

УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
«БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Объект авторского права

УДК 611.345/351-006.6-008.9-033.2:612.015.348 (043.5)

РУКША

Ксения Геннадьевна

**ХАРАКТЕРИСТИКА ГИСТОЛОГИЧЕСКОГО СТРОЕНИЯ
И БЕЛКОВОГО СОСТАВА ПЕРВИЧНОЙ ОПУХОЛИ
И МЕТАСТАЗОВ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА**

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

по специальности 14.03.02 – патологическая анатомия

Минск 2023

Научная работа выполнена в учреждении образования «Белорусский государственный медицинский университет»

Научный руководитель: **Портянко Анна Сергеевна**, доктор медицинских наук, доцент, заведующий Республиканской молекулярно-генетической лабораторией канцерогенеза государственного учреждения «Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова»

Официальные оппоненты: **Пашкевич Людмила Антоновна**, доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией клинической морфологии государственного учреждения «Республиканский научно-практический центр травматологии и ортопедии»

Колядич Геннадий Иванович, кандидат медицинских наук, заведующий онкологическим (колопроктологическим) отделением государственного учреждения «Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова»

Оппонирующая организация: учреждение образования «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»

Защита состоится 1 декабря 2023 года в 13.00 на заседании совета по защите диссертаций Д 03.18.03 при учреждении образования «Белорусский государственный медицинский университет» по адресу: 220083, г. Минск, пр-т Дзержинского, 83; e-mail: uchsovet@bsmu.by; телефон: (017) 302 16 21.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет».

Автореферат разослан _____ октября 2023 года.

Ученый секретарь совета
по защите диссертаций,
кандидат медицинских наук



Т.А. Летковская

ВВЕДЕНИЕ

По данным Международного агентства по изучению рака колоректальный рак (КРР) находится на третьем месте по частоте встречаемости и на втором месте по смертности среди онкологических заболеваний [F. Bray et al., 2018]. В Республике Беларусь заболеваемость КРР растет с каждым годом – за период с 2010 по 2018 год количество выявленных пациентов увеличилось с 19,5 до 23,7 на 100 тыс. населения [Офиц. стат. сб. РБ, 2018]. Влияние КРР на смертность, инвалидность и качество жизни населения обуславливает высокую социальную значимость исследования данного заболевания.

В настоящий момент гистологическое строение метастазов в лимфоузлах не влияет на стадирование КРР и на дальнейшую тактику ведения пациента. К прогностическим признакам, влияющим на течение заболевания, относится только количество регионарных метастазов, которое отмечается в категории pN в гистологическом заключении. Для метастазов КРР в печень уже создана классификация на основании морфологического строения очагов: десмопластический (desmoplastic), замещающий (replacement) и экспансивный (pushing) типы роста метастазов [R.C. Oliveira et al., 2019; P.J. van Dam et al., 2017; R.L. Eefsen et al., 2015]. На основании гистологического строения метастазов в печени были разработаны критерии резектабельности метастазов в печени и предикции ответа на терапию: химиотерапию, эмболизацию портальной вены, частичную гепатэктомию, трансплантацию печени [R.P. Jones et al., 2017; G. Torzilli et al., 2017]. Влияние гистологического строения регионарных метастазов КРР на прогноз течения КРР не установлено, в связи с чем целесообразным представляется определение гистологических типов метастазов в лимфоузлах. Аналогичный интерес представляет определение гистологических критериев аденокарциномы с более высоким риском распространения в регионарные лимфоузлы.

На сегодняшний день окончательно не установлены механизмы взаимодействия опухолевых клеток с микроокружением в процессе инвазивного роста и метастазирования. В частности, существуют молекулы микроокружения, способные проявлять двоякие – «про-» и «анти-миграционные» свойства в зависимости от микроокружения. Одной из таких молекул является тканевая трансглутаминаза (тТГ).

О недостаточной изученности роли тТГ в прогрессии КРР свидетельствуют следующие данные: в базе данных PubMed на 3.05.2022 г. по запросу на ключевые термины «tissue transglutaminase», «transglutaminase-2» в сочетании с «colorectal cancer» имелось 32 и 26 публикации соответственно, без установления каких-либо фильтров. Названия публикаций говорят о том,

что они носят противоречивый характер: в части из них идет речь о стимуляции эпителиально-мезенхимального перехода и прогрессии КРР под влиянием тТГ [M.J. Fernández-Aceñero et al., 2016; R. Delaine-Smith et al., 2019], в других – о роли тТГ как супрессора опухоли [D. Cellura et al., 2015]. В целом, имеющиеся научные данные не позволяют сформировать целостную картину значения данного фермента в развитии КРР.

Широкое внедрение в научном мире «omics»-ного подхода к данным – получение полнообъемной информации о составе генома, протеома, метаболома – открыло новые возможности для выявления перспективных белковых маркеров прогрессии КРР. Представляется важным установление преобладающего белкового состава первичной опухоли и метастатических очагов КРР, а также оценка связи его изменений с гистологическим строением и клиническим течением заболевания.

Таким образом, вышеизложенные научное, медицинское и социальное значение определяют актуальность данного исследования на региональном и мировом уровне.

Настоящее исследование направлено на получение новых данных о гистологическом строении и качественном белковом составе первичной опухоли и метастазов КРР с целью определения перспективных биомаркеров прогрессии КРР и установления потенциальных «молекулярных мишеней» для разработки лекарственных средств.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Связь работы с крупными научными программами и темами

Тема диссертации соответствует приоритетным направлениям фундаментальных и прикладных научных исследований Министерства здравоохранения Республики Беларусь (Постановление Совета Министров Республики Беларусь «Об утверждении перечня приоритетных направлений фундаментальных и прикладных научных исследований Республики Беларусь на 2021-2025 годы» от 07.05.2020, № 156), раздел 2, пункты 2.2 «системная и синтетическая биология» и 2.4 «диагностика, медицинская профилактика и лечение инфекционных, включая вирусной этиологии, и неинфекционных заболеваний, экспертиза качества медицинской помощи».

Работа была выполнена в рамках финансируемых научных программ и тем:

– ГНТП «Новые методы оказания медицинской помощи», подпрограммы «Онкологические заболевания», задание 03.19 «Разработать и внедрить метод лечения колоректального рака с использованием аутологичных дендритных клеток», № государственной регистрации № 20181214, сроки выполнения 1 полугодие 2018 г. – 4 квартал 2020 г.

– НИР кафедры патологической анатомии «Определить морфологические особенности основных социально значимых воспалительных, предопухолевых, опухолеподобных и онкологических заболеваний человека с целью установления новых предикторных и прогностических маркеров их течения», № государственной регистрации № 20160476, сроки выполнения 1 квартал 2016 г. – 4 квартал 2020 г.

Цель исследования: установить особенности гистологического строения и качественного белкового состава первичной опухоли и метастазов КРР.

Задачи исследования:

1. Установить гистологические параметры первичных опухолей, влияющие на метастатический потенциал и прогноз при КРР.
2. Выявить влияние гистологического строения регионарных метастазов КРР на течение заболевания.
3. Установить закономерности экспрессии тТГ при КРР и определить роль данного фермента в прогрессии заболевания.
4. Определить преобладающий белковый спектр первичной опухоли и метастазов КРР.

Объект исследования: гистологический материал резекций толстой кишки пациентов с КРР; регистр пациентов УЗ «Минский городской клинический онкологический центр» (МГКОЦ).

Предмет исследования: гистологическое строение и белковый состав первичной опухоли и метастазов КРР.

Научная новизна

Впервые описаны четыре гистологических паттерна регионарных метастазов КРР: комедоподобный, классический, зрелый и муцинозный. Установлено, что классический и зрелый типы являются прогностически благоприятными, в то время как комедоподобный и муцинозный паттерны характеризуются более ранним наступлением прогрессии и летального исхода.

Выявлены гистологические характеристики первичной опухоли, ассоциированные с наличием и преобладающим гистологическим паттерном строения регионарных метастазов. Установлено, что наличие нейтрофильной инфильтрации, опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов и тип стромы (обычный или келоидоподобный) помогают с чувствительностью 68,2 % и специфичностью 88,1 % (AUC = 82,6 %) предположить наличие метастазов в лимфоузлах.

Охарактеризованы три гистологических паттерна первичных опухолей КРР: инфильтративный, муцинозный и воспалительный. Установлено, что инфильтративный паттерн является прогностически неблагоприятным, в то время как воспалительный паттерн характеризуется наиболее поздним наступлением прогрессии и летального исхода.

Установлена связь уровня экспрессии тТГ с преобладающим паттерном регионарных метастазов: более высокий уровень экспрессии тТГ ассоциируется с преобладающим классическим и зрелым паттернами метастазов и является маркером благоприятного течения заболевания, а именно, более позднего наступления прогрессии и летального исхода. Также выявлено, что более низкий уровень экспрессии фермента в строме центра опухоли, связан с повышенным риском прогрессирования заболевания у пациентов III-IV клинической стадии КРР.

Определен качественный белковый состав первичной опухоли и регионарных метастазов КРР.

Положения, выносимые на защиту

1. Первичные опухоли у пациентов с КРР формируют три гистологических паттерна: инфильтративный, муцинозный и воспалительный. Инфильтративный паттерн характеризуется самым ранним наступлением прогрессии и летального исхода. Наиболее благоприятное течение заболевания наблюдается при воспалительном паттерне строения. Наличие либо отсутствие нейтрофильной инфильтрации, опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов и тип стромы (обычный или келоидоподобный) позволяют с чувствительностью 68,2 % и специфичностью 88,1 % предположить отсутствие либо наличие метастазов в лимфоузлах.

2. Метастазы КРР в лимфатических узлах представлены четырьмя гистологическими паттернами: комедоподобным, классическим, зрелым и муцинозным. Комедоподобный и муцинозный паттерны характеризуются более ранним наступлением прогрессии и летального исхода. Классический и зрелый паттерны ассоциированы с более длительным беспрогрессивным периодом.

3. Экспрессия тТГ в строме первичной опухоли выше, чем в собственной пластинке неопухолевого слизистой оболочки толстой кишки. Более высокий уровень экспрессии тТГ в строме центра опухоли ассоциируется с более продолжительным периодом опухолеспецифической и беспрогрессивной выживаемости. Классический и зрелый паттерны регионарных метастазов характеризуются повышенной экспрессией тТГ в раковых клетках и строме инвазивного фронта.

4. В КРР по сравнению с неопухолевым слизистой оболочкой повышена экспрессия белков, которые обеспечивают инвазивные свойства опухоли, ангиогенез, активируют синтез белков и нуклеиновых кислот. В метастазах по сравнению с первичной опухолью повышена экспрессия белков, участвующих в трансляции и синтезе белков (HisRS, eEF1A-KNMT), иммунном ответе (Nup214), пролиферации фибробластов (Фиброзин-1), организации микротрубочек цитоскелета (NCKAP5). В метастазах

с классическим и зрелым гистологическими паттернами строения чаще встречаются белки, обеспечивающие внутриклеточный транспорт (астротактин-2, CstF-64) и опухолевую супрессию (BECN1). В метастазах с комедоподобным и муцинозным паттернами преобладают белки, участвующие в миграции клеток (ольфактомедин-подобный белок 1) и иммунном ответе (представитель G семейства 4 доменов лектина C-типа).

Личный вклад соискателя ученой степени

Соискателем совместно с научным руководителем выбрана тема исследования, сформулированы цель и задачи, определены пути достижения поставленных задач, разработан дизайн исследования. Соискателем самостоятельно выполнен литературный обзор по теме исследования. Автором спланирован и организован отбор гистологических препаратов для включения в исследование, обеспечена возможность иммуногистохимического исследования (ИГХИ) и пробоподготовки тканевого материала для проведения масс-спектрометрии образцов.

Автор участвовал в выполнении ИГХИ гистологических препаратов и осуществляла их оценку; выполнял микросъемку и морфометрический анализ, участвовал в проведении пробоподготовки тканевых образцов и масс-спектрометрии. Автором подготовлена компьютерная база, включающая клинические данные пациентов, данные гистологического исследования и микрофотографии. Соискателем созданы алгоритмы на основе языка R для проведения статистического анализа. Статистический анализ и написание текста диссертации выполнены соискателем самостоятельно.

В наборе гистологического материала и клинических данных автору оказывалась помощь сотрудниками кафедры патологической анатомии УО «Белорусский государственный медицинский университет». ИГХИ и пробоподготовка тканевых образцов с последующей масс-спектрометрией осуществлялись в отделении иммуноморфологии и протеомики ГУ «РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова».

Апробация диссертации и информация об использовании ее результатов

Результаты исследований, включенных в диссертацию, доложены на 24-м международном студенческом конгрессе биомедицинских наук (г. Гронинген, Нидерланды, 2017), 10-м ежегодном всемирном конгрессе по раку (Барселона, Испания, 2017), XI съезде онкологов и радиологов стран СНГ и Евразии (Казань, Россия, 2020), 28-й объединенной европейской гастроэнтерологической неделе, виртуальный формат (Амстердам, Нидерланды, 2020), 15-й встрече молодых европейских ученых, виртуальный формат (Порту, Португалия, 2020), научной сессии БГМУ в 2021 и 2022 г.

(Минск, Республика Беларусь), съезде патологоанатомов Республики Беларусь (Минск, Республика Беларусь, 2022).

Разработана и утверждена инструкция по применению «Метод определения вероятности неблагоприятного исхода рака ободочной кишки, ректосигмоидного соединения или прямой кишки в течение 5 лет у пациентов III-IV клинической стадии» (регистрационный номер 016-0422).

Результаты исследования внедрены в работу 3 учреждений (всего 3 акта внедрения).

Опубликованность результатов диссертации

По теме диссертации опубликовано: 7 статей в научных журналах, соответствующих пункту 19 Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий, включая 1 статью в зарубежном издании, 4 тезиса докладов в сборниках конференций (из них 4 зарубежных), 2 материала конференции (в сумме 6 авторских листов).

Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из перечня сокращений и обозначений, введения, общей характеристики работы, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, заключения, списка использованных источников и приложений. Диссертация изложена на русском языке, иллюстрирована 27 таблицами (25 страниц), 31 рисунком (14 страниц) и 2 приложениями (9 страниц). Библиографический список включает 232 источника, в том числе 229 работ иностранных авторов, список публикаций соискателя состоит из 14 работ (6 авторских листов). Полный объем диссертации составляет 139 страниц.

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

Материал и методы исследования

Исследование было проведено на фиксированном в формалине гистологическом операционном материале 125 первичных опухолей 124 пациентов с КРР. Медиана возраста на момент операции составила 65,0 лет (q_1 - q_3 57,0-73,0 года). Всем пациентам было выполнено хирургическое лечение в УЗ «МГКОЦ» в период с ноября 2009 г. по апрель 2011 г.

Медиана срока динамического наблюдения за пациентами составила 4,68 года (q_1 - q_3 1,50-8,26 года), максимальное время наблюдения – 9,85 лет. Наблюдение проводилось в первые два года после операции – 1 раз в 6 месяцев, в последующие – 1 раз в год, при отказе пациента явиться в установленные сроки обследование проводилось «по обращаемости».

Для целей настоящего исследования под прогрессией подразумевалось наличие опухолевого роста у пациента на момент последнего визита.

Дизайн исследования

Структура научной работы состояла из проспективного поперечного (одномоментного) и продольного аналитического исследований.

1. Характеристика гистологического строения первичных опухолей, а также оценка экспрессии тТГ была основана на проспективном одномоментном и продольном исследовании 125 опухолей, которые были хирургически удалены у 124 пациентов в УЗ «МГКОЦ» в период с ноября 2009 г. по апрель 2011 г. (Блок 1).

2. Характеристика гистологического строения метастазов и оценка его влияния на прогноз была дана на основе проспективного одномоментного и продольного исследования 333 метастазов 62 пациентов с регионарными метастазами КРР, включенных в блок 1 (Блок 2).

3. Характеристика белкового состава первичной опухоли и метастазов КРР была установлена при помощи проспективного одномоментного исследования протеома 34 пациентов с КРР, включенных в Блок 2 (Блок 3).

Методы исследования

Гистологическая оценка первичной опухоли и регионарных метастазов производилась на препаратах, окрашенных гематоксилином и эозином. При оценке метастазов исследовались только очаги в регионарных лимфоузлах, всего было исследовано 333 метастаза.

ИГХИ проводилось для количественной оценки экспрессии тТГ в эпителиальном и стромальном компартментах изучаемых групп, а также для выявления и подсчета опухолевых почек и цитоплазматических подий в инвазивном фронте КРР. Для исследования были выбраны блоки с участками центра и инвазивного фронта опухоли, а также участки неопухолевой слизистой оболочки толстой кишки.

Гистологические срезы толщиной 4 мкм монтировались на предметные стекла, обработанные 3-аминопропилтриэтоксисиланом. Демаскировка антигенов проводилась 30 с в нагреваемой барокамере Pascal (ДАКО, Дания) в цитратном буфере (для тТГ – рН 6,0, для панцитокератина – рН 9,0). В качестве первичных использовались моноклональные мышинные антитела к тТГ (клон CUB 7402, Abcam, Великобритания, 1:1000) и к панцитокератину (AE1/AE3, ДАКО, Дания). Инкубация с коктейлем из первичных антител проводилась в холодильной камере при 4°C в течение 18 ч. Детекция связавшихся антител осуществлялась при помощи полимерной системы визуализации BioGenex Super Sensitive™ (SS) Polymer-HRP IHC Detection System (BioGenex, США). В качестве хромогена применялся диаминобензидин (ДАКО, Дания), в качестве контрокрашивания – гематоксилин Майера. При проведении отрицательного контрольного окрашивания из протоколов исключались первичные антитела. В качестве

положительного контроля для тТГ использовали мышечную пластинку слизистой оболочки толстой кишки, обладающую заведомо интенсивным позитивным окрашиванием, для панцитокератина – эпителий крипт неопухолевой слизистой оболочки толстой кишки.

Морфометрические измерения проводились для оценки нормализованного уровня экспрессии (НУЭ) тТГ на гистологических препаратах, окрашенных с помощью ИГХИ с антителами к тТГ.

Съемка производилась на микроскопе Leica DM5000 цифровой камерой Leica DFC420c.

Для обработки изображений использовался программный пакет eCognition Developer v.9 (Trimble, Германия).

НУЭ тТГ рассчитывался по формуле:

$$\text{НУЭ} = \frac{\text{Уровень экспрессии тТГ в компартменте}}{\text{Уровень экспрессии тТГ в положительном контроле}} \times 100$$

Масс-спектрометрия проводилась для оценки белкового состава ткани КРР. Гистологические срезы толщиной 10 мкм монтировались на предметные стекла и после депарафинизации в ксилоле регидратировались в этаноле. Затем материал переносился в пробирку, в которую добавляли лизирующий буфер (8М мочевины + 0,5 мМ бикарбонат аммония + 1% содиум додецилсульфат) и оставляли на орбитальном шейкере на 1 час при 99°C. В целях разрушения клеточных мембран и гомогенизации ткани пробирка на 20 мин помещалась в ультразвуковую баню. Проба последовательно инкубировалась с 20 мМ раствором дитиотреитола при 37°C в течение 30 мин, и затем – с 40 мМ раствором иодоацетамида в темноте в течение 30 мин. Измерение концентрации белка в образце производилось методом Брэдфорда. Пробы очищались от липидов и органических примесей путем твердофазной экстракции на картриджах C18, высушивались в вакуумном испарителе и помещались в масс-спектрометр для анализа.

Для анализа спектрограммы использовался информационно-зависимый подход (DDA – data-dependent acquisition): проба с исследуемыми пептидами ионизировалась с помощью электроспрея на «времяпролетном» масс-спектрометре Agilent 6550 iFunnel QTOF LC/MS в диапазоне масс от 200 до 1700 Да. Затем пептиды разделялись с помощью колонки C-18 Agilent Advanced BioPeptide Mapping (2.1 × 150 мм, 2.7 мкм) и анализировались с помощью тандемной масс-спектрометрии. Полученные MS-MS-спектры подвергались дальнейшему биоинформатическому анализу в программе SearchGUI 3.3.13 [B. Domon et al., 2006].

Белки были идентифицированы по базе SwissProt (Homo sapiens), включавшей 42410 аннотированные последовательности пептидов (дата обновления 13.12.2018 на сайте www.uniprot.org). Условия были следующими: масса родительских ионов – 600-5000 ppm, диапазон заряда – 2-6, длина пептида – 6-40 аминокислот, пропущенные сайты трипсина – до двух.

Для составления сигнальных путей использовалось программное обеспечение Cytoscape 3.8.2 со встроенным модулем ClueGO.

Статистический анализ производился с использованием пакета RStudio, v. 1.1.463 (RStudio, Inc., США). Данные описательной статистики указаны в виде медианы (Me) и квартилей (q_1 – 25 % и q_3 – 75 %).

Для комплексной оценки гистологических параметров регионарных метастазов применялся кластерный анализ (алгоритм *k*-медоидов).

Сравнение количественных показателей (экспрессия тТГ) групп проводили с помощью двустороннего теста Манна–Уитни с поправкой Бонферрони (p_{mu}). Для сравнения частот качественных показателей (частота встречаемости признаков в первичной опухоли в зависимости от гистологического типа регионарных метастазов) применяли критерий Пирсона χ^2 с поправкой Йэйтса (p_{χ^2}).

Для оценки влияния гистологических паттернов и индивидуальных параметров на десятилетнюю выживаемость использовался анализ Каплана–Майера с лог-ранк (p_{lr}) тестом. Частоту встречаемости характеристик первичной опухоли в различных кластерах метастазов сравнивали с помощью метода хи-квадрат с пост-хок тестом (p_{cs}).

Нулевую гипотезу о равенстве выборок отвергали при $p < 0,05$.

Результаты исследования

Сравнительная гистологическая характеристика первичных опухолей у пациентов с наличием и отсутствием регионарных метастазов. Большой размер первичной опухоли (pT3-4) ($p_{cs} < 0,001$), наличие венозной инвазии ($p_{cs} < 0,001$), инфильтративный рост ($p_{cs} < 0,001$) и келоидоподобный тип стромы ($p_{cs} < 0,001$) достоверно чаще присутствовали у пациентов с наличием метастазов в лимфоузлах. Наличие нейтрофильной инфильтрации ($p_{cs} < 0,001$) и ОИЛ ($p_{cs} = 0,004$) в опухоли, напротив, ассоциировались с отсутствием метастазов на момент операции.

При совместной оценке в биоптатах нейтрофильной инфильтрации, типа стромы и присутствия ОИЛ чувствительность определения наличия метастазов в регионарных лимфоузлах составила 68,18 %, специфичность — 88,14 %, площадь под кривой (AUC) — 82,6 %, $p < 0,001$.

Для комплексной оценки гистологических параметров регионарных метастазов применялся кластерный анализ – алгоритм *k*-медоидов с определением индекса «силуэта».

Для каждого кластера было проанализировано гистологическое строение типичного представителя (*k*-медоид), после чего им были присвоены названия, отражающие гистологический паттерн опухолей в кластере (рисунок 1): инфильтративный (1), муцинозный (2), воспалительный (3).

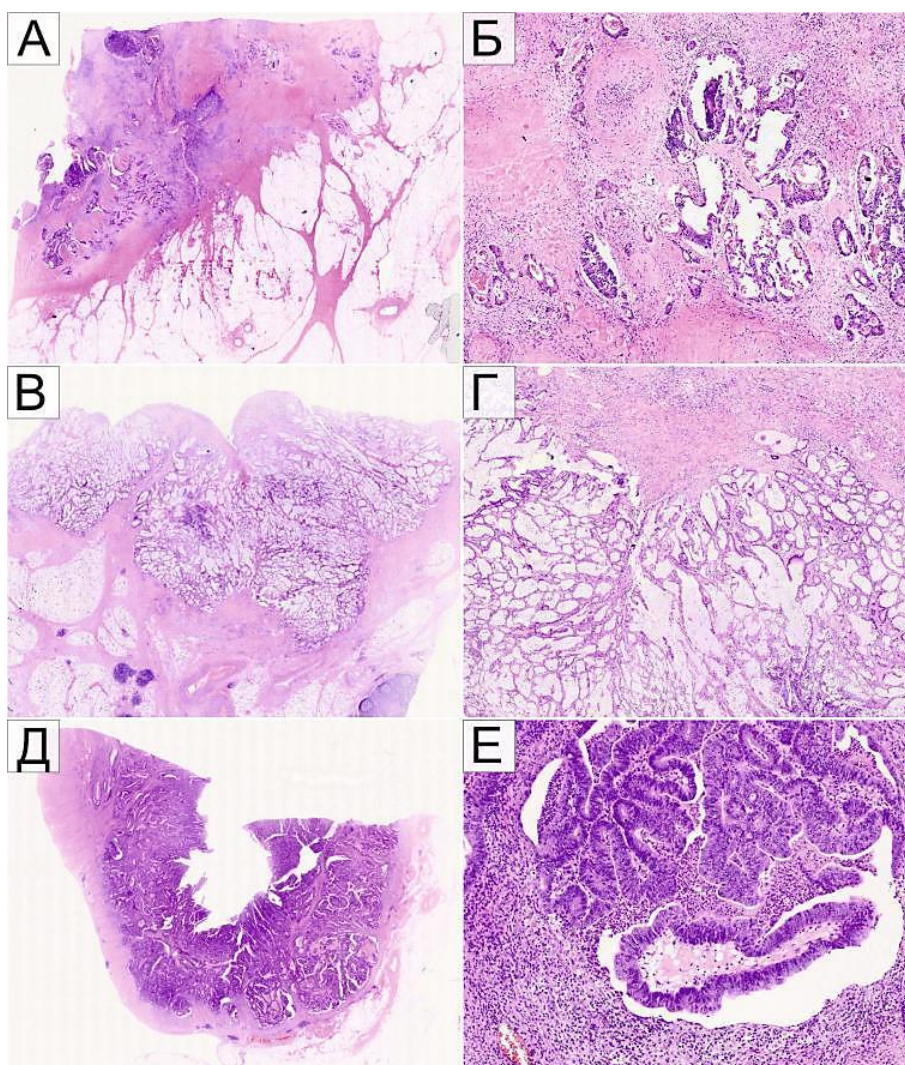


Рисунок 1 – Гистологические паттерны первичных опухолей (А, В, Д – $\times 15$, Б, Г, Е – $\times 50$): А, Б – инфильтративный, В, Г – муцинозный, Д, Е – воспалительный, окраска гематоксилином и эозином

Для оценки влияния гистологического паттерна первичной опухоли на течение КРР случайным образом было отобрано по 10 пациентов каждой клинической стадии. Инфильтративный паттерн опухоли ассоциировался с самым коротким периодом беспрогрессивной (медиана 0,5 года, $p_{lr} = 0,005$) и опухолеспецифической (медиана 1,3 года, $p_{lr} = 0,005$) выживаемости (рисунок 2). Наиболее продолжительный период беспрогрессивной и опухолеспецифической выживаемости наблюдался у пациентов с преобладающим воспалительным паттерном первичной опухоли (медиана 8,2 года).

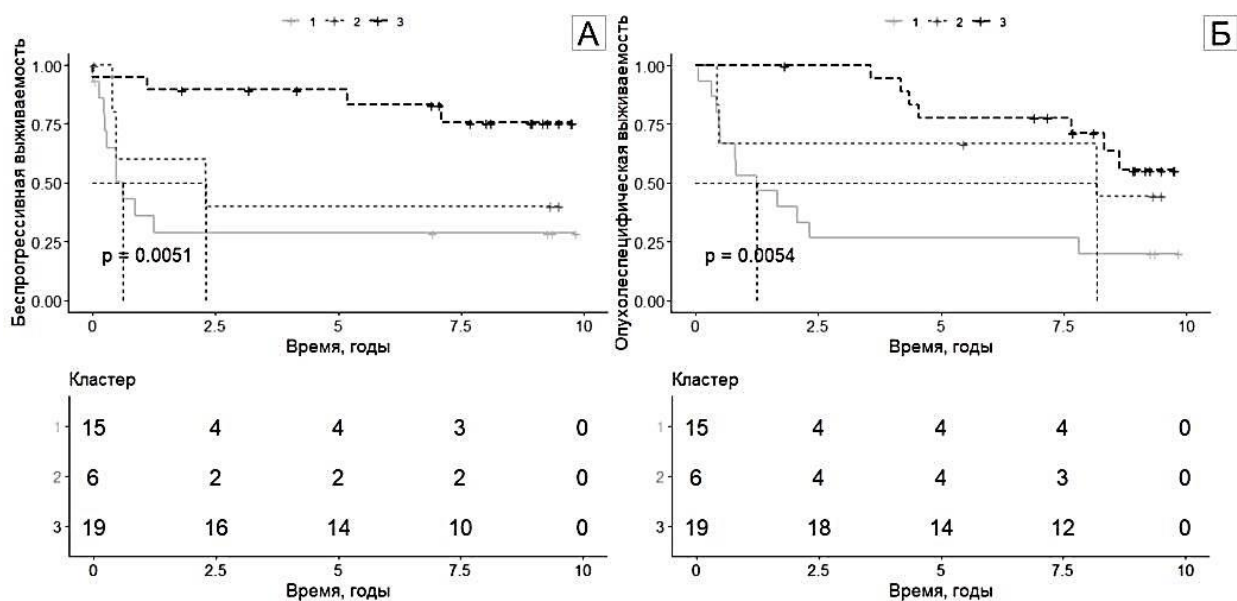


Рисунок 2 – Беспрогрессивная (А) и опухолеспецифическая (Б) выживаемость в группах пациентов с инфильтративным (1), муцинозным (2) и воспалительным (3) паттернами первичных опухолей

Характеристика гистологического строения регионарных метастазов. Всего было исследовано 333 метастаза в регионарные лимфоузлы. Выделение обособленных групп метастазов в регионарных лимфоузлах производилось методом кластерного анализа. Для удобства воспроизводимости классификации выборку было решено разделить на четыре кластера.

Для каждого кластера было проанализировано гистологическое строение типичного представителя (*k*-медоид), после чего им были присвоены названия, отражающие гистологический паттерн опухолей в кластере (таблица 1, рисунок 3):

- 1) комедоподобный;
- 2) классический;
- 3) зрелый;
- 4) муцинозный.

Таблица 1 – Гистологические параметры, характерные для паттернов регионарных метастазов, выделенных с помощью кластерного анализа

Гистологические параметры	Кластер 1 (комедоподобный)	Кластер 2 (классический)	Кластер 3 (зрелый)	Кластер 4 (муцинозный)
Количество метастазов	126	94	49	64
Некроз	есть (географический)	есть (внутрижелезистый)	нет	нет
Полярность ядер	отсутствует	выражена	выражена	отсутствует
Степень злокачественности (G)	низкая	низкая	низкая	высокая

Продолжение таблицы 1

Активное воспаление	есть	нет	нет	нет
Паттерн замещения лимфоузла	полное	частичное	частичное или портальное	полное
Муцинозный компонент	отсутствует	отсутствует	отсутствует	присутствует
Тип стромы	обычный	келоидо-подобный	обычный	обычный
Опухолевое почкование (среднее)	8	3	4	15

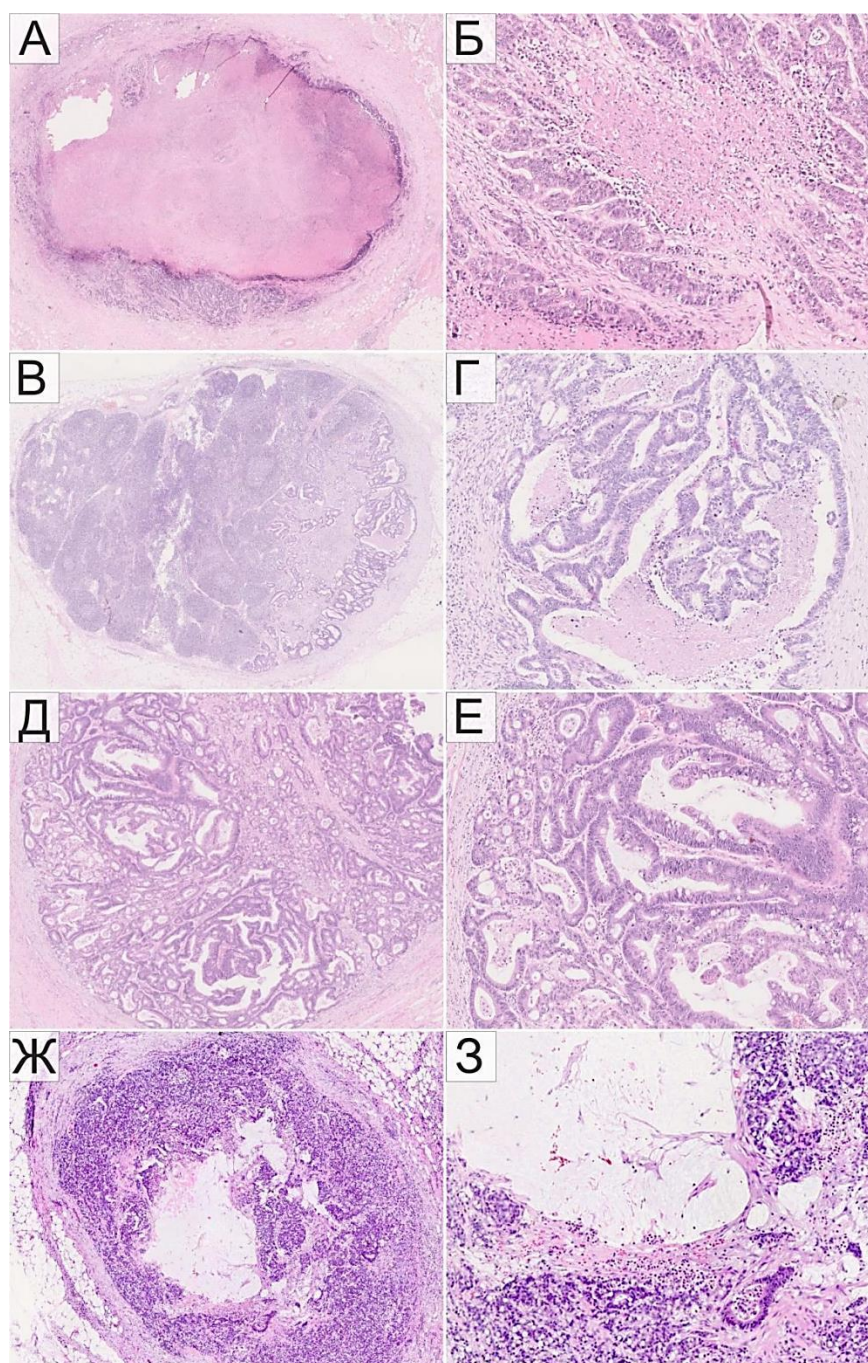


Рисунок 3 – Гистологические паттерны метастазов в регионарных лимфатических узлах (А, В, Д, Ж – $\times 150$, Б, Г, Е, З – $\times 50$): А, Б – комедоподобный, В, Г – классический, Д, Е – зрелый, Ж, З – муцинозный, окраска гематоксилином и эозином

Для каждого пациента был определен преобладающий паттерн метастазов в регионарных лимфоузлах. У 21 пациента преобладал комедоподобный паттерн, у 19 – классический, у 14 пациентов – зрелый, в 8 случаях – муцинозный.

При сравнении выживаемости кривые Каплана–Майера демонстрировали явную группировку комедоподобного кластера с муцинозным и классического со зрелым, поэтому было принято решение объединить группы соответственно данной тенденции.

У пациентов III и IV клинической стадии с преобладающими комедоподобным и муцинозным типами метастазы были обнаружены на более ранних сроках (медиана 3,1 и 0,6 лет соответственно, $p_{lr} = 0,003$) и раньше наступал летальный исход (медиана 4,3 и 4,5 года соответственно, $p_{lr} = 0,14$). Классический и зрелый типы, напротив, ассоциировались с более продолжительной беспрогрессивной (медиана 4,1 и 7,4 года соответственно) и опухолеспецифической (медиана 7,3 и 7,5 лет соответственно) выживаемостью. У пациентов III клинической стадии такая закономерность была обнаружена для беспрогрессивной выживаемости пациентов ($p_{lr} = 0,025$).

Было установлено, что низкая степень злокачественности ($p_{cs} = 0,005$) и отсутствие лимфатической инвазии ($p_{cs} = 0,036$) в первичной опухоли чаще встречаются у пациентов с классическим и зрелым паттернами метастазов в регионарных лимфоузлах (рисунок 4).

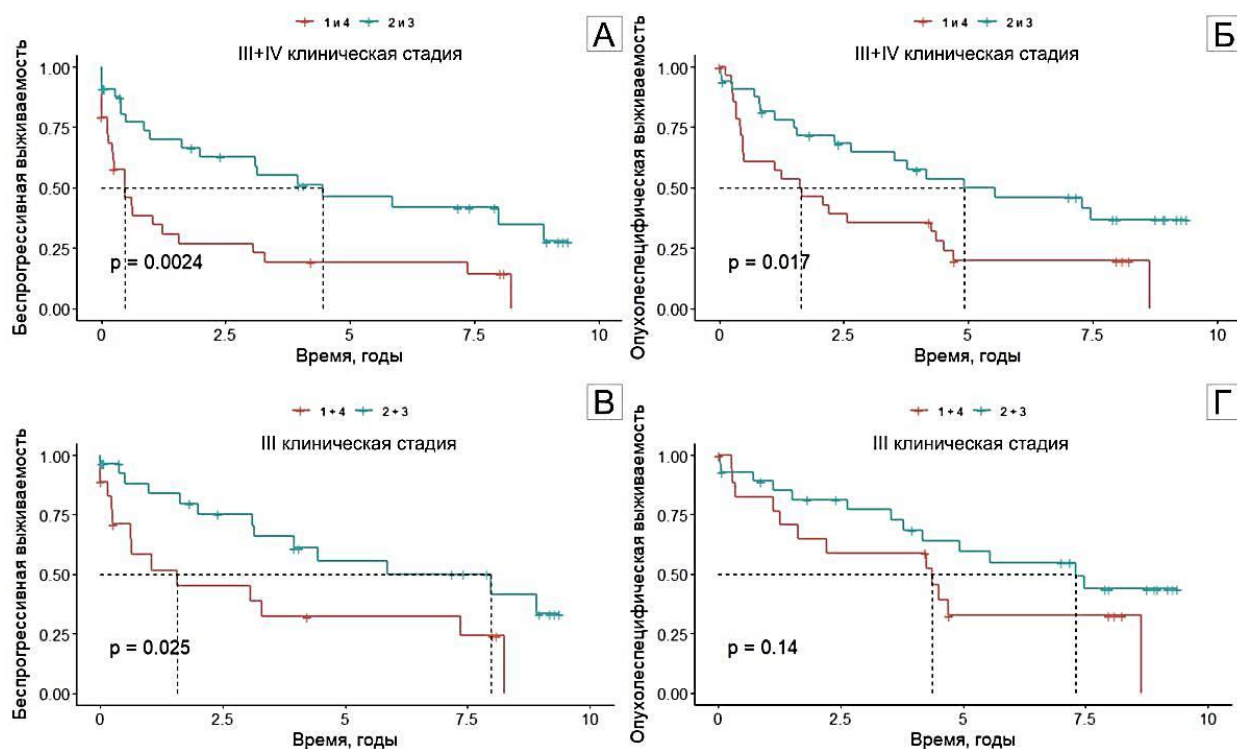


Рисунок 4 – Беспрогрессивная (А, В) и опухолеспецифическая (Б, Г) выживаемость в группах пациентов с комедоподобным и муцинозным (1 и 4), классическим и зрелым (2 и 3) типами метастазов в регионарные лимфоузлы у пациентов III и IV клинической стадии

Характеристика экспрессии тТГ. При ИГХИ нормальной слизистой оболочки толстой кишки экспрессия тТГ выявлялась только в гладкомышечных и эндотелиальных клетках и практически не выявлялась в колоноцитах. Содержание тТГ в строме неопухолевого толстой кишки значительно превышало НУЭ тТГ в эпителии ($p_{\text{mu}} < 0,001$) (таблица 2).

Таблица 2 – НУЭ тТГ в различных компартментах слизистой оболочки толстой кишки и опухоли

Компартмент		Минимум	Максимум	Медиана	q ₁	q ₃
неопухолевая	эпителий	0,2	44,2	1,6	1,0	3,6
слизистая оболочка	строма	0,7	70,3	12,9	3,6	23,9
центр опухоли	опухолевые клетки	0,1	167,3	4,1	0,7	16,0
	строма	0,4	120,9	22,5	9,7	40,4
инвазивный фронт	опухолевые клетки	0,0	159,3	5,8	1,2	18,4
	строма	0,2	116,8	23,5	13,3	41,1

Установлено, что НУЭ тТГ в опухоли выше, чем в неопухолевой слизистой оболочке толстой кишки: максимальный уровень имел место в строме инвазивного фронта опухоли ($p_{\text{mu}} = 0,001$), причем экспрессия данного белка в данном компартменте достоверно не отличалась от таковой в центре ($p_{\text{mu}} = 1,000$).

Для эпителиального компонента наиболее высокий НУЭ тТГ также был установлен в инвазивном фронте опухоли. Экспрессия тТГ в данном компартменте статистически значимо не отличалась от центра ($p_{\text{mu}} = 1,000$) опухоли и колоноцитов неопухолевой слизистой оболочки ($p_{\text{mu}} = 0,107$).

Методом многофакторного линейного регрессионного анализа выявлено, что снижение экспрессии тТГ в строме центра опухоли связано с большим размером опухоли ($p = 0,012$ и $p = 0,007$ для pT3 и pT4 соответственно). Повышение НУЭ тТГ ассоциировалось с наличием у пациентов отдаленных метастазов ($p = 0,009$).

Более высокий НУЭ тТГ в раковых клетках и строме центра ($p < 0,001$ и $p = 0,001$ соответственно), а также в опухолевых клетках инвазивного фронта опухоли ($p < 0,001$) ассоциировался с медуллярным типом аденокарциномы. Аналогичная закономерность наблюдалась для НУЭ тТГ в опухолевых клетках и строме инвазивного фронта и наличием Крон-подобной реакции ($p = 0,048$ и $p = 0,041$ для раковых клеток и стромы соответственно).

Также было установлено, что гистоархитектоническое строение метастазов КРР в регионарные лимфоузлы связано с экспрессией тТГ в первичной опухоли. В частности, более высокий уровень экспрессии тТГ как в эпителии ($p_{\text{mu}} = 0,018$), так и в строме ($p_{\text{mu}} = 0,015$) инвазивного фронта

аденокарциномы наблюдались у пациентов с преобладающим классическим и зрелым гистологическим паттерном метастазов, а более низкий уровень – у пациентов с муцинозным и комедоподобным паттерном строения метастазов (таблица 3, таблица 4).

Таблица 3 – НУЭ тТГ в первичной опухоли у пациентов с различным преобладающим гистологическим строением регионарных метастазов

Компартмент		Комедоподобный	Классический	Зрелый	Муцинозный
центр опухоли	опухолевые клетки	1,7 4,4 10,1	0,9 4,8 16,0	3,3 8,7 10,1	1,2 2,5 3,7
	строма	8,2 21,7 42,5	11,6 29,7 44,5	12,9 25,8 32,6	14,4 22,5 25,0
инвазивный фронт	опухолевые клетки	1,0 2,7 12,6	4,5 7,6 11,2	4,7 13,4 17,7	1,0 2,7 16,3
	строма	6,2 12,5 26,3	22,9 34,6 44,1	14,5 29,0 41,4	15,3 23,0 32,0

Примечание: а Б в: а – q_1 , б – медиана, в – q_3

Таблица 4 – Значения p_{mu} при сравнении НУЭ тТГ в инвазивном фронте первичной опухоли в зависимости от преобладающего гистологического паттерна регионарных метастазов (* $p_{mu} < 0,05$)

Паттерн		Классический и зрелый	
		Опухолевые клетки	Строма
Комедоподобный и муцинозный	Опухолевые клетки	0,018*	–
	Строма	–	0,015*

Установлено, что снижение НУЭ тТГ в строме центра опухоли связано с более коротким периодом беспрогрессивной (медиана выживаемости 1,2 года при НУЭ тТГ $\leq 3,97$ и 8,9 лет при НУЭ $> 3,97$) и опухолеспецифической выживаемости (медиана выживаемости 3,1 года при НУЭ тТГ $\leq 3,97$ и 8,3 года при НУЭ $> 3,97$) (рисунок 5). При раздельном анализе выживаемости в группах пациентов I-II клинических стадий данная закономерность сохранялась: медиана выживаемости у пациентов с НУЭ тТГ $\leq 3,97$ составила 3,31 и 2,03 года для опухолеспецифической и беспрогрессивной выживаемости соответственно. При НУЭ тТГ $> 3,97$ медиана достигнута не была (рисунок 5). У пациентов III-IV клинических стадий снижение уровня экспрессии фермента ассоциировалось с более высокой вероятностью смерти от КРР.

Определение качественного белкового состава первичной опухоли и неопухолевой слизистой оболочки толстой кишки, а также регионарных метастазов КРР. В спектре белков неопухолевой ткани толстой кишки достоверно чаще ($p_{cs} < 0,01$) встречались 22 белка (рисунок 6). Кроме того, 9 белков имели более высокий уровень экспрессии в неопухолевой слизистой оболочке ($p_{mu} < 0,01$).

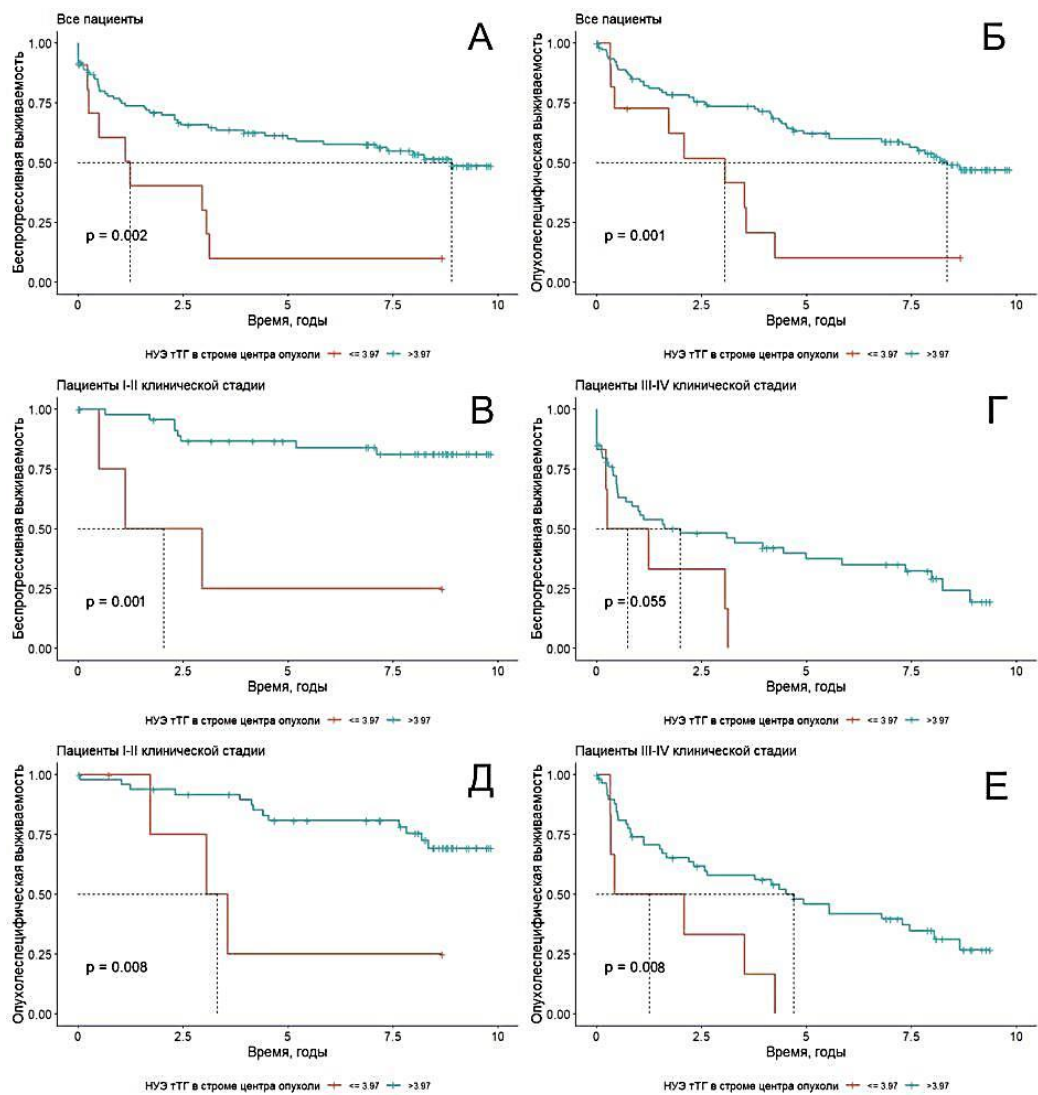


Рисунок 5 – Беспрогрессивная (А) и опухолеспецифическая (Б) выживаемость пациентов с КРР в зависимости от НУЭ тТГ в строме центра опухоли



Рисунок 6 – Диаграмма Венна, показывающая количество белков, общих для первичной опухоли и неопухолевой слизистой оболочки толстой кишки (пересекающаяся зона), а также белков, достоверно чаще встречающиеся в какой-то одной из локализаций ($p < 0,01$)

В опухоли было обнаружено 147 белков с более высоким уровнем экспрессии ($p < 0,001$). Согласно анализу сигнальных путей, данные белки участвуют в таких функциях как иммунный ответ (активация нейтрофилов и макрофагов), адгезия (связывание с кадгеринами), взаимодействие с экстрацеллюлярным матриксом (организация коллагеновых фибрилл), синтез белков (активность аминопептидазы, регуляция стабильности мРНК, связывание с мРНК, экспорт белков из ядра, N-сцепленное гликозилирование белков), бессмертие опухолевых клеток (позитивная регуляция стабильности теломер, регуляция локализации белков в хромосомах), а также синтез нуклеиновых кислот (метаболизм нуклеотидных оснований, транспорт нуклеиновых кислот) и регуляция ангиогенеза.

Было установлено, что в метастазах КРР встречаются белки, которые не присутствуют в первичной опухоли (рисунок 7).



Рисунок 7 – Диаграмма Венна, показывающая количество белков, общих для первичной опухоли и неопухолевой слизистой оболочки толстой кишки (пересекающаяся зона), а также белков, достоверно чаще встречающиеся в какой-то одной из локализаций ($p < 0,01$)

К ним относятся 23 белка:

1. Неохарактеризованный белок C11orf95;
2. Астротактин-2;
3. α -каталитическая субъединица ДНК-полимеразы (p180);
4. Гистидин-тРНК лигаза, цитоплазматическая (HisRS);
5. Кислый глиальный фибриллярный белок (GFAP);
6. Сложный белок ядерных пор (Nup214);
7. Сукцинат-полуальдегид дегидрогеназа, митохондриальная – оксиредуктаза в процессе расщепления подавляющего нейротрансмиттера GABA (4-aminobutyric acid);

8. Белок «цинковых пальцев» 298;
9. Белок гомеобокса EVX-2;
10. Серин-протеинкиназа АТМ;
11. Дигидропиримидиназа;
12. Транспортный белок 1 длинных цепей жирных кислот (FATP1);
13. Белок «цинковых пальцев»;
14. $\alpha 1$ -цепь коллагена;
15. Белок 83, содержащий спиральный домен;
16. eEF1A лизин и N-концевая метилтрансфераза (eEF1A-KNMT);
17. Белок «цинковых пальцев» 485;
18. SWI / SNF-родственный матричный актин-зависимый регулятор члена 1 подсемейства E хроматина (BAF57);
19. Неохарактеризованный белок C4orf36;
20. Гомолог белка 4 ядерного комплекса (гомолог белка NOC4);
21. Фиброзин-1;
22. Nck-ассоциированный белок 5-подобный (NCKAP5-подобный);
23. Представитель 4 семейства GTPase IMAP (белок нуклеотида 1, ассоциированный с иммунитетом) (IAN-1).

Также было обнаружено 2 белка, экспрессия которых определялась и в первичной опухоли, и в регионарных метастазах, однако в последних была статистически значимо выше:

1. Неохарактеризованный белок C11orf24;
2. Белок 21, содержащий повторы, богатые лейцином.

В метастазах и их морфологических подтипах (комедоподобный, классический, зрелый и муцинозный) также были выявлены белки, достоверно отличающиеся по содержанию и встречаемости ($p < 0,001$). В частности, в метастазах с классическим и зрелым гистологическими паттернами встречались следующие уникальные белки:

1. Белок 2, богатый глутаматом, содержащий спиральный домен;
2. Астротактин-2;
3. Субъединица 2 фактора стимуляции расщепления (CstF-64);
4. Специфическая ацил-КоА-дегидрогеназа с короткой/разветвленной цепью, митохондриальная (SBCAD);
5. Серин-протеинкиназа АТМ;
6. Белок 15, содержащий домен анкириновых повторов;
7. Пероксисомальная N(1)-ацетил-спермин/спермидиноксидаза (полиаминоксидаза);
8. Белок 1, содержащий некаталитический домен C-доли киназы (церебральный белок 9);
9. Цитохром P450 2U1;

10. Белок 3, содержащий домен CCCH «цинкового пальца» (Smad-взаимодействующий CPSF-подобный фактор);
11. Белок 105, содержащий спиральный домен;
12. La-родственный белок 4В (La-родственный белок 5);
13. Белок FAM83С;
14. Специфически регулируемый андрогенами генный белок;
15. BECN1-регулируемый белок аутофагии 1;
16. Полиамин-транспортирующая АТФаза 13А2;
17. Белок 35, содержащий трехчастный мотив (белок 5 переключения кроветворной линии).

Некоторые белки содержались во всех метастазах, однако с достоверно более высокой экспрессией в комедоподобном и муцинозном паттернах:

1. Фруктозо-бисфосфатаальдолаза В (альдолаза печеночного типа);
2. Гистон H3.3;
3. Ольфактомедин-подобный белок 1;
4. Представитель G семейства 4 доменов лектина С-типа (лектин С-типа синусоидальных эндотелиальных клеток печени и лимфатических узлов);
5. Гистон H3.2 (гистон 13 с кластером H3);
6. Белок 44, ассоциированный с ресничками и жгутиками (белок 52, содержащий повторы WD).

7. Белок FAM83С – описан в клетках плоского эпителия различных органов и принимает участие в работе MAPK-сигнального пути, не имеет прогностического значения при опухолях.

Белки, для которых были обнаружены статистические различия в уровне экспрессии или частоте встречаемости в метастазах, не были вовлечены в общие сигнальные пути, как это было установлено для белков первичных опухолей.

Однако суммируя функции, известные по литературным данным, можно заключить, что в метастазах по сравнению с первичной опухолью повышена экспрессия белков, участвующих в трансляции и синтезе белков (HisRS, eEF1A-KNMT), иммунном ответе (Nup214), пролиферации фибробластов (Фиброзин-1), организации микротрубочек цитоскелета (NCKAP5).

В гистологических паттернах метастазов с описанным благоприятным прогностическим значением (классический, зрелый) чаще встречаются белки, обеспечивающие внутриклеточный транспорт (астротактин-2, CstF-64) и опухолевую супрессию (BECN1). В метастазах с комедоподобным и муцинозным паттернами преобладают белки, участвующие в миграции клеток (ольфактомедин-подобный белок 1) и иммунном ответе (представитель G семейства 4 доменов лектина С-типа).

Закономерности экспрессии перечисленных белков требуют дальнейшего прицельного изучения, однако можно утверждать, что они являются потенциальными точками приложения для воздействия противоопухолевых лекарственных средств.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основные научные результаты диссертации

1. Выделено три гистологических паттерна первичных опухолей у пациентов с КРР: инфильтративный, муцинозный и воспалительный. Инфильтративный паттерн характеризовался самым ранним наступлением прогрессии (медиана 0,5 года, $p_{lr} = 0,005$) и летального исхода (медиана 1,3 года, $p_{lr} = 0,005$). Наиболее благоприятное течение заболевания наблюдалось при воспалительном паттерне роста (медиана периода опухолеспецифической выживаемости 9,9 лет). Такие гистологические признаки первичной опухоли, как наличие либо отсутствие нейтрофильной инфильтрации, опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов и тип стромы (обычный или комедоподобный) помогают с высокой диагностической значимостью (чувствительность 68,2 %, специфичность 88,1 %, $AUC = 82,6\%$, $p < 0,01$) предположить отсутствие либо наличие метастазов в лимфоузлах на ранних стадиях заболевания: нейтрофильная инфильтрация ($p_{cs} < 0,001$), наличие опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов ($p_{cs} = 0,004$), обычный тип стромы ($p_{cs} < 0,001$) ассоциируются с отсутствием метастазов в регионарных лимфоузлах на момент операции, а отсутствие нейтрофильной инфильтрации и опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов, келоидоподобный тип стромы ассоциируются с наличием метастазов на момент операции [5-А, 7-А, 9-А, 13-А].

2. Выделено четыре гистологических паттерна регионарных метастазов КРР: комедоподобный, классический, зрелый и муцинозный. У пациентов III клинической стадии с преобладающими комедоподобным и муцинозным паттернам метастазы были обнаружены на более ранних сроках (медиана 3,1 и 0,6 лет соответственно, $p_{lr} = 0,003$). Классический и зрелый паттерны, напротив, ассоциировались с более продолжительной беспрогрессивной (медиана 4,1 и 7,4 года соответственно) выживаемостью. Аналогичная закономерность была обнаружена при совместном анализе беспрогрессивной ($p_{lr} = 0,02$) и опухолеспецифической ($p_{lr} = 0,01$) выживаемости пациентов III и IV клинической стадии [3-А, 7-А, 12-А, 14-А].

3. Экспрессия тТГ в строме первичной опухоли выше, чем в нормальной слизистой оболочке толстой кишки ($p_{mu} = 0,001$). Более высокий уровень экспрессии тТГ в строме центра ($НУЭ \leq 35,91$) опухоли ассоциируется

с более продолжительным периодом опухолеспецифической ($p_{lr} = 0,001$) и беспрогрессивной выживаемости ($p_{lr} = 0,002$). Более высокая экспрессия тТГ в эпителии ($p_{mu} = 0,018$) и строме ($p_{mu} = 0,015$) инвазивного фронта первичной опухоли ассоциируется с преобладающими классическим и зрелым паттернами метастазов [6-А, 10-А].

4. В КРР повышена по сравнению с неопухолевым слизистой оболочкой повышена экспрессия белков, которые обеспечивают инвазивные свойства опухоли, ангиогенез, активируют синтез белков и нуклеиновых кислот ($p < 0,001$). В метастазах по сравнению с первичной опухолью повышена экспрессия белков, участвующих в трансляции и синтезе белков (HisRS, eEF1A-KNMT), иммунном ответе (Nup214), пролиферации фибробластов (Фиброзин-1), организации микротрубочек цитоскелета (NCKAP5) ($p < 0,001$). В гистологических паттернах метастазов с описанным благоприятным прогностическим значением (классический, зрелый) чаще встречаются белки, обеспечивающие внутриклеточный транспорт (астротактин-2, CstF-64) и опухолевую супрессию (BECN1) ($p < 0,001$). В метастазах с комедоподобным и муцинозным паттернами преобладают белки, участвующие в миграции клеток (ольфактомедин-подобный белок 1) и иммунном ответе (представитель G семейства 4 доменов лектина C-типа) ($p < 0,001$) [1-А, 2-А, 4-А, 8-А, 11-А].

Рекомендации по практическому использованию результатов

1. Патологоанатомическим бюро и отделениям как общей, так и онкоморфологической направленности, рекомендуется применять разработанный метод определения вероятности неблагоприятного исхода рака ободочной кишки, ректосигмоидного соединения или прямой кишки в течение 5 лет у пациентов III-IV клинической стадии. Применение указанных методов позволит более точно прогнозировать течение КРР у пациентов с целью коррекции сроков наблюдения и улучшения отдаленных результатов лечения [14-А].

2. Рекомендуется учитывать изменение экспрессии тТГ в строме центра опухоли при наблюдении за пациентом, перенесшим хирургическое вмешательство по поводу КРР. Неблагоприятным прогностическим фактором является уменьшение экспрессии тТГ в строме [6-А, 10-А].

Целесообразно обратить внимание на белки, экспрессия которых отличается в первичной опухоли и в метастазах, в том числе разного гистологического строения, при создании противоопухолевых лекарственных средств.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ СОИСКАТЕЛЯ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ

Статьи в рецензируемых журналах

1-А. Низкодифференцированная аденокарцинома прямой кишки с aberrантным иммунофенотипом / Д. А. Давыдов, К. Г. Рукша, П. А. Перевощиков, О. В. Гуленко, А. С. Портянко, Е. Д. Черствый // *Здравоохранение*. – 2019. – № 1. – С. 54–56.

2-А. Over-expression of β II-tubulin and especially its localization in cell nuclei correlates with poorer outcomes in colorectal cancer / K. Ruksha, A. Mezheyeuski, A. Nerovnya, T. Bich, G. Tur, J. Gorgun, R. Luduena, A. Portyanko // *Cells*. – 2019. – Vol. 8, № 1. – DOI: 10.3390/cells8010025.

3-А. Гистологические паттерны метастазов в регионарных лимфоузлах и их роль в прогнозировании течения колоректального рака / К. Г. Рукша, Е. С. Кулеш, А. Ю. Требуховский, Л. Ю. Громыко, А. Я. Кавенчук, Д. А. Давыдов, А. С. Портянко // *Онколог. журн.* – 2020. – Т. 14, № 2–3. – С. 26–35.

4-А. Эффективность поисковых систем идентификации белков, выделенных из фиксированной в формалине ткани пациентов с колоректальным раком / К. Г. Рукша, Н. А. Ефремов, Е. П. Шупилова, А. А. Драница, А. Д. Жилко, Д. А. Давыдов, А. С. Портянко // *Здравоохранение*. – 2020. – № 10. – С. 48–54.

5-А. Определение метастатического потенциала и прогноза течения колоректального рака с помощью гистологических параметров первичной опухоли / К. Г. Рукша, Е. С. Кулеш, А. Ю. Требуховский, Л. Ю. Громыко, А. Н. Кавенчук, Д. А. Давыдов, А. С. Портянко // *Здравоохранение*. – 2021. – № 3. – С. 61–69.

6-А. Особенности экспрессии и прогностическое значение тканевой трансглутаминазы в колоректальном раке / К. Г. Рукша, И. Ю. Жерко, Л. Ю. Громыко, А. Я. Кавенчук, А. С. Портянко // *Онколог. журн.* – 2021. – Т. 15, № 2. – С. 40–47.

7-А. Изменения белкового состава первичной опухоли и метастазов колоректального рака / К. Г. Рукша, Н. А. Ефремов, Е. С. Кулеш, А. С. Требуховский, Д. А. Давыдов, А. С. Портянко // *Онколог. журн.* – 2022. – Т. 16, № 1. – С. 13–23.

Публикации в сборниках научных трудов и материалах конференций

8-А. Молекулярно-генетические маркеры чувствительности к метронормной химиотерапии при диссеминированном колоректальном раке / К. Н. Батура, С. Ю. Смирнов, К. Г. Рукша, Е. И. Субоч, А. С. Портянко // *Молекулярная диагностика 2018 : сб. тр. Междунар. науч.-практ. конф.*,

Минск, 27–28 сент. 2018 г. / Федер. служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека ; под ред. В. И. Покровского. – Минск, 2018. – С. 253.

9-А. Рукша, К. Г. Характеристика гистологического строения и белкового состава первичной опухоли и метастазов колоректального рака [Электронный ресурс] / К. Г. Рукша, Д. А. Давыдов, А. С. Портянко // Современная патологическая анатомия: научно-практический опыт, пути совершенствования и инновационные технологии морфологической диагностики, роль в клинической практике, актуальные проблемы и перспективы развития : сб. материалов IV съезда патологоанатомов Респ. Беларусь с междунар. участием, Минск, 24–25 марта 2022 г. / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Белорус. гос. мед. ун-т, Белорус. науч. о-во патологоанатомов ; редкол.: Е. А. Анфиногенова [и др.] – Минск, 2022. – С. 308–312. – 1 электрон. опт. диск (CD-ROM).

Тезисы докладов

10-А. Ruksha, K. Tissue transglutaminase expression in colorectal cancer / K. Ruksha, I. Zherko, A. Portyanko // 24th International Student Congress of (bio)Medical Sciences (ISCOMS) : book of abstr., Groningen, The Netherlands, 6–9 June 2017. – P. 189.

11-А. Сравнение поисковых систем идентификации белков для установления наиболее оптимального алгоритма работы с формалин-фиксированной тканью колоректального рака / К. Г. Рукша, Н. А. Ефремов, Е. Н. Шупилова, А. А. Драница, А. Д. Жилко, Д. А. Давыдов, А. С. Портянко // Тезисы XI Съезда онкологов и радиологов стран СНГ и Евразии, Казань, 23–25 апр. 2020 г. – [Опубл. в журн.] Евраз. онкол. журн. – 2020. – Т. 8, № 2, прил. – С. 56.

12-А. Histological features of the regional lymph node metastases define specific patterns which predict survival in colorectal cancer / K. Ruksha, E. Kulesh, A. Trebuhovski, L. Hramyka, A. Kavenchuk, D. Davydov, A. Portyanko // 28th United European Gastroenterology week virtual 2020. Poster presentations, October 2020. – [Publ.] United European Gastroenterol. J. – 2020. – Vol. 8, № 8, suppl. – P. 528. – Abstr. P0711.

13-А. Histopathological patterns of primary tumors predict metastatic potential and regional lymph node architecture in colorectal cancer / M. Shynkevich, K. Ruksha, E. Kulesh, A. Trebuhovski, L. Hramyka, A. Kavenchuk, D. Davydov, A. Portyanko // 15th YES meeting – Digital experience : abstr., Porto, Portugal, 17–20 Sept. 2020. – [Publ.] Porto Biomed. J. – 2021. – Vol. 6, № 1. – P. 28.

Инструкция по применению

14-А. Метод определения вероятности неблагоприятного исхода рака ободочной кишки, ректосигмоидного соединения или прямой кишки в течение 5 лет у пациентов III-IV клинической стадии : инструкция по применению № 016-0422 : утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 16.06.2023 / Белорус. гос. мед. ун-т ; К. Г. Рукша, Д. А. Давыдов, А. С. Портянко. – Минск, 2022. – 6 с.

РЭЗІЮМЭ

Рукша Ксенія Генадзьеўна Характарыстыка гісталагічнай будовы і бялковага складу першаснай пухліны і метастазаў каларэктальнага раку

Ключавыя словы: каларэктальны рак (КРР), інвазіўны рост, гісталагічныя патэрны, метастазы, бялковы склад

Мэта працы: устанавіць асаблівасці гісталагічнай будовы і якаснага бялковага складу першаснай пухліны і метастазаў КРР.

Аб'ект і метады даследавання: гісталагічны матэрыял рэзекцый тоўстай кішкі пацыентаў з КРР; рэгістр пацыентаў УАЗ «МГКАЦ». Праведзена імунагістахімічнае даследаванне гісталагічных прэпаратаў з антыцеламі да тканкавай трансглутаміназы (тТГ) з наступнай марфаметрычнай ацэнкай. Прааналізавана сувязь паміж экспрэсіяй тТГ і асноўнымі клініка-марфалагічнымі характарыстыкамі КРР. З дапамогай мас-спектраметрыі вывучаны бялковы склад розных кампартментаў КРР.

Атрыманыя вынікі і іх навізна: упершыню ўстаноўлены гісталагічныя патэрны рэгіянальных метастазаў КРР: комедападобны, класічны, спелы і муцынозны. Неспрыяльны прагноз КРР асацыяваны з перавагай у пацыентаў комедападобнага і муцынознага патэрнаў. Нейтрафільная інфільтрацыя, наяўнасць пухліна-інфільтруючых лімфацытаў і тып стромы першаснай пухліны дазваляюць прадказаць наяўнасць метастазаў у лімфатычных вузлах. Першасныя пухліны ў пацыентаў з КРР фарміруюць тры гісталагічныя патэрны: інфільтратыўны, муцынозны і запаленчы. Інфільтратыўны патэрн характарызуецца самым раннім надыходам прагрэсіі і смяротнага зыходу. Устаноўлена значэнне экспрэсіі тТГ у КРР: высокі ўзровень экспрэсіі тТГ у строме цэнтры пухліны асацыяваны з больш працяглым перыядам выжывальнасці. Класічны і спелы патэрны метастазаў характарызуюцца павышанай экспрэсіяй тТГ у ракавых клетках і строме інвазіўнага фронту. Устаноўлены адрозненні бялковага складу непухліннай слізистой абалонкі тоўстай кішкі, першаснай пухліны і рэгіянарных метастазаў КРР.

Галіна прымянення: паталагічная анатомія, гастрэнтэралогія, анкалогія.

РЕЗЮМЕ

Рукша Ксения Геннадьевна

Характеристика гистологического строения и белкового состава первичной опухоли и метастазов колоректального рака

Ключевые слова: колоректальный рак (КРР), инвазивный рост, гистологические паттерны, метастазы, белковый состав

Цель работы: установить особенности гистологического строения и качественного белкового состава первичной опухоли и метастазов КРР.

Объект и методы исследования: гистологический материал резекций толстой кишки пациентов с КРР; регистр пациентов УЗ «МГКОЦ». Проведено иммуногистохимическое исследование гистологических препаратов с антителами к тканевой трансглутаминазе (тТГ) с последующей морфометрической оценкой. Проанализирована связь между экспрессией тТГ и основными клинико-морфологическими характеристиками КРР. С помощью масс-спектрометрии изучен белковый состав различных компартментов КРР.

Полученные результаты и их новизна: впервые установлены гистологические паттерны регионарных метастазов КРР: комедоподобный, классический, зрелый и муцинозный. Неблагоприятный прогноз КРР ассоциирован с преобладанием у пациентов комедоподобного и муцинозного паттернов. Нейтрофильная инфильтрация, наличие опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов и тип стромы первичной опухоли позволяют предсказать наличие метастазов в лимфатических узлах. Первичные опухоли формируют три гистологических паттерна: инфильтративный, муцинозный и воспалительный. Инфильтративный паттерн характеризуется самым ранним наступлением прогрессии и летального исхода. Установлено значение экспрессии тТГ в КРР: более высокий уровень экспрессии тТГ в строме центра опухоли ассоциируется с более продолжительным периодом выживаемости. Классический и зрелый паттерны метастазов характеризуются повышенной экспрессией тТГ в раковых клетках и строме инвазивного фронта. Установлены различия белкового состава неопухолевого слизистой оболочки толстой кишки, первичной опухоли и регионарных метастазов КРР.

Область применения: патологическая анатомия, гастроэнтерология, онкология.

SUMMARY

Ruksha Kseniya Gennadyevna

Characterization of the histological structure and protein composition of the primary tumor and metastases of colorectal cancer

Key words: colorectal cancer, invasive growth, histological patterns, metastases, protein composition

Aim: to establish the features of the histological structure and protein composition of the primary tumor and metastases of colorectal cancer (CRC).

Object and methods: histological material of colon resections in patients with CRC. Immunohistochemistry with antibodies to tissue transglutaminase (tTG) and morphometric evaluation of histological slides were performed. The relationship between tTG expression and the main clinical and morphological characteristics of CRC was analyzed. Mass spectrometry was used to study the protein composition of various CRC compartments.

Obtained results and their novelty: for the first time, histological patterns of regional CRC metastases were established: comedo-like, classic, mature, and mucinous. The unfavorable prognosis of CRC is associated with predominance of comedo-like and mucinous patterns. Neutrophilic infiltration, the presence of tumor-infiltrating lymphocytes, and the type of stroma of the primary tumor predict the presence of metastases in the lymph nodes. Primary tumors in patients with CRC consist of three histological patterns: infiltrative, mucinous, and inflammatory. The infiltrative pattern is characterized by the earliest onset of progression and death. The significance of tTG expression in CRC has been established: a higher level of tTG in the stroma of the tumor center is associated with a longer period of survival. Classical and mature patterns of metastases are characterized by increased expression of tTG in cancer cells and stroma of the invasive front. Differences in the protein composition of the non-tumor mucosa of the colon, primary tumor, and regional metastases of CRC were established.

Field of application: pathology, gastroenterology, oncology.

Подписано в печать 25.10.23. Формат 60×84/16. Бумага писчая «Хероx office».
Ризография. Гарнитура «Times».
Усл. печ. л. 1,63. Уч.-изд. л. 1,5. Тираж 60 экз. Заказ 591.

Издатель и полиграфическое исполнение: учреждение образования
«Белорусский государственный медицинский университет».
Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя,
распространителя печатных изданий № 1/187 от 18.02.2014.
Ул. Ленинградская, 6, 220006, Минск.