

**Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Национальный медицинский исследовательский центр онкологии
имени Н.Н. Блохина»
Министерства здравоохранения Российской Федерации**

На правах рукописи

МОЧАЛЬНИКОВА ВАЛЕРИЯ ВАСИЛЬЕВНА

**МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ДИАГНОСТИКИ И ПРОГНОЗА РАННЕГО РАКА
ЖЕЛУДКА (ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ МУЦИНОВ, ФАКТОРОВ
КЛЕТОЧНОЙ АДГЕЗИИ И АПОПТОЗА)**

3.1.6 Онкология, лучевая терапия

3.3.2 Патологическая анатомия

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

Перовщиков Александр Григорьевич

МОСКВА - 2021 г

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	9
1.1 Ранний рак желудка, определение, прогноз и возможности диагностики лимфогенного метастазирования	9
1.2 Особенности клинико-морфологических характеристик РРЖ и их влияние на риск лимфогенного метастазирования	11
1.2.1 Клинические характеристики РРЖ. Пол и возраст больных	11
1.2.2 Морфологические характеристики РРЖ, способы измерения, влияние на риск лимфогенного метастазирования	12
1.3 Стратификация риска лимфогенного метастазирования и прогностические модели оценки риска лимфогенного метастазирования РРЖ	18
1.4 Иммуногистохимические прогностические факторы РРЖ	22
1.4.1 Муциновый иммунофенотип РРЖ и его прогностическое значение для риска лимфогенного метастазирования	22
1.4.2 Прогностическое значение экспрессии p 53 и E-катгерина для определения риска лимфогенного метастазирования РРЖ	24
1.5 Заключение	26
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	27
2.1 Демографическая характеристика РРЖ	28
2.2 Способы оценки морфологических параметров РРЖ	28
2.3 Общая характеристика случаев РРЖ	30
2.4 Иммуногистохимическое исследование, подготовка микропрепаратов	30
2.5 Методы статистического анализа данных. Математический анализ	31
ГЛАВА № 3. ПРОГНОСТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ РИСКА ЛИМФОГЕННОГО МЕТАСТАЗИРОВАНИЯ	33
3.1 Анализ и прогностическая значимость параметров РРЖ	33
3.1.1 Общая характеристика клинико-морфологических факторов и их прогностическая значимость для лимфогенного метастазирования	33
3.1.2 Отдаленные результаты	56
3.2 Стратификация риска и прогностическая модель оценки риска лимфогенного метастазирования РРЖ	58
3.3 Применение показаний JGCA к общей группе больных РРЖ (n=404)	64
3.3.1 Общая характеристика уровня регионарного метастазирования РРЖ соответствующего абсолютным и расширенным показаниям JGCA	64

3.3.2. Оценка риска регионарного метастазирования РРЖ при соответствии абсолютным и расширенным показаниям JGCA	65
3.3.3. Прогноз РРЖ при соответствии показаниям системы JGCA. Общая и опухоль-специфическая выживаемость больных РРЖ в соответствии с показаниями JGCA	66
3.4. Сравнение эффективности предложенной нами математической модели и эффективности системы отбора случаев РРЖ на эндоскопическую резекцию, предложенную JGCA	69
3.5. Стратификация риска и прогностическая модель оценки риска лимфогенного метастазирования РРЖ в группе случаев РРЖ, превышающего показания JGCA	72
ГЛАВА 4. ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ ПРОГНОЗА ЛИМФОГЕННОГО МЕТАСТАЗИРОВАНИЯ РРЖ	78
4.1 Общая характеристика муцинового профиля РРЖ	78
4.2 Морфологическая характеристика вариантов муцинового профиля РРЖ. Значение муцинового профиля для прогноза лимфогенного метастазирования РРЖ	81
4.3 Прогностическое значение муцинового профиля РРЖ в пределах показаний системы для отбора больных на эндоскопическую резекцию JGCA.	93
4.4 Прогностическое значение мембранной экспрессии E-катгерина для определения риска лимфогенного метастазирования РРЖ	94
4.5 Прогностическое значение ядерной экспрессии p53 для определения риска лимфогенного метастазирования РРЖ	98
4.6 Стратификация риска и прогностическая модель оценки риска лимфогенного метастазирования РРЖ с применением иммуногистохимического метода исследования	105
ГЛАВА 5. ОБСУЖДЕНИЕ	110
ВЫВОДЫ	129
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	131
СПИСОК УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ	132
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	133

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы и степень ее разработанности

По данным мировой статистики рак желудка (РЖ) является пятой, наиболее часто диагностируемой злокачественной опухолью и третьей по значимости причиной смерти от онкологических заболеваний [1,2]. Однако, ранний рак желудка (РРЖ) характеризуется благоприятным прогнозом – метастазирование при внутрислизистом РРЖ (T1a) составляет по данным литературы 1–3%, при РРЖ с подслизистой инвазией (T1b) до 11–32%, а 5-летняя выживаемость после радикального хирургического лечения достигает 90-95% [3,4,5,6,7,8,]. Разработка методов эндоскопической резекции (ЭРС) и метода эндоскопической резекции с подслизистой диссекции (ЭПД) [9] изменили принципы лечения раннего рака желудка (РРЖ), что кардинальным образом повлияло на качество жизни больных: сократилось время нетрудоспособности и стоимость лечения, снизилась послеоперационная летальность, сохранялись пищевые привычки и образ жизни [6,7,8,10]. Учитывая возможности контролируемой по глубине эндоскопической диссекции и полнослойной резекции РРЖ, вопросы местной радикальности операции во многом решены. Наличие местного рецидива или продолженного роста не является фатальным, так как предполагает возможность повторного вмешательства в том или ином объеме. Наиболее важной остается проблема регионарного лимфогенного метастазирования РРЖ, дооперационная клиническая диагностика которого весьма затруднительна. В свою очередь, прогностический метод расчета риска лимфогенного метастазирования РРЖ имеет более высокую прогностическую ценность, чем предоперационная клиническая диагностика метастатического процесса и является более надежным инструментом для отбора больных для ЭРС и ЭПД. Чувствительность прогностического метода составляет более 85% [11,12]. Предоперационный расчет риска лимфогенного метастазирования РРЖ основан на ретроспективном анализе клиническо-морфологических и иммуногистохимических характеристик статистически значимого количества случаев РРЖ с уже известной частотой лимфогенного метастазирования и производится на операционном материале расширенных хирургических операций.

Количественных моделей индивидуального прогнозирования риска лимфогенного метастазирования РРЖ, при использовании которых была бы возможность соотнести преимущества и риски вариантов лечения РРЖ для каждого конкретного больного, по-прежнему немного. Большинство из них разработано в странах Западно-Азиатского региона. Наиболее используемыми в настоящее время являются абсолютные показания к эндоскопическому лечению, предложенные JGCA [13] и расширенные показания Japan Clinical Oncology Group study (JCOG0607) [10]. Система показаний, предложенных JGCA, используется

в мировой практике уже более 2 десятилетий, однако их безопасность является предметом острых дискуссий [14,15,16,17,18,19,20,21,22]. Для оценки эффективности и безопасности показаний JGCA в Японии проводятся регулярные клинические испытания [23,24]. Возможно, проблема безопасности показаний JGCA заключается в том, что они основаны на ограниченном количестве прогностических факторов (размере, глубине инвазии, дифференцировки опухоли и наличию изъязвления). Поэтому, мировыми исследовательскими центрами прорабатываются и активно обсуждаются другие прогностические системы отбора больных для ЭЛ РРЖ, которые основаны на анализе большего количества характеристик опухоли. Это позволяет персонализировать тактику лечения РРЖ [25,26,27,28,29].

Выбор демографических и морфологических характеристик РРЖ, а также способы их оценки крайне важны для достижения высокой достоверности работы прогностической модели. Между популяциями больных восточных и западных стран могут существовать различия в этиологии и биологическом потенциале РЖ. Также нет сведений о безопасности применений показаний к ЭЛ РРЖ, предложенную JGCA, на российской популяции больных. Поэтому, рекомендации к ЭЛ РРЖ, разработанные на популяции больных стран Западно-Азиатского региона без учета особенностей метастазирования РРЖ, характерного для российской популяции больных, требуют проверки и уточнения. На сегодняшний день в России не предложено прогностической модели расчета риска метастазирования РРЖ, разработанной на операционном материале Российских научных центров. Ключом к рациональной эндоскопической хирургии РРЖ должно стать дальнейшее изучение клинико-морфологических факторов прогноза и более точные способы расчета риска метастазирования.

Цель исследования

Изучить прогностические факторы лимфогенного метастазирования на основе клинико-морфологических характеристик и иммуногистохимического профиля РРЖ.

Задачи исследования

1. Проанализировать клинические и морфологические характеристики РРЖ и выявить прогностически важные факторы лимфогенного метастазирования.
2. Создать прогностическую модель расчета риска лимфогенного метастазирования РРЖ.
3. Сравнить эффективность разработанной нами прогностической модели с эффективностью системы показаний к ЭЛ, предложенной JGCA.
4. Определить варианты муцинового профиля РРЖ и особенности экспрессии E-катгерина и p53. Установить корреляционную зависимость вариантов иммуногистохимического профиля РРЖ с частотой лимфогенного метастазирования.
5. Проанализировать общую и безрецидивную выживаемость больных РРЖ.

Научная новизна исследования

Впервые на значительном клиническом материале российской популяции больных РРЖ проведен комплексный анализ клинических, морфологических и иммуногистохимических характеристик РРЖ с учетом требований современных классификаций. Разработаны клинко-морфологические и иммуногистохимические прогностические критерии для эндоскопического лечения РРЖ. Впервые проведена оценка эффективности применения абсолютных и расширенных показаний, предложенных JGCA, на российской популяции больных и сравнение эффективности системы показаний JGCA с эффективностью, разработанной в исследовании прогностической модели расчета риска лимфогенного метастазирования РРЖ.

Теоретическая и практическая значимость

Использование разработанной в исследовании математической прогностической системы расчета риска лимфогенного метастазирования РРЖ позволит расширить и стандартизировать показания к эндоскопическому лечению РРЖ и оптимизировать стратегию лечения больных после эндоскопического удаления опухоли.

Методология и методы исследования

Методология данного научного исследования заключалась в морфологическом и иммуногистохимическом исследовании ретроспективного операционного материала больных РРЖ, изучении клинических, морфологических и иммуногистохимических факторов риска метастазирования, данных 5, 10 и 15-летней общей и опухольспецифической выживаемости больных РРЖ, статистическом анализе полученных результатов, разработке математической прогностической модели расчета риска лимфогенного метастазирования РРЖ, проверке работы прогностической модели и сравнении результатов работы прогностической модели с результатами при использовании системы JGCA и формулировании выводов исследования.

Решение поставленных задач осуществлялось на основе применения общенаучных методов исследования в рамках сравнительного, логического и статистического анализа, а также посредством анализа структуры, динамики и графической интерпретации результатов частоты лимфогенного метастазирования РРЖ.

Для проведения работы был разработан дизайн ретроспективного исследования. Критериями включения в исследование были: гистологический диагноз РРЖ, из исследования были исключены случаи с исследованием менее 12 лимфатических узлов, случаи пенетрации изъязвления в мышечный слой и случаи с операционным материалом недостаточного качества.

На первом этапе исследования в базе данных НМИЦ «Онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России за период с 1990 по 2006 годы выявлено 404 больных РРЖ. Создана база

данных РРЖ и собраны данные катамнеза пациентов с целью уточнения клинического статуса пациентов на момент проведения исследования. Был проведен анализ клинических морфологических и иммуногистохимических характеристик РРЖ. На втором этапе исследования был проведен однофакторный и многофакторный регрессионный анализ с идентификацией значимых клинических, морфологических и иммуногистохимических факторов, влияющих на лимфогенного метастазирование и разработана математическая прогностическая модель расчета риска лимфогенного метастазирования РРЖ. Статистический анализ выполнен с помощью программы Statistica for Windows v.10 и SPSS v.21.

Положения, выносимые на защиту

1. Возможность расчета индивидуального риска лимфогенного метастазирования РРЖ с целью определения тактики лечения РРЖ – эндоскопического лечения или расширенной хирургической операции.
2. Безопасность использования абсолютных и расширенных показаний системы JGCA, и уточнение расширенных показаний JGCA с помощью предложенной нами прогностической модели расчета риска метастазирования РРЖ.
3. Возможность проведения эндоскопического лечения в некоторых случаях РРЖ, морфологические характеристики которых не соответствуют расширенным показаниям системы JGCA, с учетом использования уточненного решающего правила, обладающего более органосохраняющим потенциалом при незначительном превышении риска лимфогенного метастазирования.

Степень достоверности и апробация результатов

Исследование согласуется с современными представлениями и опубликованными результатами изучения клинических, морфологических и иммуногистохимических факторов метастазирования РРЖ. В работе приводится сравнение полученных в результате исследования данных с данными литературы. Установлено количественное и качественное совпадение результатов исследования с результатами, представленными в независимых литературных источниках по данной теме. Большой клинический материал, всесторонний анализ морфо-иммуногистохимических данных, стандартизированная оценка, а также современные методы статистической обработки свидетельствуют о достоверности полученных результатов.

Материалы диссертации доложены и обсуждены на Международном форуме «Инновационные технологии» (Москва, 2021 г), конференции RUSSCO «Опухоли ЖКТ» (Москва, 2021 год).

Апробация работы состоялась 13 апреля 2021 года на совместной научной конференции отдела морфологической и молекулярно-генетической диагностики опухолей,

эндоскопического отделения, онкологического отделения хирургических методов лечения №6 (абдоминальной онкологии), онкологического отделения лекарственных методов лечения №17, химиотерапевтических отделений №2, №3, №6 НИИ клинической онкологии имени академика РАН и РАМН Н.Н. Трапезникова ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, лаборатории регуляции клеточных и вирусных онкогенов НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина».

Автор принимал непосредственное участие во всех этапах выполнения научно-исследовательской работы: проведении аналитического обзора литературных данных, подготовке цели и задач исследования, разработке дизайна, пересмотре микропрепаратов и статистическом анализе полученных данных, в обобщении и систематизации результатов исследования, формулировке выводов и оформлении диссертационной работы, в подготовке публикаций по выполненной работе.

Разработанная прогностическая система расчета риска лимфогенного метастазирования РРЖ используется в эндоскопическом отделении ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России для отбора больных на ЭЛ РРЖ, а также для определения безопасности проведенного эндоскопического лечения.

По теме диссертации опубликовано 5 печатных работ, 3 печатные работы в научных журналах, рекомендованных ВАК РФ.

Диссертация изложена на 148 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, анализа полученных результатов, обсуждения, выводов, практических рекомендаций, списка условных сокращений и списка литературы, включающего 182 источников, приложения. Работа иллюстрирована 104 таблицами, 25 рисунками.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

РАННИЙ РАК ЖЕЛУДКА. КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ И РИСК ЛИМФОГЕННОГО МЕТАСТАЗИРОВАНИЯ

1.1 Ранний рак желудка, определение, прогноз и возможности диагностики лимфогенного метастазирования

2018 г в мире было диагностировано более 1 000 000 вновь выявленных случаев рака желудка. Также, рак желудка стал причиной смерти в 783 000 случаев (1 из 12 случаев смерти в мире от онкологических заболеваний). Он является пятым наиболее часто диагностируемым раком и третьей по значимости причиной смерти от онкологических заболеваний [1,2,3]. В то же время РРЖ характеризуется благоприятным прогнозом – метастазирование при внутрислизистом РРЖ (T1a) составляет 1–3%, при РРЖ с подслизистой инвазией (T1b) до 11–32%, а 5-летняя выживаемость после радикального хирургического лечения достигает 90-95% [4,5,6,7,8]. Развитие эндоскопической техники в странах Западно-азиатского региона позволяет диагностировать половину из вновь выявленных случаев РЖ в стадии T1 (a-b) [9,10]. Принятое на ежегодном собрании Японской Ассоциации по РЖ 1963 года определение РРЖ остается неизменным. **Ранний рак желудка** - это комплексное клиничко-морфологическое понятие, определяющее карциному желудка, распространяющуюся в пределах слизистого и подслизистого слоя, независимо от наличия или отсутствия метастазов в регионарных лимфатических узлах [13]. Совершенствование техники эндоскопической хирургии дало возможность проведения эндоскопического удаления пораженного опухолью фрагмента слизистой оболочки желудка с возможной дополнительной ДПС. Это кардинальным образом улучшило качество жизни пациентов, сократило время нетрудоспособности и затраты на лечение, снизило частоту послеоперационных осложнений [9,10]. К настоящему моменту Азиатскими и Европейским сообществом выработаны согласованные подходы к оптимальным методикам эндоскопической внутрислизистой хирургии и критериям отбора пациентов. Так, например, ESGE рекомендует ЭЛ для РРЖ размером менее 15 мм [30], а JGCA рекомендует ЭРС для высокодифференцированного РРЖ размером менее 2 мм без изъязвления и ЭПД при соответствии расширенным показаниям [10,13]. Однако ЭЛ РРЖ имеет свои ограничения. Это – техническая возможность удаления опухоли и невозможность достоверной клинической диагностики метастатического процесса. Несмотря на активное развитие технологий в области диагностики, на сегодняшний день не существует клинических возможностей достоверного выявления метастазов у больных РРЖ на дооперационном этапе. Многочисленные классические и инновационные методы клинических исследований не показали должных результатов. Так, например, при обследовании 327 больных РРЖ с применением всех

известных методов клинической диагностики, только у 4 из 45 пациентов метастазы были диагностированы до операции с помощью компьютерной томографии [14]. Методики исследования сторожевых лимфатических узлов с применением красителей и радиоизотопов, также не показали надежных результатов, хотя признаны перспективными направлениями диагностики лимфогенного метастазирования [31,32]. С учетом проблем в дооперационной диагностике метастатического процесса, прогнозирование риска метастазирования РРЖ является основным способом отбора больных для ЭЛ. Расчет риска лимфогенного метастазирования основан на анализе клиническо-морфологических характеристик статистически значимого количества случаев РРЖ с уже известной частотой лимфогенного метастазирования и производится на операционном материале расширенных хирургических операций, однофакторном и многофакторном логистическом анализе полученных данных и создании математической прогностической модели расчета риска лимфогенного метастазирования. Легитимность предоперационного расчета риска метастатического процесса доказана Nakagawa М. и соавт. [11]. Авторы провели сравнительный анализ данных эффективности диагностики метастатического процесса, полученных при клиническом обследовании и при расчете прогностического риска лимфогенного метастазирования в одних и тех же случаях, и сравнили полученные данные с частотой метастазирования после исследования операционного материала этих больных. Так при предоперационной компьютерной томографии метастазы в регионарные лимфатические узлы были диагностированы лишь в 20,2% случаев РРЖ, а у 6,2% больных РРЖ была гипердиагностика метастатического процесса. В итоге исследователи пришли к выводу, что прогнозирование лимфогенного метастазирования РРЖ заслуживает большего доверия, чем предоперационная клиническая диагностика метастатического процесса [11].

Так как некоторые морфологические характеристики РРЖ можно исследовать только после эндоскопического удаления опухоли, в мировой практике используется двухэтапная система отбора больных РРЖ для эндоскопического лечения. Первым этапом проводится эндоскопическое удаление опухоли, по своим характеристикам соответствующей показаниям к ЭЛ. Вторым этапом, после полного морфологического исследования удаленной опухоли, является оценка риска лимфогенного метастазирования с использованием различных прогностических систем. При превышении уровня риска лимфогенного метастазирования РРЖ больному должна быть предложена дополнительная расширенная хирургическая операция [33].

Демографические и морфологические характеристики РРЖ имеют различное прогностическое значение. Соответственно, выбор факторов РРЖ, включенных в прогностическую модель, а также их тщательная оценка крайне важны для достижения высокой достоверности работы прогностической модели. В мировой литературе существуют

определённые разночтения в способах измерения и трактовках влияния клинко-морфологических факторов РРЖ на лимфогенное метастазирование, риск рецидива и долгосрочные результаты. Вследствие этого, ключом к рациональной эндоскопической хирургии РРЖ является дальнейшее изучение клинко-морфологических прогностических факторов метастазирования РРЖ и более точные способы расчета риска метастазирования.

1.2 Особенности клинко-морфологических характеристик РРЖ и их влияние на риск лимфогенного метастазирования

1.2.1 Клинические характеристики РРЖ. Пол и возраст больных

Наиболее часто РРЖ диагностируется у пациентов в возрасте от 50 до 60 лет, ($57,43 \pm 11,5$ года) [12], а средний возраст больных РРЖ составляет 59,6 лет [34]. Рак желудка у молодых пациентов (до 40 лет) чаще встречается у женщин, как правило представлен диффузным и недифференцированным гистологическим типом и имеет более низкую безрецидивную выживаемость [34,35]. По данным исследования Ramos M. и соавт. молодой возраст не является независимым фактором лимфогенного метастазирования РРЖ [35]. Среди пациентов до 40 лет соотношение мужчин и женщин составляет 1:1,08, а среди возрастных пациентов (возраст > 40 лет) – М:Ж - 2,5: 1 [36]. В общевозрастной группе при РРЖ, как и при распространенном РЖ, наблюдается некоторое преобладание мужчин. В странах Западно-азиатского региона соотношение М:Ж составляет 2.5:1, а стандартизированные по возрасту показатели заболеваемости раком желудка (возрастная группа до 50 лет) у мужчин примерно в два раза выше, чем у женщин [37]. Считается, что половые гормоны (эстрогены) защищают женщину от развития неопластического процесса, а преобладание мужчин в этой возрастной группе связано с задержкой развития опухолевого процесса у женщин на 10-15 лет, которые «догоняют» мужчин только после менопаузы [38]. Данные зависимости частоты регионарного метастазирования РРЖ от пола больных также неоднородны. Часть исследователей отмечают что пол и возраст являются факторами лимфогенного метастазирования [39] и отмечают, что женский пол является прогностическим фактором риска регионарного метастазирования [40,41,42]. В отличие от Kim S. [39], в исследовании Zhao X. и соавт. [43] женский пол является неблагоприятным признаком лимфогенного метастазирования только после 60 лет. Kim DY и соавт. получили данные, что мужской пол является важным прогностическим фактором метастазирования [8]. Наиболее вероятно, что в зависимости от пола и возраста больных различные морфологические факторы РРЖ имеют различную прогностическую значимость [12]. Так Kim KJ и соавт. получили данные, что только при недифференцированном РРЖ возраст старше 60 лет является фактором высокой частоты регионарного метастазирования [44]. В тоже время опубликованы исследования, в которых не наблюдалось влияния возраста и

пола больных на частоту регионарного метастазирования РРЖ [45,46]. Так, в исследовании Okabayashi T. и соавт. частота лимфогенного метастазирования РРЖ не зависела от всех исследованных демографических данных, включая место регион проживания [47].

1.2.2 Морфологические характеристики РРЖ, влияющие на частоту лимфогенного метастазирования

Общепризнанными морфологическими факторами прогноза риска лимфогенного метастазирования РРЖ являются локализация, размер и глубина инвазии опухоли, макроскопический тип, гистологический тип и степень дифференцировки опухоли, наличие фиброза и изъязвления, наличие лимфоваскулярной инвазии.

Локализация РРЖ. На основании классификации карцином желудка, предложенной JGCA, расположение опухоли делится на три категории: U - верхняя треть, M - средняя треть, и L - нижняя треть [13]. Также, рак желудка делится на две топографические категории (кардиальный и некардиальный) [48]. Локализация РРЖ в верхней трети и кардиальном отделе желудка является существенным фактором риска метастазирования [49,50]. Рак кардиального отдела коррелирует с кишечным гистологическим типом (по классификации Lauren P. [50]), часто связан с изучаемыми в последнее время хромосомными маркерами молекулярных подтипов желудка, имеет мутации TP53 и рецепторов тирозинкиназы [51]. В исследовании Kim, S. и соавт. отмечается, что локализация РРЖ в кардиальном отделе является независимым фактором лимфогенного метастазирования [39]. В части исследований не выявлено зависимости лимфогенного метастазирования от локализации РРЖ. Так Kim K. и соавт. показали, что локализация опухоли важна при недифференцированном гистологическом типе РРЖ, однако этот фактор не являлся независимым прогностическим фактором [44]. Nam M. и соавт. не выявили зависимости частоты лимфогенного метастазирования от локализации опухоли при исследовании 2524 случаев внутрислизистого РРЖ (верхняя треть – 1,4%, средняя треть = 2,3%, нижняя треть - 2,3%) [52].

Глубина инвазии РРЖ является важнейшим прогностическим фактором риска лимфогенного метастазирования РРЖ, так как подслизистый слой стенки желудка содержит большое количество кровеносных и лимфатических сосудов [20,54]. Первым, простым и удобным способом измерения является градация глубины инвазии РРЖ в пределах слизистой оболочки (M – внутрислизистый РРЖ) и подслизистого слоя (SM). По данным литературы при внутрислизистом РРЖ метастазы в лимфатических узлах встречаются в 0 - 5%, при инвазии в подслизистый слой в 11-32% [3,4,5,6,7,8]. Исследование глубины инвазии РРЖ в пределах собственно слизистой оболочки - M1, M2 и M3 дискуссионно. В одной из немногих западных статей отмечается, что ЭЛ РРЖ должно быть ограничено глубиной инвазии M1 и M2, так как

при глубине инвазии M3 частота метастазирования достигала 13%, однако исследование проводилось без учета других факторов РРЖ, связанных с метастазированием [53]. Аналогично, в работе Ronellenfitsch U. и соавт. при инвазии опухоли M1 метастазов не наблюдалось, при инвазии M2 частота метастазирования составила 2,1%, при инвазии M3 - 7,4%, однако исследование также проводилось на небольшой выборке и без учета других факторов риска метастазирования [54]. Другие авторы утверждают, что релевантная частота метастазирования при многофакторном анализе определяется только при инвазии РРЖ в подслизистый слой (pT1b) или зависит от других прогностических факторов [4,55,56]. Также общепризнанной градацией глубины инвазии РРЖ является подразделение инвазии в пределах M, SM1 и SM2 (M - рост опухоли в пределах слизистой оболочки желудка, SM1 - прорастание опухоли до 2/3 визуальной толщины подслизистого слоя стенки желудка, SM2 - прорастание опухоли всей толщины подслизистого слоя стенки желудка без признаков врастания в мышечный слой) [57]. Согласно рекомендациям, JCGA SM1 соответствует глубине прорастания 0,5 мм, SM2 – более 0,5 мм [13]. Yasuda K. и соавт. предложили способ измерения глубины инвазии подслизистого РРЖ, с пошаговой градацией в 100 мкм. При инвазии опухоли в подслизистый слой менее чем на 300 мкм и размере опухоли менее 3 см метастазы в лимфатических узлах отсутствовали. При глубине инвазии 300-1000мкм частота метастазирования достигала 19%, в опухолях с глубиной инвазии более 1000мкм - 14% [58]. Совершенствуется методика измерения глубины инвазии РРЖ. Классический метод JGCA/Gotoda T. предлагает измерять глубину инвазии от самого нижнего фрагмента мышечной пластинки слизистой оболочки до самой глубокой точки прорастания опухоли, что при разволокненной опухоли мышечной пластинке может существенно уменьшить глубину инвазии. [59]. Для объяснения нечастых случаев лимфогенного метастазирования при РРЖ глубине инвазии до 0,5 мм Kim J. и соавт. [60] предложили модифицированный метод измерения глубины инвазии РРЖ, аналогично измерению инвазии аденокарциномы эндометрия и меланомы [61,62]. За точку отсчета Kim J. и соавт. взяли воображаемую линию с соседней, непораженной опухолью мышечной пластинкой. Авторы выделили обычный/нормальный, гипертрофический и прерывистый варианты разрушения мышечной пластинки слизистой оболочки и рекомендовали стандартное измерение глубины инвазии подслизистого слоя от самого нижнего фрагмента мышечной пластинки у опухолей с нормальным вариантом, а при опухолях с прерывистым и гипертрофическим вариантом – от мнимой линии, соединяющей края неизменной мышечной пластинки слизистой оболочки, что увеличивает глубину инвазии РРЖ. Также данные об проблемах достоверности оценки глубины инвазии РРЖ представила группа ученых из Сеула. Они провели эксперимент и доказали, что неправильная фиксация и

чрезмерное растяжение эндоскопически удаленного фрагмента может искусственно увеличить размеры опухоли и уменьшить глубину инвазивного компонента [63].

Размер опухоли является общепризнанным независимым прогностическим фактором лимфогенного метастазирования РРЖ. Так Wu Z. и соавт. (n=157) при размере опухоли до 1 см не выявили метастазов в регионарные лимфатические узлы, при размере опухоли 1,1-2,0 см частота метастазирования составила 6,4%, при размере опухоли более 2 см – 21,5% [56]. Okabayashi и соавт. (n=440) установили, что размер опухоли более 3,5 см является независимым фактором лимфогенного метастазирования [47]. Изучается влияние других характеристик РРЖ на частоту лимфогенного метастазирования в сочетании с размером опухоли. Так в исследовании Chung J. и соавт. в случаях недифференцированного РРЖ размером менее 1 см метастазов выявлено не было [64]. В исследовании Shen L. и соавт. при внутрислизистом РРЖ размер опухоли является единственным фактором риска лимфогенного метастазирования. При максимальном размере РРЖ менее 2 см - метастазирование составило 3,29% и увеличивалось до 10,39% при увеличении размера опухоли более 2 см [65]. По данным Kunisaki С. и соавт (n=573) при недифференцированном внутрислизистом РРЖ при размере опухоли до 2 см метастазов выявлено не было, при размере опухоли более 2 см частота метастазирования составила 1,7%, а при подслизистом недифференцированном РРЖ менее 2 см – 2,4% [66].

Макроскопический тип. Согласно классификации JGCA, РРЖ подразделяется на три макроскопических типа (тип 0 I, тип 0 II, (0 IIa, 0 IIb, 0 IIc) и тип 0 III. Макроскопический тип не является прямым отражением глубины инвазии РРЖ [13]. Как правило, 0 III макроскопический тип связан с более высокой частотой лимфогенного метастазирования. Так в исследовании Wang Y. и соавт. при 0 III макроскопическом типе РРЖ наблюдалась высокая частота метастазирования - 30,8%, однако статистически значимых различий между макроскопическими типами исследователи выявлено не было [21]. Так Kuofuji и соавт. (n=764) установили, что в случаях внутрислизистого РРЖ, метастазирование составило 0,9% для 0 I типа и 2,4% для 0 III типа. В случаях РРЖ с подслизистой инвазией, метастазирование составило 25,3% для 0 I типа и 17,3% для 0 III типа, однако данные не достигли статистической значимости [67]. В исследовании Park D. и соавт. при РРЖ с подслизистой инвазией 0 I макроскопического типа лимфогенное метастазирование составляло 34,8%, а для 0 II макроскопического типа 50,0%, соответственно. По данным литературы это одни из самых высоких показателей метастазирования подслизистого РРЖ [68]. При однофакторном анализе в различных исследованиях макроскопический тип определялся как фактор метастазирования при подслизистом РРЖ [69], при дифференцированном РРЖ [70], при недифференцированном РРЖ [71] и перстневидноклеточном РРЖ [42]. Однако, в большинстве публикаций макроскопический тип не отмечен как независимый фактор лимфогенного метастазирования.

Изъязвление и перитуморальный фиброз РРЖ. Поверхностное изъязвление - важный прогностический признак лимфогенного метастазирования РРЖ [57], однако термин «изъязвление» до сих пор не имеет четкого определения. Эндоскопическому термину «изъязвление» обычно соответствуют язвенные дефекты более 5 мм в диаметре, с пенетрацией до мышечной пластики слизистой оболочки и глубже в подслизистый слой, однако с практической точки зрения точность измерения таких параметров зависит от опыта эндоскописта, проводящего исследование [72]. Классификация JGCA включает в термин «изъязвление» случаи изъязвления без перитуморального фиброза, случаи изъязвления в сочетании с перитуморальным фиброзом и случаи сопутствующего фиброза без видимого поверхностного изъязвления. Глубину изъязвления и степень выраженности перитуморального фиброза классификация JGCA не уточняет [13]. В части работ термином «изъязвление» определяется истинное поверхностное изъязвление опухоли с перифокальной воспалительной реакцией без учета перитуморальных фиброзных изменений [73,74]. Однако перитуморальный фиброз, как и стромальное микроокружение опухолевых клеток являются важными временными и прогностическими признаками РРЖ. В 2005 году Zigirino и соавт. описали процесс рубцевания, как способность опухолевых клеток модифицировать строму путем изменения клеточного метаболизма прилежащей соединительной ткани и модулирования ангиогенеза [75]. Перитуморальный фиброз отличается от реактивного фиброза [76]. Исследуя факторы метастазирования РРЖ, в 2000г Gotoda T. (n=5265) в своих работах впервые подчеркнул, что объединил в термине "изъязвление" два процесса - собственно изъязвление и последующее рубцевание. При этом, если зона фиброза распространялась на всю толщину подслизистого слоя с переходом на мышечный слой, но опухолевые клетки определялись только в пределах слизистой оболочки такой РРЖ был классифицирован как внутрислизистый. Gotoda T. также отметил, что у трети случаев РРЖ с макроскопическим типом 0 III морфология опухоли может изменяться с течением времени и переходить в 0 II тип [57,59]. Дело в том, что изъязвление не является статичным процессом и циклично изменяется в течение всего времени существования опухоли. **Sakita T.** и соавт. впервые в 1971 г описали цикл развития "злокачественной язвы" как процесс нарастания опухолевой массы с последующим нарушением кровообращения, и как следствие - развитием поверхностного изъязвления с последующим постепенным заживлением язвенного дефекта и формированием рубца. Такой цикл может повторяться неоднократно, и в пределах одной опухоли часто можно наблюдать различную глубину поверхностного изъязвления и рубцовых изменений стенки желудка [77]. Цикличность изъязвления и рубцевания РРЖ также была продемонстрирована в ряде исследований. Так, при регулярном наблюдении 231 больных РРЖ с макроскопическим типом 0 III в течение 23 дней, Im J. и соавт. продемонстрировали, что поверхностное изъязвление

может появляться в течении определенного времени после выявления РРЖ. Противоязвенная терапия вызвала последующее рубцевание изъязвления, а скорость рубцевания зависела от глубины инвазии и длительности лечения [78]. Тот факт, что термин «изъязвление» и «перитуморальные фиброзные изменения» не имеют однозначного определения, является проблемой для сопоставления результатов. Kwee R. и соавт. при мета-анализе данных 147 исследований (n=2625) также выявили разночтения в терминологии «изъязвление» [42]. В большей части работ вообще не приводилось данных о том, что именно авторы берут за основу – поверхностное изъязвление РРЖ без разрушения мышечной пластинки слизистой оболочки или более глубокое изъязвление с сопутствующим фиброзом. Поэтому, та часть авторов, которая учитывала только поверхностное изъязвление РРЖ в итоге, для случаев изъязвленного РРЖ, получила более низкий риск лимфогенного метастазирования и лучший прогноз, а авторы, которые включили в термин "изъязвление" и фиброзные изменения получили высокую частоту лимфогенного метастазирования и, соответственно, худший прогноз [42].

На современном этапе, наиболее точным считается включение в термин «изъязвление» не только поверхностного дефекта слизистой оболочки, но и наличие деформации мышечной пластинки слизистой оболочки и фиброза подслизистого слоя [79]. По данным большинства исследований изъязвление существенным образом влияет на лимфогенное метастазирование РРЖ. Shimada S. и соавт. (n=562) при размере опухоли менее чем 1,5 см выявили метастазы во всех случаях с поверхностным изъязвлением, тогда как при неизъязвленном внутрислизистом РРЖ размером до 1,5 см метастазов не наблюдалось. В случаях дифференцированного внутрислизистого РРЖ без изъязвления метастазы не наблюдались независимо от размера опухоли [74]. Haruta H. и соавт. (n=718) выявили признаки изъязвления и перитуморального фиброза различной степени выраженности во всех случаях метастазирования внутрислизистого РРЖ, а в случаях без изъязвления метастазы не определялись независимо от размера и гистологического типа опухоли [80]. Nishida T. И. соавт. (n=116) при дифференцированном РРЖ с подслизистой инвазией, включая инвазию практически до мышечного слоя, отметили, что отсутствие изъязвления является основным показанием для ЭЛ РРЖ [81]. В другом исследовании, при недифференцированном РРЖ изъязвление не являлось фактором риска метастазирования [82]. В противоположность предшествующим исследованиям, в небольшой части работ не обнаружилось значимой связи между изъязвлением и частотой лимфогенного метастазирования РРЖ, и этот факт требует дальнейшего изучения [15,39].

Гистологический тип и степень дифференцировки. Большинство общепризнанных гистологических классификаций РЖ основаны на способности опухолевых клеток к образованию железистых структур и секреции слизи. Наиболее значимые гистологические классификации: ВОЗ 2019 год [83], JCGA 2017год [13], классификация Lauren P. [50],

классификация **Nakamura К.** [82], являются формально-морфологическими, хотя используются на практике очень широко. Как и при распространенном РЖ, при РРЖ ни одна из классификаций в полной мере не отражает риск лимфогенного метастазирования.

Классификация Lauren P. [50]. классификация, предложенная Рекка Lauren в 1965 год, включает в себя четыре гистологических типа: кишечный (интестинальный), диффузный, смешанный (количество второго компонента более 20%) и неклассифицируемый, однако в большинстве исследований используются два или три гистологических типа этой классификации: кишечный и диффузный, или кишечный, диффузный и смешанный. Считается, что диффузный и смешанный гистотипы прогностически более неблагоприятны, чем кишечный тип. Так в исследовании Nesi G. и соавт. диффузный тип являлся независимым фактором лимфогенного метастазирования РРЖ [85]. Руо J. и соавт. определили, что смешанный гистологический тип был наиболее неблагоприятным прогностическим фактором [86]. При многофакторном регрессионном анализе Ronellenfitsch U. и соавт. кишечный тип коррелировал с низкой частотой метастазирования РРЖ [54]. Однако другие исследования не выявили связи между гистологическими типами по классификации Lauren P. и частотой лимфогенного метастазирования РРЖ [52, 59,87].

Гистологические классификации JCGA 2017 года [13] и ВОЗ 2019 года [83] в последнее время унифицированы. **Классификация JCGA 2017 года [13]** дифференцирует карциномы желудка на: папиллярные и муцинозные (без учета степени дифференцировки), тубулярные (высокой и умеренной степени дифференцировки), низкодифференцированные карциномы (солидный, несолидный и перстневидноклеточный типы), смешанные и редкие. **Классификация ВОЗ 2019 года** выделяет папиллярные карциномы, тубулярные (высокой и низкой степени дифференцировки), муцинозные карциномы, низкодифференцированные карциномы (солидный тип), дискогезивные/диффузные карциномы (перстневидноклеточный и другие типы) и редкие типы карцином. Гистотип и степень дифференцировки влияют на частоту лимфогенного метастазирования, что отмечено в большинстве исследований. Так при многофакторном анализе Lai J. и соавт. (n=2873, классификация ВОЗ) частота лимфогенного метастазирования при ВДАК составляла 5,3%, умеренно УДАК - 14,8%, НДАК - 17,0%, а при ДК - 6,3%, однако авторы исключили из исследования папиллярные аденокарциномы [88]. В других исследованиях также отмечено, что перстневидноклеточный тип ДК имеет более низкую частоту лимфогенного метастазирования и лучший прогноз, чем НДАК. [25,45,89]. В странах Западно-Азиатского региона часто используется **классификация проф. Nakamura К.**, опубликованная им в 1968 год [82], которая представляет собой достаточно простую классификацию, учитывающую только степень дифференцировки опухоли, без учета гистологического типа и секреторной активности опухолевых клеток. Недифференцированный

тип имеет более высокий риск лимфогенного метастазирования, чем дифференцированный. По данным Tanabe H. и соавт. (n=699), частота метастазирования РРЖ при дифференцированном типе составила 2,1%, при недифференцированном типе – 12,8% [90]. При дифференцированном внутрислизистом РРЖ, по данным Kim D и соавт. лимфогенное метастазирование составило 6,5% в то время как при недифференцированном типе - 13,6% [8]. При исследовании РРЖ с подслизистой инвазией Chen L. и соавт. при дифференцированном типе выявили 17,0% случаев метастазирования, недифференцированном типе - 32,5% [91].

Лимфатическая и кровеносная инвазия. Лимфоваскулярная инвазия является важным фактором риска лимфогенного метастазирования, однако лимфатические сосуды и капилляры при рутинной окраске гематоксилин/эозином дифференцировать довольно затруднительно. Fujimoto A. и соавт. используя антитела, специфичные для лимфатических и кровеносных сосудов при многофакторном анализе выявили, что значимым признаком лимфогенного метастазирования была именно лимфатическая инвазия. Также, оказалось невозможным идентифицировать посткапиллярные вены и лимфатические сосуды, поэтому в неопределенных случаях было принято решение использовать термин «лимфоваскулярная инвазия». [92]. Исследования в этой области позволяют сделать вывод, что переключение энергетики опухолевой клетки на анаэробный тип дыхания определяет лимфогенный путь метастазирования, так как опухолевые клетки не растут в сторону тканей, насыщенных кислородом [93]. Наличие лимфоваскулярной инвазии является прямым показанием к гастректомии, так как ЭЛ РРЖ не считается радикальным. В исследовании Liu C. и соавт. (n=188) лимфо-васкулярная инвазия являлась независимым негативным прогностическим фактором течения РРЖ даже при отсутствии метастазов в регионарных лимфатических узлах [94].

1.3 Стратификация риска лимфогенного метастазирования прогностические модели оценки риска лимфогенного метастазирования РРЖ

На сегодняшний день не существует универсальных и точных методов дооперационной клинической диагностики метастатического процесса. Таким образом, ЭЛ РРЖ сталкивается с определенной степенью риска нерадикальности [95,96]. Вследствие этого, точное прогнозирование риска лимфогенного метастазирования РРЖ имеет решающее значение для определения стратегии лечения РРЖ. Прогностические модели расчета риска лимфогенного метастазирования основаны на многофакторном анализе клиническо-морфологических характеристик статистически значимого количества случаев РРЖ с аналогичными параметрами и уже известным уровнем регионарного метастазирования. В 1989 году, Maquyama K. И соавт. одними из первых разработали прогностическую модель расчета риска метастазирования,

основанную на морфологических характеристиках 3843 случаев РРЖ после гастрэктомии с расширенной лимфодиссекцией [97]. Прогностическое значение предложенной Manzoni G. и соавт. модели было признано высоко значимой [98].

В настоящее время наиболее используемыми показаниями отбора случаев РРЖ на ЭЛ служат абсолютные показания для ЭРС и расширенные показания для ЭПД JGCA [13,99], разработанные при анализе крупных баз данных больных РРЖ, включавших более 5 тыс. случаев [57,59]. Однако, не все учреждения признают показания JGCA безопасными, а риск метастазирования РРЖ при соответствии различным критериям ЭЛ является предметом острых дискуссий [100,101,102]. В одном из крупнейших мета-анализов (Abdelfatah M. и соавт.; n=9798) сообщается, что при соответствии характеристик РРЖ абсолютным показаниям JGCA метастазы в регионарных лимфатических узлах были обнаружены в 0,2% случаев (6/3025) [102]. Поэтому, возможно небезосновательно, часть исследователей не считают абсолютные показания JGCA безопасными и утверждают, что гастрэктомия с D-2 лимфодиссекцией должна быть необходимой стандартной хирургической операцией для пациентов с РРЖ [103,104,105]. Тем не менее, в настоящее время абсолютные показания JGCA включены в большинство известных рекомендаций: ВОЗ [83], NCCN Guidelines 2016 [106], ESMO [107].

При соответствии характеристик РРЖ расширенным показаниям JGCA также в небольшом проценте случаев наблюдается лимфогенное метастазирование (Abdelfatah M. и соавт., 0,7% случаев; 68/9798) [102]. Однако, в мировой литературе такие показатели риска считаются приемлемыми. Утверждается, что значительная часть пациентов с РРЖ могла бы выиграть при применении расширенных показаний, чтобы избежать снижения качества жизни, связанной с резекцией желудка, и снизить послеоперационную летальность, которая составляет по мировым данным 1,0-3,0% [14,59,89]. Расширенных показаний JGCA частично придерживается Oita Medical University [11], который предлагает ЭПД дифференцированных карцином с инвазией в поверхностные отделы подслизистого слоя. Парижская эндоскопическая классификация поверхностных неоплазий ЖКТ считает, что ЭПД можно подвергать РРЖ III 0 макроскопического типа диаметром до 1 см и предельной инвазией в подслизистый слой не более 500мкм [108]. Часть исследователей напротив, по-прежнему квалифицирует расширение показаний к ЭЛ РРЖ как процедуру риска. Также высказываются мнения, что ЭПД соответствии с расширенными показаниями может привести к задержке выявления лимфогенного метастазирования и, соответственно, к несвоевременности необходимого лечения, включая хирургию и химиотерапию [109,110].

Для детального исследования риска метастазирования при соответствии расширенным показаниям JGCA Abdelfatah M. и соавт. (n=9798) сравнили риск метастазирования с риском при соответствии абсолютным показаниям. Доказано, что частота метастазирования для РРЖ,

соответствующего первому и второму расширенным показаниям ЭЛ JGCA была незначительно выше (0,57%), чем частота метастазирования при соответствии РРЖ абсолютным показаниям (0,27%). При соответствии 3 и 4 показаниям наблюдалась значительно более высокая частота лимфогенного метастазирования (2,6%), по сравнению с абсолютными показаниями (0,27%). Было предложено, что решение об ЭЛ недифференцированного РРЖ размером ≤ 2 см и дифференцированного РРЖ SM1 (T1b) должно быть соотнесено с риском операции, учитывая повышенный риск лимфогенного метастазирования у этой группы пациентов [102]. В то же время при изучении операционного материала после нерадикального ЭЛ РРЖ, характеристики которого превышают показания JGCA, регионарный метастатический процесс был выявлен лишь в 5–10% случаев [10,111,112,113], а продолжительность жизни больных после отказа от оперативного лечения после нерадикального ЭЛ оказалась высокой [10,111,112].

Риск лимфогенного метастазирования при соответствии РРЖ показаниям JGCA остается спорным, и для оценки эффективности и безопасности показаний в Японии проводятся регулярные клинические испытания [113,114]. Так, например, внутрислизистый РРЖ без изъязвления диаметром ≤ 20 мм, признается как расширенный критерий недифференцированного РРЖ (третий расширенный критерий JGCA) [13]. Однако, сразу четыре исследования предложили ограничить размер до 15 мм и даже 10 мм, предполагая возможность лимфогенного метастазирования даже при меньшем размере недифференцированного РРЖ [16,17,115]. Дебаты по поводу размера опухоли, как критерия лимфогенного метастазирования при недифференцированном типе РРЖ, были выделены в ряде исследований в рамках дискуссий по поводу безопасности расширенных показаний JGCA, в том числе и при размере РРЖ более ≤ 20 мм [16,17,19,20,21, 82,114].

Несовершенство системы JGCA может быть связано с тем, что другие клинικο-морфологические параметры, не включенные в показания JGCA, такие как пол, возраст, расширенная гистологическая дифференцировка и другие характеристики не используются этой системой, а случаи метастазирования при РРЖ, соответствующем параметрам системы показаний JGCA, могут быть связаны этими игнорируемыми, но значимыми характеристиками опухоли. С учетом несовершенства системы JGCA проводятся исследования других факторов, также влияющих на лимфогенное метастазирование и прогноз РРЖ. На основе ретроспективного многофакторного анализа изученных факторов разрабатываются новые модели прогнозирования риска лимфогенного метастазирования РРЖ. При включении в показания к ЭЛ РРЖ дополнительных характеристик опухоли и оценке риска метастазирования у онкологов есть возможность соотнести преимущества и риски вариантов лечения в каждом конкретном случае РРЖ [25,26,115,116,117]. Прогностические модели, включающие большее количество прогностических факторов РРЖ, показывают лучшие результаты в

прогнозировании риска лимфогенного метастазирования. Они достаточно просты в применении и могут широко применяться в медицинских учреждениях общего профиля [118,119,120]. Часть исследований оценивает индивидуальный риск лимфогенного метастазирования РРЖ количественно путем наличия или отсутствия набора определённых факторов метастазирования. Так, например, в исследовании Abe N. и соавт. III макроскопический тип, SM1 инвазия, размер опухоли более 2 см, женский пол и лимфо-вазкулярная инвазия были определены как независимые факторы риска лимфогенного метастазирования, и наличие трех из этих факторов являлось простым указанием на хирургическое лечение [115]. В мета-анализе Nie R. и соавт. (n=4870) риск метастатического процесса РРЖ был связан 0 Па типом [121]. Предложенные в последнее время математические модели индивидуального расчета риска лимфогенного метастазирования РРЖ с использованием обучающей и тестирующей выборок и системы подсчета баллов также показывают свою высокую эффективность. Так прогностическая модель Li C. и соавт. [122] показала лучшие результаты, чем модель, предложенная Pao J. и соавт. [86]. Sekiguchi M. и соавт. была предложена 11-балльная модель, основанная на пяти независимых факторах метастазирования РРЖ. Высокая дискриминационная точность этой модели была доказана статистически. Это свидетельствует о потенциальной полезности модели, к тому же балльная система дает возможность легко сравнивать риск метастазирования с риском, связанном с операцией и, тем самым, осуществлять более индивидуальный подход к лечению РРЖ [26]. Okabayashi T. и соавт. [47] (n=440; случаи с лимфогенным метастазированием N(+)=6,8%) также разработали математическую модель с высокими данными специфичности (73,2%), однако представленная модель отличалась довольно низкой чувствительностью (6,5%) [47]. Chen L. и соавт. [65] (n=1620, N(+)=17,5%) на основе собственной прогностической модели выявили, что размер опухоли менее 3 см и изъязвление не влияли на риск метастазирования, а наиболее прогностически неблагоприятным типом являлось сочетание фокусов аденокарциномы и перстневидноклеточного рака. Chu Y. и соавт. [89] (n=1262, N(+)=14,4%) также предложили прогностическую модель с высокими показателями специфичности и точности и выявили, что муцинозная аденокарцинома является независимым фактором лимфогенного метастазирования. Fujii M. и соавт. [124] на основе многофакторного анализа разработали балльную прогностическую модель расчета необходимости дополнительной гастректомии после нерадикального эндоскопического лечения. При сохранении высокой специфичности (63,9%), модель поддерживала очень высокую чувствительность (100%).

Для увеличения эффективности математических расчетов риска метастазирования РРЖ в мире проводятся мета-анализы исследования результативности предложенных прогностических моделей. Так, мета-анализ Zhao X. 23 исследований недифференцированного РРЖ, установил,

что пол (женский), возраст (более 60 лет), размер опухоли (более 20 мм), глубина инвазии (SM), наличие лимфоваскулярной инвазии, изъязвление и расположение опухоли являлись независимыми факторами лимфогенного метастазирования [125]. В мета-анализе 14 исследований ПКР, было выявлено, что женский пол, подслизистая инвазия, лимфоваскулярная инвазия и размер опухоли >20 мм являлись независимыми факторами лимфогенного метастазирования РРЖ [126]. Несмотря на то, что результаты эффективности математических моделей в различных исследованиях варьируют, использование прогностических систем индивидуального расчета риска лимфогенного метастазирования РРЖ с включением большого количества прогностических факторов, помогает внести элемент объективности в принятие решения об объеме операции. Поэтому, крупные ретроспективные исследования и мета-анализы с широким набором дополнительных прогностических факторов лимфогенного метастазирования РРЖ могут стать основой надежной прогностической системы отбора случаев РРЖ для эндоскопического лечения.

1.4 Иммуногистохимические прогностические факторы РРЖ

1.4.1 Муциновый иммунофенотип РРЖ и его прогностическое значение для риска лимфогенного метастазирования

В настоящее время существует потребность в дополнительных методах оценки факторов риска лимфогенного метастазирования РРЖ. Муциновый иммуногистохимический профиль РРЖ является важным прогностическим маркером лимфогенного метастазирования, и прогноз при различных вариантах муцинового фенотипа РРЖ не зависит от гистологического строения опухоли.

Муцины - гликозилированные гликопротеины, которые представляют собой вязкий гель, секретирующийся эпителием желудочно-кишечного тракта. Определение муцинового профиля (иммунофенотипа) РРЖ основано на определении экспрессии в опухолевых клетках маркеров к муцинам нормальных эпителиальных клеток желудочно-кишечного тракта. **G** (желудочные) маркеры – экспрессируемые поверхностным эпителием слизистой оболочки и эпителием пилорических желез (MUC5AC – используется в качестве маркера поверхностного желудочного эпителия (фовеолярных клеток). MUC6 - используется в качестве маркера для шеечного эпителия и эпителия желез пилорического типа). **I** (кишечные) маркеры – экспрессируемые бокаловидными, абсорбционными клетками (MUC2 - используется в качестве маркера бокаловидных клеток кишечника, CD 10 – щеточной каемки тонкой кишки). В неопухолевой слизистой оболочке желудка экспрессия MUC2 закономерно обнаруживается только в участках кишечной метаплазии [127]. Исследование муцинового профиля клеток карцином желудка животных и человека выявили некоторые противоречия в общепринятых

классификациях, основанных только на морфологических признаках. Так, например, предполагалось, что кишечные формы рака желудка по классификации Lauren P. будут состоять из клеток, экспрессирующих преимущественно кишечные маркеры, а клетки диффузных форм будут экспрессировать желудочные маркеры. Однако, при определении муцинового иммунофенотипа РРЖ не было выявлено значительной зависимости между гистологическим типом опухоли по классификации Lauren P. и ее муциновым фенотипом [128,129]. Для понимания создавшейся ситуации были попытка реклассифицировать РЖ с учетом муцинового иммунофенотипа. Наибольшее распространение получила классификация, подразделяющая РЖ на четыре подгруппы в зависимости от комбинации экспрессии муциновых маркеров: кишечный тип, желудочный тип, комбинированный тип и нулевой (неклассифицируемый) тип [133,134]. В связи с гетерогенностью РРЖ, обычно не вся масса опухолевых клеток экспрессирует муцины. Однако, в РРЖ процент положительных опухолевых клеток (менее 10% положительных опухолевых клеток и менее 5%) не имеет существенного значения [130].

По литературным данным, при увеличении размера и глубины инвазии опухоли наблюдается фенотипический сдвиг в муциновом профиле РРЖ от кишечного к желудочному [131,132]. Большинство исследователей считает желудочный иммунофенотип РРЖ прогностически более неблагоприятным, чем кишечный. Авторы сообщают о достоверно большей глубине инвазии, большей частоте лимфоваскулярной инвазии и изъязвления, более высокой частоте венозной инвазии и метастазирования в регионарные лимфатические узлы при желудочном иммунофенотипе РРЖ по сравнению с кишечным [133,134]. В противоположность желудочному, кишечный иммунофенотип чаще встречается в случаях внутрислизистого РРЖ и при дифференцированном гистологическом типе [135,136]. РРЖ дифференцированного типа по классификации Nakamura K. [82] с желудочным фенотипом имеет уникальные характеристики, которые отличают его от дифференцированного РРЖ с кишечным фенотипом из-за более выраженного злокачественного потенциала [136,137], а также чаще встречающемся при перстневидноклеточном раке, склонен к более быстрой трансформации в недифференцированный тип, к изъязвлению и метастазированию [133,135]. Известно, что дифференцированный РРЖ менее 2 см является общепризнанным абсолютным критерием ЭЛ JGCA, однако, дифференцированный РРЖ с желудочным иммунофенотипом склонен к более глубокой инвазии в стенку желудка, к трансформации в недифференцированный тип и к раннему метастазированию, по сравнению с кишечным [137]. При многофакторном анализе Nakamoto J. и соавт. (n=108) и Koseki K. и соавт. (n=241) желудочный фенотип являлся независимым фактором лимфогенного метастазирования РРЖ [138,134]. РРЖ с желудочным фенотипом продемонстрировал агрессивное биологическое поведение по сравнению с недифференцированным фенотипом, а также был связан с более высокой вероятностью

локального рецидива после ЭЛ РРЖ. [132,138,139,140,141]. По другим литературным данным, РРЖ со смешанным иммунофенотипом являлся независимым фактором лимфогенного метастазирования [133,142,143]. Опубликованы данные, что муциновый иммунофенотип РРЖ связан с генетическими изменениями в начальной фазе канцерогенеза и отражает связь между экспрессией муциновых маркеров и генетическими изменениями в опухолевых клетках. Так, например, мутация комплекса APC связана с мембранной экспрессией CD10 и кишечным фенотипом, а также с отрицательной экспрессией MUC 5 AC (HGM) и MUC6. Мутация p53 связана с мембранной экспрессией CD10 и MUC 2. Микросателлитная нестабильность была в значительной степени связана с экспрессией MUC6 [132].

1.4.2 Прогностическое значение экспрессии p 53 и E-катгерина для определения риска лимфогенного метастазирования РРЖ

РЖ развивается как многоступенчатый процесс, в котором многочисленные факторы, в том числе генетические (наследственные и приобретенные), а также неблагоприятная экологическая обстановка воздействуют на слизистую оболочку желудка в течение определенного периода времени. В настоящее время обсуждаются два пути онкогенеза (Рисунок 1) [144,145].

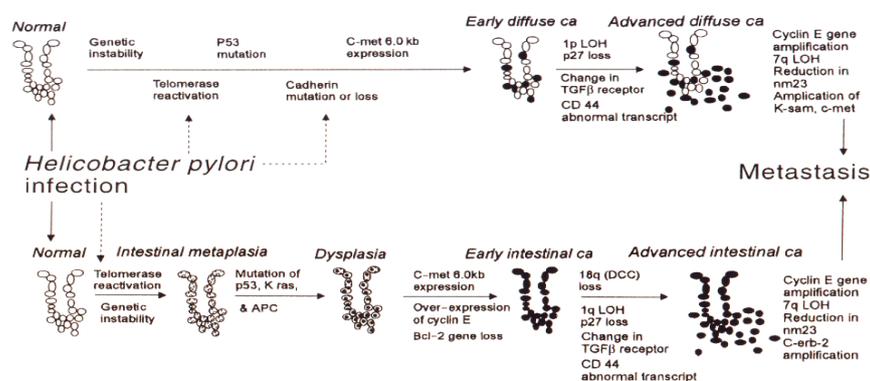


Рисунок 1 - Схема канцерогенеза [144,145]

Считается, что классический путь онкогенеза РРЖ **дифференцированного/кишечного** типа по Lauren P. можно разделить на три этапа: кишечная метаплазия -> аденома -> карцинома; или кишечная метаплазия-> карцинома [144]. **Путь де-ново** для канцерогенеза дифференцированного раннего рака желудка сложен и включает в себя различные молекулярно-генетические изменения, в том числе и мутации гена TP53, который отвечает за развитие РЖ желудочного типа [144,145].

При **недифференцированном РЖ** (диффузного типа по Lauren P.) преобладают мутации генов CDH1, с утратой экспрессии E-кадгерина и мутацией гена TP53, что также характерно для наследственного недифференцированного РЖ. Мутации и другие генетические изменения ведут к изменению количества продукции нормальных белков, к синтезу мутантных белков или

к нарушению их транспорта в клетке. Отражением генетических изменений является фенотипическая экспрессия маркеров соответствующих белков. Особенности экспрессии молекул клеточной адгезии в клетках опухоли могут служить важными дополнительными критериями злокачественности при оценке прогноза РРЖ [145,146].

Белок Е-кадгерин – представитель семейства классических кадгеринов, продукт гена CDH1. Доказано, что клетки окружающей нормальной слизистой оболочки при дистрофических изменениях не теряют мембранной экспрессии Е-кадгерина [146]. Нарушение синтеза Е-кадгерина является одним из путей канцерогенеза и в значительной степени связано с прогнозом РЖ [147,148,149,150,151,152]. Нарушение мембранной экспрессии Е-кадгерина происходит на раннем этапе канцерогенеза. Так, в исследовании Zhou Y. и соавт. отсутствие мембранной экспрессии Е-кадгерина было выявлено в 36,4% случаев тяжелой дисплазии, в то время как в случаях атрофического гастрита и кишечной метаплазии потери мембранной экспрессии не наблюдалось [153]. Потеря мембранной экспрессии коррелирует со снижением дифференцировки и высокой частотой лимфогенного метастазирования РРЖ [154,155]. В мета-анализе Xing X. и соавт. (n=4383) выявлена достоверная корреляция между снижением мембранной экспрессией Е-кадгерина и такими прогностическими факторами РРЖ как глубина инвазии, частота лимфогенного метастазирования, наличие сосудистой инвазии и снижение степени дифференцировки опухоли [156]. В группе больных РРЖ, моложе 40 лет, при наличии метастатического процесса отмечалось достоверное снижение количества случаев мембранной экспрессии Е-кадгерина [157]. По данным большинства исследований потеря мембранной экспрессии Е-кадгерина является независимым фактором лимфогенного метастазирования РРЖ [158, 134]. Отмечено, что экспрессия Е-кадгерина чаще определяется в РРЖ кишечного типа, чем в диффузного (классификация Lauren P.). Также, отмечена корреляция потери мембранной экспрессии Е-кадгерина при РРЖ кишечного типа с частотой лимфогенного метастазирования [159], а наличие экспрессии Е-кадгерина в зонах подслизистой инвазии РРЖ было достоверно связано с отсутствием метастазов в лимфатических узлах [160]. Тем не менее, в части исследований сообщается о том, что экспрессия Е-кадгерина не влияет на частоту лимфогенного метастазирования при РРЖ [159,160,161]. Определение экспрессии Е-кадгерина по данным многих авторов является перспективным для определения прогноза и выработки оптимальной тактики лечения РЖ и РРЖ в частности [162, 163, 164].

Также Е-кадгерин, участвует в регуляции активности протеина клеточного цикла и апоптоза p53 [152, 149]. Частота мутаций гена p53 составляет 25%-50% [165,166] при наследственном раке желудка, не имеющим мутации зародышевой линии CDH1, вследствие чего существует необходимость скрининга мутаций TP 53 в семьях с повышенной частотой заболеваемости РЖ [165]. Ядерная экспрессия белка p53 является ранним событием в

канцерогенезе. Она начинает выявляться при внутрислизистом РРЖ диаметром менее 5 мм и не определяется в клетках прилежащей неопухоловой слизистой оболочке, что может являться дифференциальным признаком между кишечной метаплазией (где вариант муцинового фенотипа не имеет диагностического значения) с начинающейся высокодифференцированной карциномой [166]. **Ген TP 53** является геном-супрессором опухолевого роста. Белок p53 - продукт гена TP53 синтезируется во всех клетках организма. Мутация гена p53 ведет к синтезу аномального белка p53 и, соответственно, к потере контроля над пролиферацией клеток, угнетению апоптоза [167]. В настоящее время нет антител, которые могли бы различить мутантный и дикий тип белка p53, но дикий тип белка p53 является нестабильным. Его период полураспада составляет не более 20 мин, вследствие его расщепления через Mdm2 [168]. В нормальном состоянии белок p53 обычно не накапливается в клетках в количествах, детектируемых обычными иммуногистохимическими методами. Мутантный белок p53 более устойчив, чем его дикий тип, поэтому считается, что иммуногистохимическая реакция на p53 обусловлена детекцией исключительно мутантного типа p53 [169]. Ядерная экспрессия p53 сама по себе не имеет прогностической ценности при РРЖ. Однако, значительная разница в экспрессии p53 между подгруппами по степени дифференцировки и другим характеристикам РРЖ может быть связана с возможными отдельными этиопатогенными подтипами и способна влиять на прогноз заболевания [141]. Ядерная экспрессия p53 более часто наблюдается в тубулярных, чем в папиллярных аденокарциномах, достоверно чаще коррелирует с 0II и 0III макроскопическими типами РРЖ [170]. В исследовании Gonçalves A. и соавт. при многофакторном анализе ядерная экспрессия p53 достоверно чаще коррелировала с РРЖ кишечного типа (классификация Laugen P.), с дифференцированным типом (классификация Nakamura K.) и 0I макроскопическом типом ($p = 0,038$). Однако, в исследовании не было выявлено связи экспрессии p53 с 5-летней выживаемостью и частотой лимфогенного метастазирования [171]. Было высказано мнение, что ассоциация экспрессии p53 с кишечным типом по классификации Laugen P. и степенью дифференцировки может говорить о том, что в основе канцерогенеза РРЖ может быть хронический воспалительный процесс [40]. В других исследованиях экспрессия p53 чаще наблюдалась при желудочном иммунофенотипе [172]. Многие исследования показали, что ядерная экспрессия p53 связана с лимфогенным метастазированием РРЖ [171, 172,173] и, наряду с размером опухоли и глубиной инвазии, является независимым факторами лимфогенного метастазирования [40]. Опубликовано небольшое количество исследований с противоположными результатами [174,175].

1.5. Заключение

Количество больных РРЖ пожилого возраста с тяжелыми сопутствующими заболеваниями и высоким риском хирургического вмешательства неуклонно растет. Растет и количество молодых больных РРЖ с наследственной предрасположенностью, где важна органосохраняющая операция. Точный расчет риска лимфогенного метастазирования при РРЖ является главным требованием для определения необходимого объема оперативного вмешательства. Разработка и применение прогностических моделей расчета риска лимфогенного метастазирования с использованием системы подсчета баллов или других количественных показателей способствует внесению элемента объективности в разработку стратегии лечения РРЖ. Однако, несмотря на достигнутые успехи, предложенные прогностические системы расчета риска метастазирования РРЖ, активно обсуждаются в мировой литературе и нуждаются в дальнейшей проработке. Ключом к рациональной эндоскопической хирургии РРЖ является дальнейшее изучение клинических, морфологических и иммуногистохимических факторов прогноза с целью поиска более точных способов расчета риска метастазирования. Возможно, выбор между эндоскопической и расширенной хирургией РРЖ при пороговых значениях основных прогностических факторов риска лимфогенного метастазирования РРЖ будет основан на, казалось бы, незначительных клинических и морфологических характеристиках опухоли.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Демографическая характеристика РРЖ

В исследование были включены 404 больных РРЖ (214 (53,0%) мужчин и 190 (47,0%) женщин). Материалом для исследования служили фрагменты опухолевой ткани желудка, удаленные у пациентов, которым в НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина была проведена радикальная операция с лимфодиссекцией, за период с ноября 1990 года по декабрь 2006 года. Медиана времени наблюдения составила 132 мес (от 0,3 до 252,3 месяцев). Возраст больных варьировал от 24 до 90 лет (средний возраст $57,6 \pm 11,5$ лет, медиана - 58,4 года). Из исследования были исключены случаи, при которых изъязвление пренетрировало в мышечный слой стенки желудка, случаи мультицентрического роста опухоли, случаи с признаками врастания карциномы в мышечный слой, доказанными иммуногистохимическим методом, случаи, где было исследовано менее 14 лимфатических узлов. Две трети больных РРЖ находились в возрастной группе от 50 до 69 лет (Таблица 1).

Таблица 1 – Распределение пола больных РРЖ в зависимости от возраста

	До 40 лет	40-49	50-59	60-69	70 и старше	Средний возраст
Мужчины	11(33,3%)	41(64,1%)	76(59,4%)	58(46,4%)	28(51,9%)	$57,5 \pm 11,0$
Женщины	22(66,7%)	23(35,9%)	52(40,6%)	67(53,6%)	26(48,1%)	$57,7 \pm 12,0$
Всего	33(8,2%)	64(15,8%)	128(31,7%)	125(30,9%)	54(13,4%)	$57,6 \pm 11,5$

Средний возраст мужчин и женщин не отличался ($p=0,874$) и составлял 57,5 и 57,7 лет, соответственно. Количество женщин в группе до 40 лет в два раза превышало количество мужчин (Ж:М - 2:1), в диапазоне 40-49 и 50-59 лет выявлено обратное соотношение полов (М:Ж - 2:1,1). После 59 лет количество мужчин и женщин было одинаковым.

2.2 Способы оценки морфологических параметров РРЖ

Изучены следующие морфологические параметры РРЖ: локализация, размер и макроскопический тип опухоли, глубина инвазии (M, SM, мкм), гистологический тип и степень дифференцировки опухоли в соответствии с классификациями ВОЗ 2019 года, JGCA 2017 года, Lauren P. Nakamura K., наличие фиброза и изъязвления опухоли, наличие лимфоваскулярной инвазии. Фрагменты опухоли фиксировались и проводились по стандартной методике. Гистологические срезы толщиной 4-5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином, по Крейбергу. Размер опухоли, локализация и макроскопические типы были оценены и классифицированы с учетом классификации JGCA 2017 года [13]. При пересмотре препаратов также изучалось состояние лимфатических узлов. Совпадение составило 98%. В сложных случаях привлекались консультанты.

Локализация РРЖ. Локализацию опухоли определяли по классификации JGCA 2017, согласно которой желудок делится на три равные части: верхнюю ("U"), среднюю ("M"), и нижнюю ("L") трети, E — пищевод, "D" — двенадцатиперстная кишка. У 380 (94,1%) пациентов опухоль представлена одним очагом (моноцентричный рак), у 24(5,9%) - двумя и более очагами (мультицентричный рак) (Таблица 2).

Таблица 2 – Распределение случаев РРЖ по локализации

Локализация опухоли	Число пациентов	Локализация опухоли
	абс.	
L	191	L
LD	1	LD
M	158	M
ML	1	ML
U (E-)	36	U (E-)
U (E+)	14	U (E+)
UM E(-)	2	0,5
UML E(-)	1	0,2

Глубина инвазии. Измерение глубины инвазии проводилось стандартным методом с градацией M, SM1 и SM2 (M - рост опухоли в пределах слизистой оболочки желудка, SM1 - прорастание опухоли до 2/3 визуальной толщины подслизистого слоя стенки желудка, SM2 - прорастание опухоли всей толщины подслизистого слоя стенки желудка без признаков врастания в мышечный слой). Также глубина инвазии измерялась в микронах с пошаговой градацией в 100мкн [58]. В зависимости от точки отсчета глубины инвазии, наряду со стандартным методом, предложенным Gotoda T. [57] был использован метод измерения глубины инвазии, предложенный Kim J. и соавт. [60].

Размер опухоли определялся из трех составляющих. Размер опухоли, определённый при эндоскопическом исследовании, сопоставлялся с размером опухоли при макроскопическом исследовании операционного материала. Затем, размер опухоли определялся при исследовании микропрепаратов на системе измерения размера Leica DMLB с цветной цифровой камерой DFC420 при помощи стандартного программного средства Leica Application Suite v. 3.7.0., и корректировался с учетом фиксации материала. В сложных случаях за основу брался размер, определённый при макроскопическом исследовании операционного материала.

Изъязвление и перитуморальный фиброз. За основу был взят термин «изъязвление», предложенный классификация JGCA [13]. Он включает в себя случаи поверхностного изъязвления опухоли без сопутствующего фиброза, случаи сочетания изъязвления и фиброза и случаи сопутствующего фиброза опухоли без видимого поверхностного изъязвления при микроскопическом исследовании, без уточнения глубины изъязвления и степени фиброза.

2.3 Общая макроскопическая и гистологическая характеристика случаев РРЖ

(Таблица 3)

При применении классификации ВОЗ, а также классификации JGCA, папиллярная аденокарцинома была вынесена в отдельный гистотип независимо от степени дифференцировки опухоли.

Таблица 3 – Общая характеристика случаев РРЖ (n=404)

Число пациентов		404	100%
		Абс	%
Макроскопический тип	0 I	99	24,5
	0 II а	65	16,1
	0 II б	39	9,7
	0 II с	137	33,9
	0 III	64	15,8
Максимальный размер, см	1-2 см	172	42,6
	2,01-3 см	98	24,3
	Более 3 см	134	33,2
Фиброз и изъязвление	Нет	248	61,4
	есть	156	38,6
Лимфоваскулярная инвазия	Нет	366	90,6
	есть	38	9,4
Классификация ВОЗ	ВДАК	133	32,9
	УДАК	34	8,4
	НДАК	81	20,0
	Дискогезивная карцинома	132	32,7
	Другие	24	5,9
Классификация JGCA	TUB 1	113	28,0
	TUB 2	33	8,2
	POR 1	15	3,7
	POR 2	72	17,8
	PAP	31	7,7
	SRC	132	32,7
	Другие	8	2,0
Классификация LAUREN P.	кишечный	218	54,0
	диффузный	144	35,6
	смешанный	42	10,4
Классификация NAKAMURA К.	Дифференцированный тип	167	41,3
	Недифференцированный тип	237	58,7

2.4 Иммуногистохимическое исследование

Иммуногистохимическое исследование проводилось пероксидазно-антипероксидазным методом на парафиновых срезах толщиной 5 мкм по стандартному протоколу, с использованием наиболее репрезентативного парафинового блока операционного материала 227 больных РРЖ. ИГХ проведено с готовыми первичными моноклональными АТ фирмы Leica Bond: Muc - 2 (клон Сср58), MUC-5AC (клон CLH2), CD 10 (клон ALB1), p53 (клон DO-7),

MUC 6 (клон MRQ-20), E-катгерин (клон EP 700Y). Реакции проводили с помощью автоматического иммуногистостейнера «Leica Bond-MAX». Интерпретацию ИГХ с указанными АТ проводили путем подсчета количества окрашенных опухолевых клеток на 100 клеток в 10 полях зрения (увеличение 400) и выражали полученные результаты в процентах. Критериями для положительной экспрессии маркеров к муцинам было принято наличие 20% положительно окрашенных клеток (MUC 2, MUC 6, MUC 5AC), CD 10 - 5% клеток [130]. В качестве внутреннего контроля использовалась неопухолевая слизистая оболочка желудка. Процент положительно окрашенных клеток оценивался двумя независимыми патологами, расхождения в интерпретации оценки были решены на основе консенсуса. Препараты изучали при помощи светового микроскопа «Leica DMLB» со стандартным набором оптики. Микрофотографирование производили на микроскопе биологическом универсальном Leica DMLB с цветной цифровой камерой DFC420 при помощи стандартного программного средства Leica Application Suite v. 3.7.0. Для оценки целостности мышечной пластинки слизистой оболочки (МП СО) проведено ИГХ с первичными моноклональными АТ фирмы Leica Bond к десмину (клон DE-R-11), а для определения наличия опухолевых эмболов в просвете кровеносных сосудов - с первичными моноклональными АТ фирмы Leica Bond к CD34 (клон QBEnd/10) и фирмы Cell Marque к Podoplanin (клон D2-40). С целью подтверждения эпителиального генеза клеточных кластеров в просвете сосудов нами использовалось ИГХ с АТ к CK18 (клон B22.1.B23.1).

2.5 Статистическая обработка результатов

Статистическая обработка материала и расчеты показателей были проведены с использованием компьютерной программы электронных таблиц Microsoft Excel, статистических пакетов лицензионных программ Statistica for Windows v.10 и SPSS v.21. Показатели выживаемости были рассчитаны из реальных данных о длительности жизни каждого больного на момент завершения исследования с использованием методики Каплана-Мейера. Была оценена общая, опухоль-специфическая выживаемость и выживаемость без признаков прогрессирования. Достоверность различий выживаемости в группах рассчитывали по log-rank test. Характер распределения количественных показателей определялся с использованием критерия Колмогорова-Смирнова. Достоверность различий значений средних показателей оценивалась с помощью t-критерия Стьюдента. Для параметров качественной оценки применялся точный критерий Фишера и Chi-квадрат. Различия считались статистически значимыми при уровне значимости $p < 0,05$. Степень взаимосвязи параметров оценивалась с помощью корреляционного анализа Спирмена. Для построения математических моделей использовалась результаты одно- и многофакторного регрессионного анализа. Определение

пороговых значений количественных показателей, соответствующие оптимальному соотношению чувствительности и специфичности, выполнялись методом построения ROC-кривой. Для оценки информативности математических моделей были рассчитаны показатели чувствительности, специфичности, точности и тест прогнозирования положительного результата. Расчет статистических показателей осуществлялся на основании полученных в ходе исследования результатов: истинноположительных (ИП) и истинноотрицательных (ИО), ложноположительных (ЛП) и ложноотрицательных (ЛО). Истинно-положительный результат (ИП) – результат, когда математическая модель прогнозировала наличие лимфогенного метастазирования, подтвержденное гистологическим исследованием. Истинноотрицательный результат (ИО) – когда математическая модель и гистологическое исследование констатировали отсутствие мтс в лимфоузлах. Ложноположительный результат (ЛП) – ошибочно установленное моделью наличие метастазов в лимфатических узлах (N(+)). Ложноотрицательный результат (ЛО) – применяемая модель не позволяет диагностировать заболевание, подтвержденное гистологическим исследованием. Клиническая эффективность диагностического метода была определена по общепринятым критериям:

$$\text{Чувствительность} = \text{ИП} / (\text{ИП} + \text{ЛО}) * 100 \%;$$

$$\text{Специфичность} = \text{ИО} / (\text{ИО} + \text{ЛП}) * 100 \%;$$

$$\text{Общая точность} = (\text{ИП} + \text{ИО}) / (\text{ИП} + \text{ЛО} + \text{ИО} + \text{ЛП}) * 100 \%.$$

При этом чувствительность характеризовала процент случаев правильного выявления изучаемой патологии, общая точность - отношение числа правильных заключений о наличии или отсутствии данной патологии ко всем заключениям. Специфичность характеризовала в каком проценте случаев модель позволяет правильно определить отсутствие патологического процесса.

Также были вычислены:

$$\text{прогностическая ценность положительного результата} = \text{ИП} / (\text{ИП} + \text{ЛП}) * 100,$$

$$\text{прогностическая ценность отрицательного результата} = \text{ИО} / (\text{ИО} + \text{ЛО}) * 100.$$

ГЛАВА 3. ПРОГНОСТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ РИСКА ЛИМФОГЕННОГО МЕТАСТАЗИРОВАНИЯ

3.1 Анализ и прогностическая значимость параметров РРЖ

В первом разделе главы № 3 проведен анализ клинико-морфологических характеристик РРЖ: пол и возраст больных, локализация, размер, глубина инвазии опухоли, макроскопический тип и гистологический тип по классификациям ВОЗ 2019г, JGCA 2017г, Lauren P. Nakamura K., наличие изъязвления, фиброз опухоли и лимфоваскулярная инвазия. Изучены частота и закономерность лимфогенного метастазирования РРЖ в зависимости от вышеперечисленных факторов.

3.1.1 Общая характеристика клинико-морфологических факторов РРЖ и их прогностическая значимость для лимфогенного метастазирования

Пол и возраст больных

Во всех возрастных группах, кроме 70 лет и старше, у женщин зарегистрирована более высокая частота лимфогенного метастазирования РРЖ, чем у мужчин, причем у пациенток в возрасте до 40 лет и 50-59 лет метастатический процесс выявлялся примерно в два раза чаще (18,2% против 9,1% и 15,4% против 6,6%, соответственно). Данные различия не достигли статистической значимости вследствие малой выборки (Таблица 4, Рисунок 2).

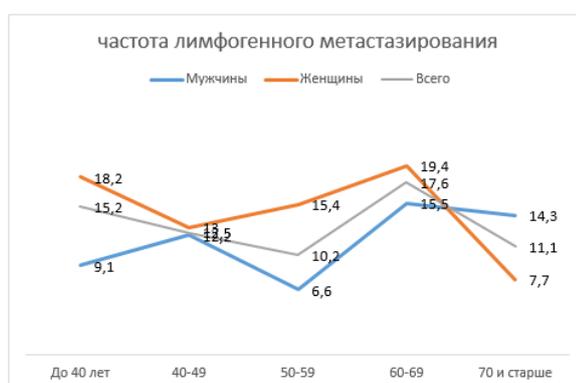


Рисунок 2 – Частота лимфогенного метастазирования в зависимости от пола и возраста больных РРЖ

Таблица 4 – Частота лимфогенного метастазирования в зависимости от пола и возраста больных РРЖ

	Возрастная группа									
	До 40 лет		40-49		50-59		60-69		70 и старше	
	N(+)/абс	%	N(+)/ абс	%						
Муж.	1/11	9,1	5/41	12,2	5/76	6,6	9/58	15,5	4/28	14,3
Женщ.	4/22	18,2	3/23	13,0	8/52	15,4	13/67	19,4	2/26	7,7
Всего	5/33	5,2	8/64	12,5	13/128	10,2	22/125	17,6	6/54	11,1

Глубина инвазии. При наличии изъязвления, разрушающего мышечную пластину слизистой оболочки, глубина инвазии измерялась от самой глубокой точки изъязвления, до самой глубокой точки инвазии опухоли. Было использовано два способа измерения: метод Kim J. Y. (черная линия) [60] и классический метод JGCA/ Gotoda T. (красная линия) (Рисунок 3) [57]. Методика измерения описана в главе №2 «Материалы и методы» стр. 28.

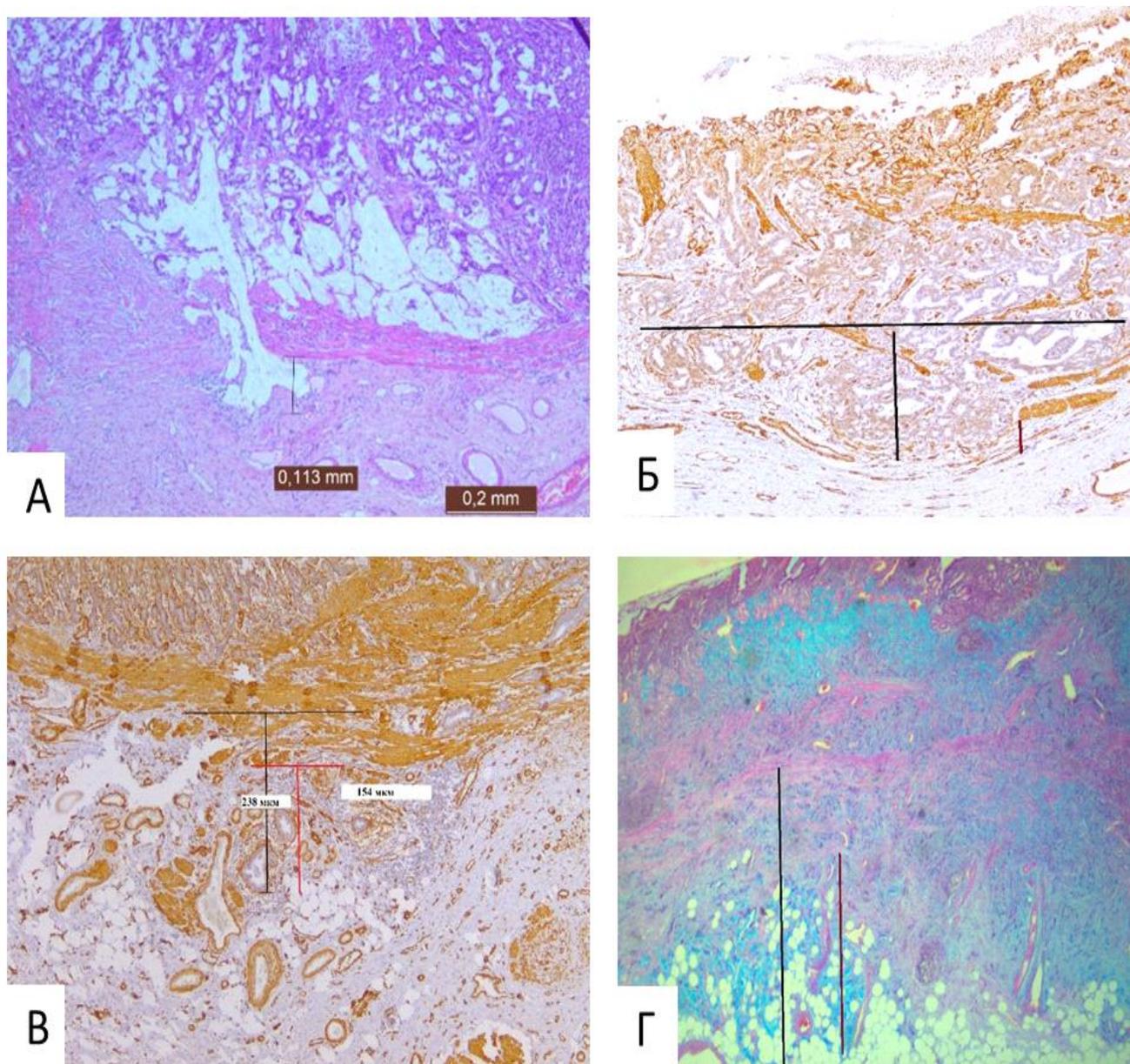


Рисунок 3 - Варианты измерения глубины инвазии: А. - Измерение глубины инвазии при «исчезающем» варианте разрушения мышечной пластинки. (Гематоксилин/эозин, х50) Б. - Измерение глубины инвазии при «прерывистом» варианте прорастания мышечной пластинки с использованием антител к десмину. (х50) В. - Измерение глубины инвазии при «гипертрофическом» варианте прорастания мышечной пластинки с использованием антител у десмину (х50). Г. - Измерение глубины инвазии при «гипертрофическом» варианте прорастания мышечной пластинки (Крейберг, х 50)

В нашем исследовании зависимости частоты метастазирования РРЖ от метода измерения глубины инвазии выявлено не было, $p=0,653$ (Таблица 5).

Таблица 5 – Частота метастазирования РРЖ в зависимости от метода измерения глубины инвазии

	Всего	N0	N(+)	p
Число пациентов	138	101	37	
Глубина инвазии по Kim J. Y., мкм	612,83±554,71 (50-4000,00)	499,70±512,96	921,62±553,34	0,00005
Глубина инвазии JGCA, мкм	642,39±534,74 (50-3000,00)	527,23±477,36	956,76±562,50	0,00002

Как видно из таблицы, при измерении различными методами глубина инвазии в случаях РРЖ с метастатическим процессом была достоверно выше, чем в случаях без метастазов. При измерении глубины инвазии по методу Kim J. и соавт. [60] глубина инвазии варьировала от 50 до 4000 мкм, по методу, предложенному JGCA – от 50 до 3000 мкм. Статистически значимых различий в измерении глубины инвазии между методами не выявлено ($p=0,653$). Для определения критического значения глубины инвазии опухоли, влияющего на выявление лимфогенного метастазирования и сравнения методов исследования, нами построены ROC-кривые для двух методов измерения. Площадь под кривой для используемых методов практически одинакова (Рисунок 4, Таблица 6).

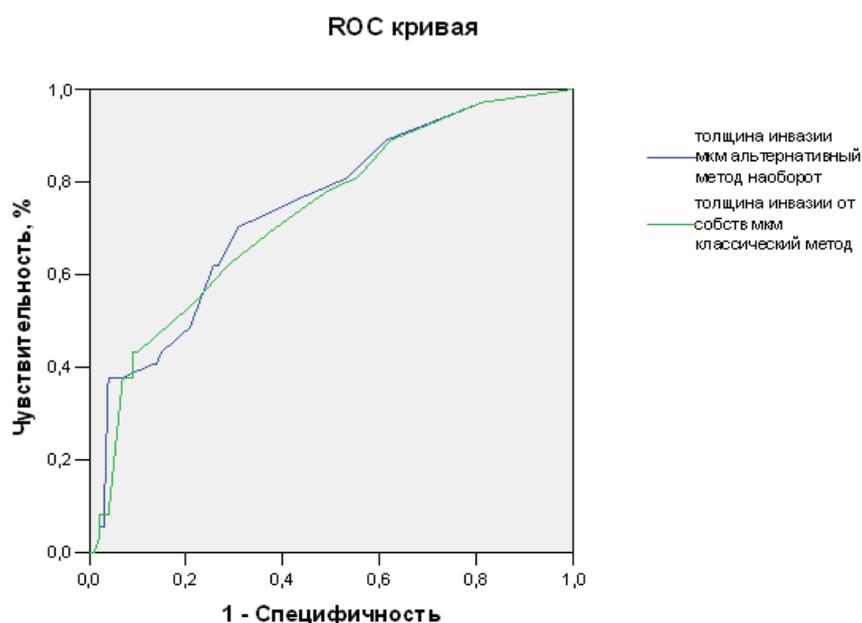


Рисунок 4 – ROC-кривая для методов измерения глубины инвазии

Таблица 6 – Характеристики ROC-кривых

Тестовая переменная	Площадь под кривой	Стд. ошибка	p	95% CI		Точка отсечения	Чувствительность, %	Специфичность, %
				Нижняя граница	Верхняя граница			
Глубина инвазии по Kim J. Y., мкм	0,743	0,047	0,0001	0,650	0,836	≥0,550	70,3	69,3
Глубина инвазии JGCA, мкм	0,732	0,048	0,0001	0,638	0,827	≥0,550	70,4	61,4

Оптимальное соотношение чувствительность/специфичность при двух способах измерения глубины инвазии зарегистрирована при $\geq 0,55$ мм: при способе, предложенном Kim J. Y. - 70,3%/69,3%, при способе JGCA - 70,4%/61,4%. Для подслизистых РРЖ (n=138) при глубине инвазии до 0,55 мм частота случаев метастазирования - N(+) была 0,0% (0/12), при глубине инвазии $\geq 0,55$ мм – 29,4% (37/126; p=0,0196). Данная критическая точка соответствует общепринятому делению глубины инвазии на SM1 и SM2. Поэтому, для дальнейшего исследования был выбран метод измерения глубины инвазии, предложенный JGCA. Глубина инвазии являлась независимым фактором лимфогенного метастазирования. При подслизистой инвазии РРЖ количество случаев метастазирования увеличилось с 6,4% до 26,8%, p=0,0001 (Таблица 7).

Таблица 7 – Частота лимфогенного метастазирования в зависимости от глубины инвазии РРЖ (M - SM)

	Глубина инвазии			
	M		SM	
Число пациентов	266		138	
	Абс	%	Абс	%
N0	249	93,6	101	73,2
N(+)	17	6,4	37	26,8*
*статистически значимые различия по сравнению с M, p=0,0001				

Простое в использовании исследование глубины инвазии РРЖ согласно критериям JGCA, M- внутрислизистый; SM1 до 0,5 мм; SM2 – более 0,5 мм, также показало свою прогностическую значимость – при увеличении глубины инвазии РРЖ с M до SM2 наблюдалось достоверное увеличение частоты лимфогенного метастазирования, M – 6,4%; SM1 – 13,6%, 0,00001; SM2 – 26,8%, 0,00001 (Таблица 8).

При глубине инвазии SM2 практически в половине случаев наблюдались метастазы в регионарные лимфатические узлы - 45,6%.

Таблица 8 – Зависимость частоты лимфогенного метастазирования РРЖ от глубины инвазии опухоли (М – SM1-SM2)

	Глубина инвазии					
	М		SM1		SM2	
Число пациентов	266		81		57	
	Абс	%	Абс	%	Абс	%
N0	249	93,6	70	86,4	31	54,4
N(+)	17	6,4	11	13,6*	26	45,6**
*статистически значимые различия по сравнению с М, p<0,05						
+статистически значимые различия по сравнению с SM1, p<0,05						

При более детальном исследовании глубины инвазии РРЖ в мкм частота метастазирования при внутрислизистом РРЖ и РРЖ с подслизистой инвазией до 0,1 мм (100 мкм) была одинаковой (6,4% и 5,0%, соответственно) и достоверно ниже, чем при более глубокой инвазии (Таблица 9). Также при увеличении глубины инвазии до 0,3 мм (300 мкм) частота метастазирования увеличилась до 17,6% (по сравнению с внутрислизистым РРЖ, p=0,00001, и РРЖ с подслизистой инвазией до 100 мкм, p=0,00001). При глубине инвазии до 300 мкм частота метастазирования составила 17,6% (p=0,00001), при глубине инвазии до 0,5 мм (500 мкм) частота метастазирования составила 14,8% (p=0,00001). Однако, при глубине инвазии более 500 мкм частота метастазирования составила 45,6% (данные достоверны по сравнению с внутрислизистым РРЖ p=0,033; подслизистым РРЖ глубиной инвазии до 100 мкм, p=0,006; до 300 мкм p=0,0057, до 500 мкм p=0,0048). Глубина инвазии в 0,5 мм (500 мкм) является важным пределом для определения риска частоты лимфогенного метастазирования.

Таблица 9 – Зависимость частоты лимфогенного метастазирования РРЖ от глубины инвазии опухоли (мкм)

	Глубина инвазии в мкм									
	0		1-100		101-300		301-500		Более 500	
Число пациентов	266		20		34		27		57	
	Абс	%	Абс	%	Абс	%	Абс	%	Абс	%
N0	249	93,6	19	95,0	28	82,4	23	85,2	31	54,4
N(+)	17	6,4**	1	5,0*	6	17,6*#	4	14,8*#	26	45,6
#статистически значимые различия по сравнению с М и до 100мкм p<0,05										
*статистически значимые различия по сравнению с глубиной инвазии более 500, p<0,05										
+статистически значимые различия по сравнению с 101-300, p<0,05										

Размер опухоли. При увеличении глубины инвазии размер РРЖ также достоверно увеличивался, при М / SM1 p=0,0018, при М / SM2 p=0,0034 (Таблица 10).

Таблица 10 – Характеристика максимального размера РРЖ в зависимости от глубины инвазии

Размеры опухоли	Глубина инвазии		
	М	SM1	SM2
Максимальный (см)	2,51±1,41	3,09±1,58 p=0,0018	3,13±1,53 p=0,0034

При характеристике групп РРЖ по глубине инвазии (М, SM1 и SM2) выявлено, что в каждой из групп преобладали случаи с размером опухоли до 2 см и более 3 см. Количество случаев 2,01-3 см составляло около 1/4 от общего количества случаев в каждой группе. Наибольшее количество опухолей небольшого размера (1-2 см) было выявлено при внутрислизистой локализации РРЖ (Таблица 11). При увеличении глубины инвазии количество опухолей с размерами 1-2 см уменьшалось (SM1-32,1%, p=0,012, SM2 – 36,8%). При размерах опухоли более 3 см количество случаев РРЖ с глубиной инвазии SM2 было максимальным 40,4% (Таблица 11).

Таблица 11 – Изменение размера опухоли в зависимости от глубины инвазии

		Глубина инвазии						Всего	
		М		SM1		SM2			
Число пациентов		266		81		57		404	
		Абс	%	Абс	%	Абс	%	Абс	%
Максимальный размер, см	1-2 см	125	47,0	26	32,1*	21	36,8	172	42,6
	2,01-3 см	61	22,9	24	29,6	13	22,8	98	24,3
	Более 3 см	80	30,1	31	38,3	23	40,4	134	33,2
*статистически значимые различия по сравнению с М, p<0,05									

В нашем исследовании размер опухоли также являлся независимым фактором лимфогенного метастазирования. При увеличении максимального размера опухоли на 1 см частота метастазирования увеличивалась вдвое: 1-2 см -7,0%; 2,01-3 см - 13,3% p=0,0001; более 3 см – 31,7%; p=0,0052 (Таблица 12).

Таблица 12 – Зависимость частоты лимфогенного метастазирования от размера опухоли

	Размер опухоли					
	1-2 см		2,01-3 см		Более 3 см	
Число пациентов	172		98		60	
	Абс	%	Абс	%	Абс	%
N0	160	93,0	85	86,7	41	68,3
N(+)	12	7,0*	13	13,3*	19	31,7
*статистически значимые различия по сравнению с опухолями более 3 см, p<0,05						

Макроскопический тип. Количество случаев более благоприятного 0 I макроскопического типа с увеличением глубины инвазии достоверно снижалось, SM1 – 17,3%, $p=0,023$; SM2 – 14,0%, $p=0,013$ (Таблица 13).

Также снижалось количество случаев 0 IIc типа, по сравнению с глубиной инвазии M ($p=0,009$), по сравнению с глубиной инвазии SM, ($p=0,019$). Наибольшее количество случаев 0 III типа наблюдалось при SM2 (по сравнению с глубиной инвазии M, $p=0,00001$; по сравнению с глубиной инвазии SM 1; $p=0,0002$).

Таблица 13 – Распределение макроскопических типов в зависимости от глубины инвазии РРЖ

		Глубина инвазии						Всего	
		M		SM1		SM2			
Число пациентов		266		81		57		404	
		Абс	%	Абс	%	Абс	%	Абс	%
Макроскопическ. тип	0 I	77	28,9	14	17,3*	8	14,0*	99	24,5
	0 II a	47	17,7	12	14,8	6	10,5	65	16,1
	0 II b	19	7,1	13	16,0	7	12,3	39	9,7
	0 II c	96	36,1	30	37,0	11	19,3*+	137	33,9
	0 III	27	10,2	12	14,8	25	43,9*+	64	15,8
*Статистически значимо по сравнению M $p > 0.5$									
+ Статистически значимо по сравнению с SM1 $p > 0.5$									

В нашем исследовании макроскопический тип является одним из самых важных прогностических факторов лимфогенного метастазирования. При этом вариант макроскопического типа не зависит от глубины изъязвления и глубины инвазии РРЖ.

Максимальная частота метастазирования наблюдалась при 0 III макроскопическом типе – 53,1%, минимальная – при 0 II (Таблица 14).

Достоверно реже регистрировали наличие лимфогенного метастазирования при 0 I типе – 9,1% ($p=0,00001$) и при всех типах 0 II ($p=0,00001$).

Частота метастазирования при макроскопическом типе 0 I была несколько выше, чем при каждом из типов 0 II. Это связано с большей долей папиллярных карцином, которые, как правило, имеют экзофитную форму и более агрессивный биологический потенциал.

Таблица 14 – Частота метастазирования РРЖ в зависимости от макроскопического типа опухоли

	макроскопический тип опухоли									
	0 I		0 II а		0 II б		0 II с		0 III	
Число пациентов	99		65		39		137		64	
	Абс	%	Абс	%	Абс	%	Абс	%	Абс	%
N0	90	90,9	62	95,4	37	94,9	131	95,6	30	46,9
N(+)	9	9,1*	3	4,6*	2	5,1*	6	4,4*	34	53,1

*статистически значимые различия по сравнению с 0 III типом, p<0,05

Глубина инвазии является одним из критериев в показаниях к эндоскопическому лечению РРЖ, предложенных JGCA. При внутрислизистом РРЖ при 0 III типе лимфогенное метастазирование выявлено у 48,2% пациентов, что достоверно чаще, чем при 0 I и 0 II макроскопическом типах - 1,3% (p=0,00001) и 1,9% (p=0,00001), соответственно (Таблица 15). При глубине инвазии SM1 частота метастазирования была достоверно ниже при 0 II типе 5,5% (по сравнению с 0 III типом – 41,7%, p=0,0034). При глубине инвазии SM2 частота метастазирования также минимальна при 0 II типе 20,8% (по сравнению с 0 I типом – 62,5%, p=0,042 и 0 III типом – 64,0%, p=0,0025). Частота метастазирования РРЖ во всех вариантах макроскопического типа также нарастает с увеличением глубины инвазии.

Таблица 15 – Частота лимфогенного метастазирования в зависимости от макроскопического типа и глубины инвазии РРЖ

Глубина инвазии	0I		0II		0III	
	N(+)/абс	%	N(+)/абс	%	N(+)/абс	%
M	1/77	1,3 p=0,010* p=0,00001 ⁺ p=0,00001 [°]	3/162	1,9 p=0,00001 ⁺ p=0,00001 [°]	13/27	48,2
SM1	3/14	21,4	3/55	5,5 p=0,003 [°]	5/12	41,7
SM 2	5/8	62,5 p=0,042 [#]	5/24	20,8 p=0,0025 [°]	16/25	64,0

*статистически значимые различия по сравнению с типом SM1, p<0,05
⁺статистически значимые различия по сравнению с типом SM 2, p<0,05
[°] статистически значимые различия по сравнению с типом 0III, p<0,05
[#] статистически значимые различия по сравнению с типом 0II, p<0,05

Изъязвление и перитуморальный фиброз опухоли. Для верификации значимости процессов фиброза и изъязвления опухоли мы рассмотрели все варианты сочетания фиброза и изъязвления (Рисунок 5).

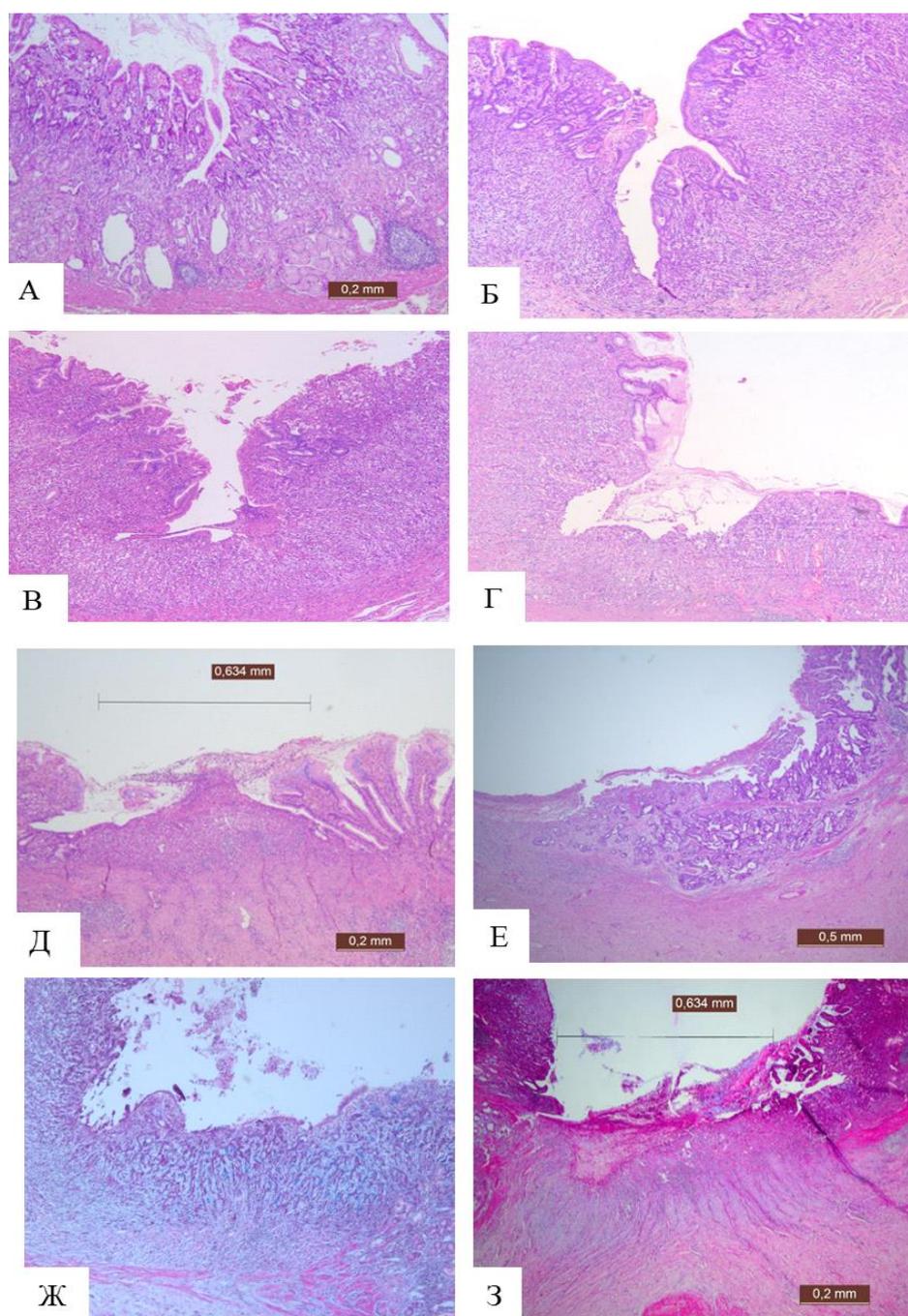


Рисунок 5 – Варианты сочетания изъязвления и фиброза РРЖ: А. - Отсутствие фиброза и изъязвления опухоли. (гематоксилин/эозин. x50). Б - Отсутствие фиброза и изъязвления опухоли (гематоксилин/эозин. x50). В. - Изъязвление опухоли без сопутствующего фиброза, фибрин (гематоксилин/эозин. x50). Г. - Изъязвление опухоли без сопутствующего фиброза (гематоксилин/эозин. x50). Д. - Сочетание фиброза и изъязвления опухоли (гематоксилин/эозин. x50). Е. - Сочетание фиброза и изъязвления опухоли (гематоксилин/эозин. x50). Ж. - Фиброз без признаков поверхностного изъязвления опухоли. Происходит эпителизация изъязвленной поверхности (Крейберг, x50). З. - Фиброз, достигающий мышечного слоя стенки желудка в сочетании с поверхностным изъязвлением (Крейберг, x50)

Градация глубины изъязвления не проводилась, однако случаи, в которых изъязвление достигало мышечного слоя, были исключены из исследования.

Для выявления прогностического значения сочетаний изъязвления и перитуморального фиброза также был проведен анализ частоты лимфогенного метастазирования в случаях изъязвления без перитуморального фиброза и перитуморального фиброза без поверхностного изъязвления, однако достоверных данных получено не было (Таблица 16).

Таблица 16 – Зависимость лимфогенного метастазирования от вариантов сочетания фиброза и изъязвления РРЖ

	N0		N(+)		Всего	
Число пациентов	350		54		404	
0-нет признака 1-есть признак	Абс	%	Абс	%	Абс	%
Фиброз 0 Изъязвление 0	235	67,1	11	20,4	246	60,9
Фиброз 0 Изъязвление 1	37	10,6	3	5,5	40	9,9
Фиброз 1 Изъязвление 0	18	5,1	0	0,0	18	4,5
Фиброз 1 Изъязвление 1	60	17,2	40	74,1	100	24,7

Вследствие отсутствия значимой связи между вариантами сочетания перитуморального фиброза и изъязвления в дальнейшем этот процесс был рассмотрен как бинарный (отсутствие фиброза и изъязвления и наличие фиброза, изъязвления в отдельности или в виде сочетаний).

Количество случаев опухоли с признаками изъязвления и фиброза достоверно увеличивалось с увеличением глубины инвазии (Таблица 17). При внутрислизистом РРЖ частота встречаемости фиброза и изъязвления составляла 28,9%, SM1 - 51,9% ($p=0,0002$), при SM2 - 64,9% ($p=0,00001$).

Таблица 17 – Встречаемость фиброза и изъязвления в зависимости от глубины инвазии РРЖ

		Глубина инвазии						Всего	
		M		SM1		SM2			
Число пациентов		266		81		57		404	
		Абс	%	Абс	%	Абс	%	Абс	%
Фиброз и изъязвление	Нет	189	71,1	39	48,1	20	35,1	248	61,4
	есть	77	28,9	42	51,9*	37	64,9*	156	38,6
*статистически значимые различия по сравнению с M, $p<0,05$									

В нашем исследовании фиброз и изъязвление являлись независимыми прогностическими факторами лимфогенного метастазирования РРЖ.

При отсутствии признаков изъязвления и фиброза опухоли частота лимфогенного метастазирования составляла 4,5%, при наличии хотя бы одного из признаков – 27,2%; $p=0,00001$ (Таблица 18).

Таблица 18 – Зависимость лимфогенного метастазирования РРЖ от изъязвления опухоли

		Всего	N0		N(+)		p
Число пациентов		404	350		54		
		Абс	Абс	%	Абс	%	0,00001
Изъязвление и Фиброз	Нет	246	235	95,5	11	4,5	
	есть	158	115	72,8	43	27,2	

Так как изъязвление входит в систему расширенных показаний JGCA, а также является независимым прогностическим признаком метастазирования, было проведено расширенное исследование зависимости частоты лимфогенного метастазирования изъязвленного и неизъязвленного РРЖ в зависимости от различных морфологических характеристик опухоли (Таблица 19). При размере опухоли до 2 см наличие изъязвления достоверно увеличивало частоту лимфогенного метастазирования (2,7% против 15,3%, $p=0,0036$). Однако данная тенденция наблюдалась и при размерах опухоли до 3 см и более 3 см. При исследовании связи глубины инвазии и изъязвления с частотой метастазирования при внутрислизистом РРЖ выявлено достоверное увеличение частоты метастазирования при изъязвлении опухоли (0,5% против 2,8%, $p=0,00001$).

Однако при исследовании РРЖ с глубиной инвазии SM1 зависимости частоты метастазирования от наличия изъязвления не выявлено ни в общей группе SM1, ни в группе дифференцированного SM1 РРЖ (критерий расширенного показания JGCA). При исследовании зависимости частоты метастазирования внутрислизистого РРЖ от размера и изъязвления опухоли выявлено, что при опухолях размерами до 2 см изъязвление не играет существенной роли в частоте метастазирования.

Однако, при размере внутрислизистого РРЖ 2,01-3 см и более частота метастазирования достоверно зависела от наличия изъязвления (27,8%, $p=0,0014$, 37,5%, $p=0,0001$, соответственно).

При таких неблагоприятных гистологических типах как перстневидноклеточный рак и низкодифференцированная АК наличие изъязвления было также достоверно связано с частотой лимфогенного метастазирования (25,8% и 0% $p=0,00001$ и 38,2% и 16,2%, $p=0,0068$, соответственно). При различных гистологических типах по классификации Nakamura К. изъязвление увеличивало частоту лимфогенного метастазирования.

Таблица 19 – Частота лимфогенного метастазирования при изъязвленном и неизъязвленном РРЖ в зависимости от морфологических характеристик опухоли

	Изъязвление и фиброз			
	Есть		Нет	
	N(+)/абс	%	N(+)/абс	%
Размер опухоли				
1-2 см	9/59	15,3 p=0,0036* p=0,0022 ⁺	3/113 ⁺ p=0,0376	2,7
2,01-3 см	13/46	28,3 p=0,0001*	0/52 ⁺ p=0,0178	0
Более 3 см	21/51	41,2 p=0,00001*	8/83	9,6
Глубина инвазии				
M	16/77	20,8 p=0,00001* p=0,0021 ⁺	1/189	0,5 p=0,00001 [°] p=0,0005 ⁺ p=0,0027 [#]
SM1	7/42	16,7 p=0,00001 ⁺	4/39	10,3
SM1 дифференцированный	2/14	14,3 p=0,00001 ⁺	2/21	9,5
SM2	20/37	54,1	6/20	30,0
Глубина инвазии M				
M 1-2 см	2/35	5,7 p=0,0375 ⁺ p=0,0030 [°]	1/90	1,1
M 2,01-3 см	5/18	27,8 p=0,0014*	0/43	0
M более 3 см	9/24	37,5 p=0,0001*	0/56	0
Гистологический тип				
Перстневидноклеточный рак	17/66	25,8 p=0,00001*	0/66	0 p=0,0004 ⁺
Низкодифф. и папилл. АК	19/50	38,0 p=0,0068*	11/68	16,2
Nakamura K.				
Дифференцированный	7/38	18,4 p=0,0031*	4/129	3,1
Недифференцированный	36/118	30,5 p=0,00001*	7/119	5,9
<p>Размер опухоли. *статистически значимые различия по сравнению с отсутствием, p<0,05 ⁺статистически значимые различия по сравнению с размером более 3 см, p<0,05 Глубина инвазии *статистически значимые различия по сравнению с отсутствием, p<0,05 [°] статистически значимые различия по сравнению с группой SM1, p<0,05 ⁺статистически значимые различия по сравнению с группой SM2, p<0,05 [#] статистически значимые различия по сравнению с группой SM1 дифференц., p<0,05 M *статистически значимые различия по сравнению с отсутствием, p<0,05</p>				

+ статистически значимые различия по сравнению с группой M2-3, $p < 0,05$
 ° статистически значимые различия по сравнению с группой M более 3, $p < 0,05$
Гистология *статистически значимые различия по сравнению с отсутствием, $p < 0,05$
 +статистически значимые различия по сравнению с группой низкодифф и папилл АК, $p < 0,05$
Nakamura K. *статистически значимые различия по сравнению с отсутствием, $p < 0,05$

Гистологическая классификация Lauren P. [50] В 1965 год, в своей классификации Рекка Lauren подразделил рак желудка на 4 типа - кишечный, диффузный, смешанный и неклассифицируемый (Рисунок 6).

В нашем исследовании, вследствие малого количества неклассифицируемый тип был классифицирован как смешанный, а при затруднении классифицирования случаи были исключены из исследования.

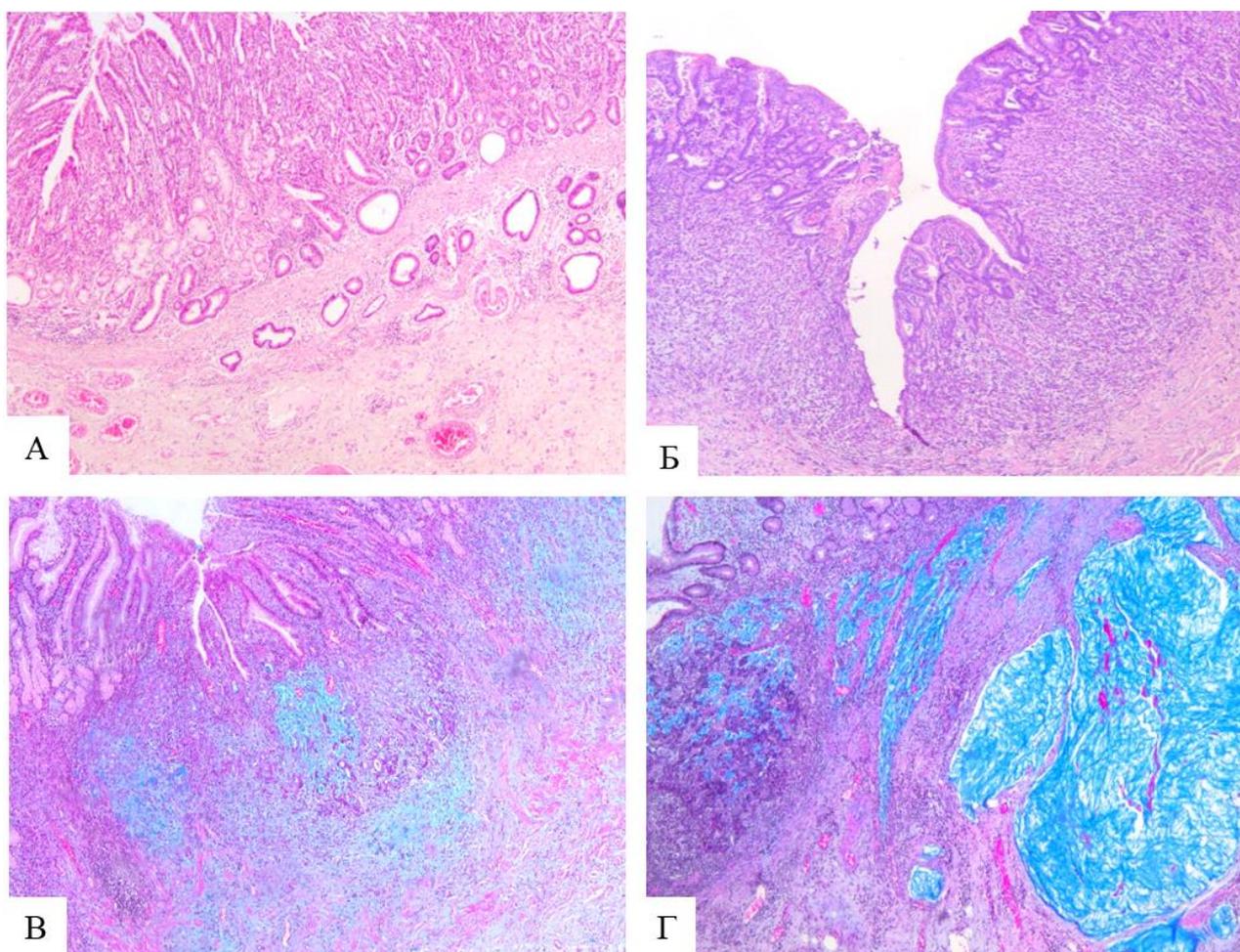


Рисунок 6 - Гистологические типы по классификации Lauren P. А. - Кишечный тип РРЖ (гематоксили/эозин, x50). Б. - Диффузный тип РРЖ. (гематоксили/эозин, x50). В. - Смешанный тип РРЖ (Крейберг, x50). Д. - Смешанный тип РРЖ (Крейберг, x100)

В нашем исследовании с увеличением глубины инвазии увеличивалось количество случаев со смешанным гистологическим типом SM2 - 21,1%, по сравнению с M – 9,8%,

$p=0,019$; SM1 – 4,9%, $p=0,004$ (Таблица 20). Частота встречаемости других гистотипов не зависела от глубины инвазии РРЖ.

Таблица 20 – Частота встречаемости гистотипов РРЖ по классификации Lauren P. в зависимости от глубины инвазии

гистотип РРЖ по классификации Lauren P.	Глубина инвазии						Всего	
	M		SM1		SM2			
Число пациентов	266		81		57		404	
	Абс	%	Абс	%	Абс	%	Абс	%
кишечный	144	54,1	46	56,8	28	49,1	218	54,0
диффузный	96	36,1	31	38,3	17	29,8	144	35,6
смешанный	26	9,8	4	4,9	12	21,1* ⁺	42	10,4
*статистически значимые различия по сравнению с M, $p<0,05$								
+статистически значимые различия по сравнению с SM1, $p<0,05$								

В нашем исследовании зависимости частоты лимфогенного метастазирования от гистологического типа РРЖ по классификации Lauren P. не выявлено (Таблица 21).

Таблица 21 – Зависимость лимфогенного метастазирования от гистологического типа по классификации Lauren P

Число пациентов	кишечный		диффузный		смешанный	
		218		144		42
	Абс	%	Абс	%	Абс	%
N0	188	86,2	129	89,6	33	78,6
N(+)	30	13,8	15	10,4	9	21,4
Статистически значимых различий нет						

Классификация Lauren P. вновь становится актуальной, поэтому было проведено исследование влияния дополнительных факторов РРЖ на частоту лимфогенного метастазирования (Таблица 22). При внутрислизистом РРЖ частота лимфогенного метастазирования достоверно ниже при кишечном типе по сравнению со смешанным ($p=0,048$). При подслизистом РРЖ гистотип по классификации Lauren P. не влиял на частоту лимфогенного метастазирования. При дифференцированном типе (классификация Nakamura K.) кишечный тип по классификации Lauren P. также показал достоверно низкую частоту метастазирования по сравнению с другими типами ($p=0,00001$). При недифференцированном гистологическом типе (классификация Nakamura K.) частота метастазирования не зависела от гистотипа по классификации Lauren P. При размере опухоли до 2 см смешанный тип показал достоверно высокую частоту метастазирования по сравнению с кишечным и диффузным типами (26,7%, по сравнению с кишечным – 6,2% $p=0,028$ и диффузным – 3,3% $p=0,013$), однако при увеличении размера опухоли частота лимфогенного метастазирования не зависела от гистотипа по классификации **Lauren P.**

Таблица 22 – Частота метастазирования РРЖ в зависимости от гистотипа по классификации Lauren P. и дополнительных морфологических параметров РРЖ

	Lauren P.					
	Кишечный		диффузный		смешанный	
	N(+)/абс	%	N(+)/абс	%	N(+)/абс	%
М	6/144	4,2 p=0,048* p=0,00001°	7/96	7,3	4/26	15,4
SM	24/74	32,4 p=0,041+	8/48	16,7	5/16	31,3
Дифференцированный	11/163	6,8 p=0,00001*	-	-	0/4	-
Недифференцированный	19/55	34,6 p=0,0001	15/144	10,4	9/38	23,7
До 2 см	6/97	6,2 p=0,028* p=0,008+	2/60	3,3 p=0,013* p=0,015+	4/15	26,7
Более 2 см	24/121	19,8	13/84	15,5	5/27	18,5

М/SM *статистически значимые различия по сравнению со смешанным, p<0,05
 +статистически значимые различия по сравнению с диффузным, p<0,05
 ° статистически значимые различия по сравнению с группой SM, p<0,05
Диф/недиф. +статистически значимые различия по сравнению с диффузным, p<0,05
 *статистически значимые различия по сравнению с недифференцированным, p<0,05
Размер*статистически значимые различия по сравнению со смешанным, p<0,05
 +статистически значимые различия по сравнению с группой более 2 см, p<0,05

Гистологическая классификация JGCA 2017г (Рисунки 7, 8).

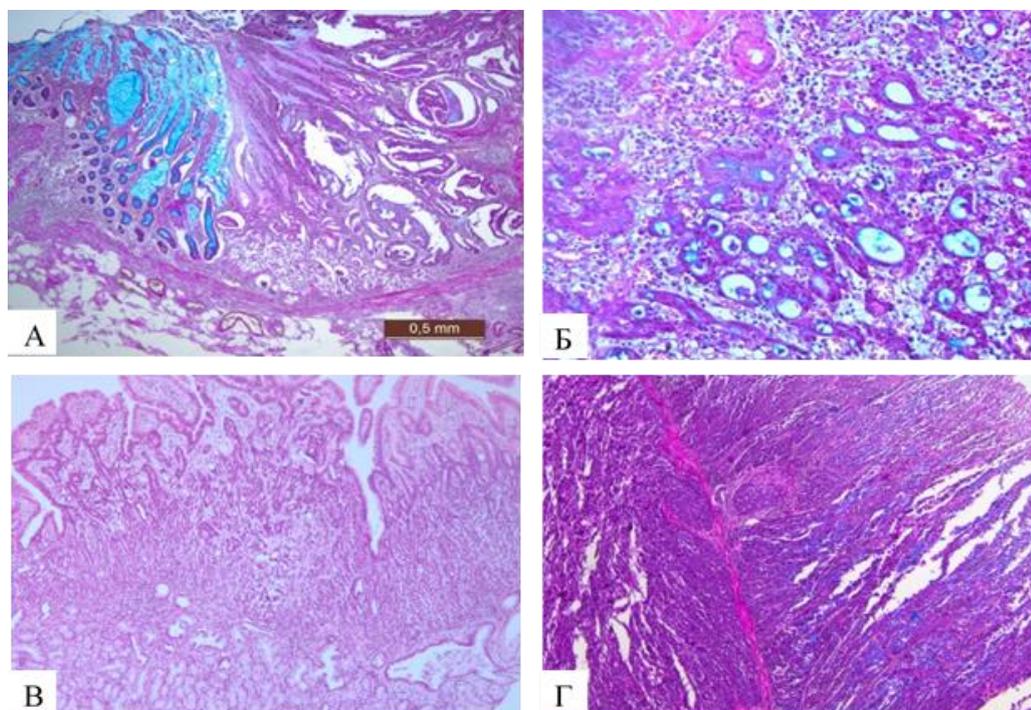


Рисунок 7 – Гистологические типы РРЖ по классификации JGCA 2017год: А. - TUB 1 (Крейберг, x50). Б. - TUB 2 (Крейберг, x50). В. – POR 2 (гематоксилин/эозин, x50). ГОД - POR 1 (Крейберг, x50)

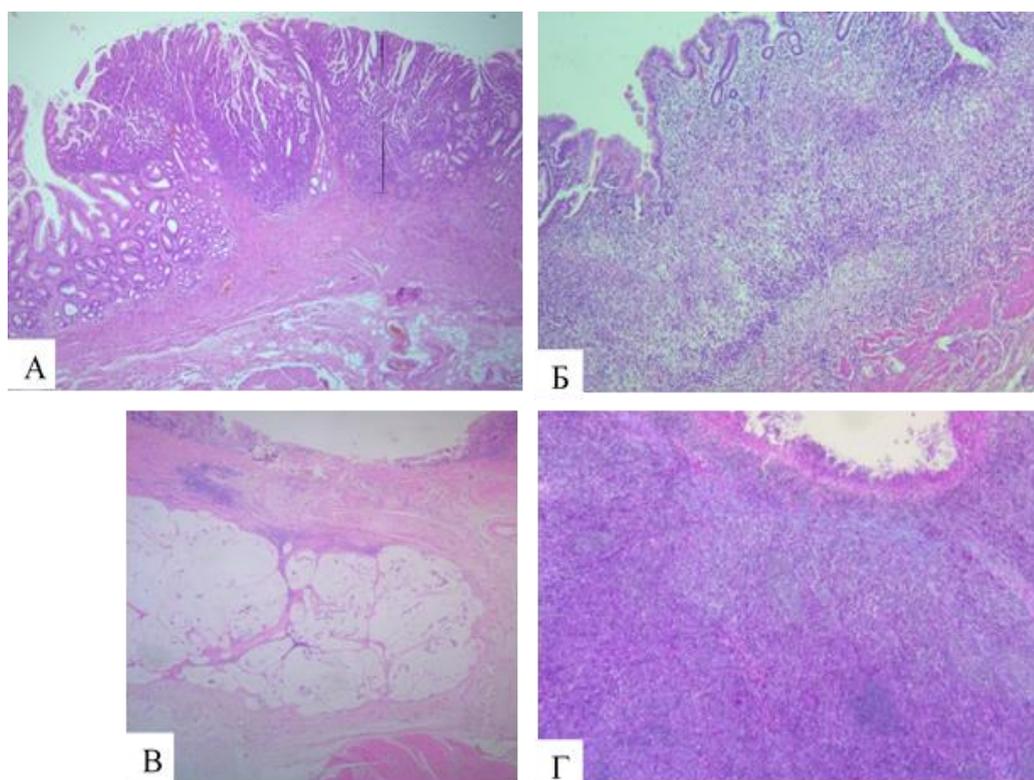


Рисунок 8 – Гистологические типы по классификации JGCA 2017год: А. - Папиллярная аденокарцинома (гематоксилин/эозин, x50). Б. - Перстневидноклеточный рак (гематоксилин/эозин, x50). В. - Муцинозная аденокарцинома (гематоксилин/эозин, x50). Г. - Аденокарцинома с лимфоидной стромой (гематоксилин/эозин, x50)

Папиллярная АК была исследована без учета степени дифференцировки (31 случай). При внутрислизистом РРЖ наиболее часто встречались такие гистологические типы как TUB1 и SRC, 35,0% и 34,6%, соответственно (Таблица 23). В случаях подслизистого РРЖ, при глубине инвазии SM1 наблюдалось максимальное количество случаев SRC (34,6%), а при глубине инвазии SM2 наибольшее количество случаев РРЖ было представлено типом POR 2 (36,8%). С увеличением глубины инвазии количество случаев TUB1 достоверно снижалось: М – 35,0%, по сравнению с SM1 – 19,8% $p=0,006$; по сравнению с SM2 – 7,0%, $p=0,00001$. Однако с увеличением глубины инвазии также снижалась и доля случаев такого неблагоприятного гистологического типа как SRC: М–34,6%, SM1–34,6%, SM2–21,1%; $p=0,031$.

Таблица 23 – Распределение гистотипов РРЖ по классификации JGCA в зависимости от глубины инвазии

	Глубина инвазии						Всего	
	М		SM1		SM2			
Число пациентов	266		81		57		404	
Гистотип РРЖ по классификации JGCA	Абс	%	Абс	%	Абс	%	Абс	%
	TUB1	93	35,0	16	19,8*	4	7,0* $p=0,029^+$	113

TUB2	18	6,8	14	17,3	1	1,8	33	8,2
POR1	5	1,9	4	4,9	6	10,5	15	3,7
POR2	42	15,8	9	11,1	21	36,8	72	17,8
PAP	15	5,6	8	9,9	8	14,0	31	7,7
SRC	92	34,6	28	34,6	12	21,1*	132	32,7
*статистически значимые различия по сравнению с M, p<0,05 +статистически значимые различия по сравнению с SM1, p<0,05								

Минимальная частота лимфогенного метастазирования наблюдалась при TUB1 - 0,9% (Таблица 24). При снижении дифференцировки аденокарциномы частота метастазирования РРЖ увеличивалась: TUB 2- 15,2% (p=0,0023), POR 2 – 26,4% (p=0,00001). При SRC определялась более низкая частота метастазирования - 12,9%, чем при TUB2- 15,2%, POR2 (26,4%, p=0,014) и PAP (32,3%, p=0,013). При PAP наблюдалась самая высокая частота метастазирования (32,3%, p=0,00001, p=0,014).

Таблица 24 – Частота лимфогенного метастазирования в зависимости от гистотипа РРЖ по классификации JGCA 2014г

Число пациентов	TUB1		TUB2		POR1		POR2		PAP		SRC		Другие	
	Абс	%	Абс	%	Абс	%	Абс	%	Абс	%	Абс	%	Абс	%
N0	112	99,1	28	84,8	14	93,3	53	73,6	21	67,7	115	87,1	7	87,5
N(+)	1	0,9	5	15,2*	1	6,7	19	26,4*+	10	32,3*+	17	12,9*	1	12,5
*статистически значимые различия по сравнению TUB1, p<0,05 +статистически значимые различия по сравнению с перстневидноклеточным раком, p<0,05														

При исследовании частоты лимфогенного метастазирования в зависимости от дополнительных морфологических факторов РРЖ выявлено, что при SRC без изъязвления метастатического процесса обнаружено не было (0/66, 0%), в то время как при POR2 и PAP метастазирование наблюдалось и при отсутствии изъязвления опухоли: 11/68, 16,2% (Таблица 25). Частота лимфогенного метастазирования при PAP не зависела от макроскопического типа опухоли, тогда как в случаях SRC и POR2 при 0I и 0II типах частота метастазирования была достоверно ниже, чем при 0III типе (Таблица 25).

Таблица 25 – Частота лимфогенного метастазирования РРЖ в зависимости от гистологического и макроскопических типов

JGCA	0I		0II		0III	
	N(+)/абс	%	N(+)/абс	%	N(+)/абс	%
SRC	0/9	0 p=0,025*	7/98	7,1 p=0,0002*	10/25	40,0
POR1-2	2/17	11,8 p=0,004*	2/41	4,9 p=0,00001*	16/29	55,2
PAP	7/24	29,2	1/5	20,0	2/2	100
*статистически значимые различия по сравнению с типом 0III, p<0,05						

Гистологическая классификация ВОЗ. Гистологическая классификация ВОЗ 2019 год для тубулярных аденокарцином предлагает две степени дифференцировки (low grade – включающую в себя случаи высоко и умеренно дифференцированной аденокарциномы и high grade – включающий случаи низкодифференцированной аденокарциномы). В нашем исследовании для лучшего понимания влияния степени дифференцировки РРЖ на лимфогенное метастазирование и для сравнения с литературными данными была сохранена градация степени дифференцировки на три степени (высокая, умеренная и низкая) в соответствии с выраженностью клеточной и тканевой атипии, описанной в ВОЗ 2010. Однако папиллярные аденокарциномы были изучены без использования системы степени дифференцировки вследствие небольшого количества случаев (n=31) (Рисунок 9). ДК была исследована без разделения на перстевидноклеточный и иные субтипы.

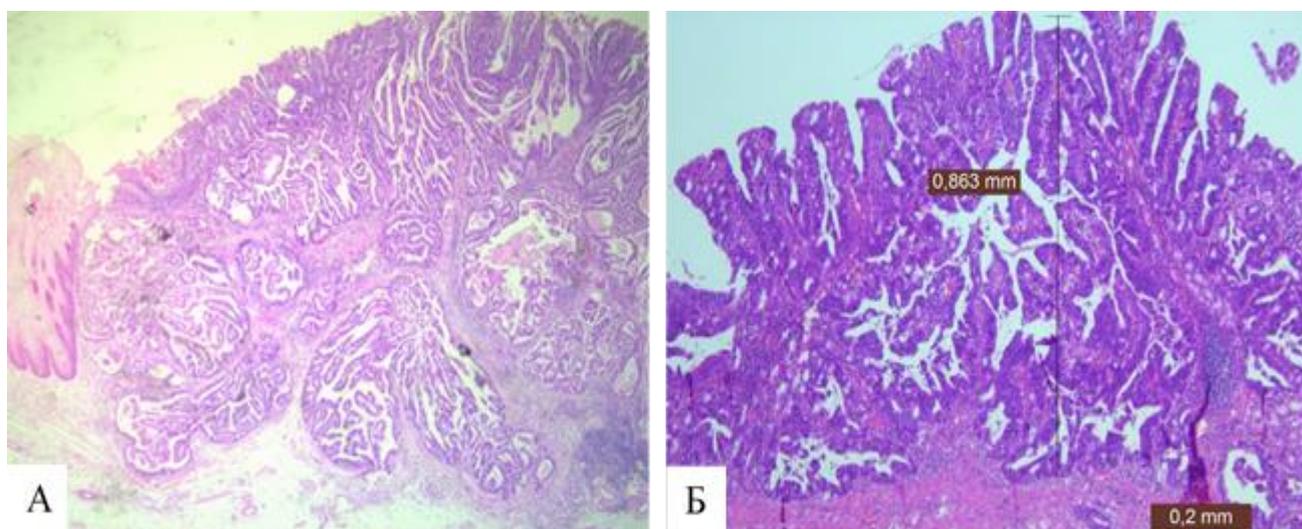


Рисунок 9 – Виды папиллярных аденокарцином: А. - Высокодифференцированная папиллярная аденокарцинома (гематоксилин/эозин, x50). Б. – Умеренно дифференцированная папиллярная аденокарцинома (гематоксилин/эозин, x50)

В нашем исследовании ВДАК достоверно чаще выявлялась при внутрислизистом РРЖ – 35,0%, по сравнению с SM1, $p=0,006$; по сравнению с SM2, $p=0,00001$ (Таблица 26). При подслизистом РРЖ с увеличением глубины инвазии (SM1-SM2) количество случаев ВДАК снижалось: SM1 – 19,7%, $p=0,00001$ и SM2 – 7,0% $p=0,029$.

Более неблагоприятный гистологический тип - НДАК достоверно чаще выявлялся при глубине инвазии SM2 – 38,6% (по сравнению с глубиной инвазии М – 14,7%, $p=0,00001$ и SM1 – 14,8%, $p=0,0006$).

Однако, при увеличении глубины инвазии количество случаев другого неблагоприятного гистологического типа ДК достоверно снижалось (М – 34,6%, SM 2 – 21,1%; $p=0,032$).

Таблица 26 – Распределение гистотипов карцином по классификации ВОЗ в зависимости от глубины инвазии опухоли

	Глубина инвазии						Всего	
	M		SM1		SM2			
Число пациентов	266		81		57		404	
Гистотип	Абс	%	Абс	%	Абс	%	Абс	%
ВДАК (низкой степени злокачественности)	93	35,0	16	19,7 p=0,006*	4	7,0 p=0,00001* p=0,029 ⁺	113	28,0
УДАК (низкой степени злокачественности)	16	6,0	14	17,3 p=0,003*	1	1,8 p=0,003 ⁺	31	7,6
НДАК (высокой степени злокачественности)	39	14,7	12	14,8	22	38,6 p=0,0001* p=0,00001 ⁺	73	18,1
ДК	92	34,6	28	34,6	12	21,1 p=0,031*	132	32,7
ПАП	15	5,6	8	9,9	8	14,0 p=0,032*	31	7,7
Другие	11	4,1	3	3,7	10	17,5* ⁺ p=0,0011* p=0,007	24	5,9
*статистически значимые различия по сравнению с M, p<0,05 +статистически значимые различия по сравнению с SM1, p<0,05								

При уменьшении степени дифференцировки опухоли от ВДАК до УДАК и НДАК частота лимфогенного метастазирования возрастала более чем в шесть раз (p=0,002 и p=0,00001/p=0,013, соответственно). При дискогезивной карциноме частота лимфогенного метастазирования составила 12,9%. Частота встречаемости лимфогенного метастазирования при дискогезивной карциноме была достоверно выше, чем при ВДАК (p=0,0057). Однако, при сравнении с частотой лимфогенного метастазирования при НДАК частота метастазирования при дискогезивной карциноме была в два раза ниже p=0,026, что говорит о ее более низком злокачественном потенциале (Таблица 27).

Таблица 27 – Частота метастазирования в зависимости от гистологического типа по классификации ВОЗ

Гисто тип	ВДАК		УДАК		НДАК		ДК		ПАП		Другие гистологические виды	
	Абс	%	Абс	%	Абс	%	Абс	%	Абс	%	Абс	%
n=404	113		31		73		132		31		24	
N0	112	99,1	26	83,9	57	78,1	115	87,1	21	67,7	19	79,2
N(+)	1	0,9	5	16,1 p=0,002*	16	21,9 0,00001*	17	12,9 p=0,0002*	10	32,3 p=0,00001* p=0,013 ⁺	5	20,8 p=0,0006*
*статистически значимые различия по сравнению ВДАК, p<0,05 +статистически значимые различия по сравнению ДК, p<0,05												

При ПАП наблюдалась самая высокая частота метастазирования - 32,3% (по сравнению с ДК - 12,9%, $p=0,013$) и даже выше, чем при НДАК (21,9%, $p=0,236$).

Классификация Nakamura К. В показаниях к эндоскопической резекции, предложенных JGCA используется классификация Nakamura К. (1968год) – вариант полной классификации JGCA. Классификация Nakamura К. подразделяет все гистологические типы классификации JGCA в зависимости от степени дифференцировки на дифференцированные и недифференцированные (Рисунок 10).

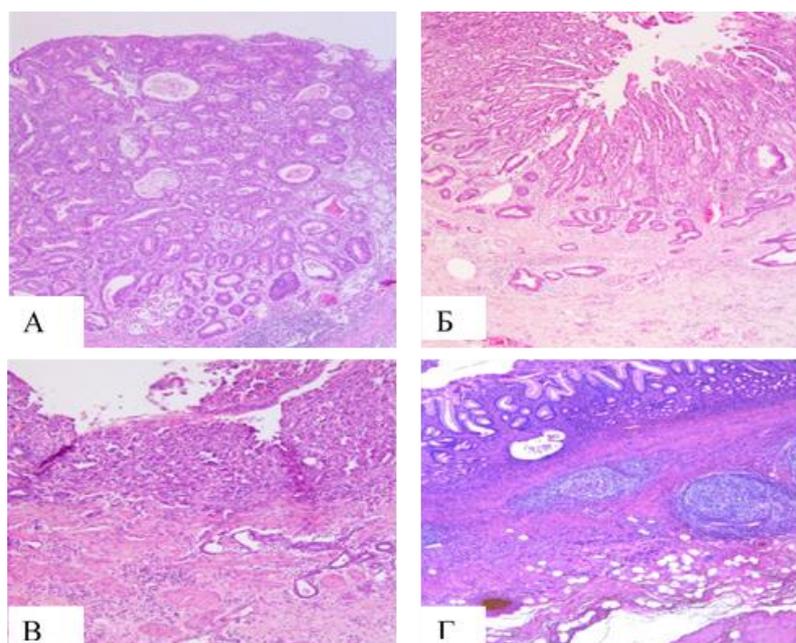


Рисунок 10 – Гистологические типы РРЖ по классификации Nakamura К.: А. - Дифференцированный тип (Крейберг, x100). Б. – Дифференцированный тип (Крейберг, x100). В. недифференцированный тип (гематоксилин/эозин, x50). Д. – Недифференцированный тип (гематоксилин/эозин, x50)

В нашем исследовании количество случаев недифференцированного типа несколько превышало количество случаев дифференцированного типа: 58,7% против 41,3% (Таблица 28). С увеличением глубины инвазии количество случаев дифференцированного типа по классификации Nakamura К. достоверно уменьшалось.

Таблица 28 – Частота встречаемости гистотипов РРЖ по классификации Nakamura К. в зависимости от глубины инвазии

	Глубина инвазии							
	M		SM1		SM2		Всего	
Число пациентов	266		81		57		404	
Гистотип	Абс	%	Абс	%	Абс	%	Абс	%
Дифференцированный тип	123	46,2	35	43,2	9	15,8**	167	41,3
Недифференцированный тип	143	53,8	46	56,8	48	84,2	237	58,7
*статистически значимые различия по сравнению с M, $p<0,05$								
+статистически значимые различия по сравнению с SM1, $p<0,05$								

В нашем исследовании гистотип по классификации Nakamura К. являлся независимым прогностическим признаком лимфогенного метастазирования. Частота метастазирования при недифференцированном типе была в три раза выше, чем при дифференцированном: 18,1% против 6,6%; $p=0,00045$ (Таблица 29).

Таблица 29 – Частота лимфогенного метастазирования РРЖ в зависимости от гистологического типа опухоли по классификации **Nakamura К**

	Дифференцированный тип		Недифференцированный тип	
Число пациентов	167		237	
	Абс	%	Абс	%
N0	156	93,4	197	81,9
N(+)	11	6,6	43	18,1*
*статистически значимые различия по сравнению с дифференцированным типом, $p=0,00045$				

Так как гистотип раннего рака желудка по классификации Nakamura К. является важным прогностическим признаком лимфогенного метастазирования и определяющим признаком в показаниях JGCA, были исследованы корреляции частоты метастазирования в зависимости от гистотипа РРЖ, морфологических факторов, применяемых в других классификациях и не включенных в показания JGCA.

При исследовании частоты метастазирования в зависимости от факторов, включенных в показания JGCA (глубина инвазии, наличие изъязвления) выявлены значимые различия. При увеличении глубины инвазии при дифференцированном и недифференцированном типах РРЖ достоверно увеличивается частота метастазирования (Таблица 30).

Таблица 30 – Частота лимфогенного метастазирования РРЖ в зависимости от гистотипа и глубины инвазии

	Nakamura К.			
	дифференцированный		недифференцированный	
	N(+)/абс	%	N(+)/абс	%
M	3/123	2,4	14/143	9,8
SM	8/44	18,2 ⁺	29/94	30,9 ⁺
+статистически значимые различия по сравнению с M, $p<0,05$				

Наличие изъязвления и перитуморального фиброза опухоли также достоверно увеличивает частоту метастазирования РРЖ. При дифференцированном типе при наличии изъязвления частота метастазирования составила 18,4% (по сравнению с отсутствием изъязвления – 3,1%, $p=0,003$).

При недифференцированном типе наличие изъязвления также увеличивает частоту метастазирования: 30,5%, $p=0,00001$ (Таблица 31).

Таблица 31 – Частота лимфогенного метастазирования РРЖ в зависимости от гистотипа по классификации Nakamura К. и наличия изъязвления

	Изъязвление			
	Есть		Нет	
Нakamura К.	N(+)/абс	%	N(+)/абс	%
Дифференцированный	7/38	18,4*	4/129	3,1
Недифференцированный	36/118	30,5*	7/119	5,9

*статистически значимые различия по сравнению с отсутствием, $p < 0,05$

При включении в исследование макроскопического типа было выявлено, что дифференцированный и недифференцированный гистотипы по классификации Nakamura К. при 0I и 0II макроскопическом типе опухоли имеют достоверно низкую частоту метастазирования по сравнению с 0III типом, при этом дифференцированный тип 0I - 4,8%, $p=0,00001$; 0II - 2,1%, $p=0,00001$; недифференцированный тип 0I – 16,7%, $p=0,001$; 0II – 6,3%, $p=0,00001$ (Таблица 32).

Таблица 32 – Зависимость лимфогенного метастазирования от гистотипа по классификации Nakamura К. и макроскопического типа РРЖ

	0I		0II		0III	
	N(+)/абс	%	N(+)/абс	%	N(+)/абс	%
Дифф. тип	3/63	4,8*	2/97	2,1*	6/7	85,7
Недифф. тип	6/36	16,7*	9/144	6,3*	28/57	49,1

Также при исследовании влияния возраста на частоту метастазирования показано, что недифференцированный РРЖ после 60 лет являлся фактором риска. При недифференцированном РРЖ в случаях до 60 лет частота метастазирования составила 22/149 (14,8%), старше 60 – 21/88; 23,9% (Таблица 33, Рисунок 11).

Таблица 33 – Частота метастазирования РРЖ в зависимости от гистотипа по классификации Nakamura К. и возраста больных

	Возрастная группа									
	До 40 лет		40-49		50-59		60-69		70 и старше	
Гистотип	N(+)/абс	%	N(+)/абс	%	N(+)/абс	%	N(+)/абс	%	N(+)/абс	%
Дифф. тип (n=233)	0/3	-	2/22	9,1	3/56	5,4	4/54	7,4	2/32	6,3
Недифф. тип(n=171)	5/30	16,7	6/42	14,3	10/72	13,9	18/71	25,4*	4/22	18,2
Всего	5/33	15,2	8/64	12,5	13/128	10,2	22/125	17,6	6/54	11,1

*статистически значимые различия по сравнению с дифференцированным, $p=0,007$

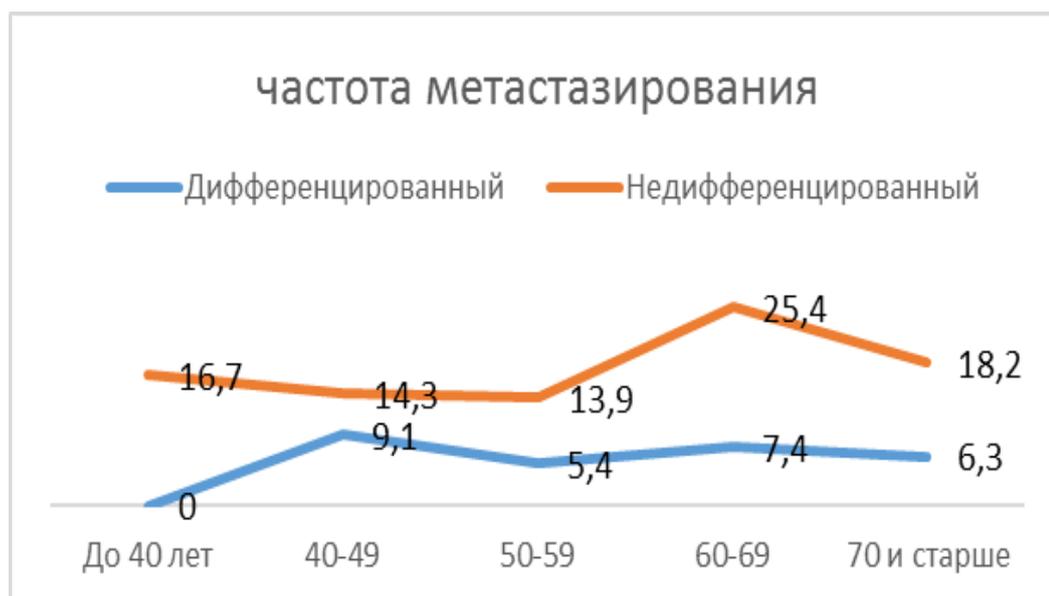


Рисунок 11 – Частота лимфогенного метастазирования РРЖ в зависимости от гистотипа по классификации Nakamura K

Лимфоваскулярная инвазия. Определение лимфоваскулярной инвазии проводилось на микропрепаратах, окрашенных гематоксилин/эозином, с поддержкой при положительной окраске цитокератинами (Рисунок 12).

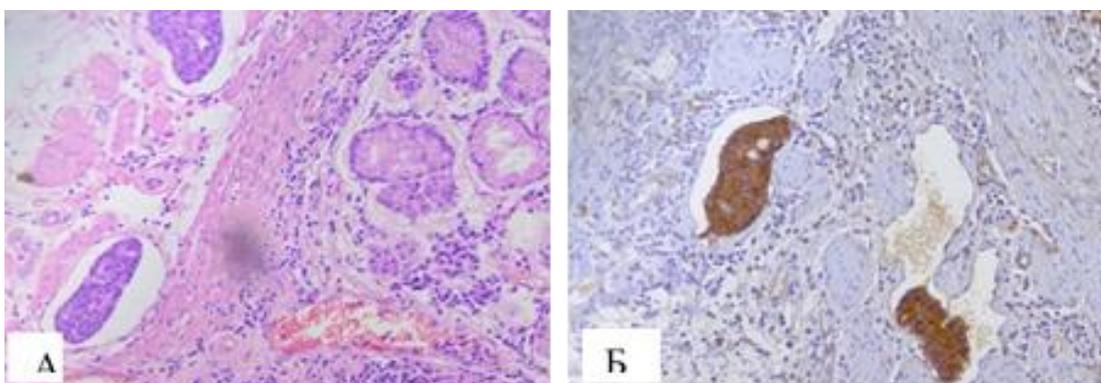


Рисунок 12 – А. - Опухолевый эмбол в лимфатическом сосуде (гематоксилин/эозин, x400). Б. - Опухолевый эмбол в просвете мелкой вены, опухолевые клетки экспрессируют цитокератин 18 (x400)

Частота лимфоваскулярной инвазии при локализации опухоли в слизистой оболочке желудка была минимальной и составляла 1,5%. При увеличении глубины инвазии опухоли количество случаев лимфоваскулярной инвазии достоверно увеличивалось до 21% при SM1; $p=0,00001$ и 29,8% - при SM2; $p=0,00001$ (Таблица 34).

Таблица 34 – Частота лимфоваскулярной инвазии в зависимости от глубины инвазии РРЖ

лимфоваскулярная инвазия	Глубина инвазии						Всего	
	M		SM1		SM2			
Число пациентов	266		81		57		404	
Частота лимфоваскулярной инвазии	Абс	%	Абс	%	Абс	%	Абс	%
Нет	262	98,5	64	79,0	40	70,2	366	90,6
Есть	4	1,5	17	21,0*	17	29,8*	38	9,4
*статистически значимые различия по сравнению M, p=0,00001								

Частота лимфогенного метастазирования достоверно зависит от наличия лимфоваскулярной инвазии: отсутствие 8,5% против наличия 60,5%, p=0,00001 (Таблица 35).

Таблица 35 – Частота лимфогенного метастазирования РРЖ в зависимости от лимфоваскулярной инвазии.

	Лимфоваскулярная инвазия			
	нет		есть	
Число пациентов	366		38	
Наличие метастазов	Абс	%	Абс	%
N0	335	91,5	15	39,5
N(+)	31	8,5	23	60,5*
*статистически значимые различия по сравнению с отсутствием лимфоваскулярной инвазии, p=0,00001				

3.1.2 Отдаленные результаты

Медиана времени наблюдения составила 132 мес (от 0,3 до 252,3 мес). Самый отдаленный случай смерти от рецидива РРЖ наблюдался по истечении 6 лет 3 мес после гастректомии. Наличие метастатического процесса в регионарных лимфоузлах при РРЖ ухудшает отдаленные результаты: достоверно увеличивается частота прогрессирования РРЖ (31,5% против 6,6%, p=0,00001) и, как следствие, смертность от РРЖ (29,6% против 6,6%, p=0,00001) и смертность от любых причин (48,2% против 30,0%, p=0,002).

Лимфогенное метастазирование достоверно снижает долю случаев РРЖ, наблюдающихся без признаков рецидива: 50,0% против 70,0%, p=0,0035 (Таблица 36, 37, 38, 39, Рисунок 13).

Таблица 36 – Статус больных РРЖ в зависимости от наличия лимфогенного метастазирования

		N0	N(+)	Все
Число пациентов		350	54	404
Смертность		105(30,0%)	26(48,2%) p=0,002*	131(32,4%)
Статус пациента	Смертность от РРЖ	23(6,6%)	16(29,6%) p=0,00001*	39(9,7%)
	Смертность от других причин	71(20,3%)	7(13,0%)	78(19,3%)
	Смертность от другого онкологического заболевания	6(1,7%)	-	6(1,5%)
	Смертность от осложнений в раннем послеоперационном периоде	5(1,4%)	3(5,6%)	8(2,0%)
	Выживаемость без проявлений болезни	245(70,0%)	27(50,0%) p= 0,0035*	272(67,3%)
	Выживаемость с прогрессированием	-	1(1,8%)	2(0,3%)
Прогрессирование		23(6,6%)	17(31,5%) p=0,00001*	40(9,9%)
*статистически значимые различия по сравнению с N0, p<0,05				

Таблица 37 – Общая выживаемость больных РРЖ

	N0	N(+)	Все
N	350	54	404
1 год	96,3±1,0	86,7±4,7	95,0±1,1
3 года	91,6±1,5	77,1±5,8	89,7±1,5
5 лет	87,3±1,8	65,5±6,6	84,5±1,8
10 лет	75,2±2,4	57,4±6,9	72,9±2,3
15 лет	64,1±3,0	37,4±9,7	60,7±2,9
20 лет	63,1±3,1	-	59,8±3,0
Медиана, мес.	Не достигнута	149,1 p=0,002*	Не достигнута
*статистически значимые различия по сравнению с N0, p<0,05			

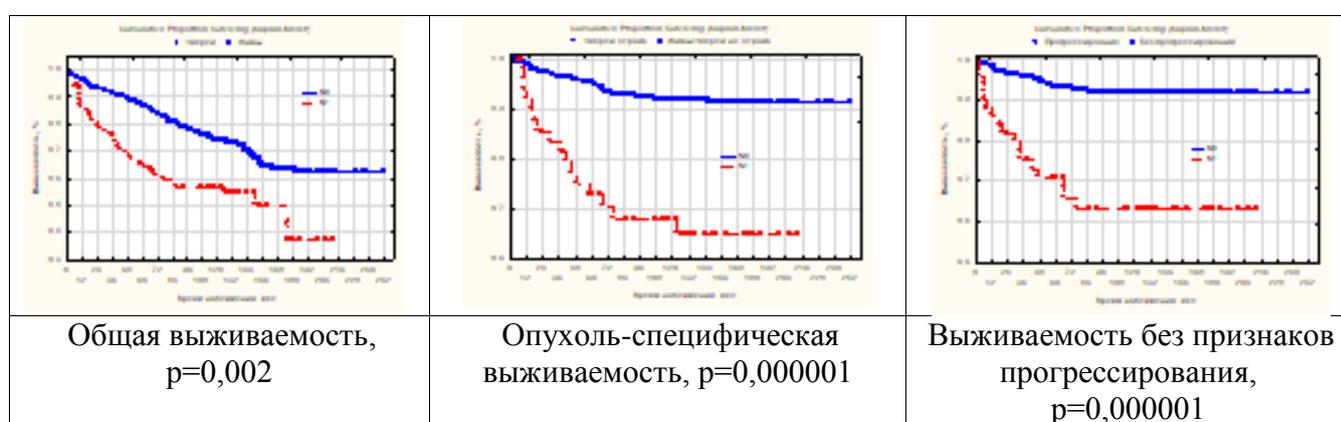
При отсутствии метастатического процесса в лимфатических узлах РРЖ характеризуется хорошей 5, 10 и 15-летней общей, опухоль-специфической выживаемостью (более 90%) и выживаемостью без признаков прогрессирования (Таблица 38, 39, 40, Рисунок 13).

Таблица 38 – Опухоль-специфическая выживаемость больных РРЖ

	N0	N(+)	Все
N	350	54	404
1 год	99,1±0,5	92,2±3,8	98,2±0,7
3 года	96,7±1,0	84,3±5,1	95,0±1,1
5 лет	95,7±1,1	74,0±6,2	92,8±1,3
10 лет	92,9±1,5	69,5±6,6	89,7±1,6
15 лет	92,2±1,6	66,4±7,0	88,7±1,7
20 лет	92,2±1,6	-	88,7±1,7
Медиана, мес.	Не достигнута	Не достигнута p=0,000001*	Не достигнута

Таблица 39 – Выживаемость больных РРЖ без признаков прогрессирования

	N0	N(+)	Все
N	350	54	404
1 год	98,2±0,7	86,2±4,9	96,7±0,9
3 года	96,0±1,1	75,4±6,2	93,4±1,3
5 лет	93,8±1,3	70,8±6,6	90,9±1,5
10 лет	92,7±1,5	63,2±7,2	89,0±1,6
15 лет	92,7±1,5	63,2±7,2	89,0±1,6
20 лет	92,7±1,5	-	89,0±1,6
Медиана, мес.	Не достигнута	Не достигнута p=0,000001*	Не достигнута

**Рисунок 13 – Графики выживаемости больных РРЖ**

3.2 Стратификация риска и прогностическая модель оценки риска лимфогенного метастазирования РРЖ и прогностическая математическая модель расчета индивидуального риска ЛМ РРЖ

Во втором разделе главы № 3 для оценки стратегии лечения РРЖ и необходимости дальнейшей операции после эндоскопического лечения был проведен однофакторный и многофакторный логистический регрессионный анализ закономерностей лимфогенного метастазирования РРЖ и разработана прогностическая математическая модель расчета индивидуального риска лимфогенного метастазирования. Проведена проверка корректности работы прогностической модели, изучены отдаленные результаты, такие как общая, опухоль-специфическая выживаемость и выживаемость без прогрессирования больных РРЖ, показатели смертности в группах риска лимфогенного метастазирования. Для создания математической модели исследуемая популяция была случайным образом разделена на 2 группы: 269 пациентов - в обучающей выборке и 135 пациентов - в тестирующей выборке. Пациенты в двух группах были хорошо сбалансированы по основным характеристикам (Таблица 40). Уровень

метастазирования не зависел от пола и возраста больных, локализации и мультицентричности процесса.

Таблица 40 – Общая характеристика обучающей и тестирующей групп больных РРЖ

Число пациентов		Обучающая выборка		Тестирующая выборка	
		269		135	
		Абс	%	Абс	%
Пол	м	145	53,9	69	51,1
	ж	124	46,1	66	48,9
Возрастная группа	До 40 лет	21	7,8	12	8,9
	40-49	41	15,2	23	17,0
	50-59	87	32,4	41	30,4
	60-69	82	30,5	43	31,9
	70 и старше	38	14,1	16	11,8
Глубина инвазии	М	177	65,8	89	65,9
	SM1	54	20,1	27	20,0
	SM2	38	14,1	19	14,1
Метастазы лимфатические узлы.	N0	233	86,6	117	86,7
	N(+)	36	13,4	18	13,3

Для выявления прогностических морфологических и клинических факторов РРЖ были отобраны морфологические факторы, коррелирующие с наличием лимфогенного метастазирования (Таблица 41).

Таблица 41 – Корреляция клиничко-морфологических характеристик РРЖ с наличием лимфогенного метастазирования

	Коэффициент корреляции Спирмена, Rs	Достигнутый уровень значимости (p)
Глубина инвазии	0,334	0,000001
Лимфоваскулярная инвазия	0,447	0,000001
Фиброз и изъязвление	0,331	0,000001
Глубина инвазии в мкм	0,341	0,000001
Максимальный размер	0,185	0,0002
Макроскопический тип	0,295	0,000001
Гистотип по классификации ВОЗ	0,134	0,007
Гистотип по классификации JGCA	0,141	0,005
Гистотип по классификации Nakamura K.	0,167	0,0007

Данные факторы были использованы для создания математической прогностической модели расчета индивидуального риска лимфогенного метастазирования. Для обучающей выборки (269 больных) был проведен однофакторный регрессионный анализ (Таблица 42).

Таблица 42 – Результаты однофакторной биномиальной логистической регрессии для обучающей выборки (n=269)

	Оценка параметра	Стандартная ошибка	Хи-квадрат Вальда	Достигнутый уровень значимости (p)	Отношение шансов OR	95% ДИ для отношения шансов	
						Нижняя	Верхняя
Глубина инвазии	-1,124	0,124	81,552	0,0001	0,325	0,255	0,415
Лимфоваскулярная инвазия	0,811	0,425	3,642	0,056	2,250	0,978	5,175
Фиброз и изъязвление	-0,856	0,214	15,962	0,0001	0,425	0,279	0,646
Глубина инвазии в мкм	-0,214	0,073	8,550	0,003	0,807	0,699	0,932
Максимальный размер	-0,766	0,088	75,594	0,0001	0,465	0,391	0,552
ВОЗ классификация	-0,529	0,061	74,015	0,0001	0,589	0,523	0,665
JGCA классификация	-0,364	0,044	70,137	0,0001	0,695	0,638	0,757
Накамура К. классификация	-1,029	0,108	90,005	0,0001	0,357	0,289	0,442
Макроскопический тип	-1,192	0,137	75,913	0,0001	0,303	0,232	0,397

С учетом полученных данных был проведен многофакторный логистический регрессионный анализ методом пошагового исключения для больных обучающей выборки (n=269). В результате была получена значимая математическая модель (R² Нэйджелкерка = 0,83). Процент корректно предсказанных случаев лимфогенного метастазирования составил 92,2 % (Таблица 43). Максимальный вклад в вероятность наличия метастатического процесса внесли лимфоваскулярная инвазия (ОШ-24,053), макроскопический тип (ОШ-6,955), фиброз и изъязвление (4,850), глубина инвазии в мкм (4,676), однако наилучшее значение доверительного интервала наблюдается для такого фактора, как глубина инвазии в мкм.

Таблица 43 – Многофакторный логистический регрессионный анализ

	Оценка параметра	Стандартная ошибка	Хи-квадрат Вальда	Достигнутый уровень значимости	Отношение шансов	95% ДИ для отношения шансов	
						Нижняя	Верхняя
Глубина инвазии	-5,166	0,953	29,395	0,0001	0,006	0,001	0,037
Лимфоваскулярная инвазия	3,180	0,729	19,039	0,0001	24,053	5,765	100,361

Фиброз и изъязвление	1,579	0,656	5,801	0,016	4,850	1,342	17,527
Глубина инвазии в мкм	1,542	0,278	30,848	0,0001	4,676	2,713	8,059
Максимальный размер	0,358	0,318	1,264	0,261	1,430	0,766	2,670
JGCA классификация	0,251	0,205	1,495	0,221	1,285	0,860	1,920
Nakamura К. классификация	-1,473	0,859	2,939	0,086	0,229	0,043	1,235
Макроскопический тип	1,939	0,622	9,717	0,002	6,955	2,054	23,547

Для каждого из восьми независимых факторов риска были получены коэффициенты, которые были использованы для вычисления индекса лимфогенного метастазирования.

Использовали следующую кодировку значений признаков:

- глубина инвазии (слизистый/подслизистый - M/SM1+SM1) = 1/2;
- наличие лимфо-васкулярной инвазии = 0/1;
- наличие изъязвления и фиброза = 0/1;
- глубина инвазии в мкм (нет, 1-100, 101-300, 3-301-500, более 500) = 0,1,2,3,4;
- максимальный размер (1-2см, 2,1-3см, 3 и более) = 1,2,3;
- гистологический тип по классификации JGCA 2014год = 1/2/3/4/5/6/7;
- гистологический тип по классификации Nakamura К. = 1/2.
- макроскопический тип опухоли (I+II, III) = 1/2.

В результате была получена формула для вычисления индивидуального индекса метастазирования (ИМ):

$$\text{ИМ} = -5,166 * \text{M/SM} + 3,180 * \text{Лимфо-васкулярная инвазия} + 1,579 * \text{Фиброз+Изъязвление} + 1,542 * \text{Глубина инвазии в мкм} + 0,358 * \text{Максимальный размер} + 0,251 * \text{JGCA классификация} - 1,473 * \text{Nakamura К.} + 1,939 * \text{Макроскопический тип.}$$

Для определения порогового значения индекса лимфогенного метастазирования в обучающей выборке была построена ROC-кривая. Площадь под ROC - кривой равна 0,925 ($p=0,0001$; 95% CI = 0,883-0,966). При этом построенная нами ROC-кривая для обучающей выборки превышает площадь отдельных прогностических факторов, например, глубины инвазии по слоям 1 – внутрислизистый PPЖ, 2- глубина инвазии SM1, 3- глубина инвазии SM2 (площадь = 0,746) и наличия лимфоваскулярной инвазии (площадь = 0,733) (Рисунок 14).

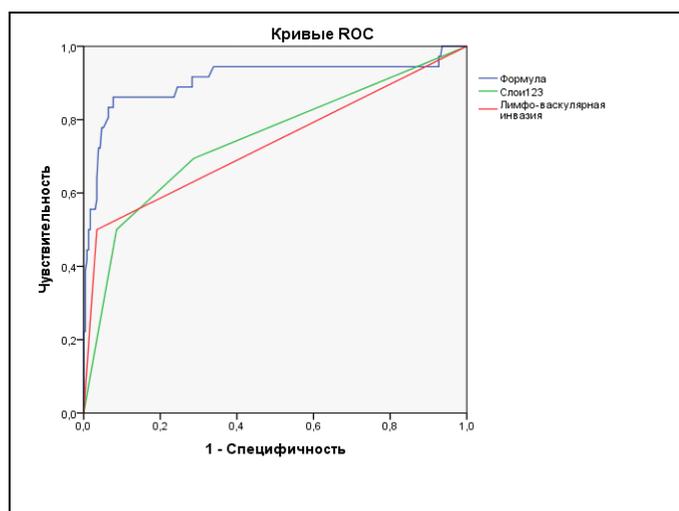


Рисунок 14 – ROC-кривая для обучающей выборки (n=269)

По ROC-кривой была определена точка отсечения между случаями РРЖ с метастазированием и без метастазирования, равная -1,5, в которой наблюдается оптимальное соотношение чувствительности и специфичности (86,1% и 91,8%, соответственно). При значении индекса метастазирования выше -1,5 частота метастазирования составила 31/50 (62,0%), при значении -1,5 и менее – 5/219(2,3%); $p=0,00001$. При выборе критической точки -1,5 чувствительность, специфичность, точность, положительное прогностическое значение и отрицательное прогностическое значение прогнозирования наличия лимфогенного метастазирования в обучающей выборке составила 86,1%, 91,8%, 91,1%, 62,0% и 97,7%, соответственно. В результате, значение индекса выше -1,5 свидетельствует о высокой вероятности наличия метастатического процесса. Для проверки модели был вычислен индекс прогнозирования метастазирования при применении разработанной формулы в тестирующей выборке из 135 пациентов.

Проверка показала площадь под ROC - кривой равной 0,839; $p=0,0001$, 95% CI = 0,733-0,945 (Рисунок 15).

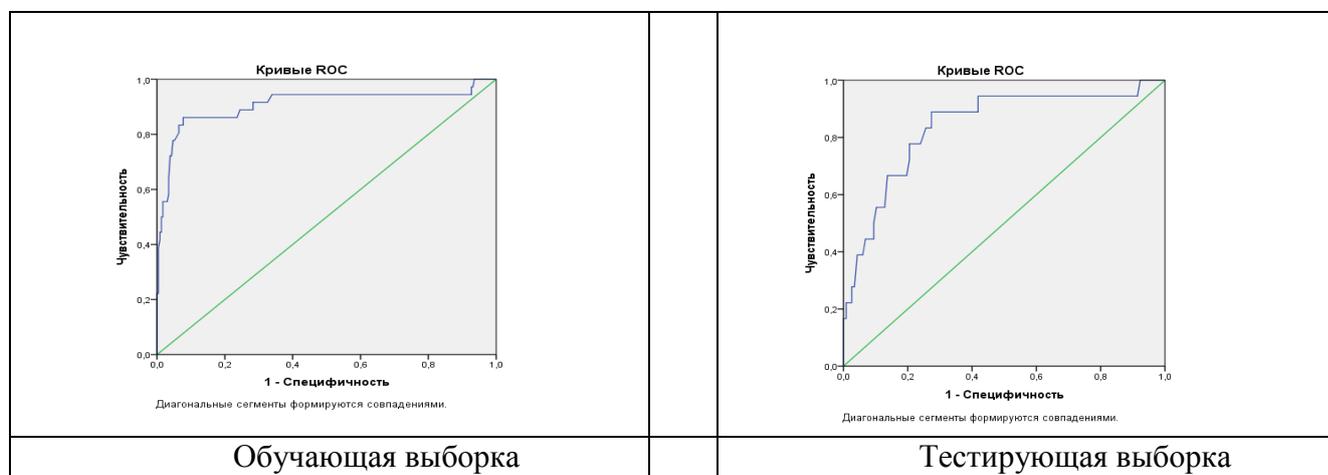


Рисунок 15 – ROC кривые для обучающей и тестирующей выборки

При значении индекса метастазирования РРЖ в тестирующей выборке выше -1,5 частота метастазирования составила 12/30 (40,0%), при значении -1,5 и менее частота метастазирования РРЖ составила 6/105 (5,7%; $p=0,00001$).

Чувствительность, специфичность, точность, ПЦПР и ПЦОР прогнозирования метастатического процесса в тестирующей выборке составила 66,7%, 84,6%, 82,2%, 40,0% и 94,3%, соответственно.

При применении формулы к общей группе больных РРЖ ($n=404$) 324 (80,2%) больных были отнесены к группе низкого риска, 80 (19,8%) – к группе высокого риска. Чувствительность - 79,6%, специфичность – 89,4%, точность – 88,1%, ПЦПР - 53,8%, ПЦОР - 96,6% (Таблица 44).

Таблица 44 – Информативность данных групп низкого и высокого риска

	Группа низкого риска		Группа высокого риска		Общее количество	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
Истинно-отрицательные	313	96,6	0	0,0	313	77,5
Ложно-отрицательные	11	3,4	0	0,0	11	2,7
Истинно-положительные	0	0,0	43	53,8	43	10,6
Ложно-положительные	0	0,0	37	46,3	37	9,2
Общее количество	324		80		404	100,0

В группе 324 больных, отнесенных моделью к группе с низким риском регионарного метастазирования, метастазирование не было диагностировано в 3,4% случаев (11/324), гипердиагностики метастатического процесса (ложноположительных случаев) не было. В группе с высоким риском частота диагностированного метастазирования составила 53,8% (43/80), $p=0,00001$, ложно-отрицательных случаев не выявлено. Количество ложноположительных случаев составило 46,3% (37/80).

В итоге, математическая модель не диагностировала метастатический процесс у 11 больных РРЖ, включила их в группу низкого риска метастазирования (2,7%, 11/404) и оставила без должного лечения, а 37 больных без метастатического процесса математическая модель включила в группу высокого риска (9,2%, 37/404) и предложила излишнюю гастрэктомию. Для понимания отдаленных результатов гастрэктомии с D1-D2 лимфодиссекцией, а также для изучения продолжительности жизни больных РРЖ, были исследованы показатели смертности в группах низкого и высокого риска за весь период наблюдения (медиана наблюдения составила 131,7 месяца).

Смертность от прогрессирования РРЖ была достоверно выше в группе высокого риска, $p=0,00001$ (Таблица 45).

Таблица 45 – Показатели смертности в группах высокого и низкого риска

	Группа низкого риска		Группа высокого риска		p	Всего	
	Абс	%	Абс	%		Абс	%
Число пациентов	324		80			404	
Общая смертность	97	29,9	34	42,5	0,023	131	32,4
Смертность от прогрессирования РРЖ	17	5,2	22	27,5	0,00001	39	9,7
Прогрессирование	17	5,2	23	28,8	0,00001	40	9,9

3.3. Применение показаний JGCA к общей группе больных РРЖ (n=404)

В третьем разделе главы № 3 для определения безопасности наиболее значимой в мировой практике системы отбора больных РРЖ на эндоскопическое лечение, предложенной JGCA, показания JGCA были применены к общей группе больных (n=404). Определен риск лимфогенного метастазирования и изучены факторы риска метастазирования при соответствии показаниям JGCA. Изучены отдаленные результаты - общая, опухоль-специфическая выживаемость и выживаемость без признаков прогрессирования этой группы больных, показатели смертности. Проведено сравнение эффективности и безопасности разработанной нами математической модели и системы показаний JGCA. Произведено уточнение работы нашей математической модели для группы больных РРЖ, характеристики которого не соответствовали абсолютным и расширенным показаниям JGCA.

3.3.1 Общая характеристика частоты регионарного метастазирования РРЖ, соответствующего абсолютным и расширенным показаниям JGCA

Для понимания возможности применения показаний JGCA на российской популяции больных РРЖ и для сравнения эффективности предложенной нами прогностической модели с эффективностью системы JGCA, показания JGCA были применены к общей группе пациентов (n=404). Из 404 больных РРЖ в нашем исследовании метастазы в лимфатические узлы были выявлены у 54 (13,4%) больных РРЖ. Абсолютным показаниям соответствовало 50 (12,5%) случаев РРЖ. В этой группе лимфогенных метастазов выявлено не было. Расширенным показаниям соответствовало 125 (30,9%) случаев РРЖ. Метастатический процесс был выявлен в трех случаях (2,4%) – в двух случаях РРЖ, соответствующих второму расширенному показанию (2/15; 11,8%) и одном случае (1/43; 2,3%), соответствующем третьему расширенному показанию. В случаях РРЖ, соответствующего первому и четвертому расширенным показаниям JGCA метастазов выявлено не было. В 229 случаях морфологические характеристики РРЖ не соответствовали ни одному из показаний JGCA (превышали

расширенные критерии JGCA), в этих случаях метастатический процесс был выявлен в 22,3% случаев (51/229) (Таблица 46).

Таблица 46 – Частота выявления регионарного метастазирования в зависимости от показаний JGCA

		N0		N(+)		Всего
Число пациентов		350		54		404
		Абс	%	Абс	Абс	%
Абсолютные показания		50	100,0	50	-	-
Расширенные показания	1	51	51	100,0	-	-
	2	15	17	88,2	2	11,8
	3	43	44	97,7	1	2,3
	4	13	13	100,0	-	-
Общая группа случаев РРЖ, соответствующая расширенным показаниям		122	97,6	125	3	2,4
Группа случаев РРЖ, превысившая расширенные показания JGCA		178	77,7	229	51	22,3

3.3.2. Оценка риска лимфогенного метастазирования РРЖ при соответствии абсолютным и расширенным показаниям JGCA

Для понимания изменения уровня риска регионарного метастазирования РРЖ, соответствующего расширенным показаниям JGCA, было проведено сравнение относительно риска метастазирования РРЖ при соответствии абсолютным показаниям. При соответствии случаев РРЖ расширенным показаниям (125 пациентов), наблюдалось относительное повышение риска метастазирования в 1,025 раза (0,997, 1,053; $p = 0,559$) по сравнению с риском при соответствии абсолютным показаниям (2,4% и 0%, соответственно) (Таблица 47).

При сравнении риска метастазирования в случаях РРЖ, соответствующих каждому из расширенных критериев с абсолютными, были получены следующие данные.

1. В случаях РРЖ, соответствующих первому и четвертому расширенным показаниям, лимфогенное метастазирование отсутствовало (0/51 и 0/13), как и в случаях, соответствующих абсолютным критериям (0/50); (Таблица 47).

2. Частота метастазирования в случаях РРЖ, соответствовавшего второму расширенному критерию, была значительно выше, чем при РРЖ, соответствующем абсолютным критериям (2/17; 11,8% против 0/50; 0%). Относительное повышение риска при сравнении с риском при соответствии абсолютным показаниям составило (1,133; 0,953; 1,348) (Таблица 47).

3. Частота метастазирования при РРЖ, соответствующем третьему расширенному показанию, была несколько выше, чем при РРЖ, соответствующем абсолютным показаниям

(1/44; 2,3% против 0/50; 0%). Относительное повышение риска по сравнению с риском при соответствии абсолютным показанием составило 1,023; 0,976, $p = 0,468$ (Таблица 47).

4. В случаях РРЖ, соответствующего четвертому расширенному показанию, регионарное метастазирование отсутствовало (0/13) также, как и в группе, соответствующей абсолютным критериям (0/50) (Таблица 47).

Таблица 47 – Сравнение риска лимфогенного метастазирования при соответствии РРЖ показанием JGCA и превышающего показания JGCA по сравнению с абсолютными показаниями

	N(+)	Всего	RR	CI	p
	Число пациентов				
Абсолютные показания	0	50			
1 расширенные показания	0	51	-	-	-
2 расширенные показания	2 (11,8%)	17	1,133	0,953-1,348	0,062
3 расширенные показания	1 (2,3%)	44	1,023	0,978-1,070	0,468
4 расширенные показания	0	13	-	-	-
Расширенные показания общая группа	3 (2,4%)	125	1,025	0,997-1,053	0,559
Группа, превысившая расширенные показания JGCA	51 (22,3%)	229	1,287	1,200-1,379	0,00001

Риск регионарного метастазирования в общей группе больных РРЖ, характеристики которых соответствуют расширенным показаниям JGCA, по сравнению с риском при соответствии абсолютным показанием, незначим (2,4% и 0%, соответственно). Риск лимфогенного метастазирования при соответствии второму расширенному показанию выше по сравнению с риском при соответствии абсолютным показанием с тенденцией к достоверности ($p=0,062$). Самым неблагоприятным морфологическим прогностическим фактором для риска лимфоидного метастазирования в нашем исследовании является наличие поверхностного изъязвления опухоли. В группе из 229 случаев РРЖ, превышавших расширенные показания JGCA, лимфоидное метастазирование выявлено у 22,4%, относительное повышение риска метастазирования - 1,287 (1,200; 1,379), данные достоверны ($p = 0,00001$).

3.3.3. Прогноз РРЖ при соответствии показаниям системы JGCA. Общая и опухоль-специфическая выживаемость больных РРЖ в соответствии с показаниями JGCA

Из 404 больных РРЖ за время наблюдения от различных причин умер 131 (32,4%) больной, от прогрессирования РРЖ – 39 (9,7%) больных. Для 175 больных, соответствующих абсолютным и расширенным критериям, среднее время наблюдения составило $129,6 \pm 55,8$ мес. (от 0,7 до 252,3, медиана - 133,9 мес). Среди 175 пациентов за время наблюдения 6 пациентов умерло от прогрессирования РРЖ (сроки прогрессирования: абсолютные показания - 11,5 мес., 1 расширенный критерий - 40,5 и 43,4 мес., 2 расширенный критерий–11,5 мес., 3 расширенный

критерий - 16,0 и 56,3 мес., среднее значение - 29,9 мес.), 42 пациента умерли от других заболеваний и один пациент – от ранних послеоперационных осложнений. Все смерти от РРЖ происходили в первые 6 лет наблюдения, уровни выживаемости 10 и 15 летней выживаемости совпадают (Таблица 48,49).

Таблица 48 – Отдаленные результаты в зависимости от показаний JGCA

		Абсолютные показания	Расширенные показания				Вне критериев
			1	2	3	4	
Число пациентов		50	51	17	44	13	229
Смертность		18 (36,0%)	17 (33,3%)	4 (23,5%)	5 (11,4%)	5 (38,5%)	82 (35,8%)
Статус пациен- та	Смертность от РРЖ	1 (2,0%)	2 (3,9%)	1 (5,9%)	2 (4,6%)	-	33 (14,4%)
	Смертность от др. причин	16 (32,0%)	13 (25,5%)	2 (11,7%)	3 (6,8%)	4 (30,8%)	40 (17,5%)
	Смертность от др. онкологического заболевания	1 (2,0%)	2 (3,9%)	1(5,9%)	-	-	2 (0,9%)
	Смертность от осложнений в раннем послеоперацион- ном периоде	-	-	-	-	1 (7,7%)	7 (3,0%)
	Жив без проявлений болезни	32 (64,0%)	34 (66,7%)	13 (76,5%)	39 (88,6%)	8 (61,5%)	146 (63,8%)
	Жив с прогрессирова- нием	-	-	-	-	-	1 (0,4%)
Прогрессирование		1 (2,0%)	2 (3,9%)	1 (5,9%)	2 (4,6%)	-	34 (14,9%)

Таблица 49 – Общая выживаемость в зависимости от показаний JGCA

	Абсолют ные показания	Расширенные				Вне критериев
		1	2	3	4	
N	50	51	17	44	13	229
1 год	98,0±2,0	96,1±2,7	100	100	92,3±7,4	93,0±1,7
3 года	93,4±3,5	91,9±3,9	94,1±5,7	97,6±2,4	84,6±10,0	86,8±2,2
5 лет	85,1±5,2	87,6±4,8	94,1±5,7	97,6±2,4	76,9±11,7	80,9±2,6
10 лет	68,6±7,0	76,3±6,3	77,0±11,9	92,1±4,4	68,4±13,1	69,3±3,1
15 лет	49,4±9,8	60,3±7,7	67,4±13,8	84,0±6,8	54,7±16,1	57,5±4,1
20 лет	-	60,3±7,7	-	-	-	-
Медиана, мес.	161,7	Не достигнута	Не достигнута	Не достигнута	Не достигнута	Не достигнута

Опухоль-специфическая 15-летняя выживаемость (с учетом гастрэктомии с D1-2 лимфодиссекцией) в группе больных РРЖ с абсолютными показаниями составила 98%. В течение второго года наблюдения (12,5 мес.) одна больная скончалась на фоне генерализации опухолевого процесса и метастазов Крукенберга. Опухоль-специфическая 15-летняя выживаемость в группах больных РРЖ, соответствующих первым трем расширенным показаниям составляла в среднем 95%. Основной причиной смерти являлись локорегионарные рецидивы с последующей генерализацией опухолевого процесса. В 6 случаях генерализация началась с отдаленных метастазов. В группе больных, соответствующих 4 расширенному критерию (подслизистая инвазия при опухоли до 3см) - 15 летняя выживаемость составила 100%. (Таблицы 50-51, Рисунок 16).

Таблица 50 – Опухоль-специфическая выживаемость в зависимости от критериев эндоскопической резекции

	Абсолют показания	Расширенные				Вне критериев
		1	2	3	4	
N	50	51	17	44	13	229
1 год	97,9±2,1	100	94,1±5,7	100	100	95,0±1,5
3 года	97,9±2,1	100	94,1±5,7	97,6±2,4	100	89,8±2,1
5 лет	97,9±2,1	95,3±3,2	94,1±5,7	95,2±3,3	100	86,8±2,3
10 лет	97,9±2,1	95,3±3,2	94,1±5,7	95,2±3,3	100	83,5±2,6
15 лет	97,9±2,1	95,3±3,2	94,1±5,7	95,2±3,3	100	83,5±2,6
20 лет	-	95,3±3,2	-	-	-	-
Медиана, мес.	161,7	Не достигнута	Не достигнута	Не достигнута	Не достигнута	Не достигнута

Таблица 51 – Выживаемость без признаков прогрессирования

	Абсолют. показания	Расширенные				Вне критериев
		1	2	3	4	
N	50	51	17	44	13	229
1 год	100	100	100	100	100	96,8±11,9
3 года	98,0±2,0	100	94,1±5,7	97,7±2,2	100	92,6±1,8
5 лет	98,0±2,0	97,9±2,1	94,1±5,7	97,7±2,2	100	89,2±2,1
10 лет	98,0±2,0	95,6±3,0	94,1±5,7	95,5±3,1	100	85,3±2,5
15 лет	98,0±2,0	95,6±3,0	94,1±5,7	95,5±3,1	100	83,6±2,7
20 лет	-	95,6±3,0	-	-	-	-
Медиана, мес.	Не достигнута	Не достигнут	Не достигнут	Не достигнут	Не достигнут	Не достигнута

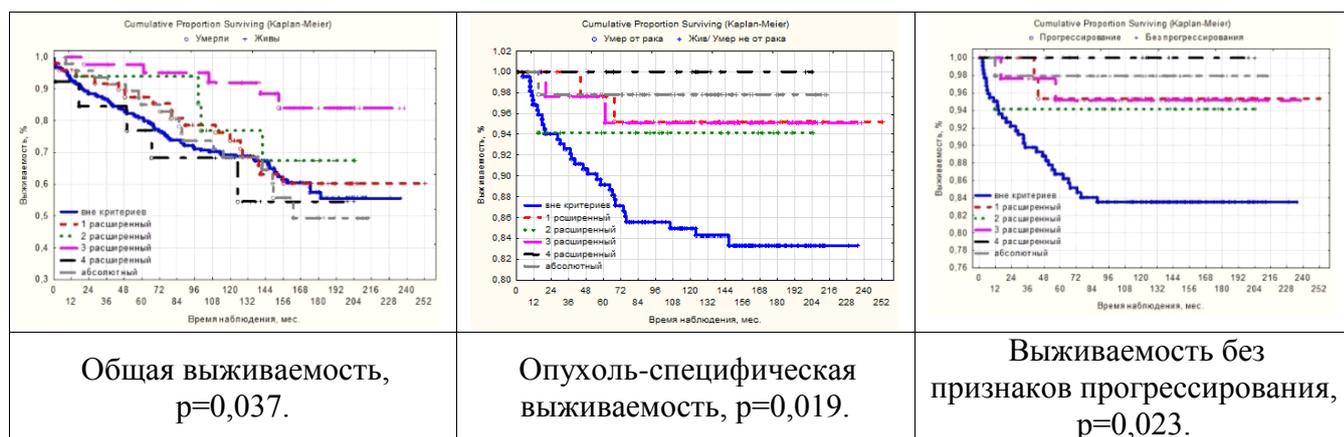


Рисунок 16 – Выживаемость пациентов РРЖ

При сравнении выживаемости больных РРЖ, морфологические характеристики которого соответствуют любому из показаний ЭЛ, с выживаемостью в случаях РРЖ, не соответствующему ни одному из показаний, был определен относительный риск лимфогенного метастазирования (Таблица 52).

Таблица 52 – Относительный риск лимфогенного метастазирования РРЖ при соответствии любому из показаний ЭЛ по сравнению РРЖ, превышающем показания JGCA

Вид выживаемости	HR	CI	p
Общая	0,724	0,508-1,032	0,074
Опухоль-специфическая	0,223	0,093-0,531	0,0007
Без признаков прогрессирования	0,210	0,088-0,499	0,0004

Если случай РРЖ относится к любому из показаний JGCA, это статистически значимо улучшает его опухоль-специфическую выживаемость ($HR= 0,223$, $p=0,0007$) и выживаемость без признаков прогрессирования ($HR= 0,210$, $p=0,0004$).

3.4. Сравнение эффективности предложенной нами математической модели и эффективности системы отбора случаев РРЖ на эндоскопическую резекцию, предложенную JGCA

Для оценки эффективности работы предложенной математической модели, полученные при исследовании результаты сравнили с результатами работы системы показаний к ЭЛ, предложенной JGCA. При применении к общей группе 404 случаев РРЖ показаний JGCA, абсолютным показанием соответствовали 50 (12,4%) больных (метастазов не обнаружено), расширенным показанием соответствовало 125 (30,9%) больных (лимфогенное метастазирование выявлено у 3 больных - 2,4%), превышающие расширенные показания 229 (56,7%) больных (лимфогенное метастазирование выявлено у 51 больного - 22,3%). Группа случаев РРЖ, соответствующего абсолютным показанием JGCA вошла в группу низкого риска (математическая модель), метастатического процесса и случаев гипердиагностики метастазирования не выявлено – модели работали синхронно (Таблица 53). В 3 из 125 случаев

РРЖ (2,4%), соответствующего расширенным показаниям, система JGCA не предположила метастатический процесс и предложила ЭЛ. Из 125 случаев, соответствующих расширенным показаниям JGCA, 122 случая РРЖ наша прогностическая модель отнесла в группу низкого риска и предложила эндоскопическую резекцию. В этой группе случаев наша модель не диагностировала только один случай лимфогенного метастазирования (0,8%; 1/125). Можно утверждать, что в пределах расширенных показаний JGCA, применение предложенной нами модели расчета риска лимфогенного метастазирования имеет преимущество перед системой JGCA (0,8% против 2,4%, соответственно). В рамках расширенных показаний JGCA, гипердиагностика метастатического процесса при работе, предложенной нами модели произошла только в 1 случае (случай попал в группу высокого риска – 0,82%).

Таблица 53 – Частота выявления метастатического процесса при РРЖ в зависимости от соответствия показаниям к ЭЛ JGCA

	Всего N(+) по JGCA /абс	% N(+)	Группа низкого риска N(+)/абс	% N(+)	Группа высокого риска N(+)/абс	% N(+)
Абсолютные показания	0/50	0%	0/50	0%	0	0%
Расширенные показания	3/125	2,40%	1/122	0,82%	2/3	66,7%
Превышение расширенных показаний	51/229	22,3%	10/152	6,6%	41/77	53,2%

Частота метастазирования в зависимости от каждого из критериев JGCA в группах высокого и низкого риска лимфогенного метастазирования представлена в таблице 54.

Таблица 54 – Частота лимфогенного метастазирования РРЖ в соответствии с показаниями JGCA

	низкий риск													
	Превышение критериев		1 расш		2 расш		3 расш		4 расш		абсолютные показания		Всего	
		%		%		%		%		%		%		%
N0	142	93,4	51	100	14	10	43	97,7	13	100	50	100	313	96,6
N(+)	10	6,6	0	0	0	0	1	2,3	0	0	0	0	11	3,4
Всего	152	66,4	51	100	14	82,4	44	100	13	100	50	100,	324	
	Высокий риск													
	Превышение критериев		1 расш		2 расш		3 расш		4 расш		Абсолютные показания		Всего	
		%		%		%		%		%		%		%
N0	36	46,8	0		1	33,3	0		0		0		37	46,3
N(+)	41	53,3	0		2	66,7	0		0		0		43	53,7
	77	33,6	0	0,0	3	17,7	0	0,0	0	0,0	0	0,	80	

При сравнении эффективности наша модель имеет более органосохраняющий потенциал по сравнению с системой показаний JGCA. Количество гастректомий без метастатического

процесса при использовании предложенной нами системы составило 9,2%, JGCA – 44,1% (Таблица 55) при небольшом превышении риска лимфогенного метастазирования (2,7% против 0,8%, соответственно).

Таблица 55 – Сравнение эффективности системы JGCA и предложенной нами прогностической модели

n=404	ЭЛ	%	Недиагности- рованные метастазы N(+)	%	Всего гастр- екто- мий	%	Гастр- ектомия без метаста- зов	n=40 4 / 100%
Предложен- ная модель n=404	324	80,2	11	2,7	80	19,8	37	9,2
JGCA n=404	175	43,3	3	0,8	229	56,6	178	44,1

Детальное распределение случаев РРЖ в зависимости от показаний JGCA представлено в таблице 56. В группе высокого риска метастазирования при соответствии 2 расширенному показанию, гипердиагностика метастатического процесса наблюдалась в одном случае. При соответствии другим расширенным показаниям гипердиагностики метастатического процесса выявлено не было. В группе низкого риска метастазирования гипердиагностики метастатического процесса выявлено не было.

Таблица 56 – Распределение случаев, соответствующих показаниям JGCA в группах высокого и низкого риска

	абс	%	абс	%	абс	%	абс	%	абс	%	абс	%	абс	%
Группа высокого риска														
	Превыше- ние критериев		1 расш		2 расш		3 расш		4 расш		Абсолют ные		Всего	
	абс	%	абс	%	абс	%	абс	%	абс	%	абс	%	абс	%
ИО	0	0,00	0		0	0,00	0		0		0		0	0,0
ЛО	0	0,00	0		0	0,00	0		0		0		0	0,0
ИП	41	53,25	0		2	66,67	0		0		0		43	53,8
ЛП	36	46,75	0		1	33,33	0		0		0		37	46,2
Общ.	77	33,62	0	0,00	3	17,65	0	0,0	0	0,0	0	0,0	80	
Группа низкого риска														
	Превыше- ние критериев		1 расш		2 расш		3 расш		4 расш		Абсолют- ные		Всего	
	абс	%	абс	%	абс	%	абс	%	абс	%	абс	%	абс	%
ИО	142	93,4	51	100,0	14	100,0	43	97,7	13	100,0	50	100,0	313	96,60
ЛО	10	6,6	0	0,0	0	0,0	1	2,3	0	0,00	0	0,00	11	3,40
ИП	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,	0	0,00	0	0,00	0	0,0
ЛП	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,00	0	0,00	0	0,00
Общ.	152	66,4	51	100	14	82,4	44	100,0	13	100,0	50	100,0	324	100,0

Для демонстрации эффективности предложенной нами модели можно привести несколько наблюдений.

Пациентка Ч. женщина 48 лет. В первом наблюдении глубина инвазии - SM1, есть изъязвление опухоли, глубина инвазии - 200 мкм, максимальный размер - 1,3 см, классификация JGCA - умеренно дифференцированная аденокарцинома, классификация Nakamura. P. - дифференцированный тип, макроскопический тип 0 II b. Морфологические характеристики опухоли соответствуют четвертому расширенному показанию JGCA 2014год. Рекомендации JGCA предлагают проведение эндоскопической резекции опухоли. Однако при применении предложенной нами формулы индивидуальный индекс риска лимфогенного метастазирования составил «-1,414» (высокий риск > -1,5). При гастрэктомии у больной были выявлены метастазы в лимфатические узлы.

Пациентка Р, женщина 63,1 лет. Во втором наблюдении глубина инвазии - SM2, лимфоваскулярной инвазии нет, изъязвление - есть, Глубина инвазии - 600 мкм, максимальный размер 1,2 см, классификация JGCA - высокодифференцированная аденокарцинома, классификация Nakamura. P. дифференцированный тип, макроскопический тип 0 Па. Морфологические характеристики опухоли превышают расширенные показания JGCA (наличие изъязвления при глубине инвазии SM 2 - более 500мкм.). Рекомендации JGCA предлагают проведение гастрэктомии и D2 лимфодиссекцией. Наш индекс составил «-1,51». При значении -1,5 и менее - низкий риск - прогноз благоприятный. При гастрэктомии метастазы в лимфатических узлах не выявлены, больная жива в течение 168 мес. Гастрэктомия, рекомендованная рекомендациями JGCA 2014г для этой пациентки оказалась излишней.

Пациента Л., женщина 51,6 лет. В третьем наблюдении глубина инвазии - M, лимфоваскулярной инвазии нет, изъязвление есть, максимальный размер 2,5 см. Классификация JGCA высокодифференцированная аденокарцинома. Классификация Nakamura. P. дифференцированный тип, макроскопический тип 0 III. Морфологические характеристики опухоли соответствуют второму расширенному показанию JGCA – больной показана эндоскопическая резекция опухоли. Наш индекс составил «-1,58». При значении более -1,5 высокий риск - прогноз неблагоприятный. При гастрэктомии с D1 лимфодиссекцией метастазов в лимфатические узлы выявлено не было, однако больная умерла через 15 месяцев после гастрэктомии от локо-регионарного рецидива и прогрессирования опухоли.

3.5. Стратификация риска и прогностическая модель оценки риска лимфогенного метастазирования РРЖ в группе случаев РРЖ, превышающего показания JGCA

Был проведен дополнительный анализ 229 случаев РРЖ, не соответствующего показанием JGCA. В группе больных РРЖ, превышающих расширенные критерии, метастазы

были выявлены у 51(22,3%) ($p=0,00001$). Был проведен однофакторный анализ клинимо-морфологических параметров РРЖ 229 больных, с целью выявить факторы, связанные с регионарным метастазированием. Не было выявлено зависимости лимфогенного метастазирования от пола и возраста больных, локализации опухоли, наличия мультицентрического характера роста, ПМЗО, локализации опухоли, зависимости от гистологического типа по классификации ВОЗ. Независимыми факторами лимфогенного метастазирования РРЖ в группе 229 больных являлись: глубина инвазии опухоли, наличие изъязвления и фиброза, наличие лимфоваскулярной инвазии, гистологический тип по классификации JGCA и Laugen P., макроскопический тип опухоли. Обращали на себя внимание высокий уровень метастазирования в папиллярных аденокарциномах вне зависимости от степени дифференцировки опухоли (классификация JGCA) и при локализации опухоли в кардиоэзофагеальном отделе, однако статистической значимости достигнуто не было (Таблица 57).

Таблица 57 – Частота лимфогенного метастазирования у 229 больных РРЖ в зависимости от гистологических и клинических характеристик опухоли

		Всего	N(+)		p
Число пациентов		229	51		
		Абс	Абс	%	
Пол	м	110	22	20,0	0,263
	ж	119	29	24,4	
Возрастная группа	До 40 лет	24	5	20,8	0,568
	40-49	37	7	18,9	
	50-59	70	13	18,6	
	60-69	72	21	29,2	
	70 и старше	26	5	19,2	
Возрастная группа	≤ 60 лет	138	27	19,6	0,147
	Старше 60	91	24	26,4	
Глубина инвазии	Слизистый слой	104	14	13,5	0,0025
	Подслизистый слой	125	37	29,6	
Лимфоваскулярная инвазия	Нет	191	28	14,7	0,00001
	есть	38	23	60,5	
Изъязвление+Фиброз	Нет	99	10	10,1	0,00007
	есть	130	41	31,5	
Глубина инвазии мкм	0	104	14	13,5	0,00004
	1-100	16	1	6,2	
	101-300	26	6	23,1	
	301-500	26	4	15,4	
	Более 500	57	26	45,6	
Максимальный размер	3 см и менее	125	22	17,6	0,045
	более 3 см	104	29	27,9	

Отдел желудка	антральный отдел желудка	105	23	21,9	0,290
	тело желудка	96	20	20,8	
	кардиальный без прорастания в пищевод	17	3	17,6	
	кардиальный с прорастанием в пищевод	11	5	45,4	
Классификация ВОЗ	ВДАК (низкая степень злокачественности)	22	4	18,2	0,172
	УДАК (низкая степень злокачественности)	14	5	35,7	
	НДАК(высокая степень злокачественности)	69	21	30,4	
	Дискогезивная карцинома	102	17	16,7	
	Редкие формы	22	4	18,2	
Классификация JGCA	PAP	17	10	58,8	0,0015
	TUB 1	16	1	6,3	
	TUB 2	13	3	23,1	
	POR 1	13	1	7,7	
	POR 2	60	18	30,0	
	SCR	102	17	16,7	
	Редкие формы	8	1	12,5	
	Кишечный тип	84	28	33,3	
	Диффузный тип	111	15	13,5	
	Смешанный тип	34	8	23,5	
	Дифференцированный тип	36	9	25,0	
	Недифференцированный тип	193	42	21,8	
	0 I	39	8	20,5	
	0 II a	32	3	9,4	
	0 II b	27	2	7,4	
	0 II c	70	6	8,6	
	0 III	61	32	52,5	

Факторы, значимые при одномерном анализе, использовали в бинарной логистической регрессии. Частота корректно предсказанных данных составила 83,8% (Таблица 58).

Таблица 58 – Результаты логистической регрессии, выполненной методом пошагового исключения

	Оценка параметра	Стандартная ошибка	Хи-квадрат Вальда	Достигнутый уровень значимости	Отношение шансов	95% ДИ для отношения шансов	
						Нижняя	Верхняя
Глубина инвазии M/SM	-3,388	0,722	22,020	0,000	0,034	0,008	0,139
Лимфоваскулярная инвазия	2,050	0,506	16,440	0,000	7,768	2,884	20,925
Фибр+изъвл	1,274	0,517	6,066	0,014	3,576	1,297	9,856
Макр. тип	0,429	0,174	6,068	0,014	1,535	1,092	2,159

Размер (≤30,>30мм)	0,834	0,368	5,139	0,023	2,303	1,120	4,737
Класс. JCGA	-0,422	0,130	10,615	0,001	0,656	0,508	0,845
Глубина инвазии мкм	1,049	0,234	20,095	0,000	2,856	1,805	4,519

В многомерном анализе выявлены семь независимых факторов регионарного метастазирования РРЖ, превышающего расширенные показания ЭЛ (такие как инвазия опухоли в подслизистый слой (OR = 0,034, 95% ДИ: 0,008–0,139, p = 0,0001), лимфоваскулярная инвазия (OR = 7,77, 95% ДИ: 2,88–20,93, p = 0,0001 и другие см, таблицу № 58). Для каждого из семи независимых факторов риска были получены коэффициенты, которые были использованы как индекс для вычисления риска регионарного метастазирования:

- глубина инвазии M/SM = 1/2;
- наличие лимфоваскулярной инвазии = 0/1;
- наличие изъязвления и фиброза = 0/1;
- макроскопический тип опухоли = 1/2/3/4/5;
- максимальный размер опухоли = 1/2;
- гистологический тип по классификации JCGA 2014год = 1/2/3/4/5/6/7;
- глубина инвазии в мкм = 0/1/2/3/4.

В результате была рассчитана формула для вычисления вероятности регионарного метастазирования при РРЖ, превышающем расширенные показания ЭЛ:

$$p=1/(1+e^{-z})$$

где $z = -3,388 * M/SM + 2,050 * \text{Лимфоваскулярная инвазия} + 1,274 * \text{Фиброз+Изъязвление} + 0,429 * \text{Макроскопический тип} + 0,834 * \text{Максимальный размер опухоли} - 0,422 * \text{Гистологический тип по классификации JCGA 2014год} + 1,049 * \text{Глубина инвазии в мкм}.$

При расчетах по данной формуле p принимает значение от 0 до 1. При соответствии $p \leq 0,5$ – случай РРЖ относится к группе с низким риском метастазирования, при $p > 0,5$ – случай РРЖ относится к группе высокого риска. Количество случаев, отнесенных решающим правилом к группе с низким риском метастазирования составило 199 больных, к группе с высоким риском – 30 больных. Частота корректно предсказанных данных - 83,8%. Среди случаев РРЖ, отнесенных решающим правилом к группе с низким риском регионарного метастазирования, метастазы в регионарные лимфатические узлы выявлены в 14,6% (29/199). Из 30 пациентов, отнесенных к группе высокого риска, частота регионарного метастазирования

составила 73,3% (22/30; $p=0,00001$). Проведен анализ эффективности применения предложенного нами решающего правила и сравнение полученных результатов с результатами системы JGCA. С учетом того, что система показаний JGCA предложила излишнюю гастрэктомию в 77,7% случаев РРЖ (178/229), наша система предложила гастрэктомию в 3,4% (8/229), что свидетельствует о большом органосохраняющем потенциале предложенного нами решающего правила. Однако при нулевом риске метастазирования при использовании системы JGCA (диагностировано 100% случаев метастазирования РРЖ (51/229), предложена гастрэктомию в 100% случаев, 229/229), наша система не выявила метастатический процесс в 12,6% случаев (29/229) и предложила эндоскопическое лечение вместо необходимой расширенной хирургической операции (Таблица 59).

Таблица 59 – Сравнение эффективности системы показаний JGCA и предложенного нами решающего правила

	Система показаний JGCA.	Решающее правило.
Всего случаев	229/100%	229/100%
Предложено эндоскопическое лечение	0	199/86,9%
N(+) диагностировано	51/100%	22/9,6%
N(+) не диагностировано	0/0%	29/12,6%
Предложена гастрэктомию	229/100%	30/13,1%
Предложена излишняя гастрэктомию	178/77,7%	8/3,4%

При сравнении выживаемости без прогрессирования в группах случаев с высоким и низким риском метастазирования также выявило статистически значимые различия ($p=0,0002$): 5-летняя выживаемость без прогрессирования пациентов из группы низкого риска составила $90,3 \pm 2,2\%$, 10-летняя – $87,3\% \pm 2,5$. В группе высокого риска данные показатели составили $63,8 \pm 9,2$ и $59,8 \pm 9,4\%$, соответственно (Рисунок 17).

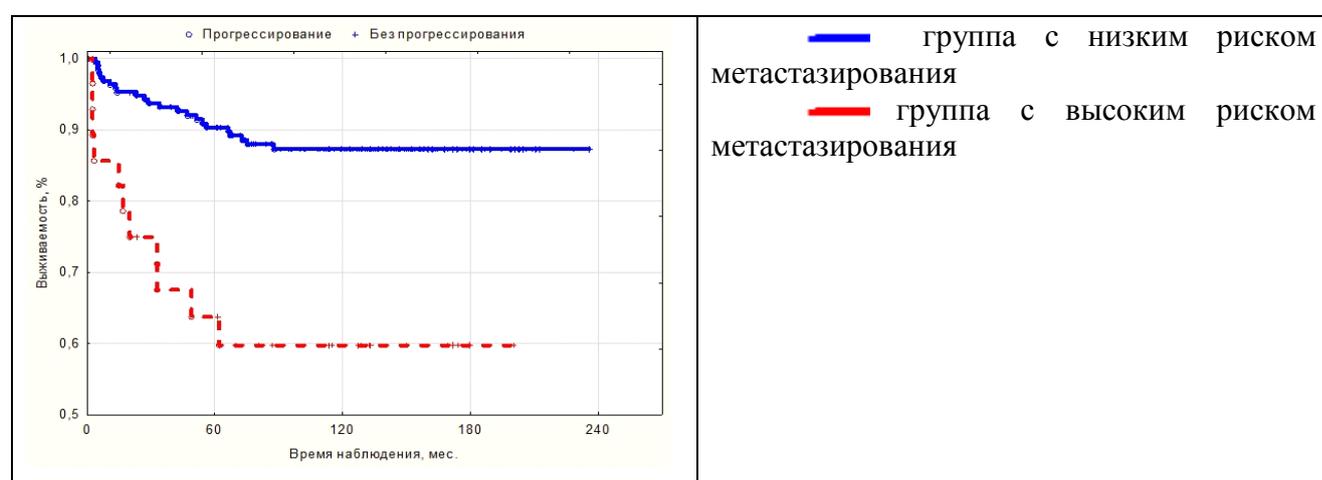


Рисунок 17 – Сравнение выживаемости без прогрессирования в группах с высоким и низким риском метастазирования РРЖ

С учетом представленных данных об эффективности работы предложенного нами решающего правила, а также вследствие достаточно хорошей 5 и 10-летней выживаемости, для наиболее эффективного органосохраняющего потенциала, данное решающее правило рекомендуется применять при высоком риске оперативного вмешательства или, когда пациент категоричен в отношении операции.

Особенно это актуально в случаях РРЖ, морфологические характеристики которого ненамного превышают расширенные показания JGCA (например, по одному из прогностически неблагоприятных признаков или, когда признак не выражен, например, при небольшом изъязвлении поверхности опухоли и т.д.).

ГЛАВА 4. ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ ПРОГНОЗА ЛИМФОГЕННОГО МЕТАСТАЗИРОВАНИЯ РРЖ

В данном разделе проведена сравнительная характеристика иммуногистохимической экспрессии дифференциально-диагностических и прогностических маркеров, изучена их связь с клинико-морфологическими характеристиками РРЖ и определена прогностическая значимость для лимфогенного метастазирования и прогноза заболевания.

4.1 Общая характеристика муцинового профиля РРЖ (n=227).

В исследование было включено 227 случаев РРЖ с соответствующим для исследования качеством материала. С учетом экспрессии муцинов и CD 10, иммуногистохимический муциновый профиль рака желудка был дифференцирован на кишечный, желудочный, смешанный и нулевой варианты.

Желудочный муциновый фенотип представлен экспрессией MUC 5 AC (внутренний положительный контроль - фовеолярный эпителий), MUC 6 (эпителий пилорических желез) или их сочетанной экспрессией (Рисунок 18).

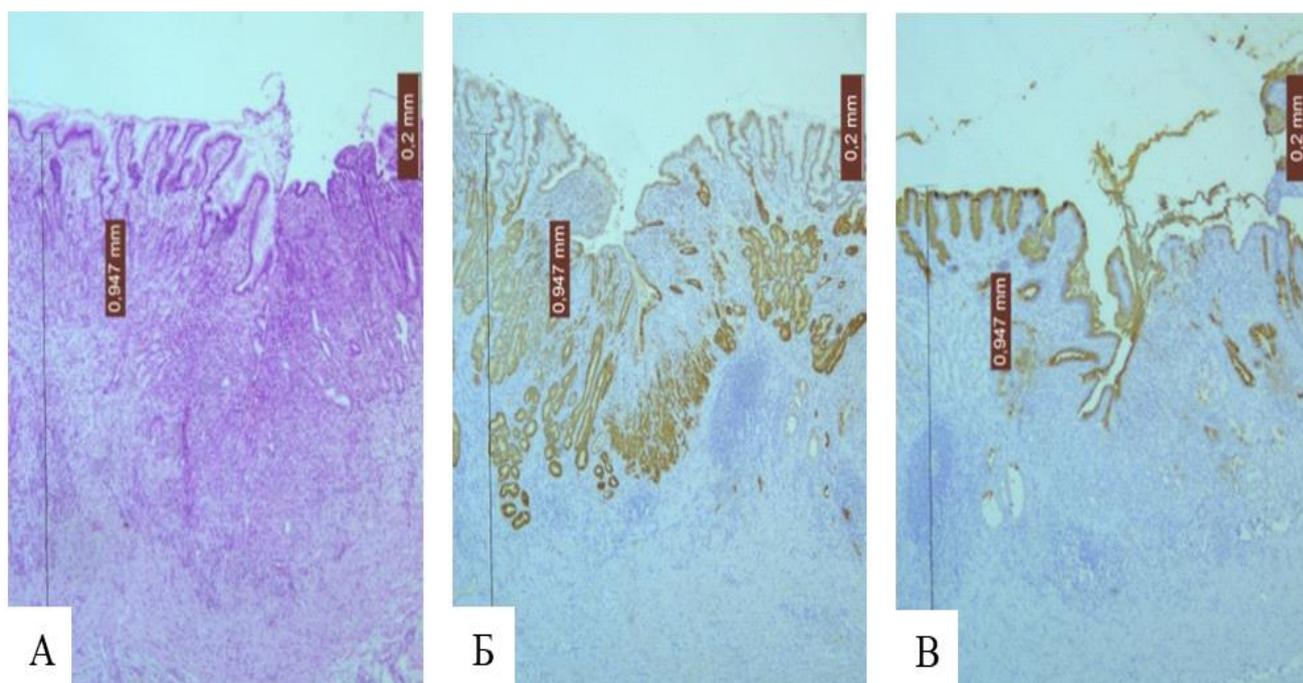


Рисунок 18 – Желудочный иммунофенотип: А. – Дискогезивная карцинома (ВО3), Гематоксилин/эозин, х50. Б – Зональная экспрессия MUC 6 в опухолевых клетках и положительный внутренний контроль – экспрессия MUC 6 в эпителии фундальных желез, х50. В – Зональная экспрессия MUC 5 AC в опухолевых клетках и внутренний положительный контроль – экспрессия MUC 5 AC в фовеолярном эпителии, х 50

Кишечный муциновый иммунофенотип РРЖ определяется наличием экспрессии MUC 2 (бокаловидные клетки), мембранной экспрессией CD 10 (эпителий тонкокишечного типа) или их сочетанной экспрессией (Рисунок 19).

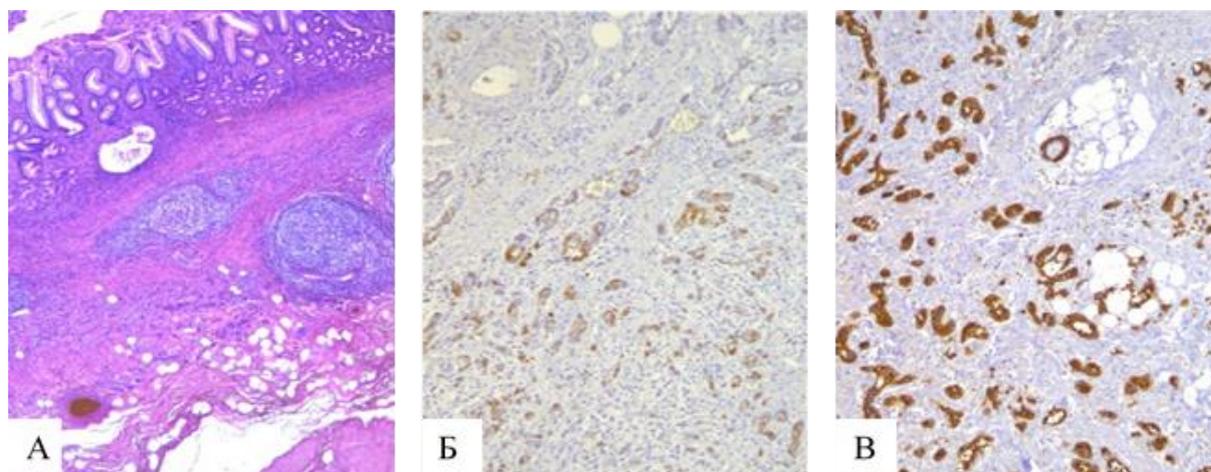


Рисунок 19 – Кишечный иммунофенотип: А.- Аденокарцинома НДАК/higt grade (ВОЗ, Гематоксилин/эозин, x50). Б. – Экспрессия CD 10 в опухолевых клетках (x100). В. - Экспрессия MUC 2 в опухолевых клетках (x100)

Смешанный муциновый иммунофенотип представлен различными сочетаниями маркеров к муцинам желудочного и кишечного типа (Рисунок 20).

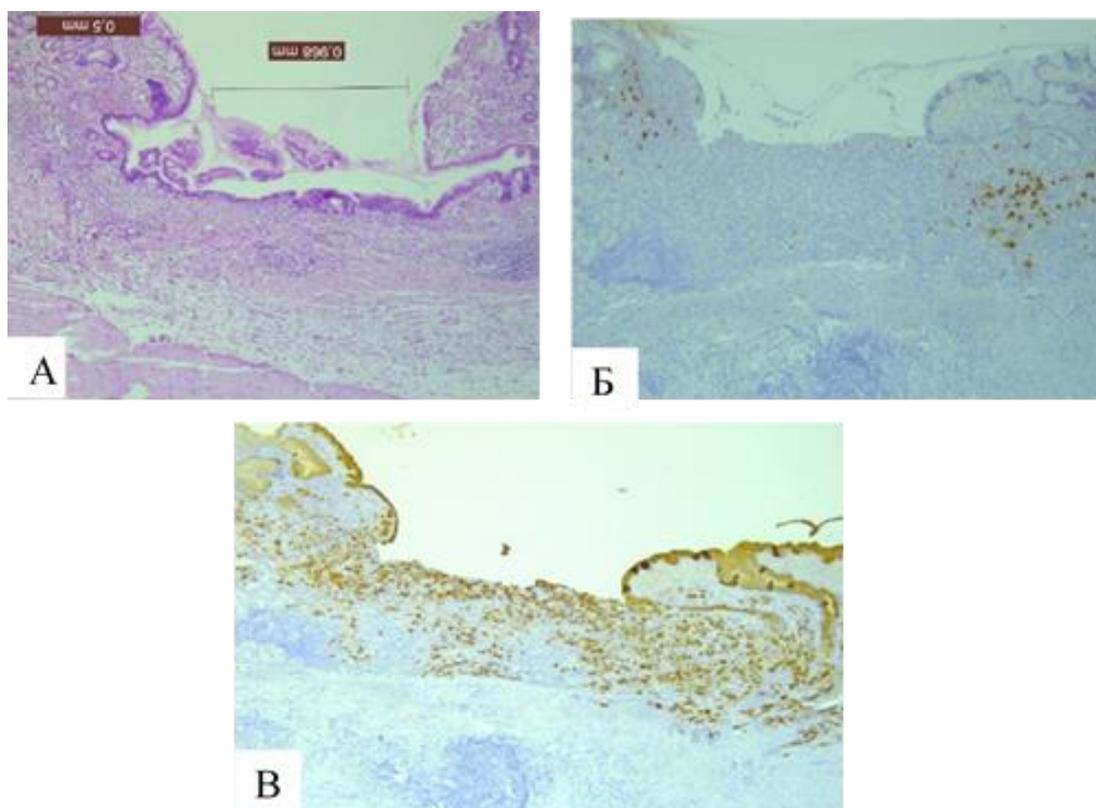


Рисунок 20 – Смешанный иммунофеотип: А. – Дискогезивная карцинома (гематоксилин/эозин, x50). Б. - Экспрессия MUC 2 в опуолевых клетках (x50). В. - Экспрессия MUC 5 AC в фовеолярном эпителии и опухолевых клетках (x50)

Нулевой муциновый иммунофенотип соответствовал случаям с полным отсутствием экспрессии маркеров к муцинам и CD 10.

При исследовании муцинового профиля РРЖ в общей популяции больных (n=227) преобладания какого-либо конкретного иммунофенотипа выявлено не было (Рисунок 21).

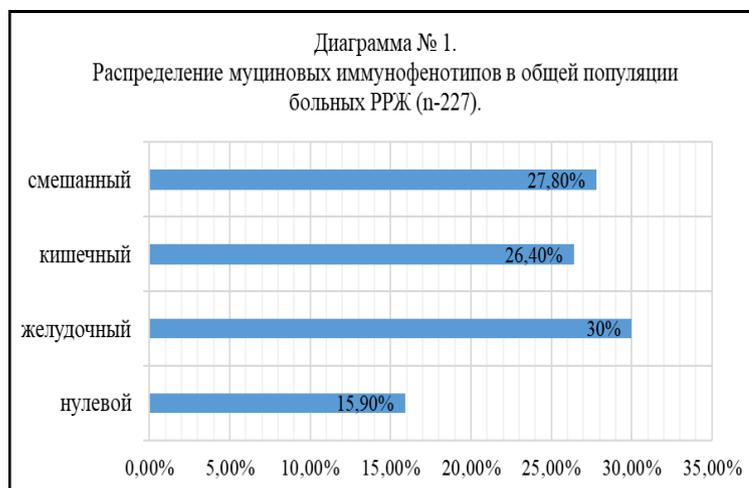


Рисунок 21 – Распределение муциновых иммунофенотипов в общей популяции больных РРЖ

Проведена клинико-морфологическая характеристика муцинового профиля РРЖ (n=227). Больные РРЖ с желудочным фенотипом были моложе - средний возраст больных - $55,6 \pm 11,4$ лет, в среднем на 5 лет моложе, чем при нулевом ($p=0,046$) и кишечном фенотипе ($p=0,038$). В группе больных старше 60 лет случаи РРЖ с желудочным фенотипом наблюдались гораздо реже (35,3%), чем с кишечным (50,0%) и нулевым фенотипом (55,6%; $p=0,038$). Нулевому и желудочному фенотипу соответствовал больший средний максимальный размер опухоли. Варианты фенотипа РРЖ не имели достоверных различий по локализации и наличию лимфоваскулярной инвазии. В 38 из 227 случаев РРЖ (16,7%) были выявлены метастазы в лимфатические узлы. Чаще всего метастазы наблюдались при нулевом (22,2%) и желудочном фенотипе (20,6%) (Таблица 60).

Таблица 60 – Частота метастазирования в зависимости от муцинового профиля РРЖ

Муциновый фенотип	Число пациентов (n=227)	%	Число пациентов N(+)	%
нулевой	36	15,9	8	22,2
желудочный	68	30,0	14	20,6
кишечный	60	26,4	7	11,7
смешанный	63	27,8	9	14,3

Проведено исследование частоты лимфогенного метастазирования в зависимости от вариантов муцинового иммунофенотипа в общей популяции больных (n=227) с учетом демографических и морфологических характеристик РРЖ. Уровень лимфогенного

метастазирования РРЖ при различных вариантах муцинового иммунофенотипа не зависел от пола и возраста больных, лимфоваскулярной инвазии, локализации опухоли (Таблица 61).

Таблица 61 – Общая характеристика частоты метастазирования в зависимости от вариантов муцинового фенотипа (n=227)

		муциновый фенотип							
		нулевой		желудочный		кишечный		смешанный	
Число пациентов		36		68		60		63	
		N(+)/ Абс	N(+)%	N(+)/ Абс	N(+)%	N(+)/ Абс	N(+)%	N(+)/ Абс	N(+)%
Пол	Муж(113)	1/19	5,3	5/29	17,2	4/32	12,5	4/33	12,1
	Жен(114)	7/17	41,2	9/39	23,1	3/28	10,7	5/30	16,7
Возраст	До 60 лет	1/16	6,3	7/44	15,9	4/30	13,3	7/37	18,9
	Старше 60 лет	7/20	35,0	7/24	29,2	3/30	10,0	2/26	7,7
Лимфоваскулярная инвазия	Нет (197)	4/31	12,9	9/62	14,5	3/52	5,8	4/52	7,7
	Есть (30)	4/5	80,0	5/6	83,3	4/8	50,0	5/11	45,5
Локализация	L и LD (110)	2/14	14,3	6/34	17,7	4/31	12,9	4/31	12,9
	M и ML (91)	4/16	25,0	6/27	22,2	2/22	9,1	5/26	19,2
	U с E- (17)	2/5	40,0	0/5	0	0/4	0	0/3	0
	U (E+) (9)	0/1	0	2/2	100	1/3	33,3	0/3	0

4.2 Морфологическая характеристика вариантов муцинового профиля РРЖ

Значение муцинового профиля для прогноза лимфогенного метастазирования РРЖ

Морфологические и иммуногистохимические характеристики опухоли являются отражением ее биологического потенциала. При РРЖ агрессивность отражается в большей глубине инвазии и размерах опухоли, макроскопическом типе, частоте поверхностного изъязвления и склонности к лимфоваскулярной инвазии. Эти характеристики агрессивности также являются факторами риска лимфогенного метастазирования РРЖ. Для выявления прогностических характеристик РРЖ, а также для выявления дополнительных факторов риска лимфогенного метастазирования проведено более детальное исследование муцинового профиля РРЖ.

Размер опухоли. Смешанный иммунофенотип РРЖ более чем в половине случаев был представлен новообразованиями небольшого размера- 1-2 см - 52,4%; 2,0-3 см - 20,6%; более 3 см - 25,0% (Таблица 62), в то время как нулевой фенотип в 41,7% случаев был представлен опухолями более 3 см. При других фенотипах такой тенденции не наблюдалось. Опухоли небольшого размера (до 2 см) наиболее часто встречались при смешанном фенотипе, при размерах опухоли от 2,01 до 3 см частота встречаемости фенотипов была одинакова, в группе опухолей более 3 см преобладал нулевой фенотип, по сравнению с желудочным и смешанным, хотя данные не достигли статистической значимости.

Таблица 62 – Размер РРЖ при вариантах муцинового профиля (n=227)

	Муциновый фенотип									
	Нулевой		Желудочный		Кишечный		Смешанный		Всего	
Число пациентов	36		68		60		63		227	
Размер опухоли	Абс	%	Абс	%	Абс	%	Абс	%	Абс	%
1-2 см	13	36,1	26	38,2	26	43,3	33	52,4	98	43,2
2,01-3 см	8	22,2	18	26,5	13	21,7	13	20,6	52	22,9
Более 3 см	15	41,7	24	35,3	21	35,3	17	25,0	77	33,9
Достоверных нет.										

При увеличении размера опухоли увеличивалось количество случаев с нулевым фенотипом (13,3%; 15,4%; 19,5%, соответственно) (Таблица 63), а количество случаев со смешанным фенотипом наоборот снижалось (33,7%; 25,0; 22,1%, соответственно). Увеличение размеров опухоли не влияло на встречаемость кишечного и желудочного фенотипов. В целом, статистический анализ не выявил достоверной связи между муциновым профилем и размером РРЖ.

Таблица 63 – Распределение вариантов муцинового фенотипа РРЖ в зависимости от размера опухоли (n=227)

	Размер опухоли					
	1-2 см		2,01-3 см		Более 3 см	
Число пациентов	98		52		77	
Иммунофенотип	Абс	%	Абс	%	Абс	%
нулевой	13	13,3	8	15,4	15	19,5
желудочный	26	26,5	18	34,6	24	31,2
кишечный	26	26,5	13	25,0	21	27,3
смешанный	33	33,7	13	25,0	17	22,1

Размер опухоли является важным фактором лимфогенного метастазирования. В ряде прогностических систем размер опухоли используется как критерий отбора случаев РРЖ на эндоскопическую резекцию [59]. Для поиска дополнительных факторов прогностической значимости размера опухоли, был проведен анализ зависимости лимфогенного метастазирования от муцинового профиля РРЖ. При РРЖ до 2 см (фактор является определяющим в абсолютных показаниях JGCA), максимальная частота метастазирования наблюдалась при желудочном фенотипе (15,4%). При опухолях до 3 см (расширенные показания JGCA) метастазирование чаще наблюдалось при нулевом и смешанном иммунофенотипе. При увеличении размера опухоли более 3 см наиболее часто лимфогенное метастазирование наблюдалось при нулевом и желудочном фенотипе (Таблица 64). Однако данные не достигли статистической значимости вследствие малой выборки.

Таблица 64 – Зависимость частоты лимфогенного метастазирования вариантов муцинового фенотипа РРЖ от размера опухоли (n=227)

	Муциновый фенотип							
	Нулевой		Желудочный		Кишечный		Смешанный	
Число пациентов	36		68		60		63	
Размер опухоли	N(+)/Абс	N(+)%	N(+)/Абс	N(+)%	N(+)/Абс	N(+)%	N(+)/Абс	N(+)%
1-2 см (n=98)	1/13	7,7	4/26	15,4	3/26	11,5	3/33	9,1
2,01-3 см (n=52)	2/8	25,0	3/18	16,7	0/13	0	3/13	23,1
Более 3 см (n=77)	5/15	33,3	7/24	29,2	4/21	19,1	3/17	17,7

Глубина инвазии РРЖ. РРЖ с кишечным фенотипом в 70% случаев имел внутрислизистую локализацию (по сравнению с SM1 – 20,0% и SM2 – 10,0%; $p=0,00001$). Аналогичная тенденция наблюдалась при нулевом (M-47,2%; SM1-27,8; SM2-25,0%) и желудочном фенотипах (M-60,3%; SM1-42,6, SM2-13,2%, соответственно). Напротив, смешанный фенотип в более чем половине случаев характеризовался инвазией в подслизистый слой SM2 - 55,6% (по сравнению с M-23,8% $p=0,0003$). При внутрислизистой локализации РРЖ кишечный фенотип был преобладающим - 70 % (по сравнению с нулевым 47,2%; $p=0,023$), смешанный фенотип встречался реже всего - 23,8% (по сравнению с кишечным $p=0,0027$). При глубине инвазии SM1 преобладания какого-либо муцинового фенотипа не выявлено. При глубине инвазии SM2 реже всего встречались случаи РРЖ с кишечным фенотипом - 10,0% (по сравнению с нулевым 25,0%; $p=0,049$), преобладали случаи со смешанным фенотипом (Таблица 65).

Таблица 65 – Изменение глубины инвазии РРЖ при вариантах муцинового фенотипа РРЖ (n=227)

	Муциновый фенотип							
	Нулевой		Желудочный		Кишечный		Смешанный	
Число пациентов	36		68		60		63	
Глубина инвазии	Абс	%	Абс	%	Абс	%	Абс	%
M	17	47,2	41	60,3	42	70,0 $p=0,023^*$	35	23,8 $p=0,0027^+$
SM1	10	27,8	18	26,5	12	20,0 $p=0,00001^{\#}$	15	20,6
SM2	9	25,0	9	13,2	15	10,0 $*p=0,049^*$ $p=0,00001^{\#}$	13	55,6 $p=0,0003^{\#}$
# по сравнению с M, *по сравнению с нулевым, +по сравнению с кишечным								

С увеличением глубины инвазии количество случаев с нулевым фенотипом возрастало в два раза (M – 12,6%, SM2 – 24,3%; однако статистический анализ не показал достоверности

$p=0.21960$). Напротив, количество случаев с кишечным фенотипом при возрастании глубины инвазии в два раза снижалось (M – 31,1%, SM2 – 16,2%, $p=0.124$). Количество случаев со смешанным фенотипом с увеличением глубины инвазии увеличивалось незначительно, а количество случаев с желудочным фенотипом незначительно снижалось (Таблица 66).

Таблица 66 – Характеристика вариантов муцинового иммунофенотипа РРЖ в зависимости от глубины инвазии (n=227)

	Глубина инвазии							
	M		SM1		SM2		Всего	
Число пациентов	135		55		37		227	
Муциновый иммунофенотип	Абс	%	Абс	%	Абс	%	Абс	%
нулевой	17	12,6	10	18,2	9	24,3	36	15,9
желудочный	41	30,4	18	32,7	9	24,3	68	30,0
кишечный	42	31,1	12	21,8	6	16,2	60	26,4
смешанный	35	25,9	15	27,3	13	35,1	63	27,8

Глубина инвазии также, как и размер опухоли является независимым прогностическим фактором лимфогенного метастазирования и фактором, определяющим показания к эндоскопической резекции в различных прогностических системах. В нашем исследовании в группе внутрислизистых РРЖ (критерий, входящий в абсолютные показания JGCA), максимальная частота метастазирования наблюдалась при желудочном и смешанном фенотипах. При глубине инвазии SM1 максимальная частота наблюдалась в случаях с кишечным фенотипом. При глубине инвазии SM2 частота метастазирования была максимальной при желудочном иммунофенотипе 77,8%, что достоверно выше, чем при смешанном 30,8%; $p=0,04$ (Таблица 67).

Таблица 67 – Зависимость лимфогенного метастазирования вариантов муцинового иммунофенотипа от глубины инвазии РРЖ (n=227)

	Муциновый фенотип							
	нулевой		желудочный		кишечный		смешанный	
Число пациентов	36		68		60		63	
Глубина инвазии	N(+)/Абс	N(+)%	N(+)/Абс	N(+)%	N(+)/Абс	N(+)%	N(+)/Абс	N(+) %
M (n=135)	1/17	5,9	5/41	12,2	0/42	0	5/35	14,3
SM1 (n=55)	1/10	10,0	2/18	11,1	3/12	25,0	0/15	0
SM2 (n=37)	6/9	66,7	7/9	77,8	4/6	66,7	4/13	30,8 $p=0,04$

Макроскопический тип опухоли является важным прогностическим фактором РРЖ. 0 III макроскопический тип признан более неблагоприятным, чем 0 I и 0 II типы. Нулевой фенотип РРЖ более чем в половине случаев был представлен 0 I макроскопическим типом 52,8% (по сравнению с 0 III типом = 16,7%; 0,0015). 0 I макроскопический тип достоверно чаще

встречался при нулевом фенотипе, по сравнению с желудочным $p=0,00001$, кишечным $p=0,015$ и смешанным фенотипами $p=0,0006$ (Таблица 68), реже всего встречался желудочный фенотип (10,3%; + по сравнению с кишечным $p=0,008$). 0 II с макроскопический тип достоверно чаще встречался при желудочном (38,2 %; $p=0,018$) и смешанном фенотипах (39,7%; $p=0,014$). 0 III макроскопический тип встречался достоверно чаще при желудочном фенотипе по сравнению с кишечным (25,5% против 11,7%; $p=0,0043$).

Таблица 68 – Частота встречаемости макроскопических типов РРЖ при различных вариантах муцинового профиля РРЖ (n=227)

	Муциновый фенотип							
	нулевой		желудочный		кишечный		смешанный	
	Число пациентов							
	36		68		60		63	
Макроскопический тип	Абс	%	Абс	%	Абс	%	Абс	%
0 I	19	52,8	7	10,3 $p=0,00001^*$ $p=0,008^+$	17	28,3 $p=0,015^*$	12	19,0 $p=0,0006^*$
0 II а	1	2,8	11	16,2 $p=0,036^*$	13	21,7 $p=0,009^*$	7	11,1
0 II б	4	11,1	7	10,3	3	5,0	9	14,3
0 II с	6	16,7	26	38,2 $p=0,018^*$	20	33,3	25	39,7 $p=0,014$
0 III	6	16,7	17	25,0 $p=0,043^+$	7	11,7	10	15,9
* Достоверные различия по сравнению с нулевым фенотипом, $p<0,05$ + Достоверные различия по сравнению с кишечным фенотипом, $p<0,05$								

При изменении макроскопического типа от 0 I до III типа достоверно возрастало количество случаев с желудочным фенотипом - 42,5% (по сравнению с I 0 типом - 12,7%; $+p=0,014$, Таблица 69).

Напротив, количество случаев с кишечным фенотипом при прогрессировании от 0 I до III типа достоверно снижалось.

Кишечный иммунофенотип достоверно чаще встречался при 0 I и 0 II а макроскопическом типе 30,9% (по сравнению с желудочным $p=0,018$ и нулевым $p=0,0002$) и реже всего при 0 III макроскопическом типе - 17,5% (по сравнению с желудочным $p=0,014$).

Таблица 69 – Характеристика муцинового профиля РРЖ в зависимости от макроскопического типа РРЖ

	Макроскопический тип									
	0 I		0 II а		0 II б		0 II с		0 III	
	Число пациентов									
	55		32		23		77		40	
Иммуно фенотип	Абс	%	Абс	%	Абс	%	Абс	%	Абс	%
нулевой	19	34,6	1	3,1	4	17,4	6	7,8	6	15,0
желудочный	7	12,7	11	34,4	7	30,4	26	33,8	17	42,5 p=0,014 ⁺
кишечный	17	30,9 0,0018 ⁺	13	40,6 0,0002*	3	13,1	20	26,0	7	17,5 0,014 ⁺
смешанный	12	21,8	7	21,9	9	39,1	25	32,4	10	25,0
*Достоверные различия по сравнению с нулевым фенотипом, p<0,05										
+Достоверные различия по сравнению с желудочным фенотипом, p<0,05										

В нашем исследовании макроскопический тип явился независимым прогностическим фактором метастазирования. Для выявления значимости муцинового профиля РРЖ для риска лимфогенного метастазирования было исследована частота метастазирования в зависимости от макроскопического типа опухоли. При первом макроскопическом типе минимальный уровень метастазирования наблюдался при кишечном фенотипе – 5,9%. При 0 II макроскопическом типе высокий уровень метастазирования наблюдался при нулевом фенотипе. Самый высокий уровень лимфогенного метастазирования наблюдался при 0 III типе при всех вариантах муцинового фенотипа, самый высокий уровень наблюдался при желудочном фенотипе по сравнению с нулевым (Таблица 70).

Таблица 70 – Зависимость лимфогенного метастазирования от муцинового профиля макроскопических типом РРЖ

	Муциновый фенотип							
	нулевой		желудочный		кишечный		смешанный	
	Число пациентов							
Макроскопический тип	36		68		60		63	
	N(+)/Абс	N(+)%	N(+)/Абс	N(+)%	N(+)/Абс	N(+)%	N(+)/Абс	N(+)%
0 I (55)	3/19	15,8	2/7	28,6	1/17	5,9	2/12	16,7
0 II а (32)	0/1	0	0/11	0	2/13	15,4	0/7	0
0 II б (23)	1/4	25,0	0/7	0	0/3	0	0/9	0
0 II с (77)	2/6	33,3	0/26	0	0/20	0	1/25	4,0
0 III (40)	2/6	33,3	12/17	70,6	4/7	57,1	6/10	60,0

Изъязвление и перитуморальный фиброз РРЖ также являются независимыми факторами лимфогенного метастазирования РРЖ. При изъязвленном РРЖ желудочный иммунофенотип встречался достоверно чаще - 34,7% (по сравнению с кишечным 18,9%;

$p=0,011$ и по сравнению с нулевым - 15,8%; $p=0,002$). При неизъязвленном РРЖ частота встречаемости кишечного иммунофенотипа была достоверно выше (31,8%), чем при изъязвленном раке - 18,9%, $p=0,021$ (Таблица 71).

Таблица 71 – Характеристика муцинового профиля РРЖ в зависимости от наличия изъязвления и фиброза

	фиброз и изъязвление опухоли					
	Нет		Есть		Абс.	
	Число пациентов					
Иммунофенотип	132		95		227	
	Абс	%	Абс	%	Абс	%
нулевой	21	15,9	15	15,8	36	15,9
желудочный	35	26,5	33	34,7* ⁺	68	30,0
кишечный	42	31,8 [#]	18	18,9	60	26,4
смешанный	34	25,8	29	30,5	63	27,8

*Достоверные различия по сравнению с нулевым фенотипом, $p<0,05$
⁺Достоверные различия по сравнению с кишечным фенотипом, $p<0,05$
[#]Достоверные различия по сравнению с наличием фиброза и изъязвлений, $p<0,05$

При изучении влияния изъязвления и фиброза на уровень метастазирования при различных вариантах муцинового профиля РРЖ был изучен уровень лимфогенного метастазирования. При наличии изъязвления уровень метастазирования при всех вариантах муцинового фенотипа был выше, чем при неизъязвленном РРЖ. При отсутствии изъязвления наибольшая частота метастазирования наблюдалась при нулевом фенотипе – 14,3%, при изъязвленном – при желудочном – 36,4% (Таблица 72).

Таблица 72 – Частота лимфогенного метастазирования в зависимости от муцинового профиля РРЖ

	Муциновый фенотип							
	нулевой		желудочный		кишечный		смешанный	
	Число пациентов							
	36		68		60		63	
Изъязвление и фиброз	N(+)/Абс	N(+)%	N(+)/Абс	N(+)%	N(+)/Абс	N(+)%	N(+)/Абс	N(+)%
Нет (132)	3/21	14,3	2/35	5,7	3/42	7,1	2/34	5,9
Есть (95)	5/15	33,3	12/33	36,4	4/18	22,2	7/29	24,1

Классификация Lauren P. [50] Среди общего количества больных (n-227) больше половины случаев РРЖ представлены интестинальным типом (интестинальный – 54,1%; диффузный – 31,7%; смешанный – 14,2%; $p = 0,00001$). Интестинальный тип РРЖ не был полностью представлен кишечным фенотипом, хотя этот муциновый профиль был преобладающим - 41,5% случаев (достоверно чаще по сравнению с желудочным муциновым фенотипом - 10,6%; $p = 0,00001$; по сравнению с нулевым 20,3%; $p=0,0003$). Диффузный тип

РРЖ более чем в половине случаев был представлен желудочным фенотипом - 59,7% (достоверно по сравнению с кишечным 5,6%; $p=0,00001$ и нулевым 13,9%; $p=0,00001$). При смешанном гистологическом типе преобладал смешанный фенотип - 43,8%, что достоверно по сравнению с кишечным $p=0,014$ и нулевым $p=0,0001$, и желудочный фенотип - 37,5%, что достоверно по сравнению с нулевым - 3,1%; $p=0,0006$, по сравнению с кишечным - 15,6%; $p=0,044$ (Таблица 73).

Таблица 73 – Характеристика муцинового профиля РРЖ в зависимости от классификации Lauren P

	Кишечный		Диффузный		Смешанный		Всего	
	Число пациентов							
Иммуно фенотип	123		72		32		227	
	Абс	%	Абс	%	Абс	%	Абс	%
нулевой	25	20,3	10	13,9	1	3,1	36	15,9
желудочный	13	10,6	43	59,7*#	12	37,5*#	68	30,0
кишечный	51	41,5*+	4	5,6	5	15,6	60	26,4
смешанный	34	27,6	15	20,8	14	43,8*#	63	27,8

*Достоверные различия по сравнению с нулевым фенотипом, $p<0,05$
+Достоверные различия по сравнению с желудочным фенотипом, $p<0,05$
#Достоверные различия по сравнению с кишечным фенотипом, $p<0,05$

При кишечном типе РРЖ по классификации Lauren P. при желудочном иммунофенотипе была зарегистрирована наибольшая частота лимфогенного метастазирования - 38,5% (достоверно выше, чем при кишечном - 11,8%; $p=0,037$). При смешанном типе по классификации Lauren P. желудочный иммунофенотип также имел максимальную частоту метастазирования – 41,7%. При диффузном типе наиболее неблагоприятен был кишечный иммунофенотип (Таблица 74).

Таблица 74 – Частота лимфогенного метастазирования РРЖ в зависимости от муцинового иммунофенотипа субтипов по классификации Lauren P

Классификация Lauren P.	муциновый фенотип							
	нулевой		желудочный		кишечный		смешанный	
	36		68		60		63	
	N(+)/ Абс	N(+) %	N(+)/ Абс	N(+) %	N(+)/ Абс	N(+) %	N(+)/ Абс	N(+) %
кишечный	6/25	24,0	5/13	38,5	6/51	11,8 $p=0,037$	5/34	14,7
диффузный	2/10	20,0	4/43	9,3	1/4	25,0	0/15	0,0
смешанный	0/1	0,0	5/12	41,7	0/5	0,0	4/14	28,6

Гистологическая классификация Nakamura K. используется в системе отбора больных на эндоскопическую резекцию JGCA, поэтому было проведено исследование

муцинового профиля РРЖ в связи с гистологическими типами данной классификации. При дифференцированном типе по классификации Nakamura К. достоверно чаще встречается кишечный фенотип - 47,3%, по сравнению с желудочным 47,3%, $p=0,00001$; по сравнению с нулевым 14,3%, $p=0,00001$; по сравнению со смешанным 28,6%, $p=0,007$. При недифференцированном типе напротив, преобладал желудочный фенотип - 43,4%, (по сравнению с нулевым - 16,9%, $p=0,00001$; по сравнению с кишечным - 12,5%, $p=0,00001$, по сравнению со смешанным 27,2%, $p=0,004$ (Таблица 75).

Таблица 75 – Муциновый профиль гистологических типов, классификация Nakamura К

	Дифференцированный тип		Недифференцированный тип		Всего	
	Число пациентов					
Иммунофенотип	91		136		227	
	Абс	%	Абс	%	Абс	%
нулевой	13	14,3 [#]	23	16,9 ⁺	36	15,9
желудочный	9	9,9 [#]	59	43,4 [*]	68	30,0
кишечный	43	47,3	17	12,5 ^{*+}	60	26,4
смешанный	26	28,6 [#]	37	27,2 ⁺	63	27,8

*Достоверные различия между типами по классификации Nakamura К., $p<0,05$
⁺Достоверные различия по сравнению с желудочным фенотипом, $p<0,05$
[#]Достоверные различия по сравнению с кишечным фенотипом, $p<0,05$

При изучении лимфогенного метастазирования при дифференцированном типе РРЖ с желудочным фенотипом частота метастазирования была заметно выше (9/2; 22,3%), чем при кишечном (3/43; 7,0%), однако данные не достигли значимости вследствие небольшого количества выборки (Таблица 76). При недифференцированном типе частота лимфогенного метастазирования РРЖ с желудочным и кишечным фенотипами была одинакова (20,3% и 23,5%, соответственно).

Таблица 76 – Частота лимфогенного метастазирования РРЖ в зависимости от муцинового профиля гистотипов по классификации Nakamura К

	Муциновый фенотип							
	нулевой		желудочный		кишечный		смешанный	
Гистотип	Число пациентов							
	36		68		60		63	
	N(+)/Абс	N(+) %	N(+)/Абс	N(+) %	N(+)/Абс	N(+) %	N(+)/Абс	N(+) %
Дифф. тип	1/13	7,7	2/9	22,2	3/43	7,0	2/26	7,7
Недифф. тип	7/23	30,4	12/59	20,3	4/17	23,5	7/37	18,9

Гистологическая классификация JGCA. Для исследования прогностического значения муцинового профиля РРЖ был проведен анализ встречаемости муциновых фенотипов

при различных гистологических типах по классификации JGCA. TUB 1 более чем в половине случаев была представлена кишечным фенотипом – 58,6% (Таблица 77), наименьшее количество случаев имело желудочный фенотип – 3,4%, $p=0,00001$. TUB 2 практически в половине случаев была представлена смешанным фенотипом – 47,1%. В случаях POR 2 преобладал смешанный фенотип (43,9%), а в SRC преобладающим был желудочный фенотип 70,4% (по сравнению с кишечным 4,2%, $p=0,00001$). В PAP преобладающим был нулевой фенотип – 40,9%.

Количество случаев с кишечным фенотипом при снижении дифференцировки РРЖ достоверно снижалось, TUB 1 – 56,8%, TUB 2 29,4%, $p=0,03$; POR 2 – 17,1%, $p=0,00001$; POR 1 – 20,0%, $p=0,027$; SRC – 4,2%, $p=0,00001$, где p – достоверные различия по сравнению с TUB 1). При SRC количество случаев с желудочным фенотипом было максимальным – 70,4% и достоверно больше, чем при аденокарциномах различной степени дифференцировки, включая папиллярную АК (по сравнению с TUB 1 – 3,4%, $p=0,00001$; по сравнению с TUB 1 – 17,6%, $p=0,0001$; POR 1 – 20,0%, $p=0,003$; с POR 2 – 14,6%, $p=0,00001$; с PAP – 18,2%, $p=0,00001$).

Нулевой фенотип чаще всего встречался при таком неблагоприятном типе как POR 1 – 50% (по сравнению с TUB 1 – 8,6%, $p=0,004$; по сравнению с TUB 2 – 5,9%, $p=0,015$; с SRC – 7,0%, $p=0,0019$) и PAP – 40,9% (по сравнению с TUB 1 – 8,6%, $p=0,0017$; по сравнению с TUB 2 – 5,9%, $p=0,014$; по сравнению с SRC – 7,0%, $p=0,0005$).

Таблица 77 – Муциновый профиль РРЖ с зависимости от гистотипа по классификации JGCA

	Классификация JGCA													
	TUB 1		TUB 2		POR 1		POR 2		ПАП		ПКР		Другие	
	Число пациентов													
	58		17		10		41		22		71		8	
Гистотип	Абс	%	Абс	%	Абс	%	Абс	%	Абс	%	Абс	%	Абс	%
Нулевой	5	8,6*	1	5,9*	5	50,0	10	24,4	9	40,9	5	7,0*	1	12,5
Желудочный	2	3,4 ⁺	3	17,6 ⁺	2	20,0 ⁺	6	14,6 ⁺	4	18,2 ⁺	50	70,4	1	12,5
Кишечный	34	58,6	5	29,4*	2	20,0*	7	17,1*	6	27,3*	3	4,2*	3	37,5
Смешанный	17	29,3	8	47,1	1	10,0	18	43,9	3	13,6	13	18,3	3	37,5
*Достоверные различия по сравнению с TUB 1., $p<0,05$ +Достоверные различия по сравнению с ПКР, $p<0,05$														

Во всех случаях TUB 1 метастатический процесс отсутствовал. При TUB 2 метастазы были выявлены только при кишечном и смешанном фенотипе, а при POR 1 - только при желудочном иммунофенотипе. Наиболее неблагоприятными для риска метастазирования оказались сочетания: POR 2 с желудочным муциновым фенотипом (66,7%), PAP как с желудочным (50%), так и с кишечным (50%) фенотипом и SRC с нулевым фенотипом (40,0%) (Таблица 78). Важно отметить, что при POR 2 с желудочным фенотипом частота метастазирования была меньше, чем при SRC (66,7% против 12,0, $p=0,0071$).

Таблица 78 – Частота метастазирования в зависимости от муцинового профиля РРЖ и гистотипа по классификации JGCA

	муциновый фенотип							
	нулевой		желудочный		кишечный		смешанный	
	Число пациентов							
Классификация JGCA	N(+)/ Абс	N(+)%	N(+)/ Абс	N(+)%	N(+)/ Абс	N(+)%	N(+)/ Абс	N(+)%
TUB 1 (n=58)	0/5	0,0	0/2	0,0	0/34	0,0	0/17	0,0
TUB 2 (n=17)	0/1	0,0	0/3	0,0	1/5	20,0	2/8	25,0
POR 1 (n=10)	0/5	0,0	1/2	50,0	0/2	0,0	0/1	0,0
POR 2 (n=41)	3/10	30,0	4/6	66,7	2/7	28,6	6/18	33,3
ПАП (n=22)	3/9	33,3	2/4	50,0	3/6	50,0	1/3	33,3
ПКР (n=71)	2/5	40,0	6/50	12,0 ⁺	1/3	33,3	0/13	0,0
Другие (n=8)	0/1	0,0	1/1	100,0	0/3	0,0	0/3	0,0
+Достоверные различия по сравнению с низкодифференцированной несолидной АК, $p<0,05$								

Гистологическая классификация ВОЗ. С учетом дифференцировки карцином, нулевой фенотип наиболее часто встречался при НДАК (37,8%). Максимальное количество случаев со смешанным фенотипом встречалось при УДАК и редких типах карцином (42,1% и 70,0%, соответственно). Кишечный тип достоверно чаще встречался при ВДАК, чем при ПКР (51,4% против 4,2% $p=0,00001$). Количество случаев с кишечным фенотипом снижалось при снижении дифференцировки аденокарциномы (Таблица 79).

Таблица 79 – Муциновый профиль РРЖ в зависимости от классификации ВОЗ

	Классификация ВОЗ									
	ВДАК		УДАК		НДАК		ДК		Другие типы	
	Число пациентов									
Муциновый фенотип	72		19		45		71		20	
	Абс	%	Абс	%	Абс	%	Абс	%	Абс	%
нулевой	11	15,3	2	10,5	17	37,8	5	7,0	1	5,0
желудочный	6	8,3	3	15,8	7	15,6	50	70,4	2	10,0
кишечный	37	51,4	6	31,6	11	24,4	3	4,2	3	15,0
смешанный	18	25,0	8	42,1	10	22,2	13	18,3	14	70,0

При желудочном иммунофенотипе в группе аденокарцином (с высокой и низкой степенью дифференцировки) по сравнению с ДК наблюдалась максимальная частота лимфогенного метастазирования РРЖ (Таблица 80).

Таблица 80 – Частота метастазирования РРЖ в зависимости от классификации JGCA

	муциновый фенотип							
	нулевой		желудочный		кишечный		смешанный	
	Число пациентов							
Классификация ВОЗ	N(+)/ Абс	N(+)%	N(+)/ Абс	N(+)%	N(+)/ Абс	N(+)%	N(+)/ Абс	N(+)%
ВДАК(n=72)	0/11	0,0	2/6	33,3	1/37	2,7	0/18	0,0
УДАК(n=19)	1/2	50,0	0/3	0,0	2/6	33,3	2/8	25,0
НДАК(n=45)	5/17	29,4	5/7	71,4	3/11	27,3	3/10	30,0
ДК (n=71)	2/5	40,0	6/50	12,0 ⁺	1/3	33,3	0/13	0,0
Другие (n=20)	0/1	0,0	1/2	50,0	0/3	0,0	4/14	28,6
+Достоверные различия по сравнению с низкодифференцированной несолидной АК, p<0,05								

В заключении: РРЖ с желудочным фенотипом характеризовался более агрессивными морфологическими признаками: наблюдался в более молодом возрасте ($55,6 \pm 11,4$ лет, в среднем на 5 лет, чем при нулевом ($p=0,046$) и кишечном фенотипе ($p=0,038$), достоверно чаще встречался при 0 III макроскопическом типе (42,5%, $p=0,014$), при изъязвленном РРЖ (3,47%, $p=0,002$), при недифференцированном РРЖ по классификации Nakamura K. (4,34%, $p=0,00001$), диффузном типе по классификации Lauren P. (59,7%, $p=0,00001$) и перстневидноклеточном раке по классификации JGCA (70,4%, $p=0,00001$). Желудочный иммунофенотип являлся неблагоприятным прогностическим фактором лимфогенного метастазирования. При РРЖ с желудочным муциновым иммунофенотипом наблюдался более высокий уровень метастазирования по сравнению с кишечным (20,6% против 11,7%). При дифференцированном типе РРЖ (признак является определяющим для отбора на эндоскопическую резекцию в системе JGCA) с желудочным муциновым иммунофенотипом частота метастазирования была заметно выше, чем при кишечном (9/2; 22,3% против 3/40; 7,0%, соответственно), однако данные не достигли значимости вследствие небольшого количества выборки. При размере опухоли до 2 см (признак является определяющим для отбора на ЭЛ в системе JGCA) с желудочным фенотипом наблюдалась максимальная частота метастазирования (15,4%; 4/26 против кишечного 11,5%; 3/26 и смешанного 9,1%; 3/33). При глубине инвазии SM2 частота метастазирования максимальна при желудочном иммунофенотипе – 77,8% (достоверно выше, чем при смешанном 30,8%, $p=0,04$). Желудочный фенотип POR 2 (JGCA) является самым неблагоприятным прогностическим признаком лимфогенного метастазирования 66,7%. При РРЖ кишечного типа по классификации Lauren P. с желудочным муциновым иммунофенотипом частота метастазирования была достоверно выше, чем при кишечном

фенотипе (38,5%, $p=0,037$). РРЖ с кишечным муциновым иммунофенотипом характеризовался более благоприятными морфологическими признаками и достоверно чаще встречался при внутрислизистой локализации, 0 I макроскопическом типе, дифференцированном типе по классификации Nakamura K., кишечном типе по классификации Laugen P. и при TUB 1 (JGCA) и имел самую низкую частоту изъязвления.

4.3. Прогностическое значение муцинового профиля РРЖ в пределах показаний системы для отбора больных для эндоскопического лечения JGCA

Для понимания влияния муцинового иммунофенотипа на метастазирование к 227 случаям РРЖ с исследованным муциновым профилем были применены показания JGCA. В группе, соответствующей абсолютным показаниям метастазов выявлено не было. В 91 случае РРЖ, соответствующего расширенным показаниям JGCA, было выявлено два случая лимфогенного метастазирования со смешанным иммунофенотипом. В 36(26,5%) случаях их 136 (случаи, не соответствующие показаниям JGCA) были выявлены метастазы. С целью определения случаев, которым можно было бы предложить более щадящую операцию в пределах группы, превышающей расширенные показания JGCA, был проведен анализ частоты метастазирования в зависимости от муцинового профиля РРЖ. Максимальная частота метастазирования наблюдалась при нулевом муциновом фенотипе, однако в общей группе больных ($n=136$) достоверных различий между уровнем метастазирования при различных вариантах иммунофенотипа выявлено не было (Таблица 81).

Таблица 81 – Частота случаев РРЖ с лимфогенным метастазированием N(+) в зависимости от муцинового фенотипа для случаев РРЖ, превышающих расширенные критерии JGCA

	муциновый фенотип							
	нулевой		желудочный		кишечный		смешанный	
	Абс	%	Абс	%	Абс	%	Абс	%
	Число пациентов $n=136$							
	24		51		24		37	
N0	16	66,7	37	72,5	17	70,8	30	81,1
N(+)	8	33,3	14	27,5	7	29,2	7	18,9

Произведено более детальное исследование прогностического значения муцинового профиля РРЖ в группе, превышающей расширенные показания, при различных гистологических типах по классификации JGCA.

При перстневидноклеточном раке с желудочным иммунофенотипом частота метастазирования составила 15,8% (6/38) и была достоверно ниже ($p = 0,003$), чем частота метастазирования в случаях с желудочным фенотипом в общей группе, ПАП и POR 2: 8/13 и 61,5%, соответственно (Таблица 82).

Таблица 82 – Частота случаев РРЖ с лимфогенным метастазированием N(+) в зависимости от муцинового профиля и гистотипа по классификации JGCA для случаев РРЖ, превышающего расширенные показания

	муциновый фенотип							
	нулевой		желудочный		кишечный		смешанный	
	Число пациентов n=136							
Классификация JGCA	N(+)/ Абс	N(+)%	N(+)/ Абс	N(+)%	N(+)/ Абс	N(+)%	N(+)/ Абс	N(+)%
TUB 1 (n=7)	-	-	0/1	-	0/3	-	0/3	-
TUB 2 (n=6)	0/1	-	0/1	-	1/2	50,0	1/2	50,0
POR 1 (n=9)	0/5	-	1/2	50,0	0/2	-	-	-
POR 2 (n=36)	3/8	37,5	4/6	66,7	2/6	33,3	5/16	31,3
ПАП (n=13)	3/4	75,0	2/2	100	3/5	60,0	1/2	50,0
ПКР (n=57)	2/5	40,0	6/38	15,8	1/3	33,3	0/11	-
Другие (n=8)	0/1	-	1/1	100	0/3	-	0/3	-
Всего N(+)	8/24	33,3	14/51	27,5	7/24	29,2	7/37	18,9

В заключении: при исследовании значимости муцинового иммунофенотипа при соответствии показаниям к эндоскопическому лечению JGCA и при превышении расширенных показаний, достоверных различий не выявлено.

4.4 Прогностическое значение мембранной экспрессии Е-катгерина для определения риска лимфогенного метастазирования РРЖ

Мембранная экспрессия Е-катгерина была изучена у 227 больных РРЖ. Экспрессия наблюдалась при различных гистотипах РРЖ (Рисунок 22).

При отсутствии мембранной экспрессии Е-катгерина частота лимфогенного метастазирования в общей группе больных РРЖ была достоверно выше - 32%, по сравнению с наличием мембранной экспрессии - 12,7%; $p=0,0022$ (Таблица 83).

Таблица 83 – Частота лимфогенного метастазирования в зависимости от мембранной экспрессии Е-катгерина

	Общее число больных РРЖ (n=227)		N(+)	
	Абс	%	Абс	%
Е-катгерин (-)	46	20,3	15	32,6
Е-катгерин (+)	181	79,7	23	12,7
				p=0,0022

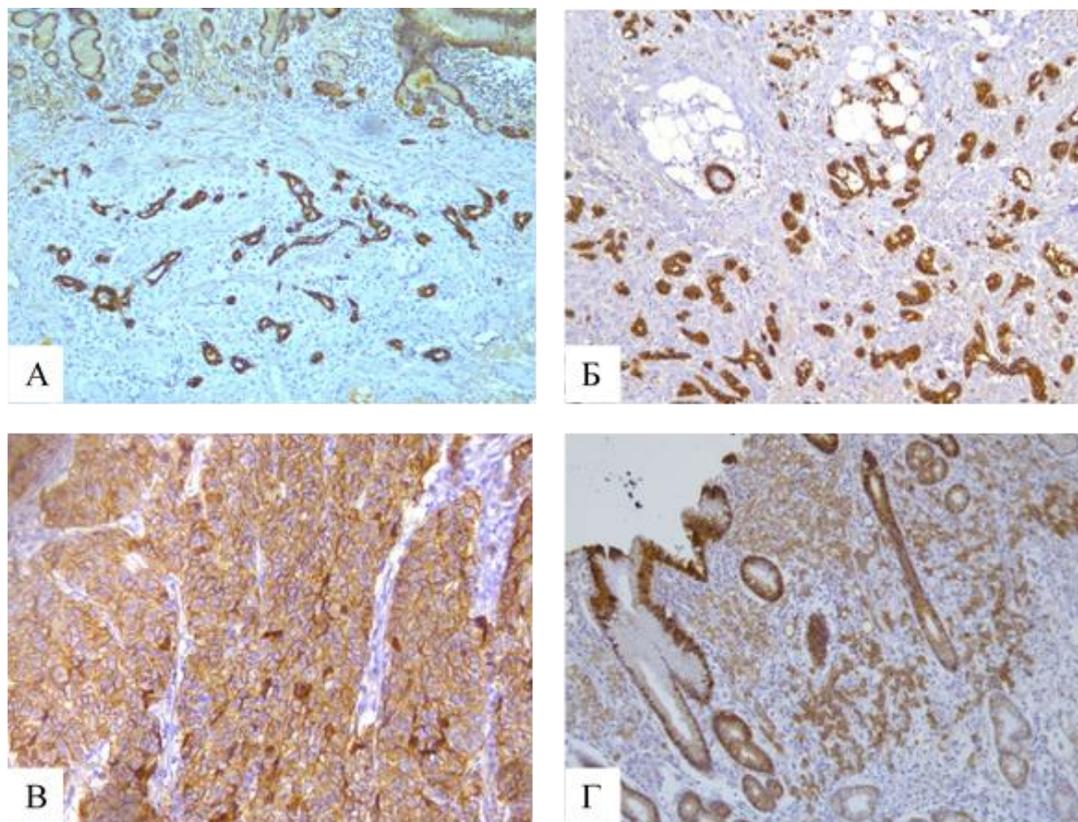


Рисунок 22 – Мембранная экспрессия Е-катгерина: А. - Кишечный тип РРЖ (Lauren P.). Мембранная экспрессия Е-катгерина (x100). Б. - Мембранная экспрессия Е-катгерина (x100). В. – неутонченный (солидный тип). Мембранная экспрессия Е-катгерина (x200). Г.ОД - Диффузный тип РРЖ. Мембранная экспрессия Е-катгерина (x100)

Наиболее часто, отсутствие мембранной экспрессии Е-катгерина наблюдалось при диффузном и смешанном гистотипе по классификации Lauren P, по сравнению с кишечным гистотипом. Это свидетельствует о том, что при прогностически более неблагоприятных гистотипах по классификации Lauren P. снижается частота мембранной экспрессии Е-катгерина. Частота лимфогенного метастазирования во всех подтипах РРЖ по классификации Lauren P. зависела от экспрессии Е-катгерина (Таблица 84). Так при диффузном типе РРЖ частота метастазирования была достоверно выше при отсутствии экспрессии Е-катгерина - 22.4% (по сравнению с мембранной экспрессией 4,0%; * p=0,025).

Таблица 84 – Частота метастазирования РРЖ зависимости от гистотипа по классификации Lauren P. и экспрессии Е-катгерина

	Экспрессия Е-катгерина			
	Е-катгерин (-) n=46		Е-катгерин (+) n=181	
	Число пациентов			
Классификация Laugen P.	Абс	%	Абс	%
кишечный	4/11	36,4	18/112	16,1
диффузный	5/22	22,7	2/50	4,0*
смешанный	6/13	46,2	3/19	15,8

При дифференцированном типе по классификации Nakamura К. отсутствие экспрессии Е-катгерина наблюдалось реже, чем при недифференцированном: 7,7% против 28,7% (Таблица 85).

Таблица 85 – Экспрессия Е-катгерина в зависимости от гистотипа по классификации Nakamura

	Классификация Nakamura К.					
	Дифференцированный тип		Недифференцированный тип		Всего	
	Число пациентов					
	91		136		227	
	Абс	%	Абс	%	Абс	%
Е-катгерин (-)	7	7,7	39	28,7	46	20,3
Е-катгерин (+)	84	92,3	97	71,3	181	79,7

При дифференцированном типе РРЖ (признак отбора на эндоскопическую резекцию JGCA) отсутствие экспрессии Е-катгерина было связано с более высокой частотой метастазирования, чем в случаях с мембранной экспрессией - 28,6% против 7,1% (Таблица 86). При недифференцированном типе РРЖ метастазы в лимфатические узлы выявлялись также достоверно чаще в случаях с отсутствием экспрессии Е-катгерина, чем при мембранной экспрессии (33,3% против 17,5%, $p=0,0398$).

Таблица 86 – Частота лимфогенного метастазирования РРЖ по классификации Nakamura К. в зависимости от экспрессии Е-катгерина

	Мембранная экспрессия Е-катгерина			
	Число пациентов			
	Е-катгерин (-) n=46		Е-катгерин (+) n=181	
Классификация Nakamura К.	N(+)/Абс	N(+)%	N(+)/Абс	N(+)%
Дифференцированный тип (n=91)	2/7	28,6	6/84	7,1
Недифференцированный тип (n=136)	13/39	33,3	17/97	17,5 $p=0,0398$

При снижении дифференцировки опухоли количество случаев с потерей экспрессии Е-катгерина увеличивалось, и достигало максимального значения при перстневидноклеточном раке и редких вариантах карцином желудка (Таблица 87).

Таблица 87 – Экспрессия Е-катгерина в зависимости от гистотипа РРЖ по классификации JGCA

Гистологическая классификация JGCA														
	TUB 1		TUB 2		POR 1		POR 2		PAP		SRC		Другие	
	Число пациентов													
	58		17		10		41		22		71		8	
	Абс	%	Абс	%	Абс	%	Абс	%	Абс	%	Абс	%	Абс	%
Е-катгерин (-)	3	5,2	1	5,9	2	20,0	11	26,8	4	18,2	22	31,0	3	37,5
Е-катгерин (+)	55	94,8	16	94,1	8	80,0	30	73,2	18	81,8	49	69,0	5	62,5

При потере мембранной экспрессии Е-катгерина максимальная частота лимфогенного метастазирования наблюдалась при PAP - 75%, по сравнению с перстневидноклеточным раком 27,3%; $p=0,104$ (Таблица 88). И хотя данные не достигли достоверности, в случаях с мембранной экспрессией Е – катгерина при TUB 2 частота метастазирования была выше (18,8%), чем при перстневидноклеточном раке (6,1%).

Таблица 88 – Частота метастазирования при экспрессии Е-катгерина в различных гистотипах РРЖ по классификации JGCA

	Экспрессия Е-катгерина			
	Е-катгерин (-)		Е-катгерин (+)	
	Число пациентов			
Классификация JGCA	Абс	%	Абс	%
TUB 1 (n=58)	0/3	0	0/55	0
TUB 2 (n=17)	0/1	0	3/16	18,8
POR 1 (n=10)	1/2	50,0	0/8	0
POR 2 (n=41)	4/11	36,4	11/30	36,7
PAP (n=22)	3/4	75,0	6/18	33,3
SRC (n=71)	6/22	27,3	3/48	6,1
Другие (n=8)	1/3	33,3	0/5	0

В заключении: в группе случаев с отсутствием мембранной экспрессии Е-катгерина частота лимфогенного метастазирования была достоверно выше 32%, чем при экспрессии - 12,7%; $p=0,0022$. С учетом гистотипа по классификации Laugen: при диффузном ($p=0,025$) и смешанном типе Р. наблюдалось максимальное количество случаев отсутствия экспрессии Е-катгерина. С учетом гистотипа по классификации Nakamura K.: при дифференцированном типе количество случаев с отсутствием экспрессии Е-катгерина было меньше, чем при недифференцированном (7,7% против 28,7%). При дифференцированном типе частота метастазирования выше при отсутствии экспрессии Е-катгерина (28,6%), чем при экспрессии (7,1%). При недифференцированном типе лимфогенное метастазирование выявлялось

достоверно чаще при отсутствии экспрессии Е-катгерина (33,3%), чем при экспрессии (17,5%, $p=0,0398$). С учетом гистотипа по классификации JGCA: при снижении степени дифференцировки РРЖ количество случаев с отсутствием экспрессии Е-катгерина нарастало и было максимальным при перстневидноклеточном раке и редких вариантах карцином желудка (31,0 и 37,5, соответственно). Наибольшая частота лимфогенного метастазирования наблюдалась при отсутствии экспрессии Е-катгерина при папиллярных и низкодифференцированных солидных аденокарциномах (75,0% и 50,0%, соответственно).

4.5 Прогностическое значение ядерной экспрессии p53 для определения риска лимфогенного метастазирования РРЖ

Экспрессия p53 наблюдалась при различных гистотипах РРЖ (Рисунок 23-24).

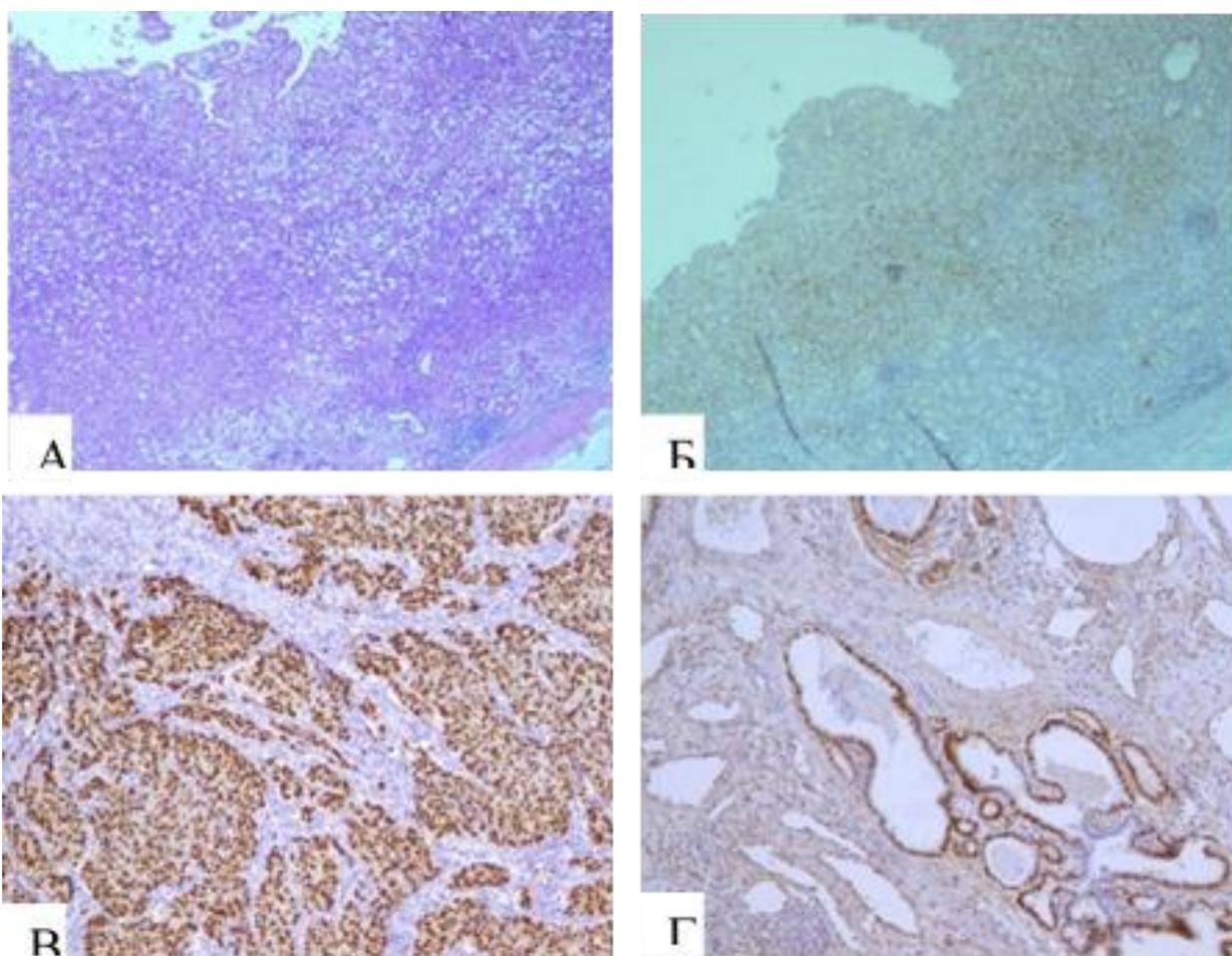


Рисунок 23 – А. – Диффузный тип (гематоксилин/эозин, x 50). Б. - Диффузный тип. Экспрессия p53 (x50). В. – Сольидный тип. Экспрессия p 53 (x50). Г.ОД - Кишечный тип РРЖ. Экспрессия p 53 (x50)

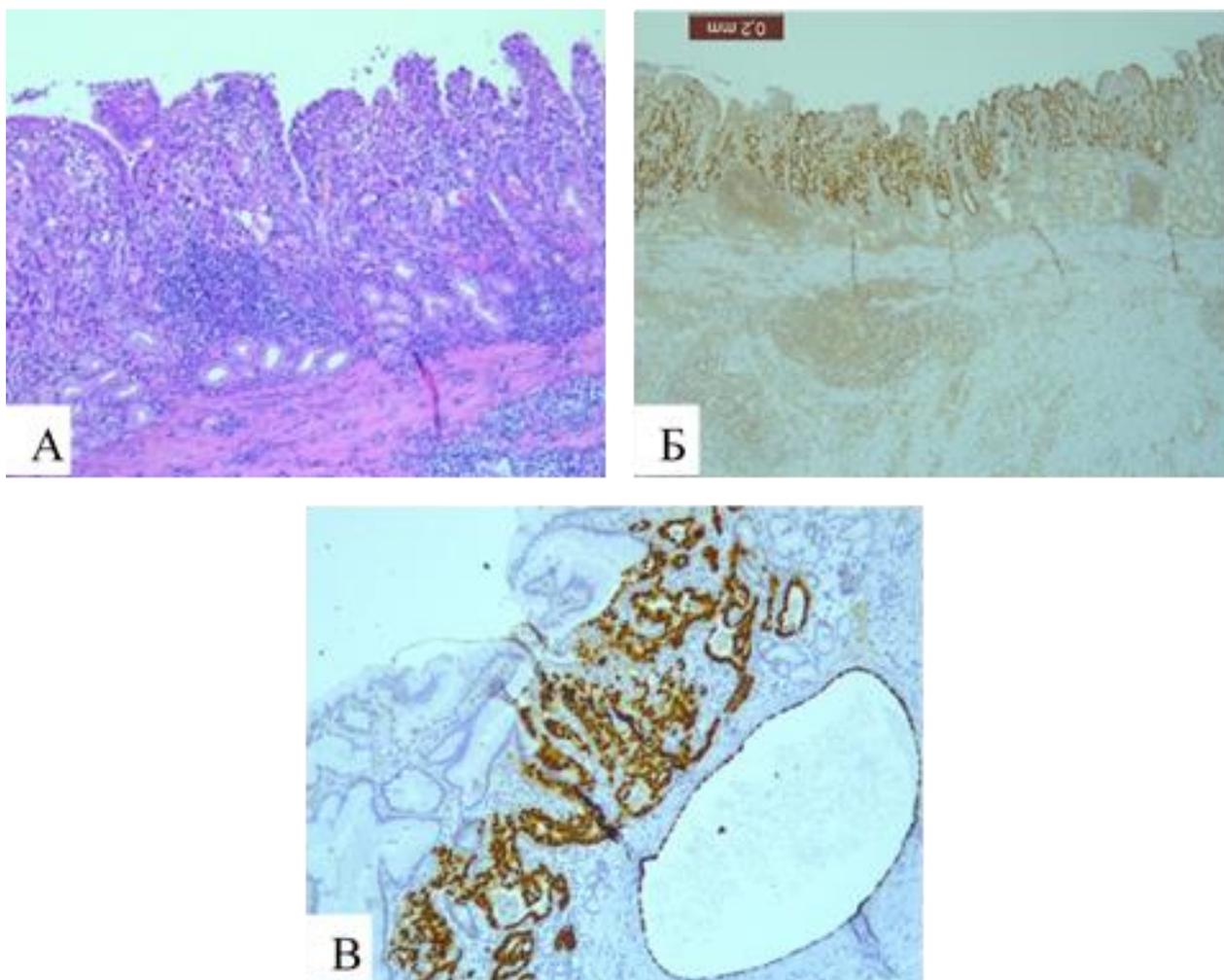


Рисунок 24 – А. - Внутрислизистый РРЖ (гематоксилин/эозин, х200). Б. – Ядерная экспрессия p53, граница между опухолевым и неопухолевым поражением слизистой оболочки (х50). В. - Кишечный тип РРЖ. Экспрессия p 53, граница между опухолевым и неопухолевым поражением слизистой оболочки (х200)

Экспрессия p53 изучена у 227 больных РРЖ. С увеличением глубины инвазии опухоли количество случаев с ядерной экспрессией p53 снижалось (0,000001). Количество случаев кишечного фенотипа p53(+) по классификации Lauren P. было достоверно выше, чем количество случаев p53(-). Также, при снижении дифференцировки опухоли (классификация ВОЗ и JGCA) количество случаев РРЖ с p53(+) снижалось. Наличие экспрессии Р 53 не зависело от пола и возраста больных РРЖ, от размера опухоли, макроскопического типа, мультицентрического типа роста. Метастазы в регионарных лимфатических узлах выявлены в 16,7% (38/227) случаев РРЖ. В 59,9% (136/227) случаев РРЖ экспрессия p53 не определялась, из них метастатический процесс был выявлен в 19,9% (27/136). В 40,1% (91/227) случаев РРЖ с положительной ядерной экспрессией p53(+) метастазы были выявлены в 12,1% случаев (11/91; $p=0,086$). При увеличении размера опухоли было также отмечено снижение количества случаев с экспрессией p53 (Таблица 89).

Таблица 89 – Частота лимфогенного метастазирования РРЖ в зависимости от размера опухоли и экспрессии p53

	Максимальный размер					
	1-2 см		2,01-3 см		Более 3 см	
	Число пациентов					
	98		52		77	
	N(+)/Абс	N(+)%	N(+)/Абс	N(+)%	N(+)/Абс	N(+)%
P53-	8/53	15,1	6/33	18,2	13/50	26,0
P53+	3/45	6,7	2/19	10,5	6/27	22,2
p		0,160		0,378		0,470
N (+)	11/98	11,2	8/52	15,4	19/77	24,7

При увеличении глубины инвазии количество случаев p53(+) снижалось, M-64 / SM1-18 / SM2-9; p=0,061 (Таблица 90).

Таблица 90 – Экспрессия p53 в зависимости от глубины инвазии РРЖ

	Глубина инвазии							
	M		SM1		SM2		Всего	
	Число пациентов							
	135		55		37		227	
	Абс	%	Абс	%	Абс	%	Абс	%
P53-	71	52,6	37	67,3	28	75,7	136	59,9
P53+	64	47,4	18	32,7	9 p=0,061	24,3	91	40,1

При внутрислизитом РРЖ в случаях p53(+) частота метастазирования была достоверно ниже, чем при отсутствии экспрессии (Таблица 91).

Таблица 91 – Частота лимфогенного метастазирования РРЖ в зависимости от размера опухоли и экспрессии p53

	Глубина инвазии							
	M		SM1		SM2		Всего	
	Число пациентов							
	135		55		37		227	
	N(+)/Абс	N(+)%	N(+)/Абс	N(+)%	N(+)/Абс	N(+)%	N(+)/Абс	N(+)%
P53-	9/71	12,7	3/37	8,1	15/28	53,6	27/136	19,9
P53+	2/64	3,1	3/18	16,7	6/9	66,7	11/91	12,1
p		0,041		0,301		0,385		0,086
N (+)	11/135	8,2	3/55	10,9	21/37	56,8	38/227	16,7

Экспрессия p53 была связана с вариантами муцинового фенотипа РРЖ. Максимальное количество случаев с положительной экспрессией p53 определялось при кишечном

иммунофенотипе - 76,7%, по сравнению с желудочным 11,8%, $p = 0,00001$; смешанным 49,2%, $p = 0,0014$, минимальное количество случаев при желудочном фенотипе - 11,8%, по сравнению с кишечным и смешанным; $p=0,00001$ и нулевом иммунофенотипе – 16,7%, по сравнению с кишечным и смешанным; $p=0,00001$ (Таблица 92).

Таблица 92 – Экспрессия p53 в зависимости от муцинового профиля РРЖ

	муциновый фенотип							
	нулевой		желудочный		кишечный		смешанный	
	Число пациентов							
	36		68		60		63	
	Абс	%	Абс	%	Абс	%	Абс	%
P53-	30	83,3	60	88,2	14	23,3	32	50,8
P53+	6	16,7* ⁺	8	11,8* ⁺	46	76,7	31	49,2*
*достоверные различия по сравнению с кишечным фенотипом, $p<0,05$ +достоверные различия по сравнению со смешанным фенотипом, $p<0,05$								

При кишечном и смешанном иммунофенотипе с положительной экспрессией p53 наблюдалась минимальная частота метастазирования 10,9% и 9,7%, соответственно (Таблица 93). При желудочном иммунофенотипе с экспрессией p53 наблюдалась максимальная частота метастазирования - 37,5%, по сравнению с кишечным 10,9%; $p=0,086$ и смешанным 9,7% фенотипами; $p=0,088$, однако данные не достигли достоверности вследствие малого количества выборки. В случаях с отсутствием экспрессии p53 максимальная частота метастазирования наблюдалась при нулевом фенотипе (26,7%) без достоверных различий с другими фенотипами.

Таблица 93 – Зависимость метастазирования РРЖ при наличии экспрессии p53 в случаях различным муциновым иммунофенотипом

	муциновый фенотип							
	нулевой		желудочный		кишечный		смешанный	
	Число пациентов							
	36		68		60		63	
	N(+)/Абс	N(+)%	N(+)/Абс	N(+)%	N(+)/Абс	N(+)%	N(+)/Абс	N(+)%
P 53 -	8/30	26,7	11/60	18,3	2/14	14,3	6/32	18,8
P 53+	0/6	-	3/8	37,5	5/46	10,9	3/31	9,7
p	0,193		0,206		0,522		0,253	
N +	8/36	22,2	14/68	20,6	7/60	11,7	9/63	14,3

Максимальное количество случаев с отсутствием экспрессии p53 было выявлено при диффузном гистотипе по Laugen. P. – 88,9%, по сравнению с кишечным 42,3% (Таблица 94).

Таблица 94 – Экспрессия p 53 в зависимости от гистотипа по классификации Laugen. P

	Классификация Laugen. P.							
	кишечный		диффузный		смешанный		Всего	
	Число пациентов							
	123		72		32		227	
	Абс	%	Абс	%	Абс	%	Абс	%
P53-	52	42,3	64	88,9	20	62,5	136	59,9
P53+	71	57,7	8	11,1	12	37,5	91	40,1

При кишечном гистотипе РРЖ при отсутствии экспрессии p53 частота метастазирования наблюдалась в два раза выше, чем при наличии ядерной экспрессии p53 - 23,1% против 14,1% случаев (Таблица 95).

В случаях смешанного гистотипа максимальная частота метастазирования наблюдалась при отсутствии экспрессии p53 - в 40,0% случаев.

Таблица 95 – Частота метастазирования РРЖ с учетом экспрессии p53 в случаях по классификации Laugen. P

	Гистотип по классификации Laugen. P.							
	кишечный		диффузный		смешанный		Всего	
	Число пациентов							
	123		72		32		227	
	N(+)/Абс	N(+)%	N(+)/Абс	N(+)%	N(+)/Абс	N(+)%	N(+)/Абс	N(+)%
P53-	12/52	23,1	7/64	10,9	8/20	40,0	27/136	19,9
P53+	10/71	14,1	0/8	-	1/12	8,3	11/91	12,1

Экспрессия p53 достоверно чаще встречалась при дифференцированном типе по классификации Nakamura K., чем при недифференцированном: 68,1% против 21,3% случаев, $p=0,00001$. При отсутствии ядерной экспрессии p 53 в опухолевых клетках при недифференцированном типе: 31,9% против 78,7%, $p=0,00001$ (Таблица 96).

Таблица 96 – Распределения случаев p53(+) и p53(-) в зависимости от гистотипа РРЖ по классификации Nakamura K

	Гистотип по классификации Nakamura K.					
	Дифференцированный тип		Недифференцированный тип		Всего	
	Число пациентов					
	91		136		227	
	Абс	%	Абс	%	Абс	%
P53-	29	31,9	107	78,7*	136	59,9
P53+	62	68,1	29	21,3*	91	40,1

*достоверные различия по сравнению с дифференцированным типом, p<0,05

Максимальная частота метастазирования выявлена в случаях положительной экспрессии p53(+) при недифференцированном типе по классификации Nakamura K.: 27,6 против дифференцированного 4,8%; p=0,004 (Таблица 97).

При недифференцированном типе в случаях p53(-) и p53(+) достоверных различий не выявлено (20,6% против 27,6%; p=0,283). Дифференцированный тип РРЖ с p53(+) показал низкую частоту метастазирования в 4,8% случаев по сравнению с p53(-) в 17,2% случаев (Таблица 97).

Таблица 97 – Частота метастазирования РРЖ при гистотипах по классификации Nakamura K. в зависимости от экспрессии p53

	Гистотип по классификации Nakamura K.					
	Дифференцированный тип		Недифференцированный тип		Всего	
	Число пациентов					
	91		136		227	
	N(+)/Абс	N(+)%	N(+)/Абс	N(+)%	N(+)/Абс	N(+)%
P53-	5/29	17,2	22/107	20,6	27/136	19,9
P53+	3/62	4,8	8/29	27,6*	11/91	12,1
p		0,065		0,283		
Всего	8/91	8,8	30/136	22,1*	38/227	16,7

*достоверные различия по сравнению с дифференцированным типом, p<0,05

С учетом гистологического типа по классификациям JGCA, в зависимости от степени дифференцировки максимальная частота экспрессии p53 была зарегистрирована при ВДАК в 81,0% случаев, минимальная при перстневидноклеточном раке в 9,9% случаев (Таблица 98).

Таблица 98 – Частота лимфогенного метастазирования в зависимости от гистотипа РРЖ по классификации JGCA и экспрессии p53

	Гистотип по классификации JGCA													
	TUB 1		TUB 2		POR 1		POR 2		ПАП		ПКР		Другие	
	Число пациентов													
	58		17		10		41		22		71		8	
	Абс	%	Абс	%	Абс	%	Абс	%	Абс	%	Абс	%	Абс	%
P53-	11	19,0	6	35,3	7	70,0	27	65,9	14	63,6	64	90,1	7	87,5
P53+	47	81,0	11	64,7	3	30,0*	14	34,1* [#]	8	36,4* [#]	7	9,9* ⁺	1	12,5* ⁺
*достоверные различия по сравнению с TUB 1, p<0,05; *p=0,0023, p=0,00001, p=0,0002, p=0,00001, p=0,0003														
+достоверные различия по сравнению с TUB 2, p<0,05 ; +p=0,032, p=0,00001, p=0,020														
#достоверные различия по сравнению с ПКР, p<0,05; #p=0,002, p=0,007														

При перстневидноклеточном раке в случаях с положительной экспрессией p53 метастазов выявлено не было. При TUB 2 с экспрессией p53 наблюдалась более высокая частота метастазирования, чем в случаях с отсутствием экспрессии (33,3% против 9,1%, p=0,272). При низкой степени дифференцировки в случаях ПАП и POR 2 наблюдалась обратная тенденция - в случаях с экспрессией p53 метастазы выявлялись чаще, чем в случаях с отсутствием экспрессии: 42,9% против 33,3% и 50,0% против 35,7%, соответственно (Таблица 99).

Таблица 99 – Частота метастазирования РРЖ в зависимости от экспрессии p53 при различных гистологических типах по классификации JGCA

	Гистотип по классификации JGCA													
	TUB 1		TUB 2		POR 1		POR 2		ПАП		ПКР		Другие	
	Число пациентов													
	58		17		10		41		22		71		8	
	N(+)/ Абс	N + %	N(+) /Абс	N(+)%	N(+) /Абс	N(+) %	N(+)/ Абс	N(+) %	N(+)/ Абс	N(+) %	N(+)/ Абс	N+ %	N+/ Абс	N+ %
P53-	0/11	-	2/6	33,3	1/7	14,3	9/27	33,3	5/14	35,7	9/64	14,1	1/7	14,3
P53+	0/47	-	1/11	9,1	0/3	-	6/14	42,9	4/8	50,0	0/7	-	0/1	-
p		-		0,272		0,70		0,395		0,415		0,37		0,87
N (+)	0/58	-	3/17	17,7	1/10	10,0	15/41	36,6	9/22	40,9	9/71	12,7	1/8	12,5

В заключении: отсутствие экспрессии p53 являлось фактором агрессивности РРЖ. С увеличением глубины инвазии количество случаев с ядерной экспрессией p53 достоверно снижалось (0,000001), экспрессия p53 достоверно чаще выявлялась в случаях с более благоприятным кишечным гистотипом по классификации Lauren P. 76,7% (по сравнению с желудочным 11,8%, $p = 0,00001$; смешанным 49,2%, $p = 0,0014$). При снижении дифференцировки опухоли (классификация JGCA) количество случаев экспрессией p53(+) снижалось. В общей группе больных РРЖ ($n=227$) зависимости частоты лимфогенного метастазирования РРЖ от наличия ядерной экспрессии p 53 выявлено не было. При внутрислизистом РРЖ p53(+) наблюдалась минимальная частота лимфогенного метастазирования - 3,1% (по сравнению с p53(-) - 12,7%, экспрессии, $p=0,041$). При кишечном иммунофенотипе p53(+) наблюдалась минимальная частота метастазирования с тенденцией к достоверности, при желудочном p53(+) – максимальная (с тенденцией к достоверности с кишечным $p=0,086$ и смешанным иммунофенотипами $p=0,088$). Однако частота лимфогенного метастазирования внутри каждого из вариантов муцинового фенотипа РРЖ не зависела от экспрессии p53. В случаях дифференцированного типа классификации Nakamura K. при p53(+) наблюдалась более низкая частота метастазирования, чем при отсутствии экспрессии (4,8% против 17,2% с тенденцией к достоверности $p=0,065$). При перстневидноклеточном раке (классификация JGCA) в случаях с ядерной экспрессией p53 метастазов выявлено не было, при отсутствии экспрессии метастазирование наблюдалось в 14,1% случаев. При TUB 2 отсутствие экспрессии p53 коррелировало более высокой частотой метастазирования - 33,3%, по сравнению с наличием ядерной экспрессии - 9,1%, однако данные не достигли статистической значимости вследствие малой выборки ($p=0,272$). Напротив, при низкой степени дифференцировки РРЖ (в случаях ПАП и POR 2) наблюдалась обратная тенденция - в группе случаев с наличием ядерной экспрессии p53 метастазы выявлялись чаще, чем в случаях с отсутствием экспрессии (ПАП - 42,9% против 33,3% и POR 2 - 50,0% против 35,7%, соответственно).

4.6 Стратификация риска и прогностическая модель оценки риска лимфогенного метастазирования РРЖ с применением иммуногистохимического метода исследования

Для 227 пациентов с ИГХ выполнен однофакторный анализ с целью выявления независимых прогностических факторов для выявления лимфогенного метастазирования (Таблица 100). Максимальное влияние на вероятность наличия метастатического процесса оказал вариант муцинового иммунофенотипа (ОШ-0,4440), этот параметр имеет наилучшее значение доверительного интервала.

Таблица 100 – Результаты однофакторной биномиальной логистической регрессии для показателей ИГХ (n=227)

	Оценка параметра	Стандартная ошибка	Хи-квадрат Вальда	Достигнутый уровень значимости	Отношение шансов	95% ДИ для отношения шансов	
						Нижняя	Верхняя
Муциновый фенотип	-0,822	0,107	59,387	0,0001	0,440	0,357	0,542
p53	-1,984	0,322	38,070	0,0001	0,138	0,073	0,258
Е-катгерин	-1,927	0,223	74,562	0,0001	0,146	0,094	0,225

С учетом полученных данных был проведен многофакторный логистический регрессионный анализ методом пошагового включения для факторов ИГХ и остальных значимых клиничко-морфологических параметров (n=227).

В результате была получена значимая математическая модель, R² Нэйджелкерка = 0,68. (Таблица 101).

Таблица 101 – Многофакторный логистический регрессионный анализ

	Оценка параметра	Стандартная ошибка	Хи-квадрат Вальда	Достигнутый уровень значимости	Отношение шансов	95% ДИ для отношения шансов	
						Нижняя	Верхняя
Лимфо-вазкулярная инвазия	2,309	0,509	20,581	0,000	10,059	3,710	27,272
Фиброз/изъязвление	1,362	0,453	9,036	0,003	3,903	1,606	9,486
Классификация Lauren P.	-0,583	0,221	6,934	0,008	0,558	0,362	0,862
Муциновый фенотип	-0,391	0,200	3,844	0,050	0,676	0,457	1,000
Катгерин мембран А	-1,700	0,391	18,930	0,000	0,183	0,085	0,393

Выделены пять независимых факторов риска, для которых получены коэффициенты, отражающие величину вклада в прогноз лимфогенного метастазирования, которые были использованы для вычисления индекса лимфогенного метастазирования. При расчетах были учтены градации независимых признаков: наличие лимфо-вазкулярной инвазии = 0/1; наличие изъязвления и фиброза = 0/1; гистологический тип по классификации Lauren P.= 1/2/3; муциновый фенотип =0/1/2/3, Е-катгерин=0/1.

В результате получена формула для вычисления индекса метастазирования:

ИМ = 2,309*Лимфо-вазкулярная инвазия + 1,362*Фиброз+Изъязвление -0,583*Гистотип по классификации Lauren P.-0,391*Муциновый фенотип-1,7*Е-катгерин.

Для определения критической точки индекса лимфогенного метастазирования нами построена ROC-кривая (Рисунок 25). Площадь под кривой равна 0,829 ($p=0,0001$, 95% CI = 0,755-0,904).

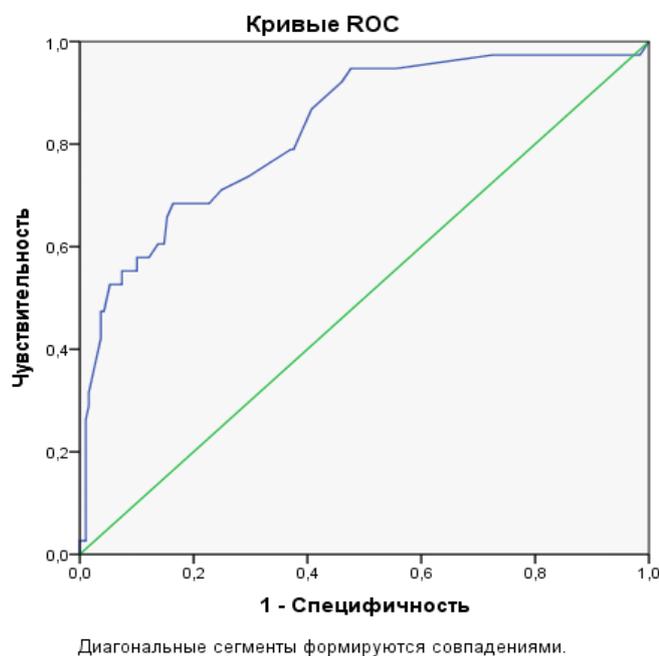


Рисунок 25 – ROC-кривая для определения лимфогенного метастазирования РРЖ

По ROC-кривой была определена точка отсечения между случаями РРЖ с метастатическим процессом и без метастатического процесса, равной $-2,2$, в которой наблюдается оптимальное соотношение чувствительности и специфичности (84,2% и 60,0%, соответственно). При значении индекса метастазирования выше $-2,2$ частота метастазирования составила 33/110(30,0%), при значении $-2,2$ и менее – 5/117(4,3%; $p=0,00001$). При выборе критической точки $-2,2$ чувствительность, специфичность, точность, положительное прогностическое значение и отрицательное прогностическое значение прогнозирования наличия лимфогенного метастазирования составила 86,8%, 59,3%, 63,9%, 30,0% и 95,7%, соответственно. Таким образом, значение индекса выше $-2,2$ свидетельствует о высокой вероятности наличия метастазов в лимфатических узлах (Таблица 102).

Таблица 102 – Истинность предсказания моделью вероятности лимфогенного метастазирования в группах низкого и высокого риска

	Группа низкого риска		Группа высокого риска		Общее количество	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
Число пациентов	117		110		227	
Истинно-положительные	0	0	33	30,0	33	14,5
Истинно-отрицательные	112	95,7	0	0,0	112	49,3
Ложно-отрицательные	5	4,3	0	0	5	2,2
Ложно-положительные	0	0,0	77	70,0	77	33,9

В группе 117 больных, отнесенных моделью к группе с низким риском регионарного метастазирования, метастазирование было не диагностировано в 4,3% случаев (5/117) или 2,2% от общего числа случаев РРЖ (5/227), гипердиагностики метастатического процесса (ложно-положительных случаев) не отмечено.

В группе с высоким риском частота диагностированного метастазирования составила 30% (33/110) или 14,5% (33/227) от общего количества случаев, ложно-отрицательных случаев не выявлено.

Количество ложно-положительных случаев составило 70% (77/110) или 33,9% (77/227) от общего количества случаев. Таким образом, математическая модель не диагностировала метастатический процесс у 5 больных РРЖ (2,2%, 5/227) и оставила их без должного лечения (1 случай РРЖ соответствует 3 расширенному критерию JGCA, 4 случая – вне критериев JGCA). 77 случаев РРЖ без метастатического процесса математическая модель включила в группу высокого риска (33,9%, 77/227) и предложила излишнюю гастректомию (Таблица 103).

Таблица 103 – Общая характеристика типов лечения РРЖ с учетом иммуногистохимических факторов прогноза

	ЭЛ	%	Недиагностированные случаи N(+)	%	Количество проведенных гастректомий	%	Количество гастректомий без метатазов	%
n=227/100 %	117	49,3	5	2,2	77	33,9	33	14,5

В итоге: в общей группе больных предложенная нами модель не выявила 2,7% метастатического процесса, в то время как система показаний Японской ассоциации не выявила 0,8%. Однако, наша модель, при минимальном превышении риска метастазирования обладает более органосохраняющим потенциалом, она предложения менее 10% излишних расширенных операций, в то время как система показаний Японской ассоциации предложила излишнюю операцию практически в половине случаев.

В пределах расширенных показаний JGCA предложенная нами модель имеет преимущество в определении риска метастазирования. Не выявление метастатического процесса системой JGCA составило 2,4%, а в предложенной нами модели – 0,8%.

При сравнении эффективности способов определения риска лимфогенного метастазирования РРЖ, математическая модель с включением иммуногистохимических факторов не диагностировала метастатический процесс в 2,2% случаев, это более лучший результат по сравнению с математической моделью, основанной только на морфологических характеристиках РРЖ (Таблица 104).

Таблица 104 - Сравнение эффективности способов определения риска лимфогенного метастазирования РРЖ

n=100%	ЭЛ	ЭЛ %	Не диагностированные N(+) %	Предложено расширенных операций %	Излишняя расширенная операция %
Морфологическая модель n=404	324	80,2%	2,7%	19,8%	9,2%
ИГХ модель n=227	117	49,3%	2,2%	48,8%	14,5%
Показания JGCA n=404	175	43,3%	0,8%	56,6%	44,1%
Расширенные показания JGCA n=125	125	100%	2,4%	0%	0%
Расширенные показания JGCA Морфологическая модель n=122	122	97,6%	0,8%	0%	0%

ГЛАВА 5. ОБСУЖДЕНИЕ

Идеальная прогностическая модель, на базе которой формируются рекомендации для определения стратегии лечения РРЖ, должна быть информационно емкой, простой в использовании, а также максимально чувствительной и индивидуальной для каждого конкретного вновь выявленного случая РРЖ. Одна из самых известных нормативных систем прогнозирования риска лимфогенного метастазирования, предложенная JGCA, разработана на анализе крупных баз данных больных РРЖ стран Западно-Азиатского региона, включавших более 5 тыс. случаев [13,57,59]. Несмотря на то, что система, предложенная JGCA, используется в мировой практике уже более двух десятилетий, ее безопасность до сих пор широко обсуждается [109, 110] [89,102]. 111,112,115]. Диверсификация мнений возможно связана с тем, что показания к ЭЛ JGCA основаны на ограниченном количестве морфологических признаков опухоли (размер, глубина инвазии, наличие изъязвления, гистологический тип, лимфоваскулярная инвазия), а частота лимфогенного метастазирования и прогноз РРЖ варьирует в зависимости от индивидуальных клинических и морфологических характеристик. Фактически другие клиничко-патологические параметры, такие как пол, возраст, гистологический тип опухоли, не используются системой JGCA [13], и прогностические различия в случаях, формально соответствующих параметрам системы показаний JGCA, могут быть вызваны этими игнорируемыми, но значимыми клиническими, морфологическими и иммуногистохимическими характеристиками РРЖ, которые могут в некоторой степени влиять на окончательный расчет риска лимфогенного метастазирования. Следовательно, необходима более совершенная система отбора больных для ЭЛ, учитывающая как можно большее количество значимых для риска метастазирования прогностических характеристик РРЖ.

Для поиска дополнительных клинических и морфологических параметров РРЖ, влияющих на лимфогенное метастазирования РРЖ, нами был проведен ретроспективный анализ операционного материала 404 случаев РРЖ. В нашем исследовании средний **возраст** больных при выявлении РРЖ не различался у мужчин и женщин и составил $57,6 \pm 11,5$ года. В большинстве случаев РРЖ диагностировался в группе больных 50-69 лет, что соответствует литературным данным. В некоторых исследованиях отмечается, что женский **пол** является прогностическим фактором риска развития регионарного метастазирования [40,41,42]. В нашем исследовании также практически во всех возрастных группах больных РРЖ женского пола наблюдалась более высокая частота метастазирования.

В группе больных до 40 лет женщин было в два раза больше чем мужчин (Ж:М - 66,7%/33,3% - 2:1), и частота метастазирования в этой группе больных была в два раза выше

(18,2%/9,1%), однако данные не достигли статистической значимости вследствие малой выборки.

Для измерения **глубины инвазии** в нашем исследовании были использованы два способа измерения – метод Kim J. Y и соавтр [60] и классический метод JGCA/ Gotoda T. [13,59], однако способ измерения глубины инвазии не влиял на частоту лимфогенного метастазирования ($p=0,653$), поэтому для дальнейшего исследования был выбран классический метод JGCA. Дифференцировка глубины инвазии РРЖ в пределах слизистой оболочки не выявила закономерностей лимфогенного метастазирования вследствие малой выборки. При подразделении глубины инвазии на слизистую (M) и подслизистую инвазию (SM) в соответствии с восьмым изданием AJCC [176] по нашим данным частота метастазирования увеличивалась с 6,4% при внутрислизистой локализации, до 26,8% ($p=0,0001$), что согласуется с литературными данными (M – N(+) от 0 до 4-7%, SM – N(+) от 11 до 32%) [3,4,5,6,7,8]. При исследовании глубины инвазии РРЖ согласно критериям JGCA (M- внутрислизистый; SM1 до 0,5мм; SM2 – более 0,5мм) наблюдалось достоверное увеличение частоты лимфогенного метастазирования (M – 6,4%; SM1 – 13,6%, * 0,00001; SM2 – 45,6%, *+ 0,00001; Таблица 9). Инвазия SM2 являлась самым прогностически неблагоприятным фактором лимфогенного метастазирования - практически в половине случаев РРЖ наблюдались метастазы в лимфатических узлах (45,6%). При более детальном исследовании глубины инвазии РРЖ в мкм частота метастазирования при внутрислизитом РРЖ и РРЖ с подслизистой инвазией до 0,1 мм (100 мкм) не различалась (6,4% и 5,0% , соответственно), что говорит о том, что частота лимфогенного метастазирования РРЖ зависит не только от глубины инвазии, но и других прогностических факторов. В нашем исследовании, при увеличении глубины инвазии до 300мкм и до 500мкм частота лимфогенного метастазирования не изменялась и составила 17,6% и 14,8% , соответственно. При увеличении глубины инвазии более 500мкм частота метастазирования увеличилась до 45,6%. Данные достоверны по отношению ко всем градациям глубины инвазии и, что особенно важно, при глубине инвазии до 500мкм ($p=0,0048$). Это соответствует данным JGCA [13], предлагающим «отсечку» глубины инвазии в 500мкм в качестве одного из факторов расширенного показания для ЭЛ РРЖ. В другом исследовании Yasuda K и соавт. предложили ЭЛ при глубине инвазии до 300мкм (и при размере опухоли менее 3см), так как при этом значении глубины инвазии метастазирование отсутствовало. При глубине инвазии 300-1000мкм частота метастазирования увеличивалась до 19%, и авторы рекомендовали при глубине инвазии более 300 мкм, гастрэктомию с желудка с D2 лимфодиссекцией [58].

В нашем исследовании **размер** РРЖ коррелировал с глубиной инвазии. При размере опухоли до 2 см количество случаев с внутрислизистой локализацией РРЖ по сравнению со

случаями с подслизистой инвазией было максимальным и составило 47,0% по сравнению с 32,1% при SM1 и 36,8% при SM2. При размерах опухоли более 3 см преобладали случаи с SM2 глубиной инвазии 40,4% (M-30,1%, SM1-38,3%). С увеличением **размера** РРЖ, частота лимфогенного метастазирования закономерно повышается. Очевидно, что с увеличением размера опухоли, увеличивается площадь контакта опухолевых клеток с лимфатической системой и, следовательно, повышается риск лимфатической инвазии [94]. В нашем исследовании размер опухоли также являлся независимым фактором лимфогенного метастазирования. При увеличении максимального размера опухоли на 1 см частота метастазирования увеличивалась вдвое (1-2 см -7,0%, 2,01-3 см - 13,3% * $p=0,0001$; более 3 см – 31,7%, * $p=0,0052$). Это коррелирует с данными других исследований [56,66].

Хотя **макроскопический тип** не является прямым отражением глубины инвазии и изъязвления РРЖ [13] в ходе нашего исследования было выявлено, что с увеличением глубины инвазии увеличивалось количество случаев 0III макроскопического типа (M - 10,2%, SM1 - 14,8% $p=0,009$, SM2 - 43,9% $p=0,019$), а количество случаев 0 I макроскопического типа снижалось (M - 28,9%, SM1 – 17,3%, $p=0,023$; SM2 – 14,0%, $p=0,013$). Также в нашем исследовании **макроскопический тип** являлся одним из самых важных прогностических факторов лимфогенного метастазирования - частота метастазирования при 0III макроскопическом типе была достоверно выше – 53,1%, чем при других типах (0I – 9,1%, $p=0,00001$; 0II – в среднем 5,7%, $p=0,00001$). Частота метастазирования при макроскопическом типе 0 I была несколько выше, чем при каждом из субтипов 0 II. По литературным данным, глубина инвазии РРЖ влияет на частоту метастазирования при различных макроскопических типах [42,67,68,69,70]. В нашем исследовании анализ частоты лимфогенного метастазирования при внутрислизистом РРЖ (абсолютные показания JGCA) показал, что при 0I и 0II макроскопическом типах частота лимфогенного метастазирования была достоверно ниже, чем при 0III макроскопическом типе (1,3% ($p=0,00001$), 1,9% ($p=0,00001$) и 48,2% , соответственно). В случаях с подслизистой инвазией SM1 макроскопический тип РРЖ также влиял на частоту метастазирования - при 0II макроскопическом типе частота метастазирования была достоверно ниже, чем при 0III типе (5,5% против 41,7%. $p=0,0034$). Частота метастазирования при 0I типе подслизистого РРЖ была достаточно высокой – 21,4%, однако, это согласуется с данными других исследований (25,3% для I типа и 17,3% для III типа) [67]. Возможно, это связано с большей долей папиллярных карцином, которые как правило имеют более агрессивный биологический потенциал. [88]. По полученным нами данным, частота лимфогенного метастазирования при глубине инвазии SM2 не зависела от макроскопического типа опухоли (0I – 62,5%, 0II – 20,8% и 0III – 64,0%), что доказывает, что при данной глубине инвазии

необходимо производить расширенную операцию независимо от макроскопического типа РРЖ [69,100].

Изъязвление и перитуморальный фиброз опухоли – важный прогностический фактор лимфогенного метастазирования РРЖ [57]. С учетом дискуссий по поводу термина «Изъязвление» (см. Глава 1. Литобзор, стр. 8) было принято решение исследовать варианты сочетаний: 1. поверхностного изъязвления без сопутствующего перитуморального фиброза, 2. фиброза и изъязвления, 3. перитуморального фиброза с эпителизацией поверхности изъязвления. Глубина изъязвления исследователями уточняется нечасто [42,72,73,74]. В анализ были включены как случаи поверхностного изъязвления, так и случаи изъязвления, пенетрирующего в подслизистый слой, так как на современном этапе техника эндоскопической хирургии позволяет удалять опухоль с диссекцией подслизистого слоя, однако, случаи пенетрации изъязвления в подслизистый слой более 0,5 мм или пенетрации изъязвления в мышечный слой были исключены из исследования. Зависимости лимфогенного метастазирования РРЖ от вариантов сочетаний изъязвления и перитуморального фиброза выявлено не было, поэтому было принято решение включить в термин «Изъязвление» все сочетания поверхностного изъязвления и перитуморального фиброза, а также отдельно присутствующие признаки. В большей части исследований изъязвление существенным образом влияет на лимфогенное метастазирование РРЖ. В нашем исследовании при внутрислизистом РРЖ изъязвление достоверно увеличивало частоту лимфогенного метастазирования, а при инвазии SM1 наличие изъязвления не влияло на частоту метастазирования ни в общей группе SM1, ни при дифференцированном SM1 РРЖ, что еще раз доказывает обоснованность решения не включать статус изъязвления в четвертое расширенное показание JGCA. Также, в нашем исследовании при внутрислизистом РРЖ размером до 2 см, изъязвление, независимо от его выраженности, не влияло на частоту метастазирования, что говорит о том, что при этом размере опухоли прогноз частоты лимфогенного метастазирования зависит от других морфологических и клинических параметров РРЖ. Напротив, при размерах внутрислизистого РРЖ 2,01-3 см и более, наличие изъязвления достоверно увеличивало частоту метастазирования (27,8%, $p=0,0014$, 37,5%, $p=0,0001$, соответственно). При таких неблагоприятных гистологических типах как перстневидноклеточный рак и низкодифф. АК наличие изъязвления было достоверно связано с более высокой частотой лимфогенного метастазирования (25,8% и 0% $p=0,00001$ и 38,2% и 16,2%, $p=0,0068$, соответственно).

В настоящее время **прогностическое значение большинства гистологических классификаций РЖ** считается спорным, так как ни одна из гистологических классификаций в полной мере не отражает риск лимфогенного метастазирования РРЖ. **Классификация Lauren Р.** при распространенном РЖ классификация имеет прогностическую значимость и диффузный

тип оценивается как более прогностически неблагоприятный тип. [50]. Тем не менее, исследований, касающихся прогностического значения классификации при РРЖ немного [54,86,87]. В нашем исследовании без дополнительных факторов метастазирования РРЖ классификация не показала прогностической значимости. Так, в общей группе случаев РРЖ (n=404) с увеличением глубины инвазии увеличивалось количество случаев со смешанным гистологическим типом SM2 - 21,1%, по сравнению с М – 9,8% $p=0,019$ и SM1 – 4,9% $p=0,004$. Частота встречаемости других гистотипов не зависела от глубины инвазии РРЖ. В общей группе (n=404) максимальная частота метастазирования наблюдалась при смешанном РРЖ - 21,4%, но данные не достигли статистической значимости. Однако, при включении в анализ дополнительных параметров РРЖ выявлено, что в группе внутрислизистых РРЖ смешанного типа частота метастазирования была достоверно выше (15,4%), по сравнению с кишечным типом (4,2%, $p=0,0477$), что согласуется с данными литературы [86]. Этот факт свидетельствует о том, что смешанный тип связан с лимфогенным метастазированием даже после корректировки глубины инвазии или размера опухоли [86]. Так, в группе случаев РРЖ с размером опухоли до 2 см частота метастазирования при смешанном типе была также достоверно выше - 26,7% (по сравнению с кишечным – 6,2% $p=0,0276$ и диффузным – 3,3% $p=0,0129$), однако, при дальнейшем увеличении размера опухоли частота лимфогенного метастазирования не зависела от гистотипа по классификации Lauren P. Сообщается о том, что кишечный тип являлся прогностическим фактором низкой частоты метастазирования РРЖ. [54], однако, в нашем исследовании в общей группе случаев РРЖ (n=404) диффузный тип имел самую низкую частоту метастазирования 10,4% (по сравнению с кишечным – 13,8% и смешанным – 21,4%) хотя данные не достигли статистической значимости. В отличие от других авторов [74] диффузный РРЖ (глубина инвазии SM) также показал достоверно более низкую частоту метастазирования - 16,7% (по сравнению с кишечным 32,4%, $p=0,0406$). При размере опухоли до 2 см диффузный тип наряду с кишечным имел достоверно низкую частоту метастазирования (6,2%. $P=0,0276$ и 3,3%, $p=0,0129$, соответственно) что согласуется с данными [177]. При этом частота метастазирования при внутрислизистом РРЖ при кишечном типе составила 4,2%, при диффузном – 7,3%, что согласуется с данными других исследований. [52].

Гистологические классификации JCGA. Минимальная частота лимфогенного метастазирования наблюдалась при TUB1 - 0,9%. При снижении дифференцировки аденокарциномы частота метастазирования РРЖ увеличивалась: TUB 2- 15,2% ($*p=0,0023$), POR 2 – 26,4% ($*p=0,00001$). При ПКР определялась более низкая частота метастазирования - 12,9%, чем при TUB2- 15,2%, POR2 (26,4%, $+p=0,014$) и ПАП (32,3%, $+p=0,013$). При ПАП наблюдалась самая высокая частота метастазирования (32,3%, $*p=0,00001$, $+ p=0,014$).

Некоторые исследования сообщают, что перстневидноклеточный рак показал аналогичную или более низкую частоту лимфогенного метастазирования и лучший прогноз, чем низкодифференцированная аденокарцинома [11,12].

Гистологические классификации ВОЗ. Гистотип карциномы возможно определить при исследовании биопсийного материала, что делает гистологические классификации значимыми для предоперационной диагностики. Анализ показал, что с увеличением глубины инвазии РРЖ количество случаев ВДАК уменьшалось (M-35,0%; SM1-19,8% $p=0,0061$; SM2-7,0% $p=0,00001$), а количество случаев НДАК возрастало (M-15,8%; SM2-36,8%). Количество случаев ПАП с увеличением глубины инвазии возрастало более чем в два раза (M-5,6%; SM2-14,0%), а количество случаев ДК уменьшалось (M-34,6%, SM1-34,6%, *SM2-21,1%, * $p=0.031$). Минимальная частота лимфогенного метастазирования наблюдалась при ВДАК (0,9%). При снижении степени дифференцировки частота метастазирования увеличивалась: УДАК - 15,2%, $p=0,0023$; низкодифф. несолидная АК - 26,4%, $p=0,00001$, что также подтверждается данными литературы. [88].

Классификация Nakamura K. [82] В нашем исследовании глубина инвазии является неблагоприятным прогностическим признаком для гистологических типов по классификации **Nakamura K.** - с увеличением глубины инвазии количество случаев дифференцированного типа достоверно уменьшалось (SM2-15,8%, по сравнению с M-46,2%, $p=0,00001$; SM1-43,2%, $p=0,0005$). Недифференцированный тип показал достоверно более высокий риск лимфогенного метастазирования, чем дифференцированный (6,6% против 18,1%, $p=0,00045$), что согласуется с литературными данными [90]. При внутрислизистом РРЖ (показания JGCA) частота метастазирования при дифференцированном типе составила 2,4%, при недифференцированном - 9,8%, что несколько ниже других опубликованных данных (6,5% и 13,6% , соответственно) [91]. Также наше исследование показало, что при недифференцированном РРЖ возраст больного более 60 лет явился прогностическим фактором риска метастазирования с тенденцией к достоверности.

Лимфатическая и кровеносная инвазия является важным фактором риска лимфогенного метастазирования и соответствует неблагоприятному прогнозу. (16, 73). С учетом рекомендаций мы объединили случаи венозной и лимфатической инвазии в общий термин «лимфоваскулярная» инвазия. В нашем исследовании лимфоваскулярная инвазия является независимым прогностическим фактором лимфогенного метастазирования РРЖ. При увеличении глубины инвазии РРЖ количество случаев лимфоваскулярной инвазии увеличивалось с 1,5% при внутрислизистом РРЖ, до 21% при SM1 и 29,8% при SM2 глубине инвазии ($p=0,00001$). Частота лимфогенного метастазирования достоверно зависела от наличия

лимфоваскулярной инвазии (отсутствие - 8,5%, против наличия - 60,5%, $p=0,00001$), что согласуется с литературными данными.

Изученные демографические и морфологические характеристики РРЖ влияют на риск лимфогенного метастазирования. Для определения стратегии лечения РРЖ (эндоскопическая резекция или гастрэктомия с D1-2 лимфодиссекцией) значимые прогностические факторы метастазирования используются для многофакторного анализа и построения прогностической модели (уравнения регрессии). В мире используются системы расчета риска метастазирования и прогноза РЖ, начиная с 1985 года, когда была предложена первая математическая модель, которая была апробирована при других исследованиях и признана высоко значимой [6,7,8,9]. Однако, несмотря на достигнутые успехи в расчете риска лимфогенного метастазирования, предложенные прогностические системы отбора больных РРЖ на ЭЛ, активно обсуждаются в мировой литературе и нуждаются в дальнейшей проработке. Количественных моделей прогнозирования риска лимфогенного метастазирования РРЖ, при использовании которых у клиницистов есть возможность соотнести преимущества и риски вариантов лечения для каждого конкретного больного, по-прежнему немного. Практически все прогностические модели разработаны на основании анализа корреляций различных демографических и морфологических факторов, изученных на популяциях стран Азиатского региона [102] и достоверность риска лимфогенного метастазирования при применении показаний JGCA остается спорной. В нашем исследовании при применении к общей группе больных РРЖ ($n=404$) показаний JGCA, при соответствии абсолютным показаниям (дифференцированные внутрислизистые карциномы, без поверхностного изъязвления диаметром менее 2 см, $n=50$; 12,5%) метастазов выявлено не было, а 15-летняя опухоль-специфическая выживаемость составила 98% (1 случай локо-регионального рецидива и смерть от отдаленных метастазов). Аналогичные данные получили Choi IJ, Lee JH [182]. При соответствии характеристик РРЖ расширенным показаниям JGCA ($n=158$; 30,9%) лимфогенное метастазирование наблюдалось в 2,4% случаев. В 56,5% (229/404) случаях морфологические характеристики РРЖ не соответствовали ни одному из показаний JGCA (превышали расширенные критерии JGCA), метастатический процесс был выявлен в 22,3% случаев (51/229). При детальном анализе метастазирования в соответствии с расширенными показаниями в нашем исследовании метастатический процесс был диагностирован в трех случаях (3/125; 2,4%) – в двух случаях РРЖ, соответствующих второму расширенному показанию (2/15; 11,8%) и одном случае (1/43; 2,3%), соответствующем третьему расширенному показанию JGCA. В нашем исследовании при соответствии **первому показанию** JGCA ($n=51$; внутрислизистая карцинома, дифференцированный тип, без изъязвления, более 2 см в диаметре) метастазов выявлено не было, опухоль-специфическая 15-летняя выживаемость составила 95,6%. Аналогичные данные

получили в мета-анализе Abdelfatah, M. и соавт. [102]; при соответствии первому показанию JGCA наблюдалась незначительная частота метастазирования (0,57%, 16/2814, $p = 0,02$). В нашем исследовании при сравнении частоты лимфогенного метастазирования при соответствии **второму** показанию JGCA (2/15; 11,8%; внутрислизистая карцинома, дифференцированный тип, с изъязвлением, менее 3 см в диаметре) с риском метастазирования при соответствии абсолютным показаниям, было выявлено, что относительное повышение риска составило 1,133 (0,953; 1,348), определялась тенденция ($p = 0,062$), а изъязвление являлось самым неблагоприятным прогностическим признаком лимфогенного метастазирования. Опухоль-специфическая 15-летняя выживаемость также составила 95,6%. В противоположность нашему исследованию, в мета-анализе Abdelfatah M. при соответствии второму показанию JGCA наблюдалась незначительная частота метастазирования (0,27%. 8/3004, $p=0.37$). Авторы также сочли второй расширенный критерий безопасным и не отметили параметров, ухудшающих прогноз. В исследовании Kim J.Y. и соавт. [60] при соответствии второму расширенному критерию риск метастазирования составил 1,87% (95%; DI 0,23-6,59%) При соответствии **третьему** расширенному показанию JGCA (внутрислизистая карцинома, недифференцированный тип, без изъязвления, менее 2 см в диаметре) в нашем исследовании частота метастазирования составила 2,3% (1/44), а относительное повышение риска по сравнению с риском при соответствии абсолютным показаниям JGCA - 1,023 (0,976; 1,07048; $p = 0,468$). Опухоль-специфическая 15-летняя выживаемость составила 95,6%. По данным Abdelfatah M. и соавт., в случаях соответствия третьему показанию JGCA напротив, наблюдался значительно более высокий риск лимфогенного метастазирования (2,6%; 25/972; $p = 0,004$) [102]. Тем не менее, Hirasawa T. и соавт. в рамках 3 расширенного показания JGCA метастазов не выявили [178], в то время как исследование Gotoda и соавт. показало риск 2,6% [57]. При соответствии **четвертому** расширенному показанию JGCA (карцинома с инвазией в подслизистый слой), дифференцированный тип, менее 3 см, глубина инвазии менее 500 мкм) в нашем исследовании метастатического процесса выявлено не было ($n=13$), а 15-летняя выживаемость составила 100%. По данным Abdelfatah M. В пределах этого критерия наблюдалась высокая частота лимфогенного метастазирования - 2,5% (8/315, $p=0,004$) [102].

Наше исследование показывает, что абсолютные показания безопасны для использования. В этой группе больных при нашем исследовании метастазов выявлено не было, а 10 и 15 летняя выживаемость без прогрессирования в этой группе больных в условиях гастрэктомии с D-1 лимфодиссекцией составила 98,0%. Соответствие расширенным показаниям имеет низкий риск лимфогенного метастазирования, и в целом безопасно для применения. При соответствии расширенным показаниям недиагностированный метастатический процесс на нашем материале составил 2,4% (3/125), с учётом общей группы больных 0,8% (3/404). Также

было выявлено что, если случай РРЖ относится к любому из показаний JGCA, это улучшает его общую (НР 0,724) и опухоль-специфическую (НР 0,223) выживаемость. Опухоль-специфическая 15-летняя выживаемость (в условиях гастрэктомии с D1-2 лимфодиссекцией) в группах больных РРЖ, соответствующих первым трем расширенным показаниям составляла в среднем 95,6%. Основной причиной смерти являлись локорегионарные рецидивы с последующей генерализацией опухолевого процесса и только в 6 случаях генерализация началась с отдаленных метастазов. В группе больных, соответствующих 4 расширенному критерию (подслизистая инвазия при опухоли до 3см) 15 летняя выживаемость составила 100%. Недавно опубликованное исследование Клинической Онкологической группы (JCOG0607) также показало, что расширение показаний JGCA до карцином дифференцированного типа размером >2 см и изъязвленных дифференцированных карцином <3 см является безопасным и эффективным, учитывая 5-летнюю общую выживаемость 97,0% [10]. Ряд мета-анализов со сравнением долгосрочных результатов ЭЛ в соответствии с абсолютными и расширенными показаниями, и при радикальной хирургической операции РРЖ, также подтверждают полученные нами данные о том, что ЭЛ РРЖ с учетом расширенных показаний в целом безопасна [11,12,18]. С учетом полученных нами данных, а также данных других исследований, мы считаем, что абсолютные и расширенные показания JGCA применимы в практике. Применение расширенных показаний может быть оправдано с минимальным превышением риска лимфогенного метастазирования и должно быть сбалансировано с учетом возможных послеоперационных осложнений и риском от расширенной операции. При наличии изъязвления рекомендуется с осторожностью выбирать ЭЛ как способ радикального лечения РРЖ. Мы считаем, что наличие минимального риска метастазирования при соответствии расширенным показаниям JGCA (2,4%; 3/125), а также высокий процент случаев гипердиагностики метастатического процесса (22,3%; 51/229) обусловлены тем, что фактически, другие клинико-патологические параметры, такие как пол, возраст, размер опухоли, дифференцировка опухоли, не используются системой JGCA, и прогностические различия в случаях, соответствующих параметрам системы JGCA могут быть вызваны этими игнорируемыми, но значимыми характеристиками опухоли, которые могут в некоторой степени влиять на окончательный риск лимфогенного метастазирования. Следовательно, необходима более совершенная система отбора больных на ЭЛ, учитывающая как можно больше значимых прогностических характеристик РРЖ для планирования индивидуальной стратегии лечения. Одним из главных условий эффективности любой системы отбора случаев РРЖ для ЭЛ является выявление всех случаев метастазирования, так как последствия пропуска прогрессирования РРЖ гораздо драматичнее, чем гипердиагностика и излишняя операция. С другой стороны, важным условием является минимизация расширенных операций для сохранения качества жизни, снижения

послеоперационной летальности, а также стоимости лечения. Для более точной оценки риска лимфогенного метастазирования и учета как можно большего количества параметров РРЖ, влияющих на прогноз заболевания, нами была разработана математическая модель расчета индивидуального риска лимфогенного метастазирования РРЖ. Для большей точности и эффективности работы математической прогностической модели, мы включили большое количество факторов метастазирования. Мы оценили достоверность влияния на частоту лимфогенного метастазирования РРЖ пола и возраста больных, размера и глубины инвазии опухоли, наличия ПМЗО, наличия изъязвления и перитуморального фиброза, гистологического типа по классификации ВОЗ, JGCA, Nakamura K., классификации Laugen P., макроскопического типа опухоли, наличия лимфо-васкулярной инвазии. На основе обучающей и тестирующей выборки ($n=269$; $n=135$) был проведен однофакторный и многофакторный анализ всех изученных клинических и морфологических факторов лимфогенного метастазирования РРЖ ($n=404$). Для построения прогностической модели индивидуального расчета риска лимфогенного метастазирования РРЖ наряду с использованными в системе JGCA клинико-морфологическими параметрами, мы включили в однофакторный анализ факторы, имеющие высокий уровень значимости для лимфогенного метастазирования - размер опухоли ($p=0,0001$), глубина инвазии по слоям ($p=0,0001$) и в мкм ($p=0,003$), наличие изъязвления и перитуморального фиброза ($p=0,0001$), гистологический тип по классификации ВОЗ, JGCA, Nakamura K. ($p=0,0001$), макроскопический тип ($0,0001$), наличие лимфо-васкулярной инвазии ($p=0,056$). С учетом полученных данных был проведен многофакторный логистический регрессионный анализ методом пошагового исключения для больных обучающей выборки ($n=269$). В результате была получена значимая математическая модель, R^2 Нэйджелкерка = 0,83. Процент корректно предсказанных данных составил 92,2 %. Многофакторный логистический анализ продемонстрировал, что в нашем исследовании ($n=404$) размер и глубина инвазии опухоли в мкм, наличие изъязвления и перитуморального фиброза, лимфо-васкулярная инвазия были независимыми факторами риска лимфогенного метастазирования РРЖ. Кроме того, макроскопический тип и гистологическая дифференцировка опухоли по классификациям JGCA, Nakamura K. также коррелировали с лимфогенным метастазированием. При расчетах были учтены градации независимых признаков и выведена формула для вычисления индекса метастазирования. Для определения дифференциального значения индекса лимфогенного метастазирования в обучающей выборке нами построена ROC-кривая с хорошей прогностической дискриминационной площадью под ROC-кривой, равной 0,925 ($p=0,0001$, 95% CI = 0,883-0,966). При этом, построенная нами ROC-кривая для обучающей выборки превышает площадь каждого из восьми прогностических факторов и прогнозирует риск метастазирования лучше, чем каждый из восьми прогностических факторов отдельно. В настоящем исследовании

метастазы в регионарных лимфатических узлах были выявлены у 54 (13,4%) больных РРЖ. В группе 324 больных, отнесенных моделью к группе с низким риском регионарного метастазирования, метастазирование было не диагностировано в 3,4% случаев (11/324), гипердиагностики метастатического процесса (ложноположительных случаев) не выявлялось. В группе с высоким риском частота диагностированного метастазирования составила 53,8% (43/80), соответственно ($p=0,00001$), ложно-отрицательных случаев не выявлено. Количество ложно-положительных случаев составило 46,3% (37/80). В итоге, математическая модель не диагностировала метастатический процесс у 11 больных РРЖ, включила их в группу низкого риска метастазирования (2,7%, 11/404) и оставила без должного лечения, а 37 больных без метастатического процесса математическая модель включила в группу высокого риска (9,2%, 37/404) и предложила излишнюю гастрэктомию.

Для понимания отдаленных результатов эффективности, предложенной нами математической модели (в условиях гастрэктомии с D1-D2 лимфодиссекцией), а также для понимания продолжительности жизни и отсутствия прогрессирования вследствие отдаленных метастазов были исследованы показатели смертности в группах низкого и высокого риска за весь период наблюдения (медиана наблюдения составила 131,7 месяца). Смертность от прогрессирования РРЖ была достоверно выше в группе высокого риска ($p=0,00001$).

При сравнении эффективности предложенной нами математической модели и эффективности системы JGCA группа случаев РРЖ, соответствующего абсолютным критериям JGCA вошла в группу низкого риска (математическая модель), метастатического процесса и случаев гипердиагностики метастазирования не выявлено – модели работали синхронно. Однако, при сравнении эффективности систем прогнозирования, при соответствии расширенным показаниям JGCA наша модель имеет преимущество перед стандартно используемой системой JGCA. В 3 из 125 случаев РРЖ (2,4%), соответствующего расширенным показаниям, система JGCA не предположила метастатический процесс и предложила эндоскопическую резекцию. Из 125 случаев, соответствующих расширенным критериям JGCA, 122 случая РРЖ наша прогностическая модель отнесла в группу низкого риска и предложила ЭЛ. В группе низкого риска наша модель не диагностировала только один случай лимфогенного метастазирования (0,8%). Можно утверждать, что в пределах расширенных показаний JGCA, наша модель имеет преимущество (0,8%; 1/122) перед системой JGCA (2,4%; 3/125). В рамках расширенных показаний JGCA, гипердиагностика метастатического процесса (ложноположительный случай) при работе, предложенной нами модели произошла только в 1 случае (случай попал в группу высокого риска – 0,82%).

Также при работе нашей системы были выявлены случаи с высоким индивидуальным риском метастазирования, которым система JGCA предложила ЭЛ. Таким образом, по

сравнению с эффективностью системы JGCA, предложенная нами система прогнозирования риска лимфогенного метастазирования, при минимальном пропуске случаев метастазирования обладает более органосохраняющим потенциалом. При более высокой частоте пропуске случаев метастазирования (2,7%; 11/404 по сравнению с системой JGCA - 0,8%; 3/404), наша система предложила излишнюю операцию только в 9,2% (37/404) случаев, в то время как система показаний JGCA предложила излишнюю гастрэктомию 44,1% больным (178/404). Мы считаем, что при использовании более индивидуального подхода у клиницистов есть возможность соотнести преимущества и риски вариантов лечения РРЖ для каждого конкретного больного. Для выявления случаев лимфогенного метастазирования в случаях РРЖ, не соответствующего расширенным показаниям JGCA, нами был дополнительно проведен анализ этой группы больных. При многофакторном анализе в группе, превышающей расширенные показания JGCA (n=229) были выявлены семь независимых факторов регионарного метастазирования РРЖ, такие как инвазия опухоли в подслизистый слой (OR = 0,034, 95% ДИ: 0,008–0,139, p = 0,0001, лимфоваскулярная инвазия (OR = 7,77, 95% ДИ: 2,88–20,93, p = 0,0001 и другие). В результате нами было предложено решающее правило для вычисления вероятности регионарного метастазирования при РРЖ, превышающем расширенные показания ЭЛ. Среди пациентов, отнесенных решающим правилом к группе с низким риском регионарного метастазирования метастазы в регионарные лимфатические узлы выявлены в 14,6% (29/199; n=229). Из 30 пациентов, отнесенных к группе высокого риска, частота регионарного метастазирования составила 73,3% (22/30; n=229; p=0,00001). С учетом, что система показаний JGCA в этой группе случаев РРЖ (n=229) предложила излишнюю гастрэктомию 77,7% больных РРЖ (178/229), наша система показала хороший органосохраняющий потенциал, предложив излишнюю гастрэктомию лишь 3,4% пациентов (8/229). Однако, недостатком предложенного нами решающего правила является то, что при нулевом риске метастазирования системы JGCA, наша система имеет пропуск метастазов 12,6% (29/229) в общей группе больных. В то же время 5-летняя и 10-летняя выживаемость без прогрессирования в группе с низким риском лимфогенного метастазирования была достоверно выше, чем в группе высокого риска (5-летняя - $90,3 \pm 2,2\%$, 10-летняя – $87,3 \pm 2,5$ и $63,8 \pm 9,2$ и $59,8 \pm 9,4\%$, соответственно; p=0,0002), что свидетельствует о потенциальной пользе предложенного нами решающего правила в группе случаев РРЖ, превышающего расширенные показания JGCA. Бальная система оценки риска лимфогенного метастазирования РРЖ поможет легче сравнить риск метастазирования с риском при расширенной хирургической операции, и осуществлять более индивидуальный подход к тактике лечения РРЖ. Также, предложенное нами решающее правило может быть полезным для определения показаний ЭЛ для больных

РРЖ, которые имеют высокий риск хирургического вмешательства или которые отказываются от расширенной операции.

Кроме системы JGCA в мировой практике проводятся многофакторные анализы и разрабатываются количественные модели прогнозирования риска лимфогенного метастазирования РРЖ, основанные на индивидуальных характеристиках, при использовании которых у клиницистов есть возможность соотнести преимущества и риски вариантов лечения для каждого конкретного больного [4,5,6,7,8,9,10,11,12,14,114,115,117]. Эти прогностические модели, основанные на клинико-патологических характеристиках РРЖ, помогают более точно прогнозировать риск лимфогенного метастазирования по сравнению со стандартной системой JGCA [13]. Так Zheng и соавт. определили, что возраст, макроскопический тип, гистологические типы и степень дифференцировки, кроме характеристик, используемых системой JGCA (язвление, глубина инвазии, размер опухоли) также являются значимыми факторами прогнозирования риска лимфогенного метастазирования РРЖ [118]. Egashira Y. и соавт. на основе ретроспективного анализа морфологических данных 130 подслизистых карцином желудка после гастрэктомии, разработали собственную скрининговую балльную систему. При статистическом анализе система подсчета баллов показала 100% чувствительности и 68,0% специфичности [133]. Наша система показала лучшие результаты площади под ROC - кривой для обучающей выборки 0,925 и 0,839 для тестирующей выборки, чем прогностическая модель Li C. и соавт. (0,83 и 0,84, соответственно) [122], модель Pao J. и соавт. (0,70 и 0,68, соответственно) [86], модель Sekiguchi M и соавт. (0,84 и 0,82, соответственно) [116].

Несмотря на достигнутые успехи в расчете риска лимфогенного метастазирования при РРЖ, показания к ЭЛ активно обсуждаются и нуждаются в дальнейшей проработке [54]. Ранний рак желудка отличается большой гетерогенностью и гистологические классификации Lauren P., ВОЗ, JGCA, Nakamura K. не отражают всех прогностических особенностей РРЖ. Для более точной оценки риска лимфогенного метастазирования и лучшего понимания биологического потенциала РРЖ необходимо исследование дополнительных прогностических факторов и иммуногистохимическая оценка прогностической значимости муцинового иммунофенотипа РРЖ приобрела большую актуальность. Определение муцинового профиля РРЖ является простым и недорогим методом, который поможет дифференцировать варианты муцинового иммунофенотипа РРЖ (желудочный, кишечный, смешанный и нулевой). Муцинофенотипическая классификация РРЖ может быть полезна не только для исследования онкогенеза, но и для оценки агрессивности опухоли и поддержки в определении стратегии лечения РРЖ. Варианты муцинового иммунофенотипа РРЖ имеют различный злокачественный потенциал, однако данные о влиянии муцинового фенотипа на поведение опухоли

противоречивы. Традиционно считалось, что фенотипическая экспрессия маркеров в опухолевых клетках имитирует клетки происхождения. Предполагалось, что кишечные формы рака будут состоять из клеток, экспрессирующих преимущественно кишечные маркеры, а клетки диффузных форм будут экспрессировать желудочные маркеры. Однако исследование муцинового профиля клеток кишечной метаплазии и карцином животных и человека выявили некоторые противоречия в общепринятых классификациях, основанных только на морфологических признаках. В нашем исследовании карциномы кишечного типа по классификации Laurén P. и дифференцированного типа по классификации Nakamura K. были представлены не только кишечным, а также желудочным, смешанным и нулевым вариантами муцинового фенотипа, что соответствует литературным данным [128,129,130,131]. По литературным данным, при увеличении размера и глубины инвазии опухоли наблюдается фенотипический сдвиг в муциновом профиле РРЖ от желудочного к кишечному [129,131,132]. По данным других исследований количество случаев с желудочным и кишечным муциновым фенотипом напротив, увеличивается, а количество случаев со смешанным муциновым фенотипом снижается ($p < 0,05$) [179]. В нашем исследовании при увеличении размера и глубины инвазии опухоли количество случаев с желудочным фенотипом увеличивалось незначительно, а количество случаев с кишечным фенотипом снижалось. Известно, что кишечный и желудочный фенотипы РРЖ имеют различное распространение и различный злокачественный потенциал, однако данные о влиянии муциновых фенотипов на поведение опухоли неоднозначны [131]. В нашем исследовании РРЖ с желудочным фенотипом также характеризовался более агрессивными морфологическими признаками: коррелировал с 0 III макроскопическим типом, наличием изъязвления, низкодифференцированным гистологическим типом. Также при данном фенотипе наблюдался более высокий уровень метастазирования по сравнению с кишечным (20,6%; 14/68 и 11,7%; 7/60, соответственно). В противоположность желудочному, кишечный фенотип достоверно чаще определялся в случаях внутрислизистого РРЖ (глубина инвазии М – 70%, $p=0,023$; глубина инвазии SM2-10%; $p=0,049$) и при высокодифференцированном гистологическом типе, что согласуется с литературными данными [15,19,20,21]. Важно отметить, что при размере опухоли до 2 см (признак является определяющим для отбора на эндоскопическую резекцию в системе JGCA) с желудочным фенотипом наблюдалась максимальная частота метастазирования - 15,4%; 4/26 (против кишечного 11,5%; 3/26 и смешанного 9,1%; 3/33). Также, РРЖ дифференцированного типа по классификации Nakamura K. с желудочным фенотипом имеет уникальные характеристики, которые отличают его от дифференцированного РРЖ с кишечным фенотипом из-за повышенного злокачественного потенциала и склонности к метастазированию. Отмечается, что дифференцированный РРЖ с желудочным муциновым фенотипом имеет больший размер и

более глубокую инвазию в подслизистую оболочку, чем кишечный фенотип, а также достоверно чаще встречается при перстневидноклеточном гистологическом типе, склонен к более быстрому переходу в недифференцированный тип и более высокой частоте метастазирования на самом начальном этапе канцерогенеза [131,142,133,134,135,136,137,143]. По литературным данным, частота встречаемости желудочного фенотипа при дифференцированном РРЖ колеблется от 7,9% до 23,9% [131,141,180] и даже может достигать 52,38% [142]. В нашем исследовании при дифференцированном типе РРЖ желудочный фенотип встречался в 9,8% случаев (9/91), кишечный - в 47,2% (43/91). Важность исследования муцинового профиля РРЖ объясняется тем, что дифференцированный РРЖ (по классификации Nakamura K.) размером менее 2 см, является общепринятым критерием в показаниях к эндоскопической резекции РРЖ, предложенной JGCA. По нашим данным, при дифференцированном РРЖ с желудочным фенотипом частота метастазирования была заметно выше, чем при кишечном (22,3% и 7,0%, соответственно), хотя данные не достигли статистической значимости вследствие малой выборки. При недифференцированном типе РРЖ нулевой муциновый фенотип имеет максимальную частоту метастазирования – 30,4%. Мы считаем, что желудочный муциновый фенотип РРЖ является неблагоприятным прогностическим признаком, поэтому идентификация муцинового профиля РРЖ может стать дополнительным прогностическим фактором для определения тактики лечения РРЖ. Произведено более детальное исследование прогностического значения муцинового профиля РРЖ в группе, превышающей расширенные показания, при различных гистологических типах по классификации JGCA. При перстневидноклеточном раке с желудочным иммунофенотипом частота метастазирования составила 15,8% (6/38) и была достоверно ниже ($p = 0,003$), чем частота метастазирования в случаях с желудочным фенотипом в общей группе, включающей папиллярную и низкодифференцированную АК по классификации JGCA (8/13; 61,5%).

Также, для поиска дополнительных факторов прогнозирования лимфогенного метастазирования при РРЖ были изучены прогностические иммуногистохимические факторы E-катгерин и p 53. Потеря мембранной экспрессии происходит на ранней стадии опухолевого процесса и коррелирует с потерей дифференцировки и лимфогенным метастазированием. В нашем исследовании потеря экспрессии E-катгерина чаще всего наблюдалась при диффузном и смешанном гистотипе (Lauren P.), недифференцированном типе (Nakamura K.), перстневидноклеточном раке (JGCA), что согласуется с другими исследованиями. Прогностическая роль потери мембранной экспрессии E-cadherin для прогнозирования риска лимфогенного метастазирования РРЖ широко изучается и имеет большую клиническую значимость. В крупнейшем мета-анализе Xing X. И соавт. (n=4383) выявили достоверную корреляцию между снижением мембранной экспрессией E-катгерина и частотой лимфогенного

метастазирования. Мы также исследовали корреляцию экспрессии E-кадгерина с частотой лимфогенного метастазирования при РРЖ. При отсутствии мембранной экспрессии E-кадгерина частота лимфогенного метастазирования была достоверно выше, чем при наличии экспрессии (32% против 12,7%; $p=0,0022$). Также мы исследовали зависимость лимфогенного метастазирования от экспрессии E-кадгерина в различных подгруппах РРЖ. Сообщалось, что потеря экспрессии чаще наблюдалась в случаях лимфогенного метастазирования кишечного типа РРЖ. Мы получили данные, что мембранная экспрессия при кишечном типе (49,9%) РРЖ (Laugen P.) наблюдалась достоверно чаще, чем при диффузном типе (22,1%). Однако достоверное повышение частоты лимфогенного метастазирования РРЖ наблюдалось при отсутствии экспрессии E-кадгерина лишь при диффузном типе (E-кадгерин (-) - 22,7%; E-кадгерин (+) - 4,0%; $p=0,025$), поэтому потеря мембранной экспрессии E-кадгерина является признаком агрессивности РРЖ. Несмотря на сообщения, что экспрессия E-кадгерина не коррелирует с лимфогенным метастазированием при РРЖ [153,154,155,157,158,159,161,162], были получены значимые корреляции между снижением экспрессии E-кадгерина и степенью дифференцировки РРЖ, большим размером опухоли, более глубокой подслизистой инвазией. Количество случаев с потерей экспрессии E-кадгерина увеличивалось при снижении дифференцировки опухоли и было максимальным при перстневидноклеточном раке и редких вариантах РРЖ. В нашем исследовании при дифференцированном типе РРЖ (признак отбора на эндоскопическую резекцию JGCA) отсутствии экспрессии E-кадгерина связано с более высокой частотой метастазирования, чем в случаях с мембранной экспрессией (28,6% против 7,1%). При недифференцированном типе РРЖ также в случаях с отсутствием экспрессии E-кадгерина метастазы в лимфатические узлы выявлялись достоверно чаще, чем при мембранной экспрессии (33,3% против 17,5%, $*p=0,0398$). При потере экспрессии E-кадгерина максимальная частота лимфогенного метастазирования наблюдалась при папиллярных АК - 75%, по сравнению с перстневидноклеточным раком 27,3%, $p=0,104$. И хотя данные не достигли достоверности, в случаях с мембранной экспрессией E-кадгерина при умеренно дифференцированной АК частота метастазирования была выше (18,8%), чем при перстневидноклеточном раке (6,1%).

Мутации гена опухолевого супрессора TP53 связаны с нарушениями регуляции клеточного цикла, репарации и синтеза ДНК, а также апоптоза. Целью нашего исследования явилась оценка встречаемости и возможного прогностического значения ядерной экспрессии p53 для лимфогенного метастазирования РРЖ. Мутации TP53 и, соответственно, ядерная экспрессия p53 является ранним событием в канцерогенезе, однако считается, что в общепопуляционном смысле наличие или отсутствие ядерной экспрессии p53 само по себе не имеет прогностической ценности для РРЖ. В нашем исследовании, корреляции частоты

лимфогенного метастазирования РРЖ и ядерной экспрессии p53 в общей группе больных РРЖ (n=227) выявлено не было. Однако, нами выявлена значительная разница в частоте экспрессии p53 между различными подтипами РРЖ, отличающимися по гистологическому типу, степени дифференцировки или другим клинико-морфологическим и иммуногистохимическим параметрам РРЖ. Прогностические последствия мутации TP53 и экспрессии p53 являются спорными, хотя некоторые исследователи считают, что экспрессия p53 имеет прогностическое значение для РРЖ [166,170,171,174,175], однако в исследованиях отмечается общая тенденция - количество случаев РРЖ, демонстрирующих ядерную экспрессию p53 снижается при увеличении глубины и снижении гистологической дифференцировки опухоли. Ядерная экспрессия p53 достоверно чаще коррелирует с прогностически более благоприятным кишечным гистотипом по классификации Lauren. P., высокодифференцированной аденокарциномой (JGCA), дифференцированным типом по классификации Nakamura K. и с 0I макроскопическим типом. В нашем исследовании ядерная экспрессия p53 чаще наблюдалась при тубулярных аденокарциномах, особенно при высокодифференцированной аденокарциноме (81,0%), чем при папиллярной аденокарциноме (34,6%, $p=0,0002$) и перстневидноклеточном раке (9,9%, $p=0,00001$), что подтверждается литературными данными [170], однако связи с макроскопическими типами РРЖ, заявленную Gonçalves A и соавт. [171] мы не обнаружили. Также в нашем исследовании в случаях кишечного гистотипа классификации Lauren P. ядерная экспрессия p53 наблюдалась гораздо чаще (57,7%) по сравнению с диффузным 11,1% и смешанным (37,5%), хотя данные не достигли достоверности как в исследовании Gonçalves A. [171]. В нашем исследовании экспрессия p53 достоверно чаще встречалась при дифференцированном типе по классификации Nakamura K., чем при недифференцированном (68,1% против 21,3%, $p=0,00001$). Многие исследования показали, что экспрессия p53 связана с лимфогенным метастазированием РРЖ [69,170,173], а также, что экспрессия p53 наряду с размером опухоли и глубиной инвазии являлся независимым фактором лимфогенного метастазирования (OR = 1,81, $p = 0,017$) [181]. Однако, также есть некоторые исследования с различными результатами [182,170,173]. При изучении корреляции ядерной экспрессии p53 с частотой лимфогенного метастазирования в различных подтипах РРЖ нами было выявлено, что наличие ядерной экспрессии p53 в определенных подгруппах РРЖ снижает частоту лимфогенного метастазирования. Так, наличие экспрессии p53 коррелировало с низкой частотой метастазирования в подгруппах РРЖ в зависимости от:

глубины инвазии - при внутрислизистом РРЖ минимальная частота лимфогенного метастазирования наблюдалась в группе случаев с положительной ядерной экспрессией p53 (3,1%), по сравнению с отсутствием экспрессии (12,7%, $p=0,041$).

степени дифференцировки РРЖ - при дифференцированном типе РРЖ классификации Nakamura K. минимальная частота лимфогенного метастазирования также наблюдалась в группе случаев с положительной ядерной экспрессией p53 - 4,8%, по сравнению с отсутствием экспрессии - 17,2% с тенденцией к достоверности $p=0,065$.

гистотипа - при перстневидноклеточном раке (классификация JGCA) в случаях с ядерной экспрессией p53 метастазов выявлено не было, при отсутствии экспрессии метастазирование наблюдалось в 14,1% случаев. При умеренно дифф. АК отсутствие экспрессии p53 коррелировало более высокой частотой метастазирования - 33,3%, по сравнению с наличием ядерной экспрессии - 9,1%, однако данные не достигли статистической значимости вследствие малой выборки ($p=0,272$).

Напротив, при низкой степени дифференцировки РРЖ (в случаях папиллярной и низкодифф. несолидной АК) наблюдалась обратная тенденция - в группе случаев с наличием ядерной экспрессии p53 метастазы выявлялись чаще, чем в случаях с отсутствием экспрессии (ПАП - 42,9% против 33,3% и низкодифф. АК 50,0% против 35,7% , соответственно), что требует дальнейшего изучения на большем количестве случаев РРЖ.

муцинового фенотипа - в общей группе случаев РРЖ ($n=227$) при кишечном иммунофенотипе минимальная частота метастазирования с тенденцией к достоверности, наблюдалась в группе случаев РРЖ с ядерной экспрессией p53 (10,9%), а в группе случаев РРЖ с желудочным иммунофенотипом наблюдалось максимальное количество случаев метастазирования - 37,5% (с тенденцией к достоверности с кишечным $p=0,086$ и смешанным иммунофенотипом $p=0,088$). Однако частота лимфогенного метастазирования внутри каждого из вариантов муцинового иммунофенотипа РРЖ не зависела от экспрессии p53. Мы считаем, экспрессия p53, возможно, связана с различными путями канцерогенеза, что интуитивно отразил в своей классификации Lauren P. Экспрессия p53 для РРЖ с признаками интестинального/дифференцированного/кишечного иммунофенотипа имеет иное прогностическое значение, чем для диффузного/низкодифференцированного/желудочного. В нашем исследовании при более благоприятных подтипах РРЖ (дифференцированном типе (Nakamura K.), кишечном типе (Lauren P.), высоко и умереннодифференцированных аденокарциномах, карциномах с кишечным муциновым фенотипом) наличие экспрессии p53 коррелировало с низкой частотой лимфогенного метастазирования. При более агрессивных подтипах (низкодифференцированной и папиллярной аденокарциноме, недифференцированном типе (Nakamura K.), диффузном типе (Lauren P.), желудочном и смешанном муциновом иммунофенотипе) ядерная экспрессия свидетельствовала о высоких показателях лимфогенного метастазирования РРЖ. В литературе также высказано предположение, что мутация p53 является общей генетической модификацией, которая обнаруживается при прогрессии обоих

гистологических типов РРЖ, которая, однако, появляется в различные моменты прогрессии РРЖ [158], и что мутация p53 определяется как более раннее событие при РРЖ кишечного типа и более позднее - при диффузном типе (Lauren. P.) [144,154].

С учетом дополнительных данных при использовании иммуногистохимического метода был проведен многофакторный логистический регрессионный анализ методом пошагового включения для факторов ИГХ и остальных значимых клиничко-морфологических параметров (n=227). В результате была получена значимая математическая модель, R2 Нэйджелкера = 0,68. Выделены пять независимых факторов риска, для которых получены коэффициенты, отражающие величину важности для прогноза риска лимфогенного метастазирования, которые были использованы для вычисления индекса лимфогенного метастазирования. Таким образом, математическая модель не диагностировала метастатический процесс у 5 больных РРЖ, включила их в группу низкого риска метастазирования (2,2%, 5/227) и оставила без должного лечения (1 случай РРЖ соответствует 3 расширенному критерию JGCA, 4 случая превышают расширенные показания), а 77 больных без метастатического процесса математическая модель включила в группу высокого риска (33,9%, 77/227) и предложила излишнюю гастректомию.

Имуногистохимический метод является простым и недорогим методом и предоставляет дополнительные данные о прогнозе РРЖ. В мировой практике не предложено прогностических моделей, включающих иммуногистохимические прогностические маркеры, но мы считаем, что определение иммуногистохимического муцинового, E-катгерин и p53 профиля РРЖ как прогностического фактора можно рассматривать как неотъемлемую часть предоперационной фазы исследования РРЖ для определения стратегии лечения, а также планирование программы наблюдения после ЭЛ для своевременной диагностики рецидива опухоли.

ВЫВОДЫ

1. При однофакторном анализе было выявлено восемь независимых морфологических прогностических факторов лимфогенного метастазирования РРЖ: глубина инвазии (M/SM1/SM2), глубина инвазии в мкм, лимфоваскулярная инвазия, максимальный размер опухоли в сантиметрах; гистологический тип по классификации JGCA, гистологический тип по классификации Nakamura K., макроскопический тип опухоли, изъязвление.

2. В результате многофакторного регрессионного анализа морфологических факторов была получена значимая математическая модель расчета риска лимфогенного метастазирования РРЖ, Процент корректно предсказанных данных составил 92,2%. Максимальный вклад в вероятность наличия метастатического процесса внесли: лимфоваскулярная инвазия, макроскопический тип, фиброз и изъязвление, глубина инвазии в мкм. В группе с низким риском регионарного метастазирования, метастазирование не было диагностировано в 3,4% случаев.

3. Предложенная нами математическая модель расчета риска лимфогенного метастазирования РРЖ, основанная на морфологических факторах прогноза, имеет более органосохраняющий потенциал, чем система показаний JGCA (количество излишних гастректомий - 9,2%, JGCA – 44,4%) при минимальном превышении риска лимфогенного метастазирования (не выявленный метастатический процесс – 2,7%, JGCA – 0,8%) и благоприятном прогнозе (опухоль-специфическая выживаемость – 95%). В пределах расширенных показаний JGCA, наша модель имеет преимущество в определении риска лимфогенного метастазирования (не выявленный метастатический процесс - 0,8%, JGCA - 2,4%).

4. Желудочный муциновый иммунофенотип РРЖ характеризовался более агрессивными морфологическими признаками (достоверно чаще встречался при 0 III макроскопическом типе, при изъязвленном РРЖ, при недифференцированном РРЖ (Nakamura K.), диффузном типе (Lauren P.) и дискогезивной карциноме (ВОЗ)). При РРЖ кишечного типа (Lauren P.) с желудочным иммунофенотипом частота лимфогенного метастазирования была достоверно выше, чем при кишечном иммунофенотипе (38,5% против 11,8%, $p=0,037$) в общей группе и при размере опухоли до 2 см (фактор системы JGCA) достигала максимального значения.

5. При дискогезивной карциноме (ВОЗ) желудочный иммунофенотип был прогностически более благоприятным фактором, чем при high grade тубулярной аденокарциноме (частота лимфогенного метастазирования ДК - 12,0% против high grade АК -

71,4%, $p=0,0042$; в группе случаев, превышающих расширенные показания JGCA - 15,8% против 61,5%, $p = 0,003$).

6. Полная потеря мембранной экспрессии E-катгерина являлась прогностически неблагоприятным фактором РРЖ. Частота лимфогенного метастазирования при потере экспрессии E-катгерина составила 32% в общей группе больных ($n=227$, $p=0,0022$); при дифференцированном типе 28,6%; при недифференцированном типе - 33,3% ($p=0,0398$).

7. Потеря ядерной экспрессии p53 являлась прогностически неблагоприятным фактором лимфогенного метастазирования РРЖ. При недифференцированном типе РРЖ (Nakamura K.) наблюдалась максимальная частота лимфогенного метастазирования (12,7%, по сравнению с p53 (+) - 3,1%, $p=0,041$). При желудочном иммунофенотипе при потере экспрессии p53 также наблюдалась максимальная частота лимфогенного метастазирования РРЖ (37,5%).

8. При включении иммуногистохимических факторов прогноза, математическая модель повысила точность расчета риска метастазирования (не выявленный метастатический процесс - с 2,7% до 2,2%). При высоком риске послеоперационных осложнений, в группе случаев РРЖ, морфологические характеристики которого превышают расширенные показания JGCA, можно использовать предложенное нами уточненное решающее правило, особенно при превышении показаний JGCA по одному из прогностически неблагоприятных характеристик РРЖ.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для отбора больных РРЖ для эндоскопического лечения рекомендуется использовать предложенную нами прогностическую модель расчета риска лимфогенного метастазирования, основанную на морфологических характеристиках опухоли, как более органосохраняющую по сравнению с системой JGCA при минимальном риске лимфогенного метастазирования.

2. При предпочтении системы JGCA, рекомендуется использовать абсолютные показания, так как они безопасны.

3. Расширенные показания JGCA имеют низкий риск лимфогенного метастазирования и в целом безопасны для отбора больных РРЖ на эндоскопическое лечение. Для более точного выявления случаев лимфогенного метастазирования в пределах расширенных показаний JGCA мы предлагаем дополнять расширенные показания использованием нашей прогностической системы.

4. При превышении расширенных показаний JGCA, предлагаем пользоваться уточненным решающим правилом, которое обладает хорошим органосохраняющим потенциалом. Особенно это актуально в случаях РРЖ, морфологические характеристики которого ненамного превышают расширенные показания JGCA (например, по одному из прогностически неблагоприятных признаков или, когда признак не выражен, например, при небольшом изъязвлении поверхности опухоли и т.д.). Данное решающее правило рекомендуется применять при высоком риске оперативного вмешательства.

5. При возможности дополнить обследование больного РРЖ определением варианта муцинового иммунофенотипа и экспрессии E-катгерина для более точного определения риска лимфогенного метастазирования рекомендуем использовать предложенную нами расширенную прогностическую модель.

СПИСОК УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ

- АК – аденокарцинома
- ВДАК – высокодифференцированная аденокарцинома (классификация ВОЗ)
- ДК – дискогезивная карцинома (классификация ВОЗ).
- ИГХ – иммуногистохимический
- ИП – истинноположительный результат
- ИО – истинноотрицательный результат
- ЛП – ложноположительный результат
- ЛО – ложноотрицательный результат
- М – глубина инвазии РРЖ в пределах слизистой оболочки стенки желудка
- НДАК – низкодифференцированная аденокарцинома (классификация ВОЗ)
- ПЦПР – прогностическая ценность положительного результата
- ПЦОР – прогностическая ценность отрицательного результата
- ПКР/SRC – перстневидноклеточный рак
- ПКТ – перстневидноклеточный тип дискогезивной карциномы (классификация ВОЗ)
- ПАП/РАР – папиллярная аденокарцинома
- РЖ – рак желудка
- РРЖ – ранний рак желудка
- УДАК – умеренно дифференцированная аденокарцинома (классификация ВОЗ)
- ЭРС – эндоскопическая резекция слизистой оболочки желудка
- ЭПД – эндоскопическая подслизистая диссекция
- ЭЛ – эндоскопическое лечение
- CD 10 – маркер щеточной каемки энтероцитов
- JGCA – Японское общество по изучению рака желудка
- MUC 5 AC – маркер фовеолярного эпителия
- MUC 6 – маркер эпителия фундальных желез
- MUC 2 – маркер бокаловидных клеток
- N(+)- случаи РРЖ с лимфогенным метастазированием
- POR 1 - низко дифференцированная солидная аденокарцинома (классификация JGCA)
- POR 2 - низко дифференцированная несолидная аденокарцинома (классификация JGCA)
- SM – глубина инвазии РРЖ в пределах слизистой и подслизистой оболочки стенки желудка
- TUB 1 - высокодифференцированная тубулярная аденокарцинома (классификация JGCA)
- TUB 2 – умеренно дифференцированная тубулярная аденокарцинома (классификация JGCA)

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.

1. Bray, F. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries / F. Bray, J. Ferlay, I. Soerjomataram et al. // *CA Cancer J. Clin.* – 2018. – Vol. 68(6). – P. 394-424.
2. Shams-White, M. Operationalizing the 2018 World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research (WCRF/AICR) Cancer Prevention Recommendations: A Standardized Scoring System. / Shams-White M. Brockton N., Mitrou P. et al. // *Nutrients.* 2019 Jul 12;11(7):1572. doi: 10.3390/nu11071572.
3. Wang, S. [Epidemiological characteristics of gastric cancer in China, 2015] / S. Wang, R. Zheng, S. Zhang et al. // *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi.* – 2019. – Vol. 40(12). – P. 1517-1521. doi:10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2019.12.003.
4. Ahmad, R. Predictors of Lymph Node Metastasis in Western Early Gastric Cancer / R. Ahmad, N. Setia, B. Schmidt et al. // *J. Gastrointest. Surg.* – 2016. – Vol. 20(3). – P. 531-538. doi: 10.1007/s11605-015-2945-6.
5. Kim, S.M. A prediction model for lymph node metastasis in early-stage gastric cancer: Toward tailored lymphadenectomy / S.M. Kim, H. Lee, B.H. Min et al. // *J. Surg. Oncol.* – 2019. – Vol. 120(4). – P. 670-675. doi: 10.1002/jso.25628.
6. Roviello, F. Number of lymph node metastases and its prognostic significance in early gastric cancer: a multicenter Italian study / F. Roviello, S. Rossi, D. Marrelli et al. // *J. Surg. Oncol.* – 2006. – Vol. 94. – P. 275-280; discussion 274.
7. Pelz, J. Determination of nodal status and treatment in early gastric cancer / J. Pelz, S. Merkel, T. Horbach et al. // *Eur. J. Surg. Oncol.* – 2004. – Vol. 30. – P. 935-941.
8. Kim, D.Y. Factors related to lymph node metastasis and surgical strategy used to treat early gastric carcinoma / D.Y. Kim, J.K. Joo, S.Y. Ryu et al. // *World J. Gastroenterol.* – 2004. – Vol. 10. – P. 737-740.
9. Ohkuwa, M. New endoscopic treatment for intramucosal gastric tumors using an insulated-tip diathermic knife / M. Ohkuwa, K. Hosokawa, N. Boku et al. // *Endoscopy.* – 2001. – Vol. 33. – P. 221-226.
10. Hasuike, N. A non-randomized confirmatory trial of an expanded indication for endoscopic submucosal dissection for intestinal-type gastric cancer (cT1a): the Japan Clinical Oncology Group study (JCOG0607) / N. Hasuike, H. Ono, N. Boku et al. // *Gastric Cancer.* – 2018. – Vol. 21(1). – P. 114-123. doi: 10.1007/s10120-017-0704-y.

11. Nakagawa, M. Difficulty of predicting the presence of lymph node metastases in patients with clinical early stage gastric cancer: a case control study / M. Nakagawa, Y.Y. Choi, J.Y. An et al. // *BMC Cancer*. – 2015. – Vol. 15. – P. 943.
12. Lin, J.X. Risk factors of lymph node metastasis or lymphovascular invasion for early gastric cancer: a practical and effective predictive model based on international multicenter data / J.X. Lin, Z.K. Wang, W. Wang et al. // *BMC Cancer*. – 2019. – Vol. 19(1). – P. 1048. doi: 10.1186/s12885-019-6147-6.
13. Kodera, Y. Japanese Gastric Cancer A. Japanese gastric cancer treatment guidelines 2014 (ver. 4) / Kodera Y. // *Gastric Cancer*. – 2017. – Vol. 20. – P.1-19.
14. Ito, H. Clinicopathological characteristics and treatment strategies in early gastric cancer: a retrospective cohort study / H. Ito, H. Inoue, H. Ikeda et al. // *J. Exp. Clin. Cancer Res*. – 2011. – Vol. 30(1). – P. 117. doi: 10.1186/1756-9966-30-117.
15. Park, Y.D. Factors related to lymph node metastasis and the feasibility of endoscopic mucosal resection for treating poorly differentiated adenocarcinoma of the stomach / Y.D. Park, Y.J. Chung, H.Y. Chung et al. // *Endoscopy*. – 2008. – Vol. 40. – P. 7-10.
16. Kim, H.M. Early gastric cancer of signet ring cell carcinoma is more amenable to endoscopic treatment than is early gastric cancer of poorly differentiated tubular adenocarcinoma in select tumor conditions / H.M. Kim, K.H. Pak, M.J. Chung et al. // *Surg. Endosc*. – 2011. – Vol. 25. – P. 3087-3093.
17. Hyung, W.J. Application of minimally invasive treatment for early gastric cancer / W.J. Hyung, J.H. Cheong, J. Kim et al. // *J. Surg. Oncol*. – 2004. – Vol. 85. – P. 181-185; discussion 186.
18. Abe, N. Laparoscopic lymph node dissection after endoscopic submucosal dissection: a novel and minimally invasive approach to treating early-stage gastric cancer / N. Abe, T. Mori, H. Takeuchi et al. // *Am. J. Surg*. – 2005. – Vol. 190. – P. 496-503.
19. Tong, J.H. Early gastric cancer with signet-ring cell histologic type: risk factors of lymph node metastasis and indications of endoscopic surgery / J.H. Tong, Z. Sun, Z.N. Wang et al. // *Surg*. – 2011. – Vol. 149. – P. 356-363.
20. Li, H. Predictive factors of lymph node metastasis in undifferentiated early gastric cancers and application of endoscopic mucosal resection / H. Li, P. Lu, Y. Lu et al. // *Surg. Oncol*. – 2010. – Vol. 19. – P. 221-226.
21. Wang, Y.X. Clinicopathological characteristics and prognosis of early gastric cancer after gastrectomy / Y.X. Wang, Q.S. Shao, Q. Yang et al. // *Chin. Med. J*. – 2012. – Vol. 125. – P. 770-774.

22. Hanaoka, N. Mixed-histologic-type submucosal invasive gastric cancer as a risk factor for lymph node metastasis: feasibility of endoscopic submucosal dissection / N. Hanaoka, S. Tanabe, T. Mikami et al. // *Endoscopy*. – 2009. – Vol. 41. – P. 427-432.
23. Takizawa, K. A phase II clinical trial of endoscopic submucosal dissection for early gastric cancer of undifferentiated type: Japan Clinical Oncology Group study JCOG1009/1010 / K.Takizawa, A. Takashima, A. Kimura et al. // *J. Clin. Oncol.* – 2013. – Vol. 43(1). – P. 87-91. doi: 10.1093/jjco/hys189.
24. Hasuike, N. A non-randomized confirmatory trial of an expanded indication for endoscopic submucosal dissection for intestinal-type gastric cancer (cT1a): the Japan Clinical Oncology Group study (JCOG0607) / N. Hasuike, H. Ono, N. Boku et al. // *Gastric Cancer*. – 2018. – Vol. 21(1). – P. 114-123. doi: 10.1007/s10120-017-0704-y.
25. Guo, C.G. Risk factors for lymph node metastasis in early gastric cancer with signet ring cell carcinoma / C.G. Guo, D.B. Zhao, Q. Liu et al. // *J. Gastrointest. Surg.* – 2015. – Vol. 19. – P. 1958-1965.
26. Sekiguchi, M. Risk stratification and predictive risk-scoring model for lymph node metastasis in early gastric cancer / M. Sekiguchi, I. Oda, H. Taniguchi at al. // *J. Gastroenterol.* – 2016. – Vol. 51(10). – P. 961-970. doi:10.1007/s00535-016-1180-6.
27. Suzuki, S. Survival benefit of additional surgery after non-curative endoscopic submucosal dissection for early gastric Cancer: a propensity score matching analysis / S. Suzuki, T. Gotoda, W. Hatta et al. // *Ann. Surg. Oncol.* – 2017. – Vol. 24(11). – P. 3353-3360.
28. Zheng, Z. A nomogram for predicting the likelihood of lymph node metastasis in early gastric patients / Z. Zheng, Y. Zhang, L. Zhang et al. // *BMC Cancer*. – 2015. – Vol. 16. – P. 92-99.
29. Vickers, A.J. Decision curve analysis: a novel method for evaluating prediction models / A.J. Vickers, E.B. Elkin // *Med. Decis. Making*. – 2006. – Vol. 26(6). – P. 565-574.
30. Pimentel-Nunes, P. Endoscopic submucosal dissection: European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE) Guideline / P. Pimentel-Nunes, M. Dinis-Ribeiro, T. Ponchon et al. // *Endoscopy*. – 2015. – Vol. 47(9). – P. 829-854. doi: 10.1055/s-0034-1392882.
31. Abe, N. Laparoscopic lymph node dissection after endoscopic submucosal dissection: a novel and minimally invasive approach to treating early-stage gastric cancer / N. Abe, T. Mori, H. Takeuchi et al. // *Am. J. Surg.* – 2005. – Vol. 190. – P. 496-503.
32. Bok, G.H. Endoscopic submucosal dissection with sentinel node navigation surgery for early gastric cancer / G.H. Bok, Y.J. Kim, S.Y. Jin et al. // *Endoscopy*. – 2012. – Vol. 44. – P. 953-956.
33. Shin, N. Unveiling lymph node metastasis in early gastric cancer / N. Shin, T.Y. Jeon, G.H. Kim et al. // *World J. Gastroenterol.* – 2014. – Vol. 20(18). – P. 5389-5395.

34. Ryu, E.S. Sex-specific differences in risk factors of lymph node metastasis in patients with early gastric cancer / E.S. Ryu, S.J. Chang, J. An et al. // *PLoS One*. – 2019. – Vol. 14(10). – P. e0224019. doi: 10.1371/journal.pone.0224019.
35. Ramos, M. Gastric cancer in young adults: a worse prognosis group? / M. Ramos, M. Pereira, V.M.T. Sagae et al. // *Rev. Col. Bras. Cir.* – 2019. – Vol. 46(4). – P. e20192256. doi: 10.1590/0100-6991e-20192256.
36. Eguchi, T. Gastric cancer in young patients / T. Eguchi, Y. Takahashi, M. Yamagata et al. // *J. Am. Coll. Surg.* – 1999. – Vol. 188. – P. 22-26.
37. Kang, K.J. Characteristics of gastric cancer in Korea-with an emphasis on the increase of the early gastric cancer (EGC) / KJ. Kang, JH. Lee // *J. Korean Med. Assoc.* – 2010. – Vol. 53. – P. 283-289.
38. Sipponen, P. Delayed rise in incidence of gastric cancer in females results in unique sex ratio (M/F) pattern: etiologic hypothesis / P. Sipponen, P. Correa // *Gastric Cancer*. – 2002. – Vol. 5. – P. 213-219.
39. Kim, S.M. A prediction model for lymph node metastasis in early-stage gastric cancer: Toward tailored lymphadenectomy / S.M. Kim, H. Lee, B. Min et al. // *J. Surg. Oncol.* – 2019. – Vol. 120(4). – P. 670-675. doi:10.1002/jso.25628
40. Wang, Y.W. Predictable factors for lymph node metastasis in early gastric cancer analysis of clinicopathologic factors and biological markers / Y.W. Wang, M.L. Zhu, R.F. Wang et al. // *Tumour Biol.* – 2016. – Vol. 37(7). – P. 8567-8578. doi: 10.1007/s13277-015-4721-3.
41. Sung, C.M. Predictive factors for lymph node metastasis in early gastric cancer / C.M. Sung, C.M. Hsu, J.T. Hsu et al. // *World J. Gastroenterol.* – 2010. – Vol. 16. – P. 5252-5256.
42. Kwee, R.M. Predicting lymph node status in early gastric cancer / R.M. Kwee, T.C. Kwee // *Gastric Cancer*. – 2008. – Vol. 11. – P. 134-148.
43. Zhao, X. Predictive Factors for Lymph Node Metastasis in Undifferentiated Early Gastric Cancer: a Systematic Review and Meta-analysis / X. Zhao, A. Cai, H. Xi et al. // *J. Gastrointest. Surg.* – 2017. – Vol. 21(4). – P. 700-711. doi: 10.1007/s11605-017-3364-7.
44. Kim, K.J. Analysis of factors related to lymph node metastasis in undifferentiated early gastric cancer / K.J. Kim, S.J. Park, W. Moon et al. // *Turk J. Gastroenterol.* – 2011. – Vol. 22. – P. 139-144.
45. Kim, H.M. Multifocality in early gastric cancer does not increase the risk of lymph node metastasis in a single-center study / H.M. Kim, H.K. Kim, S.K. Lee et al. // *Ann. Surg. Oncol.* – 2012. – Vol. 19. – P. 1251-1256.

46. Xu, Y.Y. Risk factors for lymph node metastasis and evaluation of reasonable surgery for early gastric cancer / Y.Y. Xu, B.J. Huang, Z. Sun et al. // *World J. Gastroenterol.* – 2007. – Vol. 13. – P. 5133-5138.
47. Okabayashi, T. Clinicopathological features and medical management of early gastric cancer / T. Okabayashi, M. Kobayashi, I. Nishimori et al. // *Am. J. Surg.* – 2008. – Vol. 195. – P. 229-232.
48. Nieminen, A. Early gastric cancer: clinical characteristics and results of surgery / A. Nieminen, A. Kokkola, J. Ylä-Liedenpohja et al. // *Dig. Surg.* – 2009. – Vol. 26. – P. 378-383.
49. Petrelli, F. Prognostic Role of Primary Tumor Location in Non-Metastatic Gastric Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis of 50 Studies / F. Petrelli, M. Ghidini, S. Barni, et al. // *Ann. Surg. Oncol.* – 2017. – Vol. 24(9). – P. 2655-2668.
50. Lauren, P. The two histological main types of gastric carcinoma. Difuse and so-called intestinal type carcinoma: an attempt at histological classification / P. Lauren // *Acta Pathol. Microbiol. Scand.* – 1965. – Vol. 64. – P. 31-49.
51. Fang, X. Landscape of dietary factors associated with risk of gastric cancer: A systematic review and dose-response meta-analysis of prospective cohort studies / X. Fang, J. Wei, X. He et al. // *Eur. J. Cancer.* – 2015. – Vol. 51 (18). – P. 2820-2832.
52. Nam, M.J. Frequency and predictive factors of lymph node metastasis in mucosal cancer / M.J. Nam, S.J. Oh, C.A. Oh et al. // *J. Gastric. Cancer.* – 2010. – Vol. 10. – P. 162-167.
53. Hölscher, A.H. Early gastric cancer: lymph node metastasis starts with deep mucosal infiltration / A.H. Hölscher, U. Drebber, S.P. Mönig et al. // *Ann. Surg.* – 2009. – Vol. 250. – P. 791-797.
54. Ronellenfitsch, U. Histology-based prediction of lymph node metastases in early gastric cancer as decision guidance for endoscopic resection / U. Ronellenfitsch, C. Lippert, R. Grobholz et al. // *Oncotarget.* – 2016. – Vol. 7(9). – P. 10676-10683. doi: 10.18632/oncotarget.7221.
55. Soetikno, R. Endoscopic mucosal resection for early cancers of the upper gastrointestinal tract / R. Soetikno, T. Kaltenbach, R. Yeh et al. // *J. Clin. Oncol.* – 2005. – Vol. 23. – P. 4490-4498.
56. Wu, Z.M. Characteristics of lymph node metastasis and prognostic analysis in 157 early gastric cancer patients (In Chinese) / Z.M. Wu, A.W. Wu, Z.Y. Li et al. // *Chin J. Gastrointest. Surg.* – 2009. – Vol. 12. – P. 350-353.
57. Gotoda, T. Incidence of lymph node metastasis from early gastric cancer: estimation with a large number of cases at two large centers / T. Gotoda, A. Yanagisawa, M. Sasako et al. // *Gastric Cancer.* – 2000. – Vol. 3. – P. 219-225.

58. Yasuda, K. Rate of detection of lymph node metastasis is correlated with the depth of submucosal invasion in early stage gastric carcinoma / K. Yasuda, N. Shiraishi, T. Suematsu et al. // *Cancer*. – 1999. – Vol. 85(10). – P. 2119-2123.
59. Gotoda, T. Endoscopic resection of early gastric cancer / T. Gotoda // *Gastric Cancer*. – 2007. – Vol. 10. – P. 1-11.
60. Kim, J.Y. Lymph node metastasis in early gastric cancer: evaluation of a novel method for measuring submucosal invasion and development of a nodal predicting index / J.Y. Kim, W.G. Kim, T.Y. Jeon et al. // *Human Pathol.* – 2013. – Vol. 44(12). – P. 2829-2836.
61. Murali, R. Non-Sentinel Node Risk Score (N-SNORE): a scoring system for accurately stratifying risk of non-sentinel node positivity in patients with cutaneous melanoma with positive sentinel lymph nodes / R. Murali, C. Desilva, J.F. Thompson et al. // *J. Clin. Oncol.* – 2010. – Vol. 28. – P. 4441-4449.
62. Lee, J.Y. Preoperative prediction model of lymph node metastasis in endometrial cancer / J.Y. Lee, D.C. Jung, S.H. Park et al. // *Int. J. Gynecol. Cancer*. – 2010. – Vol. 20. – P. 1350-1355.
63. Cho, J.Y. Controversy concerning the cutoff value for depth of submucosal invasion after endoscopic mucosal resection of early gastric cancer / J.Y. Cho, Y.S. Kim, I.S. Jung et al. // *Endoscopy*. – 2006. – Vol. 38(4). – P. 429-430.
64. Chung, J.W. Extended indication of endoscopic resection for mucosal early gastric cancer: analysis of a single center experience / J.W. Chung, H.Y. Jung, K.D. Choi et al. // *J. Gastroenterol. Hepatol.* – 2011. – Vol. 26(5). – P. 884-887.
65. Shen, L. Clinicopathological features associated with lymph node metastasis in early gastric cancer: Analysis of a single-institution experience in China / L. Shen, Y. Huang, M. Sun et al. // *Can. J. Gastroenterol.* – 2009. – Vol. 23. – P. 353-356.
66. Kunisaki, C. Risk factors for lymph node metastasis in histologically poorly differentiated type early gastric cancer / C. Kunisaki, M. Takahashi, Y. Nagahori et al. // *Endoscopy*. 2009. – Vol. 41. – P. 498-503.
67. Kuofuji, K. Early gastric cancer and lymph node metastasis / K. Kuofuji, J. Takeda, A. Toyonaga et al. // *Kurume Med. J.* – 1997. – Vol. 44. – P. 157-164.
68. Park, D.J. Lymph node metastasis in early gastric cancer with submucosal invasion: feasibility of minimally invasive surgery / D.J. Park, H.K. Lee, H.J. Lee et al. // *World J. Gastroenterol.* – 2004. – Vol. 10. – P. 3549-3552.
69. Lim, M.S. Predictable factors for lymph node metastasis in early gastric cancer-analysis of single institutional experience / M.S. Lim, H.W. Lee, H. Im et al. // *J. Gastrointest. Surg.* – 2011. – Vol. 15. – P. 1783-1788.

70. Feng, H. Lymph node metastasis in differentiated-type early gastric cancer: a single-center retrospective analysis of surgically resected cases / H. Feng, Y. Wang, L. Cao et al. // *Scand J. Gastroenterol.* – 2016. – Vol. 51(1). – P. 48-54. doi: 10.3109/00365521.2015.1054425.
71. Nakamura, R. Risk of lymph node metastasis in undifferentiated-type mucosal gastric carcinoma / R. Nakamura, T. Omori, S. Mayanagi et al. // *World J. Surg. Oncol.* – 2019. – Vol. 17(1). – P. 32. doi: 10.1186/s12957-019-1571-2.
72. Akashi, K. Ulcerous change decreases the accuracy of endoscopic ultrasonography diagnosis for the invasive depth of early gastric cancer / K. Akashi, H. Yanai, J. Nishikawa et al. // *J. Gastrointest. Cancer.* – 2006. – Vol. 37. – N 4. – P. 133-138.
73. Chung, J.W. Extended indication of endoscopic resection for mucosal early gastric cancer: analysis of a single center experience / J.W. Chung, H.Y. Jung, K.D. Choi et al. // *J. Gastroenterol. Hepatol.* – 2011. – Vol. 26(5). – P. 884-887. doi: 10.1111/j.1440-1746.2010.06611.x.
74. Shimada, S. Involvement of three or more lymph nodes predicts poor prognosis in submucosal gastric carcinoma / S. Shimada, Y. Yagi, U. Honmyo et al. // *Gastric Cancer.* – 2001. – Vol. 4(2). – P. 54-59.
75. Zigrino, P. Tumor-stroma interactions: their role in the control of tumor cell invasion / P. Zigrino, S. Löffek, C. Mauch // *Biochimie.* – 2005. – Vol. 87(3-4). – P. 321-328. Review. PMID: 15781319
76. Giatromanolaki, A. The pathology of tumor stromatogenesis / A. Giatromanolaki, E. Sivridis, M.I. Koukourakis // *Cancer Biol. Ther.* – 2007. – Vol. 6(5). – P. 639-645. PMID: 17534144
77. Sakita, T. Observations on the healing of ulcerations in early gastric cancer. The life cycle of the malignant ulcer / T. Sakita, Y. Oguro, S. Takasu et al. // *Gastroenterol.* – 1971. – Vol. 60(5). – P. 835-839.
78. Im, J.P. Time-dependent morphologic change in depressed-type early gastric cancer / J.P. Im, S.G. Kim, J.S. Kim et al. // *Surg. endoscopy.* – 2009. – Vol. 23(11). – P. 2509-2514.
79. Hwang, C.S. Risk of lymph node metastasis in mixed-type early gastric cancer determined by the extent of the poorly differentiated component / C.S. Hwang, S. Ahn, B.E. Lee et al. // *World J. Gastroenterol.* – 2016. – Vol. 22. – P. 4020-4026.
80. Haruta, H. Clinicopathological study of lymph-node metastasis in 1389 patients with early gastric cancer: Assessment of indications for endoscopic resection / H. Haruta, Y. Hosoya, K. Sakuma et al. // *J. Dig. Dis.* – 2008. – Vol. 9. – P. 213-218.
81. Nishida, T. [The risk factors of lymph node metastasis in submucosal invasive gastric carcinoma--assessment of the indication for endoscopic treatment] / T. Nishida, S. Tanaka, K. Haruma et al. // *Nihon Shokakibyō Gakkai zasshi.* – 1994. – Vol. 91(9). – P. 1399-1406.

82. Pang, B.R. Predictive factors for lymph node metastasis in patients with poorly differentiated early gastric cancer / Pang BR1, Zhu ZL, Li C et al. // *Zhonghua Wei Chang Wai Ke Za Zhi*. – 2019. – Vol. 22(5). – P. 446-450. doi: 10.3760/cma.j.issn.1671-0274.2019.05.010.
83. Fukayama, M. Tumours of the stomach / M. Fukayama, M. Ruge, M.K. Washington // WHO Classification of Tumours Editorial Board. Digestive Tumours. – Lyon (France): IARC. – 2019. – P. 59-109.
84. Nakamura, K. Carcinoma of the stomach in incipient phase: its histogenesis and histological appearances. / K. Nakamura, H. Sugano, K. Takagi // *Gan*. – 1968. – Vol. 59. – P. 251-258.
85. Nesi, G. Pathological predictors of lymph node involvement in submucosal gastric carcinoma: a retrospective analysis of long-term outcome / G. Nesi, G. Basili, L.R. Girardi et al. // *In Vivo*. – 2009. – Vol. 23. – P. 337-341.
86. Pyo, J.H. Early gastric cancer with a mixed-type Lauren classification is more aggressive and exhibits greater lymph node metastasis / J.H. Pyo, H. Lee, B.H. Min et al. // *J. Gastroenterol*. – 2017. – Vol. 52(5). – P. 594-601. doi: 10.1007/s00535-016-1254-5.
87. An, J.Y. Predictive factors for lymph node metastasis in early gastric cancer with submucosal invasion: analysis of a single institutional experience / J.Y. An, Y.H. Baik, M.G. Choi et al. // *Ann. Surg.* – 2007. – Vol. 246(5). – P. 749-753.
88. Lai, J.F. Effect of World Health Organization (WHO) Histological Classification on Predicting Lymph Node Metastasis and Recurrence in Early Gastric Cancer / J.F. Lai, W.N. Xu, S.H. Noh et al. // *Med. Sci. Monit.* – 2016. – Vol. 22. – P. 3147-3153.
89. Chu, Y.N. Feasibility of endoscopic treatment and predictors of lymph node metastasis in early gastric cancer / Y.N. Chu, Y.N. Yu, X. Jing et al. // *World J. Gastroenterol.* – 2019. – Vol. 25(35). – P. 5344-5355. doi: 10.3748/wjg.v25.i35.5344.
90. Tanabe, H. Clinicopathological characteristics of intramucosal gastric carcinoma with lymph node metastasis / H. Tanabe, A. Iwashita, S. Haraoka et al. // *Stomach Intest.* – 2006. – Vol. 41. – P. 1119-1129.
91. Chen, L. Surgical treatment for patients with gastric cancer: report of 2335 cases (in Chinese) / L. Chen, Y. Zhang, B. Wei et al. // *Chin. J. Gastrointest. Surg.* – 2007. – Vol. 10. – P. 421-424.
92. Fujimoto, A. Significance of lymphatic invasion on regional lymph node metastasis in early gastric cancer using LYVE-1 immunohistochemical analysis / A. Fujimoto, Y. Ishikawa, Y. Akishima-Fukasawa et al. // *Am. J. Clin. Pathol.* – 2007. – Vol. 127. – P. 82-88.
93. Фильченков, А.А. Обзор литературы. Лимфоангиогенез и метастазирование опухолей / А.А. Фильченков // *Креативная хирургия и онкология*. – 2009. – Т. 2. – С. 80-90.

94. Liu, C. Prognostic role of lymphatic vessel invasion in early gastric cancer: a retrospective study of 188 cases / C. Liu, R. Zhang, Y. Lu et al. // *Surg. Oncol.* – 2010. – Vol. 19. – P. 4-10.
95. Yano, T. Long-term outcomes of patients with early gastric cancer found to have lesions for which endoscopic treatment is not indicated on histopathological evaluation after endoscopic submucosal dissection / T. Yano, K. Ishido, S. Tanabe et al. // *Surg. Endosc.* – 2018. – Vol. 32(3). – P. 1314-1323. doi.org/10.1007/s00464-017-5809-1.
96. Jeon, H.K. Long-term outcome of endoscopic submucosal dissection is comparable to that of surgery for early gastric cancer: a propensity-matched analysis / H.K. Jeon, G.H. Kim, B.E. Lee et al. // *Gastric Cancer.* – 2018. – Vol. 21(1). – P. 133-143. doi.org/10.1007/s10120-017-0719-4.
97. Kampschoer, G. Computer analysis in making preoperative decisions: a rational approach to lymph node dissection in gastric cancer patients / G. Kampschoer, K. Maruyama, C.J. van de Velde et al. // *Br. J. Surg.* – 1989. – Vol. 76(9). – P. 905-908.
98. Guadagni, S. Evaluation of the Maruyama computer program accuracy for preoperative estimation of lymph node metastases from gastric cancer / S. Guadagni, G. de Manzoni, M. Catarci et al. // *World J. Surg.* – 2000. – Vol. 24(12). – P. 1550-1558.
99. Hasuike, N. Japanese gastric cancer treatment guidelines / N. Hasuike, H. Ono, N. Boku et al. // *Gastric Cancer.* – 2018. – Vol. 21(1). – P. 114-123. doi: 10.1007/s10120-017-0704-y.
100. Park, J.H. Prediction of the indication criteria for endoscopic resection of early gastric cancer / J.H. Park, S.H. Lee, J.M. Park et al. // *World J. Gastroenterol.* – 2015. – Vol. 21. – P. 11160-11167.
101. Kang, H.J. Lymph node metastasis from intestinal-type early gastric cancer: experience in a single institution and reassessment of the extended criteria for endoscopic submucosal dissection / H.J. Kang, D.H. Kim, T.Y. Jeon et al. // *Gastrointest. Endosc.* – 2010. – Vol. 72. – P. 508-515.
102. Abdelfatah, M. The incidence of lymph node metastasis in early gastric cancer according to the expanded criteria in comparison with the absolute criteria of the Japanese Gastric Cancer Association: a systematic review of the literature and meta-analysis / M. Abdelfatah, M. Barakat, H. Lee et al. // *Gastrointest. Endosc.* – 2018. – Vol. 87(2). – P. 338-347.
103. Songun, I. Surgical treatment of gastric cancer: 15-year follow-up results of the randomised nationwide Dutch D1D2 trial / I. Songun, H. Putter, E.M. Kranenbarg et al. // *Lancet Oncol.* – 2010. – Vol. 11(5). – P. 439-449.
104. Borie, F. French Associations for Surgical Research: Appropriate gastric resection with lymph node dissection for early gastric cancer / F. Borie, N. Plaisant, B. Millat et al. // *Ann. Surg. Oncol.* – 2004. – Vol. 11. – P. 512-517.

105. Nitti, D. Extended lymphadenectomy (D2) in patients with early gastric cancer / D. Nitti, A. Marchet, E. Mammano et al. // *Eur. J. Surg. Oncol.* – 2005. – Vol. 31. – P. 875-881.
106. Ajani, J.A. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology / J.A. Ajani, T.A. D'Amico, K. Almhanna et al. // *Natl. Compr. Canc. Netw.* – 2016. – Vol. 14(10). – P. 1286-1312.
107. Ahmad, R. Predictors of Lymph Node Metastasis in Western Early Gastric Cancer / R. Ahmad, N. Setia, B.H. Schmidt et al. // *J. Gastrointest. Surg.* – 2016. – Vol. 20(3). – P. 531-538. doi: 10.1007/s11605-015-2945-6.
108. Lambert R. Update on the Paris classification of superficial neoplastic lesions in the digestive tract / Lambert R. // *Endoscopy.* – 2005. – Vol. 37(6). – P. 570-578.
109. Ishikawa, S. Indications for EMR/ESD in cases of early gastric cancer: relationship between histological type, depth of wall invasion, and lymph node metastasis / S. Ishikawa, A. Togashi, M. Inoue et al. // *Gastric Cancer.* – 2007. – Vol. 10. – P. 35-38.
110. Degiuli, M. Survival of early gastric cancer in a specialized European center. Which lymphadenectomy is necessary? / M. Degiuli, F. Calvo // *World J. Surg.* – 2006. – Vol. 30. – P. 2193-2203.
111. Hatta, W. Is radical surgery necessary in all patients who do not meet the curative criteria for endoscopic submucosal dissection of early gastric cancer? A multicenter retrospective study in Japan / W. Hatta, T. Gotoda, T. Oyama et al. // *J. Gastroenterol.* – 2016. – Vol. 52. – P. 175-184. DOI 10.1007/s00535-016-1210-4.
112. Hatta, W. A Scoring System to Stratify Curability after Endoscopic Submucosal Dissection for Early Gastric Cancer: “eCura system” / W. Hatta, T. Gotoda, T. Oyama et al. // *Am. J. Gastroenterol.* – 2017. – Vol. 112(6). – P. 874-881. doi:10.1038/ajg.2017.95.
113. Kurokawa, Y. Gastrointestinal Oncology Study Group of Japan Clinical Oncology Group. A phase II trial of endoscopic submucosal dissection for mucosal gastric cancer: Japan Clinical Oncology Group Study JCOG0607 / Y. Kurokawa, N. Hasuike, H. Ono et al. // *Jpn. J. Clin. Oncol.* – 2009. – Vol. 39. – P. 464-466.
114. Takizawa, K. A phase II clinical trial of endoscopic submucosal dissection for early gastric cancer of undifferentiated type: Japan Clinical Oncology Group study JCOG1009/1010. Gastrointestinal Endoscopy Study Group (GIESG) of Japan Clinical Oncology Group (JCOG); Stomach Cancer Study Group (SCSG) of Japan Clinical Oncology Group (JCOG) / K. Takizawa, A. Takashima, A. Kimura et al. // *J. Clin. Oncol.* – 2013. – Vol. 43(1). – P. 87-91. doi: 10.1093/jjco/hys189.
115. Abe, N. Endoscopic treatment or surgery for undifferentiated early gastric cancer? / N. Abe, T. Watanabe, M. Sugiyama et al. // *Am. J. Surg.* – 2004. – Vol. 188. – P. 181-184.

116. Sekiguchi, M. Risk stratification and predictive risk-scoring model for lymph node metastasis in early gastric cancer / M. Sekiguchi, I. Oda, H. Taniguchi et al. // *J. Gastroenterol.* – 2016. – Vol. 51(10). – P. 961-970. doi:10.1007/s00535-016-1180-6.
117. Suzuki, S. Survival benefit of additional surgery after non-curative endoscopic submucosal dissection for early gastric Cancer: a propensity score matching analysis / S. Suzuki, T. Gotoda, W. Hatta et al. // *Ann. Surg. Oncol.* – 2017. – Vol. 24(11). – P. 3353-3360.
118. Zheng, Z. A nomogram for predicting the likelihood of lymph node metastasis in early gastric patients / Z. Zheng, Y. Zhang, L. Zhang et al. // *BMC Cancer.* – 2015. – Vol. 16. – P. 92-99.
119. Vickers, A.J. Decision curve analysis: a novel method for evaluating prediction models / A.J. Vickers, E.B. Elkin // *Med. Decis. Making.* – 2006. – Vol. 26(6). – P. 565-574.
120. Chen, S. Lymph nodes ratio based nomogram predicts survival of resectable gastric cancer regardless of the number of examined lymph nodes / S. Chen, H. Rao, J. Liu et al. // *Oncotarget.* – 2017. – Vol. 8(28). – P. 45585-45596.
121. Nie, R.C. Additional gastrectomy in early-stage gastric cancer after non-curative endoscopic resection: a meta-analysis / R.C. Nie, S.Q. Yuan, Y.F. Li et al. // *Gastroenterol. Rep.* – 2019. – Vol. 7(2). – P. 91-97. doi:10.1093/gastro/goz007
122. Li, C. Risk factors for lymph node metastasis in undifferentiated early gastric cancer / C. Li, S. Kim, J.F. Lai et al. // *Ann. Surg. Oncol.* – 2008. – Vol. 15. – P. 764-769.
123. Chen, L. Riskfactors of lymphnodemetastasis in 1620 early gastric carcinoma radical resections in Jiangsu Province in China: A multicenter clinicopathological study / L. Chen, Y.H. Wang, Y.Q. Cheng et al. // *J. Dig. Dis.* – 2017. – Vol. 18(10). – P. 556-565. doi: 10.1111/1751-2980.12545.
124. Fujii, M. Pathological factors related to lymph node metastasis of submucosally invasive gastric cancer: criteria for additional gastrectomy after endoscopic resection / M. Fujii, Y. Egashira, H. Akutagawa et al. // *Gastric Cancer.* – 2013. – Vol. 16(4). – P. 521-530. doi: 10.1007/s10120-012-0215-9.
125. Zhao, X. J Predictive Factors for Lymph Node Metastasis in Undifferentiated Early Gastric Cancer: a Systematic Review and Meta-analysis / X. Zhao, A. Cai, H. Xi et al. // *Gastrointest Surg.* – 2017. – Vol. 21(4). – P. 700-711. doi: 10.1007/s11605-017-3364-7.
126. Kabashima, A. Relationship between biological behavior and phenotypic expression in undifferentiated-type gastric carcinomas / A. Kabashima, T. Yao, Y. Maehara et al. // *Gastric Cancer.* – 2005. – Vol. 8. – P. 220-227.
127. Lesuffleur, T. Mucins in normal and neoplastic human gastrointestinal tissues / T. Lesuffleur, A. Zweibaum, F.X. Real // *Critical reviews in oncology/hematology.* – 1994. – Vol. 17(3). – P. 153-180.

128. Kawachi, H. Absence of either gastric or intestinal phenotype in microscopic differentiated gastric carcinomas / H. Kawachi, T. Takizawa, Y. Eishi et al. // *J. Pathol.* – 2003. – Vol. 199(4). – P. 436-446.
129. Tatematsu, M. Gastric and intestinal phenotypic expression of human stomach cancers as revealed by pepsinogen immunohistochemistry and mucin histochemistry / M. Tatematsu, M. Ichinose, K. Miki et al. // *Acta Pathol. Jpn.* – 1990. – Vol. 40. – P. 494-504.
130. Watanabe, H. Re-evaluation of mucin phenotypes of gastric minute well-differentiated-type adenocarcinomas using a series of HGM, MUC5AC, MUC6, M-GGMC, MUC2 and CD10 stains / H. Watanabe, Y. Ajioka, G. Watanabe et al. // *Pathol. Int.* – 2004. – Vol. 54. – P. 311-321.
131. Kabashima, A. Relationship between biological behavior and phenotypic expression in undifferentiated-type gastric carcinomas / A. Kabashima, T. Yao, Y. Maehara et al. // *Gastric Cancer.* – 2005. – Vol. 8. – P. 220-227.
132. Tajima, Y. Gastric and intestinal phenotypic marker expression in early differentiated-type tumors of the stomach: clinicopathologic significance and genetic background / Y. Tajima, K. Yamazaki, R. Makino et al. // *Clin. Cancer Res.* – 2006. – Vol. 12. – P. 6469-6479.
133. Egashira, Y. Mucin histochemical analysis of minute gastric differentiated adenocarcinoma / Y. Egashira, T. Shimoda, M. Ikegami // *Pathol. Int.* – 1999. – Vol. 49. – P. 55-61.
134. Koseki, K. Distinction of differentiated type early gastric carcinoma with gastric type mucin expression / K. Koseki, T. Takizawa, M. Koike // *Cancer.* – 2000. – Vol. 89. – P. 724-732.
135. Hong, S.J. Expression of immunohistochemical markers according to histological type in patients with early gastric cancer / S.J. Hong, H.K. Kim, H.S. Kim et al. // *Scand. J. Gastroenterol.* – 2015. – Vol. 51(1). – P. 60-66. doi:10.3109/00365521.2015.1065510
136. Namikawa T. Mucin phenotype of gastric cancer and clinicopathology of gastric-type differentiated adenocarcinoma / T. Namikawa, K. Hanazaki // *World J. Gastroenterol.* – 2010. – Vol. 16(37). – P. 4634.
137. Hayakawa, M. Reevaluation of phenotypic expression in differentiated-type early adenocarcinoma of the stomach / M. Hayakawa, K. Nishikura, Y. Ajioka et al. // *Pathol. Int.* – 2017. – Vol. 67(3). – P. 131-140. doi:10.1111/pin.12506
138. Nakamoto, J. Clinicopathological evaluation of biological behavior of submucosal invasive gastric carcinomas: relationship among lymph node metastasis, mucin phenotype and proliferative activity / H. Kawachi, J. Nakamoto, R. Torisu et al. // *J. Med. Invest.* – 2007. – Vol. 54(1-2). – P. 99-108.
139. Nie, L. Gastric mixed adenoneuroendocrine carcinoma: correlation of histologic characteristics with prognosis / L. Nie, M. Li, X. He et al. // *Ann. Diagn. Pathol.* – 2016. – Vol. 25. – P. 48-53.

140. Min, B.H. Outcomes of endoscopic submucosal dissection for differentiated-type early gastric cancer with histological heterogeneity / B.H. Min, K.M. Kim, C.K. Park et al. // *Gastric Cancer*. – 2015. – Vol. 18. – P. 618-626.
141. Hondo, FY. Characterization of the mucin phenotype can predict gastric cancer recurrence after endoscopic mucosal resection / F.Y. Hondo, H. Kishi, A.V. Safatle-Ribeiro et al. // *Arq. Gastroenterol.* – 2017. – Vol. 54(4). – P. 308-314. doi: 10.1590/s0004-2803.201700000-38.
142. Cavalcanti, E. Mucin phenotype of differentiated early gastric cancer: an immunohistochemistry study supporting therapeutic decision making / E. Cavalcanti, F. De Michele, G. Lantone et al. // *Cancer Manag. Res.* – 2019. – Vol. 11. – P. 5047-5054. doi: 10.2147/CMAR.S193994. eCollection 2019.
143. Matsuoka, M. Significance of the mucin phenotype of early gastric cancer / M. Matsuoka, Y. Aizawa, H. Nagamata et al. // *Jikeikai Med. J.* – 2003. – Vol. 50. – P. 29-36.
144. Correa, P. Phenotypic and genotypic events in gastric carcinogenesis / P. Correa, Y. Shiao // *Cancer research.* – 1994. – Vol. 54(7). – Suppl. – P. 1941s-1943s.
145. Lee, Y.S. Genomic profile analysis of diffuse-type gastric cancers / Y.S. Lee, Y.S. Cho, G.K. Lee et al. // *Genome Biol.* – 2014. – Vol. 15(4). – P. R55.
146. Goodwin, M. Classical cadherin adhesion molecules: coordinating cell adhesion, signaling and the cytoskeleton / M. Goodwin, A.S. Yap // *J. Mol. Histol.* – 2004. – Vol. 35. – P. 839-844.
147. Morohara, K. Gastric and intestinal phenotypic cellmarker expressions in gastric differentiated-type carcinomas: association with E-cadherin expression and chromosomal changes / K. Morohara, Y. Tajima, K. Nakao, et al. // *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* – 2006. – Vol. 132. – P. 363-375.
148. Gall, T.M.H. Gene of the month: E-cadherin (CDH1) / T.M.H. Gall, A.E. Frampton // *J. Clin. Pathol.* – 2013. – Vol. 66. – P. 928-932.
149. Shenoy, S. CDH1 (E-Cadherin) Mutation and Gastric Cancer: Genetics, Molecular Mechanisms and Guidelines for Management / S. Shenoy // *Cancer Manag. Res.* – 2019. – Vol. 11. – P. 10477-10486. doi: 10.2147/CMAR.S208818. 2019.
150. Lynch, H.T. Hereditary diffuse gastric cancer: diagnosis, genetic counseling, and prophylactic total gastrectomy / H.T. Lynch, P. Kaurah, D. Wirtzfeld et al. // *Cancer*. 2008. – Vol. 112. – P. 2655-2663.
151. Fitzgerald, R.C. Hereditary diffuse gastric cancer: updated consensus guidelines for clinical management and directions for future research / R.C. Fitzgerald, R. Hardwick, D. Huntsman et al. // *J. Med. Genetics.* – 2010. – Vol. 47(7). – P. 436-444.
152. Tan, P. Genetics and molecular pathogenesis of gastric adenocarcinoma / P. Tan, K.G. Yeoh // *Gastroenterol.* – 2015. – Vol. 149(5). – P. 1153-1162. doi:10.1053/j.gastro.2015.05.059

153. Zhou, Y.N. Expression of E-cadherin and beta-catenin in gastric carcinoma and its correlation with the clinicopathological features and patient survival / Y.N. Zhou, C.P. Xu, B. Han et al. // *World J. Gastroenterol.* – 2002. – Vol. 8(6). – P. 987-993.
154. Shun, C.T. Immunohistochemical evaluation of cadherin and catenin expression in early gastric carcinomas: correlation with clinicopathologic characteristics and *Helicobacter pylori* infection / C.T. Shun, M.S. Wu, M.T. Lin et al. // *Oncology.* – 2001. – Vol. 60. – P. 339-345.
155. Han, J.P. Expression of immunohistochemical markers according to histological type in patients with early gastric cancer / J.P. Han, S.J. Hong, H.K. Kim et al. // *Scand. J. Gastroenterol.* – 2016. – Vol. 51. – P. 60-66.
156. Xing, X. The prognostic value of E-cadherin in gastric cancer: a meta-analysis / X. Xing, Y.B. Tang, G. Yuan et al. // *Int. J. Cancer.* – 2013. – Vol. 132(11). – P. 2589-2596. doi: 10.1002/ijc.27947.
157. Ji, T. Risk factors for lymph node metastasis of early gastric cancers in patients younger than 40 / T. Ji, F. Zhou, J. Wang et al. // *Medicine (Baltimore).* – 2017. – Vol. 96(37). – e7874. doi: 10.1097/MD.00000000000007874 PMID: 28906366
158. Lee, K.B. Protein expression status in mucosal and submucosal portions of early gastric cancers and their predictive value for lymph node metastasis / K.B. Lee, D.J. Park, G. Choe et al. // *APMIS.* – 2013. – Vol. 121(10). – P. 926-937. doi:10.1111/apm.12119
159. Yoshii, T. Pilot research for the correlation between the expression pattern of E-cadherin- β -catenin complex and lymph node metastasis in early gastric cancer / T. Yoshii, Y. Miyagi, Y. Nakamura et al. // *Author Informat.* – 2013. – Vol. 99(2). – P. 234-238. doi: 10.1700/1283.14198.12 Dec 13.
160. Nam, K.H. Predictive value for lymph node metastasis of epithelial-mesenchymal transition and cancer stem cell marker expression in early gastric cancer / K.H. Nam, H. Yoon, K. Lee et al. // *Pathol. Res. Pract.* – 2017. – Vol. 213(9). – P. 1221-1226. doi: 10.1016/j.prp.2017.03.010.
161. Yi, K.D. Ecadherin expression in early gastric carcinoma and correlation with lymph node metastasis / K.D. Yi, J.J. Kyoon, P.Y. Kyu et al. // *J. Surg. Oncol.* – 2007. – Vol. 96. – P. 429-435.
162. Joo, Y.E. Expression of e-cadherin and catenins in early gastric cancer / Y.E. Joo, J.S. Rew, S.K. Choi et al. // *J. Clin. Gastroenterol.* – 2002. – Vol. 35. – P. 35-42.
163. Tamura, G. Alterations of tumor suppressor and tumor-related genes in the development and progression of gastric cancer / G. Tamura // *World J. Gastroenterol.* – 2006. – Vol. 12. – P. 192-198.

164. Yamazaki, K. Tumor differentiation phenotype in gastric differentiated-type tumors and its relation to tumor invasion and genetic alterations / K. Yamazaki, Y. Tajima, R. Makino et al. // *World J. Gastroenterol.* – 2006. – Vol. 12. – P. 3803-3809.
165. Oliveira, C. Familial gastric cancer: Genetic susceptibility, pathology, and implications for management / C. Oliveira, H. Pinheiro, J. Figueiredo et al. // *Lancet Oncol.* – 2015. – Vol. 16. – P. e60-70.
166. Niimi, C. Usefulness of p53 and Ki-67 immunohistochemical analysis for preoperative diagnosis of extremely well-differentiated gastric adenocarcinoma / C. Niimi, H. Goto, N. Ohmiya et al. // *Am. J. Clin. Pathol.* – 2002. – Vol. 118(5). – P. 683-692.
167. Levine, A.J. The p53 tumour suppressor gene. Department of Molecular Biology, Lewis Thomas Laboratory, Princeton University, New Jersey 08544-1014 / A.J. Levine, J. Momand, C.A. Finlay // *Nature.* – 1991. – Vol. 351(6326). – P. 453-456.
168. Momand, J. The mdm-2 oncogene product forms a complex with the p53 protein and inhibits p53-mediated transactivation / J. Momand, G.P. Zambetti, D.C. Olson // *Cell.* – 1992. – Vol. 69. – P.1237-1245.
169. Lee, W.S. Expression of Cyclooxygenase-2, p53 and Ki-67 in Gastric Cancer / W.S. Lee, H.S. Kim, S.K. Choi et al. // *J. Korean Med. Sci.* – 2006. – Vol. 21. – P. 871-876.
170. Takeda, Y. Expression of AID, P53, and Mlh1 proteins in endoscopically resected differentiated-type early gastric cancer / Y. Takeda, K. Yashima, A. Hayashi et al. // *World J. Gastrointest. Oncol.* – 2012. – Vol. 4(6). – P. 131-137. doi: 10.4251/wjgo.v4.i6.131.
171. Gonçalves, A.R. Prognostic significance of p53 protein expression in early gastric cancer / A.R. Gonçalves, A.J. Carneiro, I. Martins et al. // *Pathol. Oncol. Res.* – 2011. – Vol. 17(2). – P. 349-355. doi: 10.1007/s12253-010-9333-z.
172. Sugai, T. Analysis of cell cycle-related proteins in gastric intramucosal differentiated-type cancers based on mucin phenotypes: a novel hypothesis of early gastric carcinogenesis based on mucin phenotype / T. Sugai, M. Tsukahara, M. Endoh // *BMC Gastroenterol.* – 2010. – Vol. 10(55). doi: 10.1186/1471-230X-10-55.
173. Xiangming, C. Cooccurrence of reduced expression of alpha-catenin and overexpression of p53 is a predictor of lymph node metastasis in early gastric cancer / C. Xiangming, S. Hokita, S. Natsugoe et al. // *Oncol.* – 1999. – Vol. 57. – P. 131-137. doi: 10.1159/000012020.
174. Kanai, T. P53 overexpression and proliferative activity do not correlate with lymph node metastasis in early gastric cancer / T. Kanai, H. Konno, K. Maruyama et al. // *Eur. Surg. Res.* – 1997. – Vol. 29. – P. 35-41.
175. Jiaqing, L. Role of cyclin E and p53 expression in progression of early gastric cancer / L. Jiaqing, S. Hokita, C. Xiangming et al. // *Gastric Cancer.* – 1998. – Vol. 1. – P. 160-165.

176. Liu, J.Y. The prognosis role of AJCC/UICC 8th edition staging system in gastric cancer, a retrospective analysis / J.Y. Liu, C.W. Peng, X.J. Yang et al. // *Am. J. Transl. Res.* – 2018. – Vol. 10(1). – P. 292-303.
177. Choi, J. Short-Term Outcomes of Endoscopic Submucosal Dissection in Patients with Early Gastric Cancer: A Prospective Multicenter Cohort Study II / J. Choi, N.R. Lee, S.G. Kim et al. // *Gut Liver.* – 2016. – Vol. 10(5). – P. 739-748. doi: 10.5009/gnl15466 PMID: PMC5003197 PMID: 27172929
178. Hirasawa, T. Incidence of lymph node metastasis and the feasibility of endoscopic resection for undifferentiated-type early gastric cancer / T. Hirasawa, T. Gotoda, S. Miyata et al. // *Gastric Cancer.* – 2009. – Vol. 12. – P. 148-152.
179. Ikarashi, S. Re-evaluation of phenotypic expression in undifferentiated-type early adenocarcinomas using mucin core protein and CDX2 / S. Ikarashi, K. Nishikura, Y. Ajioka et al. // *Gastric Cancer.* – 2013. – Vol. 16. – P. 208-219.
180. Zou, X. Clinicopathology of early gastric carcinoma: an update for pathologists and gastroenterologists / X. Zou // *Gastrointest Tumors.* – 2017. – Vol. 3(3–4). – P. 115-124. doi:10.1159/000456005
181. Wang, Y.W. Predictable factors for lymph node metastasis in early gastric cancer analysis of clinicopathologic factors and biological markers / Y.W. Wang, M.L. Zhu, R.F. Wang et al. // *Tumour Biol.* – 2016. – Vol. 37(7). – P. 8567-8578. doi: 10.1007/s13277-015-4721-3.
182. Yoshida, T. Identification of early genetic changes in well-differentiated intramucosal gastric carcinoma by target deep sequencing / T. Yoshida, T. Yamaguchi, S. Maekawa et al. // *Gastric Cancer.* – 2019. – Vol. 22(4). – P. 742-750. doi: 10.1007/s10120-019-00926-y.