

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2015

РОЛЬ УРОВНЯ ЭКСПРЕССИИ МАРКЕРОВ АНГИОГЕНЕЗА В ПРОГНОЗЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОЙ ХИМИОТЕРАПИИ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА

Т.Т. ШТАБИНСКАЯ*, М. БОДНАР**, С.А. ЛЯЛИКОВ*, В.А. БАСИНСКИЙ*, А. МАРШАЛЭК**

*УО «Гродненский государственный медицинский университет», г.Гродно, Республика Беларусь

**Collegium Medicum в Быдгоще, университет им Н. Коперника, г. Торун, Польша

Вестник ВГМУ. – 2015. – Том 14, №6. – С. 84-92.

THE ROLE OF THE LEVEL OF ANGIOGENESIS MARKERS EXPRESSION IN PROGNOSTICATING THE EFFECTIVENESS OF POSTOPERATIVE CHEMOTHERAPY FOR COLORECTAL CANCER

T.T. SHTABINSKAYA*, M. BODNAR**, S.A. LYALIKOV*, V.A. BASINSKY*, A. MARSHALEK**

*Educational Establishment «Grodno State Medical University», Grodno, Republic of Belarus

**Collegium Medicum in Bydgoszcz, the University named after N.Kopernik, Poland

Vestnik VGMU. 2015;14(6):84-92.

Резюме.

Цель – определить значение уровня экспрессии некоторых маркеров ангиогенеза в прогнозе эффективности послеоперационной адъювантной химиотерапии колоректального рака.

Материал и методы. Проведен клинико-морфологический анализ 72 случаев колоректального рака, удаленного в период с 2001 по 2011 гг. в Гродненском областном онкологическом диспансере (Беларусь). Исследуемые случаи были разделены на 2 группы. В 1 группу включены 22 пациента, получавших химиотерапию после резекции толстой кишки с опухолью. Во вторую – 50 пациентов без химиотерапии. Иммуногистохимическое исследование выполнено в лаборатории Collegium Medicum им. Л. Рыдыгера в Быдгоще (Польша) с использованием мышиных моноклональных антител к MMP-2, VEGF, CD 105, кроличьих поликлональных антител к Erk2, iNOS, NRP1, TGF- β , MMP-9. Экспрессия маркеров оценивалась количественно при помощи компьютерной программы Aperio Image Scope_v9.1.19.1567. Статистический анализ проводили с использованием STATISTICA 10.0 (SNAXAR207F394425FA-Q). Построение многофакторной модели прогнозирования 3- и 5-летнего исхода проводилось с использованием дискриминантного анализа. Результаты. 1) не обнаружено значения уровня общей позитивности TGF- β , MMP2,9, iNOS, NRP1, Erk2 в прогнозе выживаемости пациентов, прошедших курс послеоперационной химиотерапии; 2) достоверно высокий уровень позитивности CD105 выявляется в группе пациентов с выживаемостью менее 3 (p=0,002) и 5 лет (p=0,038), а общей позитивности VEGF достоверно выше в группе с выживаемостью более 3 лет (p=0,05); 3) высокий уровень позитивности VEGF в строме опухоли, низкая позитивность Erk2 в клетках опухоли и низкая экспрессия CD105 ассоциированы с хорошим эффектом от применения химиотерапии и выживаемостью больше 3 лет; 4) низкие уровни позитивности CD 105, Erk2 в клетках опухоли и MMP-9 в строме опухоли ассоциированы с хорошим эффектом от применения химиотерапии и выживаемостью более 5 лет.

Заключение. Построенные модели могут использоваться в клинической практике для прогноза эффективности послеоперационной химиотерапии колоректального рака.

Ключевые слова: колоректальный рак, ангиогенез, послеоперационная химиотерапия, прогноз.

Abstract.

Objectives. To determine the value of the expression level of some markers of angiogenesis in the prediction of the effectiveness of postoperative adjuvant chemotherapy for colorectal cancer.

Material and methods. The clinical and morphological analysis of 72 cases of colorectal cancer removed in the

period from 2001 to 2011 in Grodno Regional Oncology Center (Belarus) was made. The investigated cases were divided into 2 groups. The first group included 22 patients treated with chemotherapy after the resection of the colon with tumor. The second group consisted of 50 patients without chemotherapy. Immunohistochemical study was performed in the laboratory of Collegium Medicum in Bydgoszcz (Poland) using mice monoclonal antibodies to MMP-2, VEGF, CD 105, rabbits polyclonal antibodies to Erk2, iNOS, NRP1, TGF- β , MMP-9. The expression of markers was quantified by means of the computer program Aperio Image Scope_v9.1.19.1567. The statistical analysis was made using STATISTICA 10.0 (SNAXAR207F394425FA-Q). The construction of multifactor model of the prediction of three- and five-year outcome was performed using discriminant analysis.

Results. 1) The dependence between the level of total positivity of TGF- β , MMP 2,9, iNOS, NRP1, Erk2 and the survival of patients who have undergone postoperative chemotherapy has not been detected; 2) the reliably high level of CD105 positivity is detected in the group of patients with the survival rate of less than 3 ($p=0,002$) and 5 years ($p=0,038$) and total VEGF positivity was significantly higher in the group with the survival rate of more than 3 years ($p=0,05$); 3) high level of positivity of VEGF in the tumor stroma, low Erk2 positivity in tumor cells and low expression of CD105 are associated with good effect of chemotherapy and the survival over 3 years; 4) low levels of CD 105 positivity, Erk2 in tumor cells and MMP-9 in the tumor stroma are associated with good effect of chemotherapy and the survival over 5 years.

Conclusions. The constructed models can be used in the clinical practice for the prognostication of the effectiveness of postoperative chemotherapy for colorectal cancer.

Key words: colorectal cancer, angiogenesis, postoperative chemotherapy, prognosis.

Колоректальный рак (КРР) в развитых странах занимает второе место среди причин смерти онкологических пациентов [1]. Каждый четвертый больной во время установления первичного диагноза рака имеет метастазы, а каждый второй из вновь выявленных будет страдать в дальнейшем от метастатического процесса. Циркулирующие в крови опухолевые клетки, по данным Vogel с соавт. [2], обнаружены в 40% наблюдений КРР, а микрометастазы в костный мозг – у 39% пациентов I–II стадии рака ободочной кишки. Это является обоснованием необходимости использования адъювантного лечения (лучевая терапия и/или химиотерапия) после радикальных хирургических операций с целью улучшения отдаленных результатов лечения [3, 4]. Адъювантная химиотерапия колоректального рака сегодня является областью наиболее активных клинических исследований в онкологии [5]. Согласно алгоритмам диагностики и лечения злокачественных новообразований, используемым в Республике Беларусь (Приказ МЗ Республики Беларусь №258 от 11.03.2012 г.), адъювантная химиотерапия показана пациентам с III стадией заболевания (N1–2). При II стадии компенсированным пациентам с неблагоприятными гистологическими факторами прогноза (уровень инвазии T4 (прорастание серозы), низко- и недифференцированный рак, аденокарцинома со слизееобразованием, опухолевая инвазия кровеносных и лимфатических сосудов, периневральных пространств, перфорация опухо-

ли) возможно назначение адъювантной химиотерапии консилиумом.

Важнейший показатель эффективности методов лечения – отдаленные результаты. Под этим понятием большинство исследователей подразумевают общую (наблюдаемую) выживаемость. Однако этот показатель не учитывает, что в отдаленные сроки пациенты могут умереть от причин, не связанных с онкологическим заболеванием. Кроме того, при наличии рецидивов или метастазов продолжают лечение другими методами и при этом пациенты могут пережить 5-летний срок наблюдения, что никак не свидетельствует об эффективности (радикальности) впервые примененного метода лечения опухоли. Более значимым показателем для сравнительной оценки отдаленных результатов радикальных методов является безрецидивная выживаемость, когда пациенты, у которых выявлен рецидив заболевания и/или отдаленные метастазы, учитываются так же, как все умершие (наблюдение завершено) – по времени диагностики рецидива заболевания. Наиболее точным показателем, отражающим по сути излеченность от рака, является скорректированная безрецидивная выживаемость. При ее расчете пациенты, умершие от основного заболевания (собственно посмертный диагноз рецидива болезни), а также те, у которых еще при жизни был выявлен локорегионарный рецидив или отдаленные метастазы, учитываются как умершие (наблюдение завершено) – по вре-

мени диагностики рецидива и/или метастазов или смерти. При этом умерших от причин, не связанных с основным заболеванием, следует рассматривать как наблюдения с неопределенным, вероятностным прогнозом и учитывать аналогично пропавшим или наблюдаемым, но еще не дожившим до конца анализируемого интервала [6].

Целью данного исследования стало определение значения уровня экспрессии некоторых маркеров ангиогенеза в прогнозе эффективности адъювантной химиотерапии после удаления КРР.

Материал и методы

Материалом для исследования стали 72 наблюдения КРР, удаленного у 29 мужчин и 43

женщин в период с 2001 по 2011 гг. в Гродненском областном онкологическом диспансере (Беларусь). Исследуемые случаи были разделены на 2 группы. В 1 группу включены 22 пациента (13 женщин и 9 мужчин) с КРР, получавших химиотерапию после резекции толстой кишки с опухолью. Во вторую – 50 пациентов без химиотерапии. Клинико-морфологическая характеристика пациентов обеих групп приведена в таблице 1.

9 пациентов 1-й группы получали монохимиотерапию (МХТ), 13 – полихимиотерапию (ПХТ) и 5 из них – комплексную химиолучевую терапию (КХЛ) (табл. 2). Характер распределения вариантов химиотерапии, а также факты получения лучевой терапии не были статистически значимо связаны со скорректированной безрецидивной выживаемостью.

Таблица 1 – Клинико-морфологическая характеристика наблюдений с применением и без применения химиотерапии

Клинико-морфологический показатель		Группа 1 N=22	Группа 0 N=50
Медиана возраста		65,6 (51,3-76,1)	64,7 (61,5-72,8)
Локализация опухоли	проксимальная	4 (18,2%)	8 (16%)
	дистальная	18 (81,8%)	42 (84%)
Стадия	I	-	10 (20%)
	II	4 (18,2%)	12 (24%)
	III	12 (54,5%)	23 (46%)
	IV	6 (27,3%)	5 (10%)
Лимфогенные метастазы	N0	4 (18,2%)	24 (48%)
	N1	12 (54,5%)	21 (42%)
	N2	6 (27,3%)	5 (10%)
Гематогенные метастазы	M0	14 (63,6%)	44 (88%)
	M1	8 (36,4%)	6 (12%)
Степень дифференцировки	G1	6 (27,3%)	23 (46%)
	G2	9 (40,9%)	18 (36%)
	G3	5 (22,7%)	9 (18%)
	G4	2 (9,1%)	-
Рецидив		11 (50%)	14 (28%)
Медиана времени наступления рецидива		2,29 (2,01-4,33)	2,22 (1,59-3,47)
Количество умерших пациентов с 2001-2015		13 (59,1%)	21 (42%)
Медиана общей выживаемости		3,6 (2,1-7,8)	6,09 (3,4-11,9)
Медиана безрецидивной выживаемости		2,35 (1,9-5,3)	5,05 (2,8-11,9)
Медиана скорректированной безрецидивной выживаемости		2,2 (1,3-3,4)	3,25 (1,65-4,75)

Примечание: группа 1 – пациенты, прошедшие курс химиотерапии после резекции опухоли; группа 0 – пациенты без химиотерапии в анамнезе.

Таблица 2 – Распределение вариантов химиотерапии и лучевой терапии, полученных пациентами 1-й группы в зависимости от скорректированной безрецидивной выживаемости

Вид терапии	Скорректированная безрецидивная выживаемость			
	< 3 лет	≥ 3 лет	< 5 лет	≥ 5 лет
Всего человек	13	9	15	7
ПХТ	7 (53,8%)	6 (66,7%)	9 (60%)	4 (57,1%)
МХТ	6(46,2%)	3 (33,3%)	6 (40%)	3 (42,9%)
КХЛ из числа с ПХТ	2 (28,6%)	3 (50%)	4 (44,4%)	1 (25%)

Иммуногистохимическое исследование выполнено в лаборатории Collegium Medicum им. Л. Рыдыгера в Быдгоще (Польша) на серийных парафиновых срезах ткани опухолей с использованием мышиных моноклональных антител к MMP-2 (ab1828), VEGF(ab1316), CD 105 (ab66947), кроличьих поликлональных антител к Erk2 (ab72096), iNOS (ab15323), NRP1 (ab 81321), TGF- β (ab66043) (Abcam, Cambridge, UK), MMP-9 (Dako A0150) (Dako, Denmark). Депарафинизацию и демаскировку антигенов осуществляли с помощью PTLink. Для MMP2 депарафинизацию и демаскировку антигенов произвели по стандартной методике, используя Epitope Retrieval Solution pH-9 (Dako, Denmark). Срезы толщиной 3 мкм инкубировали с первичными антителами на протяжении 16 часов при +4°C для VEGF, TGF- β , MMP2,9, iNOS, Erk2, CD105 и 30 мин при температуре +37°C для NRP1. В качестве вторичных антител и пероксидазного комплекса использовали стандартный набор EnVision (фирма «Dako», Дания). Для визуализации реакции применяли раствор диаминобензида DAB+ (фирма «Dako», Дания). Ядра клеток докрашивали гематоксилином Майера. Контрольный срез оставляли без первой инкубации.

Для количественной оценки результатов иммуногистохимической реакции микропрепараты были сфотографированы в максимально возможном количестве неперекрывающихся полей зрения, полученных с использованием объектива $\times 20$ с разрешением 1600 $\times$ 1200 пикселей, при помощи микроскопа Leica и цифровой камеры Leica 425 C. Экспрессия маркеров оценивалась количественно при помощи компьютерной программы Aperio Image Scope_v9.1.19.1567. Программа калибровалась, после чего результаты иммуногистохимических реакций оценивались исходя из показателя «позитивность» (в интерфейсе программы «positivity»), определяемого

компьютерной программой, по стандартному алгоритму подсчёта позитивных пикселей «PositivePixelCount v9». Данный показатель представляет собой отношение количества позитивно окрашенных пикселей к общему количеству пикселей в оцениваемых участках. Анализировались все участки. Из анализа исключались гистологические артефакты при помощи инструмента «negative pen tool». Значение для каждого случая рассчитывалось как среднее значение позитивности всех изображений по правилам нахождения среднего. Определялись общий уровень позитивности, уровень позитивности в паренхиматозном и стромальном компонентах опухоли.

Статистический анализ проводили с использованием STATISTICA 10.0 (SNAXAR207F394425FA-Q). Построение многофакторной модели прогнозирования 3- и 5-летнего исхода проводилось с использованием дискриминантного анализа (прямым пошаговым методом). Нулевая гипотеза (об отсутствии различий между переменными, отсутствии влияния группирующей переменной) отвергалась на уровне значимости $\alpha=0,05$ ($p \leq 0,05$) для каждого из использованных тестов.

Данные в работе представлены в формате: медиана (нижняя квартиль-верхняя квартиль).

Результаты и обсуждение

Уровни позитивности изучаемых антигенов в зависимости от клинико-морфологических показателей у пациентов, прошедших курс химиотерапии. Результаты отображены в таблице 3.

Как видно из таблицы, статистически значимыми оказались различия в экспрессии CD105 и VEGF в зависимости от выживаемости пациентов с химиотерапией и без нее. Уро-

Таблица 3 – Уровень общей позитивности CD105, VEGF, NRP1, Erk2, TGF- β , MMP2,9,iNOS в опухоли в зависимости от выживаемости пациентов с химиотерапией в анамнезе и без нее

Антиген		Скорректированная безрецидивная выживаемость					
		3 года		p	5 лет		p
		< 3	≥ 3		< 5	≥ 5	
CD105	Группа 0	0,69 (0,46-0,84)	0,69 (0,46-0,77)	0,44	0,69 (0,46-0,82)	0,66 (0,47-0,73)	0,14
	Группа 1	0,86 (0,83-0,94)	0,69 (0,48-0,70)	0,002*	0,86 (0,77-0,94)	0,69 (0,48-0,72)	0,02*
p		0,005*	0,65		0,006*	0,73	
VEGF	Группа 0	0,99 (0,98-0,99)	0,98 (0,96-0,99)	0,2	0,98 (0,98-0,99)	0,99 (0,84-0,99)	0,07
	Группа 1	0,92 (0,81-0,95)	0,99 (0,98-0,99)	0,03*	0,95 (0,81-0,98)	0,98 (0,90-0,99)	0,34
p		0,02*	0,78		0,02*	0,82	
NRP1	Группа 0	0,66 (0,57-0,78)	0,73 (0,63-0,80)	0,97	0,68 (0,57-0,8)	0,74 (0,66-0,80)	0,69
	Группа 1	0,77 (0,71-0,83)	0,67 (0,59-0,80)	0,36	0,71 (0,61-0,83)	0,76 (0,61-0,82)	0,7
p		0,75	0,59		0,95	0,83	
Erk2	Группа 0	0,007 (0,0006-0,03)	0,018 (0,003-0,032)	0,43	0,019 (0,002-0,03)	0,009 (0,003-0,03)	0,82
	Группа 1	0,03 (0,004-0,10)	0,017 (0,01-0,03)	0,59	0,020 (0,004-0,10)	0,017 (0,01-0,03)	0,59
p		0,05	0,59		0,17	0,44	
TGF- β	Группа 0	0,52 (0,38-0,73)	0,53 (0,23-0,69)	0,41	0,56 (0,48-0,73)	0,48 (0,13-0,67)	0,62
	Группа 1	0,73 (0,25-0,93)	0,49 (0,31-0,89)	0,65	0,78 (0,27-0,94)	0,49 (0,24-0,89)	0,94
p		0,84	0,47		1,0	0,34	
MMP2	Группа 0	0,02 (0,01-0,06)	0,05 (0,03-0,09)	0,14	0,04 (0,02-0,1)	0,04 (0,02-0,08)	0,76
	Группа 1	0,04 (0,02-0,06)	0,05 (0,03-0,05)	0,29	0,05 (0,02-0,06)	0,04 (0,02-0,06)	0,21
p		0,17	0,26		0,7	0,33	
MMP9	Группа 0	0,59 (0,49-0,78)	0,51 (0,37-0,64)	0,15	0,59 (0,45-0,72)	0,49 (0,35-0,64)	0,11
	Группа 1	0,52 (0,31-0,59)	0,59 (0,48-0,69)	0,52	0,52 (0,31-0,59)	0,58 (0,45-0,65)	0,99
p		0,12	0,42		0,31	0,46	
iNOS	Группа 0	0,76 (0,70-0,89)	0,71 (0,63-0,87)	0,26	0,74 (0,68-0,86)	0,7 (0,59-0,87)	0,57
	Группа 1	0,74 (0,65-0,89)	0,79 (0,67-0,83)	0,24	0,74 (0,65-0,90)	0,73 (0,66-0,82)	0,7
p		0,38	0,48		0,75	0,59	

Примечание: * – $p < 0,05$.

вень позитивности CD105 достоверно выше в группе пациентов с химиотерапией при выживаемости меньше 3 и 5 лет по сравнению с пациентами без химиотерапии. Уровень общей

позитивности VEGF при низкой выживаемости (<3 и 5 лет) выше в группе пациентов без химиотерапии. Экспрессия VEGF у пациентов с химиотерапией в анамнезе достоверно выше,

если выживаемость более 3 лет. У пациентов, не проживших 3 лет и получавших химиотерапию, позитивность Erk2 существенно выше, чем у представителей группы 0.

Статистически значимых различий в экспрессии остальных антигенов не обнаружено.

При построении математической модели прогнозирования исхода заболевания (дискриминантной функции) прямым пошаговым методом у больных колоректальным раком с химиотерапией в анамнезе были использованы 59 клинико-анамнестических и морфологических показателей. Установлено, что достоверно влияют на трехлетнюю скорректированную безрецидивную выживаемость только 3 из них (табл. 4). Классификационная функция, полученная с использованием указанных переменных, представлена в таблице 5, классификационная матрица – в таблице 6.

Анализ классификационной матрицы, значение лямбды Уилкса, равное 0,33, значение F-критерия, равного 9,90 при $p < 0,00081$, позволяют сделать вывод, что данная классификация является корректной. Чувствительность предлагаемой дискриминантной модели

составляет 100%, специфичность – 88,9%. Прогностическая значимость положительного результата (неблагоприятный прогноз трехлетней скорректированной безрецидивной выживаемости) – 100%. Прогностическая значимость отрицательного результата (благоприятный прогноз) – 90,9%. Общая прогностическая значимость – 94,7%.

Указанная классификационная функция – основа способа прогнозирования трехлетней скорректированной безрецидивной выживаемости при наличии химиотерапии в анамнезе. Для ее осуществления необходимо определить уровень позитивности VEGF в строме опухоли, Erk2 в клетках опухоли и общий уровень позитивности CD 105. Затем, используя полученные значения этих показателей, посчитать дискриминантное уравнение:

$$y = 8,7808 + (-23,0247)m_1 + 14,9021m_2 + 33,2538m_3,$$

где m_1 – уровень позитивности VEGF в строме опухоли;

m_2 – общий уровень позитивности CD 105;

m_3 – уровень позитивности Erk2 в клетках опухоли.

Таблица 4 – Характеристика переменных, включенных в модель прогнозирования трехлетней скорректированной безрецидивной выживаемости

Антитело	Лямбда Уилкса	F-исключить	p
VEGF в строме опухоли	0,440	4,67	0,05
CD 105	0,587	11,23	0,004
Erk2 в клетках опухоли	0,439	4,64	0,05

Таблица 5 – Функция классификации для прогнозирования трехлетней скорректированной безрецидивной выживаемости

Переменные	Коэффициенты Y
VEGF в строме опухоли	-23,0247
CD 105	14,9021
Erk2 в клетках опухоли	33,2538
Константа	8,7808

Таблица 6 – Классификационная матрица, полученная в результате применения классификационной функции (таблица 5) для прогноза трехлетней скорректированной безрецидивной выживаемости

	Доля правильных прогнозов	Неблагоприятный исход (прогнозируемое состояние)	Благоприятный исход (прогнозируемое состояние)
Неблагоприятный исход (наблюдаемое состояние)	100%	10	0
Благоприятный исход (наблюдаемое состояние)	88,9%	1	8
Всего	94,7%	11	8

Скорректированная безрецидивная выживаемость у пациентов с химиотерапией в анамнезе прогнозируют больше 3 лет, если $y \leq 0$. Если $y > 0$, прогнозируют высокий риск неблагоприятного исхода в течение 3 лет (смерть от основного заболевания, выявление отдаленных метастазов или локорегионарного рецидива).

Учитывая знаки перед коэффициентами дискриминантного уравнения, можно сделать вывод, что при исходно высоком уровне позитивности VEGF в строме опухоли, низкой позитивности Erk2 в клетках опухоли, а также низкой экспрессии CD105 можно прогнозировать хороший эффект от применения химиотерапии – скорректированная безрецидивная выживаемость составит более 3 лет.

На пятилетнюю скорректированную безрецидивную выживаемость также влияют 3 иммуногистохимических маркера (табл. 7). Классификационная функция, полученная с использованием указанных переменных, представлена в таблице 8, классификационная ма-

трица – в таблице 9.

Анализ классификационной матрицы, значение лямбды Уилкса, равное 0,33, значение F-критерия, равное 7,53 при $p < 0,0052$, позволяют сделать вывод, что данная классификация является корректной. Чувствительность предлагаемой дискриминантной модели составляет 83,3%, специфичность – 100%. Прогностическая значимость положительного результата (неблагоприятный прогноз пятилетней скорректированной безрецидивной выживаемости) – 71,4%. Прогностическая значимость отрицательного результата (благоприятный прогноз) – 100,0%. Общая прогностическая значимость – 88,2%.

Для прогнозирования пятилетней скорректированной безрецидивной выживаемости при наличии химиотерапии в анамнезе необходимо определить общий уровень позитивности CD 105, уровни позитивности Erk2 в клетках опухоли и ММП-9 в строме опухоли. Затем подставить полученные значения в дискриминантное уравнение:

Таблица 7 – Характеристика переменных, включенных в модель прогнозирования пятилетней скорректированной безрецидивной выживаемости

Антитело	Лямбда Уилкса	F-исключить	p
CD 105	0,566	8,00	0,02
Erk2 в клетках опухоли	0,635	10,31	0,008
ММП-9 в строме опухоли	0,615	9,65	0,01

Таблица 8 – Функция классификации для прогнозирования пятилетней скорректированной безрецидивной выживаемости

Переменные	Коэффициенты Y
CD 105	15,0461
Erk2 в клетках опухоли	75,3570
ММП-9 в строме опухоли	31,5051
Константа	-25,7033

Таблица 9 – Классификационная матрица, полученная в результате применения классификационной функции (таблица 8) для прогноза пятилетней скорректированной безрецидивной выживаемости

	Доля правильных прогнозов	Неблагоприятный исход (прогнозируемое состояние)	Благоприятный исход (прогнозируемое состояние)
Неблагоприятный исход (наблюдаемое состояние)	83,3%	10	2
Благоприятный исход (наблюдаемое состояние)	100%	0	5
Всего	88,2%	10	7

$$y = -25,7033 + 15,0461m_1 + 75,3570m_2 + 31,5051m_3,$$

где m_1 – общий уровень позитивности CD 105;

m_2 – уровень позитивности Erk2 в клетках опухоли;

m_3 – уровень позитивности ММП-9 в строме опухоли.

Скорректированную безрецидивную выживаемость у пациентов с химиотерапией в анамнезе прогнозируют больше 5 лет, если $y \leq 0$. Если $y \geq 0$, прогнозируют высокий риск неблагоприятного исхода в течение 5 лет (смерть от основного заболевания, выявление отдаленных метастазов или локорегионарного рецидива).

Положительные коэффициенты перед переменными в дискриминантном уравнении являются свидетельством того, что при исходно низких уровнях позитивности CD105, Erk2 (в клетках опухоли) и ММП-9 (в строме опухоли) можно прогнозировать, что скорректированная безрецидивная выживаемость у пациентов, получающих химиотерапию, превысит 5 лет.

Заключение

1. Не обнаружено значения уровня общей позитивности TGF- β , MMP2,9, iNOS, NRP1, Erk2 в прогнозе выживаемости пациентов с КРР, прошедших курс послеоперационной химиотерапии.

2. Достоверно высокий уровень позитивности CD105 выявляется в группе пациентов с выживаемостью менее 3 ($p=0,002$) и 5 лет ($p=0,038$), а общей позитивности VEGF достоверно выше в группе с выживаемостью более 3 лет ($p=0,05$).

3. Построенная с использованием многофакторного дискриминантного анализа математическая модель для прогнозирования трехлетней скорректированной безрецидивной выживаемости пациентов с КРР, получающих послеоперационную химиотерапию, и ее характеристики (лямбда Уилкса=0,33, $F=9,90$, $p<0,0008$, чувствительность=100%, специфичность=88,9%) свидетельствуют о ее корректности. Высокий уровень позитивности VEGF в строме опухоли, низкая позитивность Erk2 в клетках опухоли и низкая экспрессия CD105 ассоциированы с хорошим эффектом от при-

менения химиотерапии, а продолжительность скорректированной безрецидивной выживаемости с высокой достоверностью превысит 3 года.

4. Построенная математическая модель для прогнозирования пятилетней скорректированной безрецидивной выживаемости пациентов с КРР, получавших в послеоперационном периоде химиотерапию, и ее характеристики (лямбда Уилкса=0,33, $F=7,53$, $p<0,0052$, чувствительность=88,3%, специфичность=100%) свидетельствуют о ее корректности. Низкие уровни позитивности CD 105, Erk2 в клетках опухоли и ММП-9 в строме опухоли ассоциированы с хорошим эффектом от применения химиотерапии, а продолжительность скорректированной безрецидивной выживаемости с высокой достоверностью превысит 5 лет.

Таким образом, математические модели, построенные с помощью многофакторного дискриминантного анализа для прогнозирования трех- и пятилетней скорректированной безрецидивной выживаемости, могут использоваться в клинической практике для прогноза эффективности послеоперационной химиотерапии КРР.

Литература

1. Брусина, Е. Б. Эпидемиология рака : учеб. пособие для последиплом. подгот. специалистов / Е. Б. Брусина, Ю. А. Магарилл, А. Г. Кутихин. – Кемерово : КеМГМА, 2011. – 179 с.
2. Disseminated tumor cells in the blood and/or bone marrow of patients with colorectal carcinoma are an independent prognostic factor / I. Vogel [et al.] // Ann. Oncol. – 2000. – Vol. 11, suppl. 4. – P. 43.
3. Моисеенко, В. М. Адьювантное лечение больных раком ободочной кишки / В. М. Моисеенко, Р. В. Орлова // Практик. онкология. – 2000. – № 1. – С. 19–23.
4. Rougier, P. Palliative and adjuvant chemotherapy in colorectal cancer / P. Rougier // Eur. J. Cancer. – 2001 Oct. – Vol. 37, suppl. 7. – P. S189–212.
5. Haller, D. G. New Approaches to Adjuvant Therapy for Colorectal Cancer / D. G. Haller // Third International Conference Perspectives in Colorectal Cancer, a consensus meeting. – Dublin, 2001. – P. 107–111.
6. Сравнительный анализ хирургического и комбинированного лечения больных операбельным раком прямой кишки: (результаты рандомизированного исследования) / Ю. А. Барсуков [и др.] // Практик. онкология. – 2002. – Т. 3, № 2. – С. 105–113.

Поступила 16.11.2015 г.

Принята в печать 11.12.2015 г.

References

1. Brusina EB, Magarill YuA, Kutikhin AG. Epidemiologiya raka [Cancer epidemiology]: ucheb posobie dlia poslediplom podgot spetsialistov. Kemerovo, RF: KemGMA; 2011. 179 p.
2. Voqel I, Soeth E, Roder C, Kremer B, Henne-Bruns D, Kalthoff H. Disseminated tumor cells in the blood and/or bone marrow of patients with colorectal carcinoma are an independent prognostic factor. Ann Oncol. 2000;11(suppl 4):43.
3. Moiseenko VM, Orlova RV. Ad"iuvantnoe lechenie bol'nykh rakom obodochnoi kishki [Adjuvantny treatment of patients with cancer of a colonic intestine]. Prakt Onkologiya. 2000;(1):19-23.
4. Rougier P. Palliative and adjuvant chemotherapy in colorectal cancer. Eur J Cancer. 2001 Oct;37 Suppl 7:S189-202.
5. Haller DG. New Approaches to Adjuvant Therapy for Colorectal Cancer. In: Third International Conference Perspectives in Colorectal Cancer, a consensus meeting. Dublin; 2001. P. 107-11.
6. Barsukov YuA, Nikolaev LV, Tamrazov RI, Tkachev SI. Sravnitel'nyi analiz khirurgicheskogo i kombinirovannogo lecheniya bol'nykh operabel'nykh rakom priamoi kishki: (rezul'taty randomizirovannogo issledovaniia) [The comparative analysis of the surgical and combined treatment of patients with a resectable cancer of a rectum: (results of randomized research)]. Prakt Onkologiya. 2002;3(2):105-13.

Received 16.11.2015

Accept 11.12.2015

Сведения об авторах:

Штабинская Т.Т. – ассистент кафедры патологической анатомии УО «Гродненский государственный медицинский университет»;

Боднар М. – к.м.н., доцент кафедры клинической патоморфологии Collegium Medicum в Быдгоще, Университет им. Н. Коперника, г. Торун, Польша;

Ляликов С.А. – д.м.н., профессор, заведующий кафедрой клинической иммунологии УО «Гродненский государственный медицинский университет»;

Басинский В.А. – д.м.н., профессор, заведующий кафедрой патологической анатомии УО «Гродненский государственный медицинский университет»;

Маршалэк А. – д.м.н., профессор, заведующий кафедрой клинической патоморфологии Collegium Medicum в Быдгоще, Университет им. Н. Коперника, г. Торун, Польша.

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 230017, г. Гродно, б-р Ленинского Комсомола, 52. e-mail: shtabik@list.ru – Штабинская Татьяна Тадеушевна.