандидат медичних наук, асистент кафедри хірургії № 4 Одеського національного медичного університету.

Адреса: м. Одеса, вул. Тініста, 8.

Тел.: +39(050)392-14-84.

E-mail: maksidoc@gmail.com.

ORCID: 0000-0001-5084-3290.

*Рибін Андрій Ігоревич* – лікар вищої категорії, доктор медичних наук, доцент кафедри хірургії № 4 Одеського національного медичного університету.

ORCID: 0000-0002-1145-6690.

*Бошкова Вероніка Василівна* – лікар-інтерн Одеського національного медичного університету.

ORCID: 0000-0002-5959-622X.