

УДК 616.345-006-097.1

## ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ МАРКЕРОВ АНГИОГЕНЕЗА В НИЗКОЗЛОКАЧЕСТВЕННОМ РАКЕ ДИСТАЛЬНОГО ОТДЕЛА ТОЛСТОЙ КИШКИ

Штабинская Т. Т. (shtabik@list.ru)

УО «Гродненский государственный медицинский университет», Гродно, Беларусь

*Выживаемость пациентов с дистальной локализацией рака в толстой кишке, несмотря на более высокую степень дифференцировки опухоли и раннее ее выявление, ниже, чем при раке, расположенном в проксимальном отделе.*

*Цель: оценить выживаемость пациентов с низкоккачественным раком дистального отдела толстой кишки I-III стадии в зависимости от уровня экспрессии маркеров ангиогенеза в опухоли.*

*Материалы и методы: проведено иммуногистохимическое исследование 44 случаев рака с определением экспрессии маркеров ангиогенеза.*

*Результаты: выживаемость более 5 лет при I-IIA стадии можно ожидать при экспрессии VEGF  $\leq 0,98$  или TGF- $\beta \leq 0,83$ , или NRP1  $> 0,655$ ; у пациентов IIIA-C – при уровне MMP-2  $\leq 0,034$ .*

**Ключевые слова:** выживаемость, низкоккачественный рак, дистальный отдел толстой кишки, ангиогенез

Колоректальный рак в развитых странах занимает второе место среди причин смерти онкологических пациентов [2]. Значимые различия в отношении эмбрионального происхождения, морфологических, биохимических и функциональных характеристик проксимальных и дистальных отделов толстой кишки позволяют предположить, что раки этих локализаций различаются по своему молекулярному патогенезу [6]. С точки зрения эмбриологии в толстой кишке различают два отдела. Проксимальный отдел до середины поперечной ободочной кишки (точка Кэннона) является производным эмбриональной средней кишки, дистальный отдел – эмбриональной задней кишки. К проксимальным участкам относят слепую кишку, а также восходящий и поперечный фрагменты ободочной кишки; нисходящая часть ободочной кишки, сигмовидная кишка и прямая кишка образуют дистальную порцию органа.

Общеизвестно, что такие факторы прогноза течения, как возраст, пол пациента, характер местного распространения, степень поражения лимфоузлов, инвазия в кровеносные сосуды и гематогенное распространение, степень дифференцировки и выраженность десмопластической реакции вокруг опухоли важны для выбора планирования лечения в пред- и послеоперационном периодах [8]. Основным критерием степени злокачественности в патоморфологической диагностике аденокарцином толстой кишки, согласно «Международной Гистологической Классификации опухолей кишечника», является степень дифференцировки опухолевых клеток. Многие авторы отмечают, что проксимально локализованные раки толстой кишки имеют более высокую степень злокачественности по сравнению с дистально локализованными [10] и обнаруживаются на более поздних стадиях [7]. Однако, несмотря на это, выживаемость при дистальной локализации рака толстой кишки хуже [9].

**Цель:** оценить выживаемость пациентов с низкоккачественным раком дистального отдела толстой кишки I-III стадии в зависимости от уровня экспрессии маркеров ангиогенеза в опухоли.

### Материалы и методы

Материалом для исследования стали 44 наблюдения низкоккачественного рака дистального отдела толстой кишки (высоко- и умеренно дифференцированная аденокарцинома (Грейд 1-2) нисходящей части ободочной кишки, сигмовидной кишки, пря-

мой кишки) I-III клинической стадии: 16 мужчин и 28 женщин в возрасте от 37,3 до 82,8 лет. Исследуемые случаи были представлены в 2-х группах. 1-ю группу составили 22 пациента (11 мужчин и 11 женщин) с I и II стадиями заболевания (T1-3N0M0), 2-ю – 22 пациента (5 мужчин и 17 женщин) с IIIA-C стадией заболевания (T2-4N1-2M0). Стадии опухоли переоценены в соответствии с классификацией седьмого издания Американского объединенного комитета по стадиям рака. Клиническая характеристика пациентов обеих групп отображена в табл. 1.

**Таблица 1.** – Клиническая характеристика пациентов в зависимости от стадии заболевания

Клинический показатель	Группа 1 (n=22)	Группа 2 (n=22)
Медиана возраста	64,2 (58,2-70,9)	62,1 (55,6-65,4)
Возникновение локорегионарного рецидива	8 (36,4%)	7 (31,8%)
Медиана времени наступления локорегионарного рецидива (лет)	2,77 (1,87-4,58)	2,78 (2,15-3,48)
Возникновение гематогенных метастазов	1 (4,6%)	2 (9,2%)
Время наступления гематогенных метастазов (лет)	1,8	5,1
Количество умерших пациентов 2001-2016 гг.	11 (50%)	13 (58,9%)
Количество умерших от основного заболевания	9 (41,1%)	11 (50%)
Медиана общей выживаемости (лет)	10,19 (4,86-12,73)	6,32 (3,51-12,51)
Медиана безрецидивной выживаемости (лет)	8,14 (3,10-12,73)	5,4 (3,40-12,51)
Медиана скорректированной безрецидивной выживаемости (лет)	3,70 (2,50-4,90)	3,40 (2,20-4,0)

Длительность наблюдения составила от 1 до 15 лет (май 2001-январь 2016 г.). Исследование было одобрено комитетом по биомедицинской этике УО «ГрГМУ». Микропрепараты и парафиновые блоки с тканью опухоли толстой кишки были собраны в архиве УЗ «ГОПАБ». До оперативного вмешательства пациенты не получали никакого лечения. Статистически значимых различий в зависимости от возраста и пола не выявлено.

Имуногистохимическое исследование выполнено на серийных парафиновых срезах ткани опухолей толщиной 3 мкм с использованием мышиных моноклональных антител к VEGF (ab1316), CD 105 (ab66947), MMP-2 (ab1828), кроличьих поликлональных антител к Erk2 (ab72096),

iNOS (ab15323), TGF- $\beta$  (ab66043) кроличьего моноклонального антитела,

NRP1 (ab81321) (Abcam, Cambridge, UK), MMP-9 (Dako A0150) по стандартной методике [3].

Метод количественной оценки результатов описан в статье, опубликованной ранее [5]. Статистический анализ проводили с использованием STATISTICA 10.0 (SNAXAR207F394425FA-Q) [4].

### Результаты и обсуждение

Наиболее точным показателем, отражающим по сути излеченность от рака, является скорректированная безрецидивная выживаемость [1]. Скорректированная безрецидивная выживаемость от начала лечения была прослежена во всех наблюдениях. В течение первых 3 лет наблюдения умерли или имели рецидив заболевания 18,2% пациентов, 5 лет – 43,2% и 10 лет – 47,7%. Принимая во внимание, что в первые пять лет наблюдения умерло более 40% пациентов, именно этот срок был принят для разделения материала на группы исследования – пациенты с низкой (19) и высокой (24) выживаемостью. 1 случай посчитали пропавшим.

Уровни общей позитивности экспрессии и уровни экспрессии в опухолевой паренхиме и строме изучаемых антигенов в зависимости от пятилетней скорректированной безрецидивной выживаемости пациентов 1-й группы отображены в табл. 2.

**Таблица 2.** – Уровни CD105, VEGF, NRP1, Erk2, TGF- $\beta$ , MMP-2, MMP-9, iNOS в опухоли в зависимости от выживаемости пациентов 1-й группы

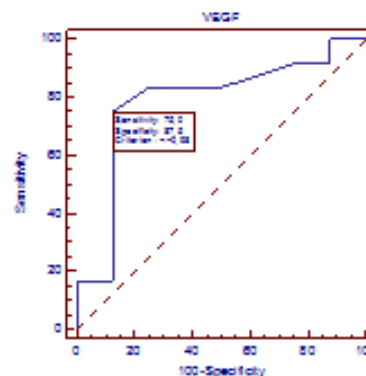
Экспрессия антигена в опухоли <5 (n=9)		Скорректированная безрецидивная выживаемость		
		$\geq 5$ (n=14)	p	
CD105	эндотелий сосудов	0,457 (0,453-0,462)	0,478 (0,448-0,512)	0,58
	общая	0,991 (0,985-0,992)	0,979 (0,971-0,989)	0,15
VEGF	паренхиматозная	0,994 (0,987-0,995)	0,993 (0,981-0,996)	0,79
	стромальная	0,989 (0,987-0,995)	0,965 (0,930-0,981)	0,003
	общая	0,605 (0,528-0,644)	0,738 (0,728-0,778)	0,004
NRP1	паренхиматозная	0,492 (0,402-0,556)	0,656 (0,609-0,689)	0,003
	стромальная	0,704 (0,685-0,797)	0,886 (0,809-0,924)	0,001
Erk2	общая	0,009 (0,002-0,028)	0,017 (0,008-0,033)	0,33
	паренхиматозная	0,017 (0,002-0,023)	0,027 (0,004-0,045)	0,31
	стромальная	0,002 (0,001-0,007)	0,004 (0,002-0,009)	0,25
TGF- $\beta$	общая	0,667 (0,550-0,861)	0,508 (0,371-0,690)	0,19
	паренхиматозная	0,945 (0,847-0,967)	0,682 (0,530-0,947)	0,049
MMP-2	стромальная	0,452 (0,295-0,695)	0,292 (0,152-0,650)	0,53
	общая	0,054 (0,026-0,112)	0,040 (0,024-0,071)	0,68
	паренхиматозная	0,044 (0,019-0,102)	0,029 (0,010-0,053)	0,29
MMP-9	стромальная	0,082 (0,036-0,139)	0,048 (0,035-0,089)	0,58
	общая	0,509 (0,422-0,761)	0,589 (0,396-0,3617)	0,62
	паренхиматозная	0,790 (0,548-0,833)	0,657 (0,488-0,699)	0,33
iNOS	стромальная	0,397 (0,286-0,528)	0,372 (0,244-0,480)	0,71
	общая	0,800 (0,710-0,890)	0,690 (0,640-0,790)	0,11
	паренхиматозная	0,820 (0,760-0,840)	0,770 (0,700-0,820)	0,44
iNOS	стромальная	0,810 (0,740-0,870)	0,760 (0,640-0,850)	0,33

Примечание: p – статистическая значимость различий

Как видно из таблицы, статистически значимыми оказались различия в экспрессии VEGF, NRP1 и TGF- $\beta$  в зависимости от пятилетней скорректированной безрецидивной выживаемости пациентов. Уровень стромальной экспрессии VEGF и паренхиматозной экспрессии TGF- $\beta$  выше в группе с низкой СБВ (<5 лет). Уровни общей, паренхиматозной и стромальной позитивности экспрессии NRP1 выше в группе с высокой скорректированной безрецидивной выживаемостью ( $\geq 5$  лет). Статистически значимых различий в экспрессии остальных антигенов не обнаружено.

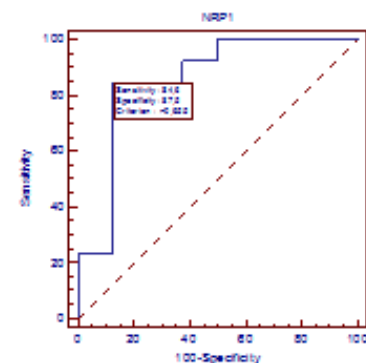
С помощью ROC-анализа определили точку разделения для прогнозирования пятилетней скорректированной безрецидивной выживаемости в зави-

симости от уровня стромальной экспрессии VEGF (рис. 1). Площадь под ROC-кривой, построенной в ходе анализа, равняется 0,79 $\pm$ 0,12 (достоверность различия с площадью под диагональю = 0,016). Наиболее удаленная от диагонали точка на ROC-кривой соответствует уровню экспрессии VEGF, равному 0,98 (чувствительность – 75%, специфичность – 87,5%).



**Рисунок 1.** – Соотношение чувствительности и специфичности (ROC-кривая) при прогнозировании пятилетней выживаемости в зависимости от уровня стромальной экспрессии VEGF у пациентов 1-й группы

Точка разделения для прогнозирования пятилетней скорректированной безрецидивной выживаемости в зависимости от общего уровня позитивности NRP1 в опухоли отображена на рис. 2. Площадь под ROC-кривой, построенной в ходе анализа, равняется 0,86 $\pm$ 0,10 (достоверность различия с площадью под диагональю = 0,0004). Наиболее удаленная от диагонали точка на ROC-кривой соответствует уровню экспрессии NRP1, равному 0,655 (чувствительность – 84,6%, специфичность – 87,5%).



**Рисунок 2.** – Соотношение чувствительности и специфичности (ROC-кривая) при прогнозировании пятилетней выживаемости в зависимости от уровня экспрессии NRP1 у пациентов 1-й группы

На рисунке 3 представлена точка разделения для прогнозирования пятилетней скорректированной безрецидивной выживаемости в зависимости от уровня паренхиматозной экспрессии TGF- $\beta$ . Площадь под ROC-кривой, построенной в ходе анализа, равняется 0,77 $\pm$ 0,11 (достоверность различия с площадью под диагональю = 0,014). Наиболее удаленная от диагонали точка на ROC-кривой соответствует уровню экспрессии TGF- $\beta$ , равному 0,83 (чувствительность – 69,2%, специфичность – 85,7%).

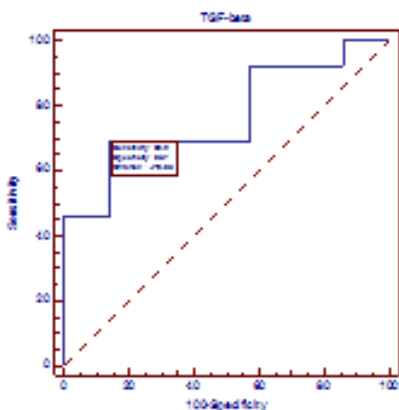


Рисунок 3. – Соотношение чувствительности и специфичности (ROC-кривая) при прогнозировании пятилетней выживаемости в зависимости от уровня паренхиматозной экспрессии TGF-β у пациентов I группы

Уровни общей, паренхиматозной и стромальной позитивности экспрессии изучаемых антигенов в зависимости от пятилетней скорректированной безрецидивной выживаемости пациентов 2-й группы (IIIA-C стадии заболевания) отображены в табл. 3.

Таблица 3. – Уровни CD105, VEGF, NRP1, Erk2, TGF-β, MMP-2, MMP-9, iNOS в зависимости от пятилетней выживаемости пациентов 2-й группы

Экспрессия антигена в опухоли <5 (n=10)		Скорректированная безрецидивная выживаемость		
1	2	3	4	5
CD105	эндотелий сосудов	0,774 (0,699-0,832)	0,721 (0,698-0,771)	0,06
	общая	0,978 (0,955-0,987)	0,970 (0,956-0,991)	0,39
VEGF	паренхиматозная	0,992 (0,977-0,993)	0,980 (0,971-0,996)	0,83
	стромальная	0,954 (0,932-0,967)	0,952 (0,946-0,989)	0,38
NRP1	общая	0,785 (0,692-0,848)	0,771 (0,627-0,841)	0,29
	паренхиматозная	0,637 (0,577-0,785)	0,670 (0,549-0,778)	0,61
	стромальная	0,871 (0,821-0,921)	0,887 (0,761-0,922)	0,98
Erk2	общая	0,023 (0,009-0,037)	0,018 (0,008-0,034)	0,64
	паренхиматозная	0,021 (0,007-0,070)	0,023 (0,006-0,034)	0,59
Erk2	стромальная	0,004 (0,003-0,011)	0,004 (0,002-0,013)	0,99
	общая	0,450 (0,252-0,592)	0,286 (0,110-0,520)	0,34
TGF-β	паренхиматозная	0,646 (0,362-0,829)	0,490 (0,380-0,742)	0,71
	стромальная	0,326 (0,150-0,450)	0,145 (0,072-0,257)	0,19
MMP-2	общая	0,059 (0,040-0,112)	0,034 (0,021-0,069)	0,019
	паренхиматозная	0,042 (0,021-0,119)	0,027 (0,006-0,033)	0,10
	стромальная	0,055 (0,035-0,122)	0,042 (0,021-0,075)	0,14
MMP-9	общая	0,591 (0,373-0,688)	0,489 (0,338-0,636)	0,19
	паренхиматозная	0,710 (0,495-0,823)	0,562 (0,327-0,695)	0,13
	стромальная	0,369 (0,325-0,518)	0,339 (0,236-0,405)	0,38
iNOS	общая	0,735 (0,720-0,820)	0,695 (0,580-0,910)	0,23
	паренхиматозная	0,850 (0,600-0,930)	0,660 (0,540-0,860)	0,24
	стромальная	0,755 (0,720-0,860)	0,710 (0,550-0,820)	0,24

Примечание: p – статистическая значимость различий

Как видно из таблицы, уровень общей позитивности MMP-2 выше в группе с низкой выживаемостью (<5 лет). Выявлена тенденция к достоверной связи высокого уровня эндотелиальной позитивности CD105 с низкой выживаемостью

**Литература**

1. Барсуков, Ю. А. Сравнительный анализ хирургического и комбинированного лечения больных операбельным раком прямой кишки (результаты рандомизированного исследования) / Ю. А. Барсуков [и др.] // *Практ. онкол.* – 2002.

(p=0,06). Статистически значимых различий в экспрессии остальных антигенов не обнаружено. С помощью ROC-анализа определили точку разделения для прогнозирования пятилетней выживаемости в зависимости от уровня экспрессии MMP-2 (рис. 4). Площадь под ROC-кривой, построенной в ходе анализа, равняется 0,76±0,09 (достоверность различия с площадью под диагональю = 0,009). Наиболее удаленная от диагонали точка на ROC-кривой соответствует уровню экспрессии MMP-2, равному 0,034 (чувствительность – 60%, специфичность – 90,9%).

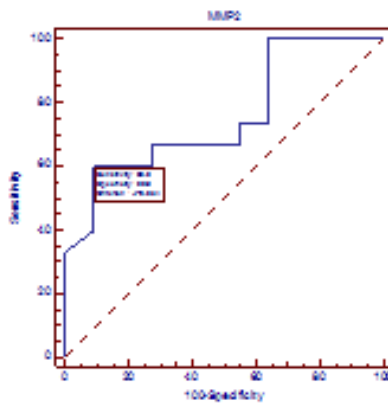


Рисунок 4. – Соотношение чувствительности и специфичности (ROC-кривая) при прогнозировании пятилетней выживаемости в зависимости от уровня экспрессии MMP-2 у пациентов 2-й группы

**Выводы**

1. У пациентов с I-IIA стадией заболевания скорректированная безрецидивная выживаемость будет более 5 лет при выполнении хотя бы одного из нижеперечисленных условий:

1.1 если уровень стромальной экспрессии VEGF будет равен или ниже 0,98 (чувствительность – 75%, специфичность – 87,5%);

1.2 если уровень общей позитивности NRP1 будет выше 0,655 (чувствительность – 84,6%, специфичность – 87,5%);

1.3 если уровень паренхиматозной экспрессии TGF-β будет равен или ниже 0,83 (чувствительность – 69,2%, специфичность – 85,7%).

2. У пациентов с IIIA-C стадией заболевания скорректированная безрецидивная выживаемость будет более 5 лет при уровне общей позитивности MMP-2, равной или ниже 0,034 (чувствительность – 60%, специфичность – 90,9%).

**Заключение**

Благоприятный исход (выживаемость более 5 лет) низкоквалифицированного рака (G1-2) дистального отдела толстой кишки на ранних стадиях (I-IIA) можно прогнозировать при стромальной экспрессии VEGF≤0,98, паренхиматозной – TGF-β≤0,83, общей – NRP1>0,655; а на поздних стадиях (IIIA-C) – при уровне общей экспрессии MMP-2≤0,034.

**Literatura**

1. Barsukov, YU. A. Sravnitel'nyj analiz hirurgicheskogo i kombinirovannogo lecheniya bol'nyh operabel'nyh rakom pryamoj kishki (rezul'taty randomizirovannogo issledovaniya) / YU. A. Barsukov [i dr.] // *Prakt. onkol.* – 2002. – Т.3, №2. –

– Т.3, №2. – С. 105-113.

2. Брусина, Е. Б. Эпидемиология рака: учеб. пособие для последипломной подготовки специалистов / Е. Б. Брусина, Ю. А. Магарилл, А. Г. Кутихин. – Кемерово: КемГМА, 2011. – 176 с.

3. Коржевский, Д. Э. Основы гистологической техники / Д. Э. Коржевский, А. В. Гиляров. – Спб.: СпецЛит, 2010. – 95 с.

4. Штабинская, Т. Т. Значение уровня позитивности CD105 в раке толстой кишки для прогноза эффективности химиотерапии / Т. Т. Штабинская [и др.] // Евраз. онкол. журн. – 2015. – № 4 (07). – С. 35-42.

5. Штабинская, Т. Т. Прогностическое значение уровня экспрессии фактора роста эндотелия сосудов в колоректальном раке / Т. Т. Штабинская [и др.] // Журн. ГрГМУ – 2015. – № 3 (51). – С. 64-69.

6. Bufill, J. A. Colorectal cancer: evidence for distinct genetic categories based on proximal or distal tumor location / J. A. Bufill // Ann. Int. Med. – 1990. – P. 779-788.

7. Christodoulidis, G. Clinicopathological differences between right- and left-sided colonic tumors and impact upon survival / G. Christodoulidis [et al.] // Tech Coloproctol. – 2010. – №14. – P. 45–47.

8. Jemal, A. Annual report to the nation on the status of cancer, 1975-2001, with a special feature regarding survival / A. Jemal [et al.] // Cancer. – 2004. – № 101(1). – P. 3–27.

9. Kalady, M.F. Divergent oncogenic changes influence survival differences between colon and rectal adenocarcinomas / M.F. Kalady [et al.] // Dis Colon Rectum. – 2009. – №52. – P. 1039-1045.

10. Nawa, T. Differences between right- and left-sided colon cancer in patient characteristics, cancer morphology and histology / T. Nawa [et al.] // J Gastroenterol Hepatol. – 2008. – №23. – P. 418-423.

S. 105-113.

2. Brusina, E. B. Epidemiologiya raka: ucheb. posobie dlya poslediplomnoj podgotovki specialistov / E.B. Brusina, YU.A. Magarill, A.G. Kutihin. – Kemerovo: KemGMA, 2011. – 176 с.

3. Korzhevskij, D.EH. Osnovy gistologicheskoy tekhniki / D.EH. Korzhevskij, A.V. Gilyarov. – Spb.: SpecLit, 2010. – 95 s.

4. Shtabinskaya, T.T. Znachenie urovnya pozitivnosti CD105 v rake tolstoj kishki dlya prognoza ehffektivnosti himioterapii / T.T. Shtabinskaya [i dr.] // Evraz. onkol. zhurn. – 2015. – №4(07). – S. 35-42.

5. Shtabinskaya, T.T. Prognosticheskoe znachenie urovnya ekspressii faktora rosta ehndoteliya sosudov v kolorektal'nom rake / T.T. Shtabinskaya [i dr.] // Zhurn. GrGMU – 2015. – №3(51). – S. 64-69.

6. Bufill, J.A. Colorectal cancer: evidence for distinct genetic categories based on proximal or distal tumor location / J.A. Bufill // Ann. Int. Med. – 1990. – P. 779-788.

7. Christodoulidis, G. Clinicopathological differences between right- and left-sided colonic tumors and impact upon survival / G. Christodoulidis [et al.] // Tech Coloproctol. – 2010. – №14. – P. 45–47.

8. Jemal, A. Annual report to the nation on the status of cancer, 1975-2001, with a special feature regarding survival / A. Jemal [et al.] // Cancer. – 2004. – № 101(1). – P. 3–27.

9. Kalady, M.F. Divergent oncogenic changes influence survival differences between colon and rectal adenocarcinomas / M.F. Kalady [et al.] // Dis Colon Rectum. – 2009. – №52. – P. 1039-1045.

10. Nawa, T. Differences between right- and left-sided colon cancer in patient characteristics, cancer morphology and histology / T. Nawa [et al.] // J Gastroenterol Hepatol. – 2008. – №23. – P. 418-423.

## PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF ANGIOGENESIS MARKER EXPRESSION IN LOW-GRADE CANCER OF THE DISTAL COLON

*Shtabinskaya T. T.*

Educational Establishment “Grodno State Medical University”, Grodno, Belarus

*Survival of patients with distal colon cancer, despite a higher degree of tumor differentiation and its early detection, is lower than in proximal colon cancer. Objective: To evaluate the survival of patients with low-grade cancer of distal colon stage I-III depending on the level of expression of markers of angiogenesis in tumors. Materials and Methods: Forty-four cases of cancer were studied immunohistochemically with the assessment of the expression of markers of angiogenesis. Results: Survival over 5 years in stage I-IIA may be expected when  $VEGF \leq 0.98$  or  $TGF-\beta \leq 0.83$ , or  $NRP1 > 0.655$ . While in stage IIIA-C patients – when the level of  $MMP-2 \leq 0.034$ .*

**Keywords:** survival rate, low-grade cancer, distal colon, angiogenesis.

Поступила: 20.06.2016

Отрецензирована: 24.06.2016