

Для цитирования: Ракина Ю.Ю., Крахмаль Н.В., Письменный Д.С., Завьялов А.В., Вторушин С.В., Афанасьев С.Г., Завьялова М.В. Показатели экспрессии интегринов $\beta 1$, $\beta 3$, MMP2 и особенности морфологической гетерогенности протоковой аденокарциномы поджелудочной железы, ассоциированные с гематогенным метастазированием. Сибирский онкологический журнал. 2023; 22(2): 93–102. – doi: 10.21294/1814-4861-2023-22-2-93-102

For citation: Rakina Yu. Yu., Krakhmal N. V., Pismenny D. S., Zavyalov A. V., Vtorushin S. V., Afanasyev S. G., Zavyalova M. V. Expression levels of $\beta 1$, $\beta 3$ integrins and MMP2 and features of morphological heterogeneity of pancreatic ductal adenocarcinoma associated with distant metastasis. Siberian Journal of Oncology. 2023; 22(2): 93–102. – doi: 10.21294/1814-4861-2023-22-2-93-102

ПОКАЗАТЕЛИ ЭКСПРЕССИИ ИНТЕГРИНОВ $\beta 1$, $\beta 3$, MMP2 И ОСОБЕННОСТИ МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ ГЕТЕРОГЕННОСТИ ПРОТОВОКОЙ АДЕНОКАРЦИНОМЫ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ, АССОЦИИРОВАННЫЕ С ГЕМАТОГЕННЫМ МЕТАСТАЗИРОВАНИЕМ

Ю.Ю. Ракина¹, Н.В. Крахмаль^{1,2}, Д.С. Письменный^{1,2}, А.В. Завьялов¹, С.В. Вторушин^{1,2}, С.Г. Афанасьев², М.В. Завьялова^{1,2}

ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Томск, Россия. E-mail: zavyalovamv@mail.ru¹

Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2¹

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный

исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия²

Россия, 634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5²

Аннотация

Рак поджелудочной железы характеризуется выраженным инвазивным ростом и высокой склонностью к лимфогенному и гематогенному метастазированию. В основе инвазии и метастазирования рака поджелудочной железы лежат молекулярные механизмы, обеспечивающие эпителиально-мезенхимальный переход, в частности изменения экспрессии $\beta 1$, интегрина $\beta 3$, MMP2. Фенотипическим проявлением реализации инвазивного потенциала рака поджелудочной железы может являться гетерогенность морфологического строения паренхиматозного компонента протоковой аденокарциномы. **Цель исследования** – изучить показатели экспрессии интегрин $\beta 1$, интегрин $\beta 3$, MMP2 и особенности морфологической гетерогенности ткани первичной опухоли протоковой аденокарциномы поджелудочной железы и сопоставить полученные данные с гематогенным метастазированием. **Материал и методы.** В группу исследования были включены 84 пациента с морфологически верифицированной протоковой аденокарциномой поджелудочной железы, T1–4N0–2M0–1 стадии, средний возраст – $58,6 \pm 9,1$ года. Все пациенты получали разный объем хирургического лечения, при котором осуществлялась инцизионная биопсия ткани первичной опухоли. Экспрессия маркеров интегрин $\beta 1$, интегрин $\beta 3$ и MMP2 оценивалась иммуногистохимическим методом. **Результаты.** В группе больных с гематогенными метастазами, по сравнению с группой без отдаленной диссеминации, чаще обнаруживались случаи с позитивной экспрессией интегрин $\beta 3$ в железистоподобных (87 vs 12 %; $p=0,001$), трабекулярных (100 vs 22 %; $p=0,004$) и солидных структурах (100 vs 8 %; $p=0,001$), чаще обнаруживались случаи с позитивной экспрессией матриксной металлопротеиназы в железистоподобных (87 vs 32 %; $p=0,001$) и солидных структурах (100 vs 27 %; $p=0,001$), реже обнаруживались случаи с позитивной экспрессией интегрин $\beta 1$ в железистоподобных (27 vs 86 %; $p=0,001$), трабекулярных (25 vs 79 %; $p=0,007$), солидных структурах (0 vs 93 %; $p=0,001$) и в группах опухолевых клеток (18 vs 60 %). На основании исследования создана математическая модель логистической регрессии для прогнозирования риска развития гематогенного метастазирования протоковой аденокарциномы поджелудочной железы $P=e^Y/(1+e^Y)$, где $Y=(-6,71 + 30,9 \times X_1 - 27,2 \times X_2)$; X_1 – наличие или отсутствие экспрессии интегрин $\beta 3$ в клетках железистоподобных структур паренхиматозного компонента первичной опухоли; X_2 – наличие или отсутствие экспрессии матриксной металлопротеиназы 2 в клетках железистоподобных структур паренхиматозного компонента первичной опухоли. Степень достоверности модели $\chi^2=34,0$; $p<0,001$, чувствительность – 89 %, специфичность – 87 %. **Заключение.** Экспрессия маркеров интегрин $\beta 1$, интегрин $\beta 3$ и MMP2 в различных структурах паренхиматозного компонента протоковой

аденокарциномы поджелудочной железы ассоциирована с гематогенным метастазированием. Особое значение имеет локализация экспрессии изучаемых маркеров в железистоподобных структурах ткани новообразования, наличие позитивной экспрессии интегрин $\beta 3$ и MMP2 практически во всех типах опухолевых структур взаимосвязано с наибольшей частотой гематогенной диссеминации. Выполненное исследование позволило разработать математическую модель для прогнозирования вероятности развития гематогенного метастазирования протоковой аденокарциномы поджелудочной железы.

Ключевые слова: протоковая аденокарцинома поджелудочной железы, интегрин $\beta 1$ и $\beta 3$, MMP2, морфологическая гетерогенность опухоли, гематогенные метастазы.

EXPRESSION LEVELS OF $\beta 1$, $\beta 3$ INTEGRINS AND MMP2 AND FEATURES OF MORPHOLOGICAL HETEROGENEITY OF PANCREATIC DUCTAL ADENOCARCINOMA ASSOCIATED WITH DISTANT METASTASIS

Yu.Yu. Rakina¹, N.V. Krakhmal^{1,2}, D.S. Pismenny^{1,2}, A.V. Zavyalov¹, S.V. Vtorushin^{1,2}, S.G. Afanasyev², M.V. Zavyalova^{1,2}

Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia, Tomsk, Russia¹
2, Moskovsky tract, 634050, Tomsk, Russia. E-mail: zavyalovamv@mail.ru¹
Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia²
5, Kooperativny St., 634009, Tomsk, Russia²

Abstract

Background. Pancreatic cancer is characterized by pronounced invasive growth and a high tendency to lymphogenous and hematogenous metastasis. Molecular mechanisms underlying the epithelial-mesenchymal transition, in particular, changes in the expression of $\beta 1$, $\beta 3$ integrins and MMP2, contribute to the invasion and metastasis of pancreatic cancer. A phenotypic manifestation of invasive potential of pancreatic cancer may be the heterogeneity of the morphological structure of the parenchymal component of ductal adenocarcinoma. **The aim of the study** was to analyze the expression levels of $\beta 1$ integrin, $\beta 3$ integrin, MMP2 and the morphological heterogeneity in the tissue of pancreatic ductal adenocarcinoma, as well as to compare the data obtained with distant metastasis. **Material and Methods.** The study group included 84 patients with morphologically verified pancreatic ductal adenocarcinoma (T1–4N0–2M0–1). The median age of the patients was 58.6 ± 9.1 years. All patients underwent surgery, during which an incisional biopsy of the primary tumor tissue was performed. Expression of integrin $\beta 1$, integrin $\beta 3$, and MMP2 markers was assessed by immunohistochemistry. **Results.** The positive expression of $\beta 3$ integrin in glandular, trabecular, and solid structures was observed more frequently in patients with hematogenous metastases than in patients without distant metastases (87 vs 12 %, $p=0.001$; 100 vs 22 %, $p=0.004$; 100 vs 8 %, $p=0.001$, respectively). The positive expression of MMP2 in glandular and solid structures was also observed more often in patients with hematogenous metastases than in patients without distant metastases (87 vs 32 %, $p=0.001$ and 100 vs 27 %, $p=0.001$, respectively). The positive expression of integrin $\beta 1$ in glandular, trabecular, solid structures and tumor cells was observed less frequently in patients with hematogenous metastases than in patients without distant metastases (27 vs 86 %, $p=0.001$; 25 vs 79 %, $p=0.007$; 0 vs 93 %, $p=0.001$ and 18 vs 60 %, respectively). The logistic regression model for predicting the risk of hematogenous metastasis of pancreatic ductal adenocarcinoma was developed: $Y=(-6.71 + 30.9 \times X1 - 27.2 \times X2)$, where $X1$ – the presence or absence of $\beta 3$ integrin expression in the cells of the glandular structures, $X2$ – the presence or absence of MMP2 in the cells of the glandular structures. The risk of developing hematogenous metastasis was determined by the formula: $P=e^Y/(1+e^Y)$. Model confidence interval: $\chi^2=34.0$; $p<0.001$, sensitivity: 89 %, specificity: 87 %. **Conclusion.** Expression of integrin $\beta 1$, integrin $\beta 3$, and MMP2 markers in various structures of the parenchymal component of pancreatic ductal adenocarcinoma is associated with distant metastasis. The localization of the expression of the studied markers in the glandular structures of tumor tissue is of particular importance. The presence of positive expression of integrin $\beta 3$ and MMP2 in almost all types of tumor structures is associated with the highest frequency of distant dissemination.

Key words: ductal pancreatic adenocarcinoma, $\beta 1$ integrin, $\beta 3$ integrin, MMP2, tumor morphological heterogeneity, distant metastases.

Введение

Рак поджелудочной железы (РПЖ) является одним из наиболее неблагоприятных с точки зрения прогноза онкологических заболеваний. В последнее десятилетие отмечается неуклонный рост показателей заболеваемости, полагают, что к 2030 г. РПЖ может занять второе место в структуре онкологической смертности. Подобного рода тенденции связывают с отсутствием эффективного раннего скрининга карцином данной локализации, у большинства пациентов на момент постановки диагноза выявляются уже либо местнораспространенный процесс, либо признаки метастатической диссеминации, при этом показатели 5-летней выживаемости составляют 2–10 % [1–3]. Трудности диагностики патологии, с одной стороны, можно объяснить анатомическими особенностями органа, с другой – биологическими свойствами опухоли, склонной к выраженному инвазивному росту, раннему и обширному метастазированию.

Микроокружение опухоли и сложные механизмы взаимодействия между злокачественно измененными клетками карциномы поджелудочной железы и компонентами стромы имеют решающее значение для прогрессирования РПЖ, поскольку могут способствовать метастазированию вследствие стимуляции процессов ангиогенеза, лимфоангиогенеза, эпителиально-мезенхимального перехода, усиливают инвазивные свойства новообразования и определяют тем самым потенциал миграции клеток и формирование преме­та­статических ниш [4].

Инвазивный потенциал опухоли, в том числе РПЖ, может быть обусловлен особенностями экспрессии интегринов – белков межклеточной адгезии, обеспечивающих межклеточные и клеточно-стромальные взаимодействия. На данный момент описано около 20 вариантов интегринов, среди которых особое внимание уделяют интегрину $\beta 1$ – рецептору фибронектина, интегрину $\beta 3$ – рецептору ламинина. В свою очередь, интегрин $\beta 3$, связываясь с матриксной металлопротеиназой 2 (ММР2), приводит к активации киназ, участвующих в процессе инвазивного роста и клеточной миграции [5, 6]. Описано влияние молекул интегринов, в частности интегрин $\beta 1$, на усиление миграционных свойств клеток карциномы [7, 8], а также то, что интегрин-опосредованные взаимодействия, возникающие между компонентами внеклеточного матрикса и опухолевыми клетками при протоковой аденокарциноме поджелудочной железы, в значительной степени способствуют резистентности к терапии [9, 10].

В настоящее время известно, что РПЖ, в частности протоковая аденокарцинома, характеризуется гетерогенностью, что проявляется в разных вариантах клинического течения заболевания и в эффективности терапии [11]. Протоковая аденокарцинома поджелудочной железы, являясь

наиболее распространенным гистотипом РПЖ, представляет собой гетерогенное – и по своему морфологическому строению, и по молекулярным характеристикам – новообразование [12]. Вместе с тем, известно, что фенотипическое разнообразие паренхиматозного компонента опухоли может свидетельствовать об инвазивном потенциале новообразования и являться морфологическим проявлением инвазивного роста [13].

Гематогенные метастазы при РПЖ выявляются нередко уже на момент постановки диагноза, наиболее часто отмечается метастатическое поражение печени. Независимым прогностическим фактором риска гематогенного метастазирования в случаях протоковой аденокарциномы считают степень дифференцировки опухоли. В литературе также имеются сведения о связи частоты гематогенного метастазирования с экспрессией некоторых интегринов [14]. Таким образом, представляет интерес изучение взаимосвязи гематогенного метастазирования с молекулярными и морфологическими характеристиками ткани новообразования при протоковой аденокарциноме, которые могут быть ассоциированы с инвазивным опухолевым ростом.

Цель исследования – изучить показатели экспрессии интегрин $\beta 1$, интегрин $\beta 3$, ММР2 и особенности морфологической гетерогенности ткани первичной опухоли протоковой аденокарциномы поджелудочной железы, сопоставить полученные данные с гематогенным метастазированием.

Материал и методы

Группа исследования – 84 пациента с морфологически верифицированным диагнозом протоковой аденокарциномы поджелудочной железы T1–4N0–2M0–1 стадии (табл. 1), в возрасте от 37 до 83 лет (средний возраст – 58,6 ± 9,1 года). Пациенты проходили лечение в ОГАУЗ «Медицинский центр имени Г.К. Жерлова» и ФГБУ СибФНЦ ФМБА России Медицинский центр № 2 с 2007 по 2016 г. включительно. Стадия заболевания определялась, согласно классификации TNM 8-го пересмотра Союза по международному противораковому контролю (Unionfor International Cancer Control, UICC), диагноз протоковой аденокарциномы поджелудочной железы устанавливался на основании стандартных клинических и морфологических критериев. Все пациенты получали хирургическое лечение в следующем объеме: панкреатодуоденальная резекция – 23 (27 %) больных, резекция поджелудочной железы – 4 (5 %), билиодигестивный анастомоз – 20 (24 %), холецистостомия – 14 (17 %), дренирование холедоха – 18 (21 %), стентирование протоков и дренирование холедоха – 5 (6 %) пациентов. Предоперационная химиотерапия не проводилась. Инцизионная биопсия ткани первичной опухоли поджелудочной железы осуществлялась во всех случаях паллиативных операций. На момент

Клинические показатели и морфологические параметры первичной опухоли поджелудочной железы у пациентов группы исследования/

Clinical and morphological parameters of the primary pancreatic tumor in patients of the study group

Параметр/Parameters	Отсутствие гематогенных метастазов/ Absent of distant metastases (n=64)	Наличие гематогенных метастазов/ Present of distant metastases (n=20)	p
Возраст/Age, Ме (Q1; Q3)	61,0 (53,0; 69,0)	60,5 (54,0; 69,0)	0,933
Пол/Gender			
Мужчины/Male	29 (45 %)	12 (60 %)	0,241
Женщины/Female	64 (55 %)	8 (40 %)	0,241
Критерий T/Criterion T			
T1	–	–	1,000
T2	26 (41 %)	0	0,001
T3	15 (23 %)	2 (10 %)	0,203
T4	23 (36 %)	18 (90 %)	0,001
Критерий N/Criterion N			
N0	51 (80 %)	2 (10 %)	0,001
N1	10 (16 %)	3 (15 %)	0,915
N2	3 (4 %)	15 (75 %)	0,001

постановки диагноза в 20 (23,81 %) случаях диагностировано наличие гематогенных метастазов в печени, в 64 (76,19 %) – гематогенного метастазирования не было. Критерии включения в исследование: гистотип протоковой аденокарциномы, отсутствие предоперационного лечения на момент взятия биопсии. Исследование проводилось при информированном согласии пациентов и одобрено локальным этическим комитетом НИИ онкологии Томского НИМЦ.

Материалом для исследования являлись образцы опухолевой ткани, полученные во время хирургического этапа лечения (инцизионная биопсия). Образцы опухоли фиксировались в 10 % растворе нейтрального формалина, проводка материала и изготовление гистологических срезов осуществлялись по стандартной методике, препараты окрашивались гематоксилином и эозином. Морфологическое исследование опухоли выполнялось с применением светового микроскопа «Axio Lab.A1» (Carl Zeiss, Германия) и сканирующего микроскопа Mirax MIDI (Carl Zeiss, Германия). В ткани первичной опухоли оценивался гистологический тип рака, согласно рекомендациям ВОЗ (WHO Classification of Digestive System Tumours, 5th Edition, Lyon, 2019).

Первым этапом проводилось исследование гетерогенности строения паренхиматозного компонента ткани новообразования с выявлением структур различного типа: железистоподобные, трабекулярные, солидные структуры и дискретные группы опухолевых клеток (рис. 1). Железистоподобными считали однорядные замкнутые структуры с наличием просветов, образованные относительно мономорфными клетками с умеренной цитоплазмой и нормохромными ядрами округлой формы. Трабекулярными называли структуры, представ-

ляющие собой либо один ряд мелких достаточно мономорфных клеток, либо структуры, состоящие из 2–3 рядов параллельно расположенных клеток средних размеров с умеренно выраженной цитоплазмой, с округлыми нормо- или гиперхромными ядрами. Солидными считали структуры, состоящие из плотно прилежащих друг к другу мелких мономорфных клеток с умеренно выраженной цитоплазмой и мономорфными гиперхромными ядрами или из крупных клеток с обильной цитоплазмой и полиморфными ядрами, формирующих различные по размерам и форме поля. Дискретными группами называли различные по своей морфологии скопления от 1 до 4 опухолевых клеток. В большинстве случаев паренхиматозный компонент ткани новообразования был представлен разным сочетанием перечисленных структур.

Вторым этапом проводилось иммуногистохимическое исследование. Применялись антитела фирмы Abcam к интегину $\beta 1$ (Anti-Integrin $\beta 1$ antibody [4B7R] ab3167 Abcam, мышинные моноклональные, 1:20), к интегину $\beta 3$ (Anti-Integrin $\beta 3$ antibody [EPR2417Y] ab75872 Abcam, кроличьи моноклональные, 1:250) и к MMP2 (Anti-MMP2 antibody [6E3F8] ab86607 Abcam, мышинные моноклональные, 1:200). Иммуногистохимическое исследование выполнялось в соответствии со стандартными протоколами с использованием ручного метода окраски гистологических срезов. В каждом образце ткани первичной опухоли экспрессия интегрина $\beta 1$, интегрина $\beta 3$ и MMP2 оценивалась в каждом из присутствующих типов структур паренхиматозного компонента по наличию или отсутствию экспрессии (позитивная экспрессия или негативная экспрессия) маркера и проценту опухолевых клеток с позитивной экспрессией (в 10 полях зрения на 1000 клеток при $\times 400$) (рис. 2).

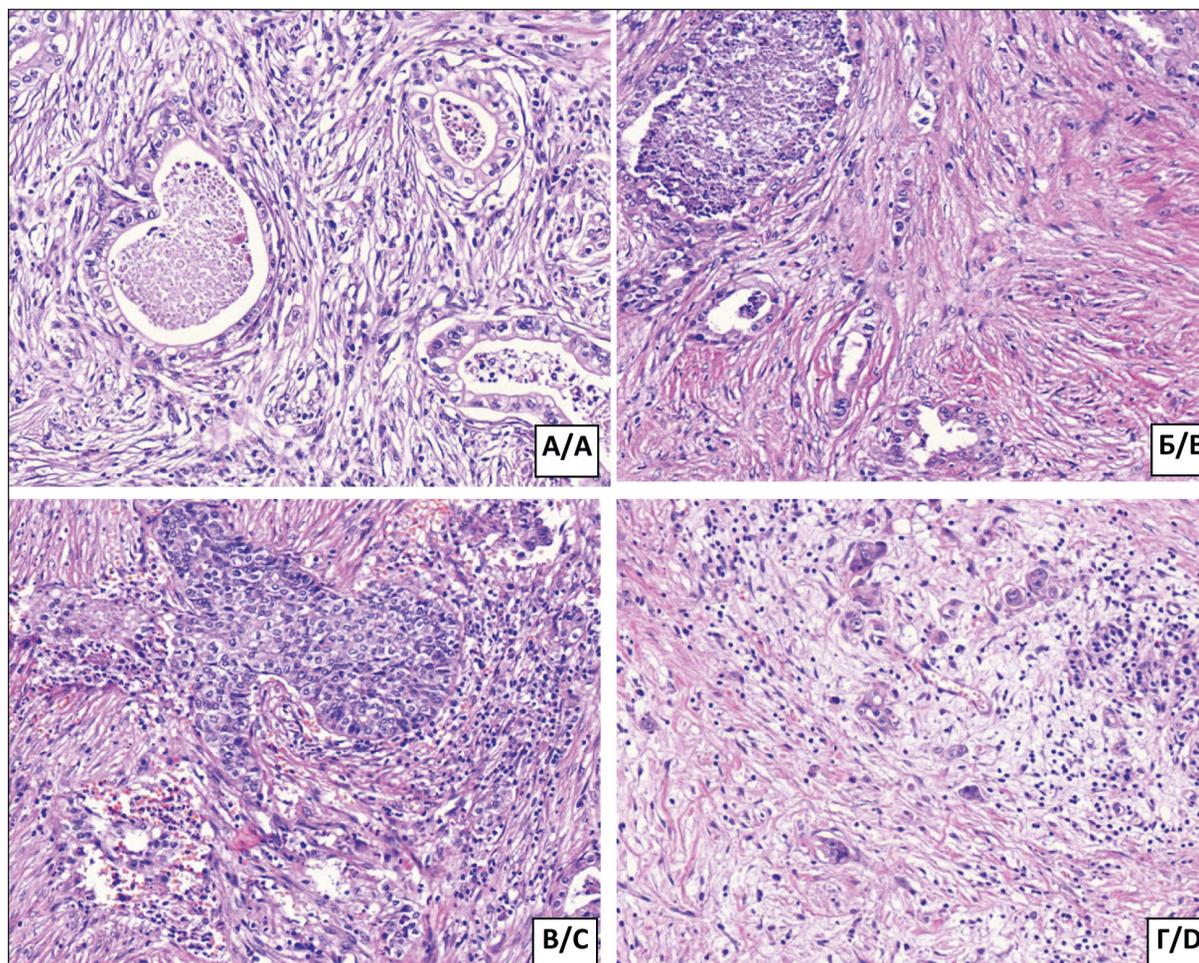


Рис. 1. Микрофото. Опухолевые структуры паренхиматозного компонента протоковой аденокарциномы поджелудочной железы: А – железистоподобные структуры; Б – трабекулярные структуры; В – солидные структуры; Г – группы опухолевых клеток. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 400$

Fig. 1. Microphoto. Tumour structures of parenchymal component of pancreatic ductal adenocarcinoma: A – glandular structures; B – trabecular structures; C – solid structures; D – group of tumor cells. Hematoxylin and eosin stain, $\times 400$

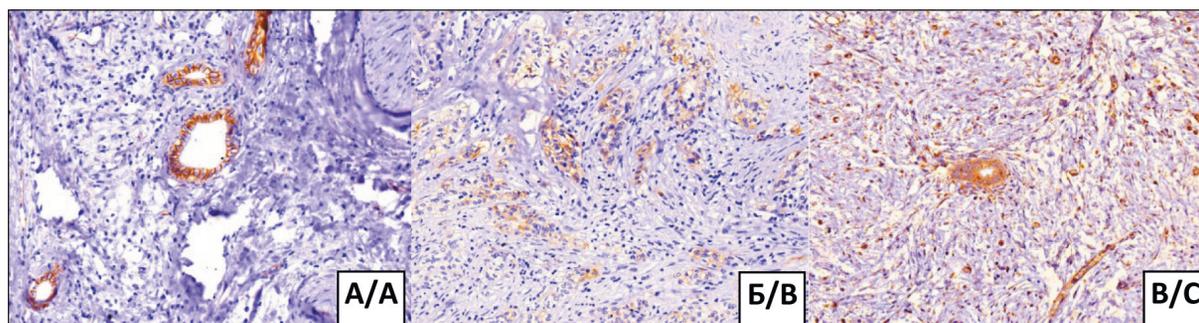


Рис. 2. Микрофото. Иммуногистохимическое исследование: А – положительная экспрессия интегрина $\beta 1$ в железистоподобных структурах паренхиматозного компонента протоковой аденокарциномы поджелудочной железы; Б – положительная экспрессия интегрина $\beta 3$ в железистоподобных структурах паренхиматозного компонента протоковой аденокарциномы поджелудочной железы; В – положительная экспрессия MMP2 в железистоподобных структурах паренхиматозного компонента протоковой аденокарциномы поджелудочной железы; $\times 100$

Fig. 2. Microphoto. IHC study: A – positive expression of integrin $\beta 1$ in glandular structures of parenchymal component of pancreatic ductal adenocarcinoma; B – positive expression of integrin $\beta 3$ in glandular structures of parenchymal component of pancreatic ductal adenocarcinoma; C – positive expression of MMP2 in glandular structures of parenchymal component of pancreatic ductal adenocarcinoma; $\times 100$

**Взаимосвязь гематогенного метастазирования и показателей экспрессии интегрин $\beta 1$ в разных структурах паренхиматозного компонента протоковой аденокарциномы поджелудочной железы/
Relationship between distant metastases and $\beta 1$ integrin expression in different structures of the parenchymal component of pancreatic ductal adenocarcinoma**

Параметры/Parameters	Гематогенные метастазы (число пациентов)/ Distant metastases (number of patients)		p
	Отсутствуют/Absent	Присутствуют/Present	
Экспрессия интегрин $\beta 1$ в железистоподобных структурах/Expression of integrin $\beta 1$ in glandular structures			
Негативная экспрессия/Negative expression	8/59 (14 %)	11/15 (73 %)	0,001
Позитивная экспрессия/Positive expression	51/59 (86 %)	4/15 (27 %)	0,001
Экспрессия интегрин $\beta 1$ в трабекулярных структурах/Expression of integrin $\beta 1$ in trabecular structures			
Негативная экспрессия/Negative expression	3/14 (21 %)	6/8 (75 %)	0,007
Позитивная экспрессия/Positive expression	11/14 (79 %)	2/8 (25 %)	0,007
Экспрессия интегрин $\beta 1$ в солидных структурах/Expression of integrin $\beta 1$ in solid structures			
Негативная экспрессия/Negative expression	1/15 (7 %)	1/1 (100 %)	0,001
Позитивная экспрессия/Positive expression	14/15 (93 %)	0/1 (0 %)	0,001
Экспрессия интегрин $\beta 1$ в группах опухолевых клеток/Expression of integrin $\beta 1$ in groups of tumor cells			
Негативная экспрессия/Negative expression	6/15 (40 %)	9/11 (82 %)	0,016
Позитивная экспрессия/Positive expression	9/15 (60 %)	2/11 (18 %)	0,016
Процент экспрессии интегрин $\beta 1$ в опухолевых структурах/Percentage of integrin $\beta 1$ expression in tumour structures (Me (Q1; Q3))			
Железистоподобные структуры/ Glandular structures	100,0 (79,0; 100,0)	0,0 (0,0; 98,0)	0,001
Трабекулярные структуры/ Trabecular structures	90,0 (45,0; 100,0)	0,0 (0,0; 49,0)	0,059
Солидные структуры/ Solid structures	92,0 (0,0; 100,0)	0,0 (0,0; 0,0)	1,000
Группы опухолевых клеток/ Groups of tumour cells	56,0 (0,0; 100,0)	18,0 (0,0; 100,0)	0,082

Статистическая обработка результатов проводилась с использованием пакета программ STATISTICA 10.0. Проверка нормальности распределения показателей осуществлялась с помощью критерия Шапиро–Вилка. Учитывая ненормальное распределение изучаемых количественных признаков, оценка достоверности различий медиан для сравнения независимых выборок проводилась с использованием непараметрического критерия Манна–Уитни. Для сравнения частот использовался t-критерий. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Изучение показателей экспрессии интегрин $\beta 1$ и особенностей морфологической гетерогенности паренхиматозного компонента протоковой аденокарциномы поджелудочной железы позволило выявить следующие закономерности, ассоциированные с гематогенной диссеминацией опухолевого процесса. В группе больных с гематогенными метастазами значимо реже регистрировались случаи с позитивной экспрессией маркера в железистоподобных, трабекулярных и солидных структурах, а также в группах опухолевых клеток. Кроме того, при наличии гематогенных метастазов

в печени определялся меньший уровень экспрессии интегрин $\beta 1$ в железистоподобных структурах паренхиматозного компонента первичной опухоли поджелудочной железы (табл. 2).

При анализе показателей экспрессии интегрин $\beta 3$ в различных структурах первичной опухоли протоковой аденокарциномы поджелудочной железы получены несколько противоположные данные. Так, в группе пациентов с гематогенными метастазами позитивная экспрессия маркера в железистоподобных, трабекулярных и солидных структурах обнаруживалась значимо чаще по сравнению с группой больных без признаков гематогенной диссеминации. Наибольший уровень позитивной экспрессии маркера зарегистрирован у пациентов с отдаленными метастазами, при этом достоверные различия обнаружены при изучении данного показателя в железистоподобных и трабекулярных структурах (табл. 3).

Установлено, что позитивная экспрессия MMP2 характерна для случаев протоковой аденокарциномы поджелудочной железы с гематогенными метастазами, при этом следует отметить, что имела значение локализация экспрессии маркера в железистоподобных и солидных структурах паренхиматозного компонента опухоли. Кроме того,

Таблица 3/Table 3

Взаимосвязь гематогенного метастазирования и показателей экспрессии интегрин β3 в разных структурах паренхиматозного компонента протоковой аденокарциномы поджелудочной железы
Relationship between distant metastases and β3 integrin expression in different structures of the parenchymal component of pancreatic ductal adenocarcinoma

Параметры/Parameters	Гематогенные метастазы (количество пациентов)/ Distant Metastases (number of patients)		p
	Отсутствуют/Absent	Присутствуют/Present	
Экспрессия интегрин β3 в железистоподобных структурах/Expression of integrin β3 in glandular structures			
Негативная экспрессия/Negative expression	51/58 (88 %)	2/15 (13 %)	0,001
Позитивная экспрессия/Positive expression	7/58 (12 %)	13/15 (87 %)	0,001
Экспрессия интегрин β3 в трабекулярных структурах/Expression of integrin β3 in trabecular structures			
Негативная экспрессия/Negative expression	11/14 (78 %)	0/7 (0 %)	0,004
Позитивная экспрессия/Positive expression	3/14 (22 %)	7/7 (100 %)	0,004
Экспрессия интегрин β3 в солидных структурах/Expression of integrin β3 in solid structures			
Негативная экспрессия/Negative expression	11/12 (92 %)	1/1 (100 %)	0,001
Позитивная экспрессия/Positive expression	1/12 (8 %)	0/1 (0 %)	0,001
Экспрессия интегрин β3 в группах опухолевых клеток/Expression of integrin β3 in groups of tumour cells			
Негативная экспрессия/Negative expression	11/18 (61 %)	3/8 (38 %)	0,139
Позитивная экспрессия/Positive expression	7/18 (39 %)	5/8 (62 %)	0,139
Процент экспрессии интегрин β3 в опухолевых структурах/ Percentage of integrin β3 expression in tumour structures (Me (Q1; Q3))			
Железистоподобные структуры/ Glandular structures	0,0 (0,0; 0,0)	98,0 (87,0; 100,0)	0,001
Трабекулярные структуры/ Trabecular structures	0,0 (0,0; 0,0)	100,0 (99,0; 100,0)	0,001
Солидные структуры/ Solid structures	0,0 (0,0; 0,0)	0,0 (0,0; 0,0)	1,000
Группы опухолевых клеток/ Groups of tumor cells	0,0 (0,0; 98,0)	87,0 (0,0; 97,5)	0,504

в группе больных с гематогенной диссеминацией выявлен наибольший уровень экспрессии MMP2 по сравнению со случаями, в которых признаки гематогенной диссеминации опухолевого процесса отсутствовали (табл. 4).

Для построения математической модели для прогнозирования вероятности гематогенного метастазирования у пациентов с верифицированным диагнозом протоковой аденокарциномы поджелудочной железы использовали такие параметры, как наличие экспрессии β-катенина, интегрин β1, интегрин β3, матриксной металлопротеиназы 2 в клетках железистоподобных, трабекулярных, солидных структур и в группах клеток в паренхиматозном компоненте первичной опухоли. В результате пошагового анализа в модель были включены показатели экспрессии интегрин β3 и MMP2 в клетках железистоподобных структур паренхиматозного компонента первичной опухоли. Вероятность гематогенного метастазирования определяется по формуле

$$P = e^Y / (1 + e^Y),$$

где P – вероятности развития гематогенного метастазирования; e – основание натурального логарифма.

Уравнение регрессии в показателе экспоненты имеет вид

$$Y = (-6,71 + 30,9 \times X1 - 27,2 \times X2),$$

где X1 – экспрессия интегрин β3 в клетках железистоподобных структур паренхиматозного компонента первичной опухоли (1 – негативная, 2 – позитивная); X2 – экспрессия MMP2 в клетках железистоподобных структур паренхиматозного компонента первичной опухоли (1 – негативная, 2 – позитивная).

При P ≥ 50 % определяется высокая вероятность гематогенного метастазирования, при вероятности P < 50 % – низкая вероятность гематогенного метастазирования. Степень достоверности модели χ² = 34,0; p < 0,001. Чувствительность составила 89 %, специфичность – 87 %.

Обсуждение

По данным морфологического и иммуногистохимического исследования образцов ткани протоковой аденокарциномы поджелудочной железы обнаружены особенности морфологической гетерогенности первичной опухоли и экспрессионные характеристики интегрин β1, интегрин β3 и MMP2, ассоциированные с гематогенным мета-

Таблица 4/ Table 4

Взаимосвязь гематогенного метастазирования и показателей экспрессии MMP2 в разных структурах паренхиматозного компонента протоковой аденокарциномы поджелудочной железы
Relationship between distant metastases and MMP2 expression in different structures of the parenchymal component of pancreatic ductal adenocarcinoma

Параметры/Parameters	Гематогенные метастазы (число пациентов)/ Distant metastases (number of patients)		p
	Отсутствуют/bsent	Присутствуют/Present	
Экспрессия MMP2 в железистоподобных структурах/Expression of MMP2 in glandular structures			
Негативная экспрессия/Negative expression	40/59 (68 %)	2/15 (13 %)	0,001
Позитивная экспрессия/Positive expression	19/59 (32 %)	13/15 (87 %)	0,001
Экспрессия MMP2 в трабекулярных структурах/Expression of MMP2 in trabecular structures			
Негативная экспрессия/Negative expression	3/13 (23 %)	0/7 (0 %)	0,084
Позитивная экспрессия/Positive expression	10/13 (77 %)	7/7 (100 %)	0,084
Экспрессия MMP2 в солидных структурах/Expression of MMP2 in solid structures			
Негативная экспрессия/Negative expression	11/15 (73 %)	1/1 (100 %)	0,001
Позитивная экспрессия/Positive expression	4/15 (27 %)	0/1 (0 %)	0,001
Экспрессия MMP2 в группах опухолевых клеток/Expression of MMP2 in groups of tumour cells			
Негативная экспрессия/Negative expression	4/14 (29 %)	1/8 (13 %)	0,196
Позитивная экспрессия/Positive expression	10/14 (71 %)	7/8 (87 %)	0,196
Процент экспрессии MMP2 в опухолевых структурах/Percentage of MMP2 expression in tumour structures (Me (Q1; Q3))			
Железистоподобные структуры/ Glandular structures	0,0 (0,0; 69,5)	98,0 (87,0; 100,0)	0,001
Трабекулярные структуры/ Trabecular structures	98,0 (74,0; 100,0)	98,0 (97,0; 100,0)	0,877
Солидные структуры/ Solid structures	0,0 (0,0; 98,0)	98,0 (98,0; 98,0)	1,000
Группы опухолевых клеток/ Groups of tumor cells	98,0 (0,0; 100,0)	100,0 (52,0; 100,0)	0,290

стазированием. Для случаев с метастатическим процессом характерны негативная экспрессия интегрин β1 и позитивная экспрессия интегрин β3 и MMP2. Кроме того, показано, что имеет значение локализация экспрессии указанных маркеров, чаще всего значимые различия зарегистрированы при исследовании экспрессии интегринов и MMP2 в железистоподобных структурах. При анализе грейда (grade) протоковой аденокарциномы поджелудочной железы одним из критериев оценки является степень железистой дифференцировки опухоли, при этом известно, что данный морфологический признак ассоциирован с показателями выживаемости и является независимым прогностическим фактором.

Результаты исследования также указывают на особое значение данного типа опухолевых структур паренхиматозного компонента протоковой аденокарциномы поджелудочной железы и их роль в оценке течения и прогноза заболевания. Более

того, такие показатели, как экспрессия интегрин β3 и MMP2 в железистоподобных структурах, вошли в модель для прогнозирования вероятности гематогенного метастазирования протоковой аденокарциномы. При этом чувствительность модели составила 89 %, специфичность – 87 %.

Заключение

Экспрессия маркеров интегрин β1, интегрин β3 и MMP2 в различных структурах паренхиматозного компонента (морфологическая гетерогенность первичной опухоли) протоковой аденокарциномы поджелудочной железы ассоциирована с гематогенным метастазированием. Особое значение имеет локализация экспрессии изучаемых маркеров в железистоподобных структурах ткани новообразования, наличие позитивной экспрессии интегрин β3 и MMP2 практически во всех типах опухолевых структур взаимосвязано с наибольшей частотой гематогенной диссеминации.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. McGuigan A., Kelly P., Turkington R.C., Jones C., Coleman H.G., McCain R.S. Pancreatic cancer: A review of clinical diagnosis, epidemiology, treatment and outcomes. World J Gastroenterol. 2018; 24(43): 4846–61. doi: 10.3748/wjg.v24.i43.4846.
 2. Park W., Chawla A., O'Reilly E.M. Pancreatic Cancer: A Review. JAMA. 2021; 326(9): 851–62. doi: 10.1001/jama.2021.13027.

3. Dorman K., Heinemann V., Kobold S., von Bergwelt-Baildon M., Boeck S. Novel systemic treatment approaches for metastatic pancreatic cancer. Expert Opin Investig Drugs. 2022; 31(3): 249–62. doi: 10.1080/13543784.2022.2037552.
 4. Ren B., Cui M., Yang G., Wang H., Feng M., You L., Zhao Y. Tumor microenvironment participates in metastasis of pancreatic cancer. Mol Cancer. 2018; 17(1): 108. doi: 10.1186/s12943-018-0858-1.

5. Schaffner F., Ray A.M., Dontenwill M. Integrin $\alpha 5\beta 1$, the Fibronectin Receptor, as a Pertinent Therapeutic Target in Solid Tumors. *Cancers* (Basel). 2013; 5(1): 27–47. doi: 10.3390/cancers5010027.
6. Pan B., Guo J., Liao Q., Zhao Y. $\beta 1$ and $\beta 3$ integrins in breast, prostate and pancreatic cancer: A novel implication. *Oncol Lett.* 2018; 15(4): 5412–6. doi: 10.3892/ol.2018.8076.
7. Sliker B.H., Goetz B.T., Barnes R., King H., Maurer H.C., Olive K.P., Solheim J.C. HLA-B influences integrin beta-1 expression and pancreatic cancer cell migration. *Exp Cell Res.* 2020; 390(2): 111960. doi: 10.1016/j.yexcr.2020.111960.
8. Casari I., Howard J.A., Robless E.E., Falasca M. Exosomal integrins and their influence on pancreatic cancer progression and metastasis. *Cancer Lett.* 2021; 507: 124–34. doi: 10.1016/j.canlet.2021.03.010.
9. Zeltz C., Primac I., Erusappan P., Alam J., Noel A., Gullberg D. Cancer-associated fibroblasts in desmoplastic tumors: emerging role of integrins. *Semin Cancer Biol.* 2020; 62: 166–81. doi: 10.1016/j.semcancer.2019.08.004.
10. Götte J., Danen E., Cordes N. Therapy-Naive and Radioresistant 3-Dimensional Pancreatic Cancer Cell Cultures Are Effectively Radiosensitized by $\beta 1$ Integrin Targeting. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2022; 112(2): 487–98. doi: 10.1016/j.ijrobp.2021.08.035.
11. Torres C., Grippo P.J. Pancreatic cancer subtypes: a roadmap for precision medicine. *Ann Med.* 2018; 50(4): 277–87. doi: 10.1080/07853890.2018.1453168.
12. Ракина Ю.Ю., Завьялова М.В., Крахмаль Н.В., Кошель А.П., Афанасьев С.Г., Вторушин С.В. Морфологические и экспрессионные особенности протоковой аденокарциномы поджелудочной железы. *Сибирский онкологический журнал.* 2017; 16(4): 26–31. [Rakina Yu. Yu., Zavyalova M.V., Krakhmal N.V., Koshel A.P., Afanasyev S.G., Vtorushin S.V. Morphological and expression features of ductal pancreatic adenocarcinoma. *Siberian Journal of Oncology.* 2017; 16(4): 26–31. (in Russian)]. doi: 10.21294/1814-4861-2017-16-4-26-31.
13. Krakhmal N.V., Zavyalova M.V., Denisov E.V., Vtorushin S.V., Perelmuter V.M. Cancer Invasion: Patterns and Mechanisms. *Acta Naturae.* 2015; 7(2): 17–28. doi: 10.32607/20758251-2015-7-2-17-28.
14. Dong S., Wang L., Guo Y.B., Ying H.F., Shen X.H., Meng Z.Q., Chen Hao, Chen Q.W., Li Z.S. Risk factors of liver metastasis from advanced pancreatic adenocarcinoma: a large multicenter cohort study. *World J Surg Onc.* 2017; 15(1): 120. doi: 10.1186/s12957-017-1175-7.

Поступила/Received 16.03.2023

Одобрена после рецензирования/Revised 14.04.2023

Принята к публикации/Accepted 20.04.2023

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Ракина Юлия Юрьевна, соискатель ученой степени кандидата наук, кафедра патологической анатомии, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Томск, Россия). SPIN-код: 2686-4718.

Крахмаль Надежда Валерьевна, кандидат медицинских наук, доцент, старший научный сотрудник отделения общей и молекулярной патологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук; доцент кафедры патологической анатомии, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Томск, Россия). SPIN-код: 1543-6546. Researcher ID (WOS): S-3799-2016. Author ID (Scopus): 56678622400. ORCID: 0000-0002-1909-1681.

Письменный Дмитрий Сергеевич, кандидат медицинских наук, врач клинико-лабораторной диагностики отделения общей и молекулярной патологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук; ассистент кафедры патологической анатомии, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Томск, Россия). SPIN-код: 7441-0790. Author ID (Scopus): 57218625147. ORCID: 0000-0001-8973-8439.

Завьялов Александр Васильевич, студент 2-го курса лечебного факультета, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Томск, Россия). SPIN-код: 1229-0323.

Вторушин Сергей Владимирович, доктор медицинских наук, профессор, руководитель отделения общей и молекулярной патологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук; профессор кафедры патологической анатомии, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Томск, Россия). SPIN-код: 2442-4720. Researcher ID (WOS): S-3789-2016. Author ID (Scopus): 26654562300. ORCID: 0000-0002-1195-4008.

Афанасьев Сергей Геннадьевич, доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделением абдоминальной онкологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 9206-3037. Researcher ID (WOS): D-2084-2012. Author ID (Scopus): 7005336732. ORCID: 0000-0002-4701-0375.

Завьялова Марина Викторовна, доктор медицинских наук, профессор, ведущий научный сотрудник отделения общей и молекулярной патологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук; заведующая кафедрой патологической анатомии, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Томск, Россия). SPIN-код: 1229-0323. Researcher ID (WOS): C-8580-2012. Author ID (Scopus): 36711031100. ORCID: 0000-0001-9429-9813.

ВКЛАД АВТОРОВ

Ракина Юлия Юрьевна: набор клинического материала, анализ литературы по теме исследования, морфологическое и иммуногистохимическое исследование, статистическая обработка результатов исследования, написание черновика статьи.

Крахмаль Надежда Валерьевна: анализ литературы по теме исследования, редактирование и оформление текста статьи.

Письменный Дмитрий Сергеевич: оформление и подготовка текста статьи.

Завьялов Александр Васильевич: анализ литературы по теме исследования, статистическая обработка результатов исследования.

Вторушин Сергей Владимирович: критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Афанасьев Сергей Геннадьевич: разработка концепции, проекта и дизайна работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Завьялова Марина Викторовна: разработка концепции, проекта и дизайна работы, руководство научной работой, морфологическое и иммуногистохимическое исследование, интерпретация результатов исследования, контроль выполнения работы.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Yulia Yu. Rakina, MD, Applicant for the PhD degree, Pathology Department, Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Tomsk, Russia).

Nadezhda V. Krakhmal, MD, PhD, Senior Researcher, Department of General and Molecular Pathology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences; Assistant of Professor, Pathology Department, Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): S-3799-2016. Author ID (Scopus): 56678622400. ORCID: 0000-0002-1909-1681.

Dmitry S. Pismenny, PhD, Physician, Department of General and Molecular Pathology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences; Assistant of the Department of Pathological Anatomy, Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Tomsk, Russia). Author ID Scopus: 57218625147. ORCID: 0000-0001-8973-8439.

Aleksandr V. Zavyalov, Student, Medical Faculty, Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Tomsk, Russia).

Sergey V. Vtorushin, MD, DSc, Professor, Head of Department of General and Molecular Pathology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences; Professor of Pathology Department, Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): S-3789-2016. Author ID (Scopus): 26654562300. ORCID: 0000-0002-1195-4008.

Sergey G. Afanasyev, MD, DSc, Professor, Head of the Department of Abdominal Oncology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): D-2084-2012. Author ID (Scopus): 7005336732. ORCID: 0000-0002-4701-0375.

Marina V. Zavyalova, MD, DSc, Professor, Leading Researcher, Department of General and Molecular Pathology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences; Head of Pathology Department, Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): C-8580-2012. Author ID (Scopus): 36711031100. ORCID: 0000-0001-9429-9813.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Yulia Yu. Rakina: data collection and analysis, analysis, morphology and immunohistochemistry study, statistical data analysis, drafting of the manuscript.

Nadezhda V. Krakhmal: data analysis, editing of the manuscript.

Dmitry S. Pismenny: study design, writing of the manuscript.

Aleksandr V. Zavyalov: data analysis and interpretation, statistical analysis.

Sergey V. Vtorushin: critical revision for the important intellectual content.

Sergey G. Afanasyev: study design and conception, critical revision for the important intellectual content.

Marina V. Zavyalova: study design and conception, research supervision, morphology and immunohistochemistry study.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.