

**НЕКОММЕРЧЕСКОЕ АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО
«ЗАПАДНО-КАЗАХСТАНСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМЕНИ МАРАТА ОСПАНОВА»**

**АННОТАЦИЯ
PhD ДОКТОРСКОЙ ДИССЕРТАЦИИ**

**Название темы: «Диагностическая и прогностическая значимость
микроокружения опухоли при колоректальной аденокарциноме»**

По образовательной программе 8D10102 «Медицина»
ФИО: Иманбаев Наурызбай Мақсотұлы
Сроки выполнения: 2021-2024гг.

Научные консультанты
к.м.н., асс. профессор Изтлеуов Е.М.
д.м.н., профессор Бекмухамбетов Е.Ж.

Зарубежный консультант
д.м.н., руководитель отделения онкоколопроктологии
Онкоцентра Клинического Госпиталя «Лапино»
ГК «Мать и дитя», г.Москва, Российская Федерация
профессор Расулов А.О.

Актобе, 2025

АННОТАЦИЯ

Иманбаева Н.М. на тему «Диагностическая и прогностическая значимость микроокружения опухоли при колоректальной аденокарциноме» предоставленной на соискание степени доктора философии (PhD), по специальности 8D10102 «Медицина».

Научные консультанты: к.м.н., асс. профессор Изтлеуов Е.М., д.м.н., профессор Бекмухамбетов Е.Ж.

Зарубежный консультант: д.м.н., профессор Расулов А.О.

Актуальность исследования:

Колоректальный рак (КРР) - заболевание с высокой заболеваемостью и смертностью, занимающее третье место в мире по распространенности. По данным Международного агентства по изучению рака в 2020 году в мире было зарегистрировано около 1.93 миллиона новых случаев КРР, а стандартизированный по возрасту коэффициент заболеваемости КРР составлял 19.5 на 100.000 человек.

В настоящее время одной из основ для принятия решений клинициста о тактике ведения онкологических пациентов, в том числе и пациентов с КРР, служит классификация TNM. Однако у пациентов с одной и той же стадией КРР по классификации TNM клинические исходы могут различаться. Это актуализирует поиск дополнительных критериев и факторов для стратификации групп пациентов.

Традиционно в гистологических исследованиях злокачественных опухолей ведущее место занимал эпителиальный компонент, однако современные исследовательские парадигмы постепенно сместились от эпителия опухоли к строме. Прогностическое значение стромы инвазивного края опухоли было продемонстрировано Уено Н., выделившим зрелую, незрелую и промежуточную десмопластическую реакцию. Промежуточная десмопластическая реакция характеризуется большой гетерогенностью стромы, включающей как небольшое количество келлоидоподобного коллагена (КПК) в фиброзированной строме, так и толстые пучки келлоидоподобного коллагена, циркулярно окружающие раковые гнезда и ремоделирующие внеклеточный матрикс.

Патологи могут идентифицировать компоненты стромы, но их описание и количественная оценка не является рутинной процедурой и стромальные факторы не всегда учитываются при принятии решений о лечении. Следовательно, необходимо идентифицировать прогностические факторы для улучшения выживаемости пациентов. Отдельной проблемой является определение оптимального порогового уровня (точки отсечения) с максимальной дискриминирующей способностью для келлоидоподобного коллагена в строме инвазивного края опухоли. На основании вышеизложенного следует, что гистофенотипирование коллагеновых волокон экстрацеллюлярного матрикса КРР - важное прикладное клиническое и научное значение.

Настоящее исследование направлено на оценку КПК в строме КРР, интерпретируемого на микропрепаратах, окрашенных гематоксилином и эозином и трихромом Массона, и проведение сравнительного анализа данных параметров с традиционными прогностическими факторами для установления их прогностической значимости.

Цель исследования: оценить диагностическую и прогностическую значимость микроокружения (келлоидоподобного коллагена стромы) инвазивного края колоректальной аденокарциномы.

Задачи исследования:

1. Определить региональные особенности колоректального рака в Актюбинской области;

2. Установить прогностически значимый уровень келлоидоподобного коллагена стромы инвазивного края для оценки исходов колоректальной аденокарциномы;

3. Изучить взаимосвязь келлоидоподобного коллагена в инвазивном крае с гистопатологическими характеристиками опухоли, клиническими данными и вероятными исходами (общая и безрецидивной выживаемость);

4. Провести сравнительный анализ CD3, CD4, CD8, CD20, CD56 и CD163 положительных иммунных клеток с процентным содержанием КПК в микроокружении и связь с исходами колоректальной аденокарциномы.

Научная новизна:

1. Методом гистохимического исследования определен прогностически значимый пороговый уровень относительного количества келлоидоподобного коллагена в строме инвазивного края колоректальной аденокарциномы с промежуточной десмопластической реакцией на основе максимальной дискриминационной способности для общей и безрецидивной выживаемости.

2. Установлено, что наличие диффузного гистотипа келлоидоподобного коллагена в строме инвазивного края колоректальной аденокарциномы с промежуточной десмопластической реакцией коррелирует с такими признаками как T-стадия, венозная и лимфатическая инвазия.

3. Выявлено, что колоректальных аденокарциномах с очаговым келлоидоподобным коллагеном в строме инвазивного края и промежуточной десмопластической реакцией выше частота случаев с высоким количеством CD3 и CD8 положительных иммунных клеток и выше частота случаев с низким количеством CD163 положительных иммунных клеток по сравнению с опухолями с диффузным келлоидоподобным коллагеном.

Теоретическая значимость:

1. Результаты представленных в диссертационной работе исследований, расширяют имеющиеся представления о гистотипе экстрацеллюлярного матрикса инвазивного края колоректальной аденокарциномы по типу «келлоидоподобный коллаген-ретикулин».

2. Установленное в настоящем исследовании влияние относительного количества келлоидоподобного коллагена на пролиферацию иммунных клеток может представлять собой новый иммуносупрессивный механизм в

микроокружении опухоли, проявляющийся установленной взаимосвязью между плотностью келлоидоподобного коллагена в опухолях с промежуточной десмопластической реакцией и прогнозом для онкологических больных.

Практическая значимость:

Определение относительного количества келлоидоподобного коллагена в колоректальных аденокарциномах с промежуточной десмопластической реакцией в соответствии с установленным пороговым значением является новым дополнением к системе прогнозирования исходов у онкологических больных, способствующей улучшению стратификации риска, что имеет важное значение в практической деятельности для врачей онкологов и патоморфологов.

Основные положения диссертации, выносимые на защиту:

1. Промежуточная десмопластическая реакция в колоректальных аденокарциномах является гетерогенной группой, которая может быть дополнительно стратифицирована по относительной доле келлоидоподобного коллагена в строме инвазивного фронта опухоли.

2. Уровень келлоидоподобного коллагена более 30% (диффузный) от внеклеточного матрикса инвазивного фронта опухоли с промежуточной десмопластической реакцией является независимым прогностическим фактором неблагоприятного исхода (рецидива и смерти) у пациентов с колоректальной аденокарциномой, а также ассоциируется с наличием неблагоприятных признаков (более высокая T-стадия, наличие венозной или лимфатической инвазии).

3. Уровень келлоидоподобного коллагена менее 30% (очаговый) от внеклеточного матрикса инвазивного фронта опухоли с промежуточной десмопластической реакцией ассоциируется с высокой степенью лимфоцитарной инфильтрации и большим количеством CD3 и CD8 положительных иммунных клеток и меньшим количеством CD163 положительных иммунных клеток.

Внедрение в практику. Акт внедрения в практическую деятельность на базе МЦ НАО ЗКМУ имени Марата Оспанова №1 от 26.06.2023 гг. «Определения микроокружения опухоли (CD3, CD4, CD20, CD56, CD163)». Акт внедрения в практическую деятельность на базе МЦ НАО ЗКМУ имени Марата Оспанова №2 от 26.06.2023 гг. «Определение паренхиматозно - стромального соотношения в опухолях толстого кишечника при колоректальном раке». Акт внедрения в практическую деятельность на базе МЦ НАО ЗКМУ имени Марата Оспанова №3 от 26.06.2023 гг. «Определение микросателлитной нестабильности (MSI) как скрининговый тест для отбора пациентов с подозрением на синдром Линча».

Личный вклад автора. Исследование проведено самостоятельно: набор, первичная и статистическая обработка материалов, анализ, обобщение результатов исследования и их описание, получение авторских свидетельств, актов внедрения, а также работа с публикациями от написания материала до подачи в научные журналы. Автор непосредственно участвовал при

проведении всех оперативных вмешательств больным, курировал после операции, обследовал в ближайшем и отдалённом послеоперационном периодах. Под руководством научного руководителя проведено гистологическое, гистохимическое и иммуногистохимическое исследование операционного материала с описанием микроскопических паттернов коллагена I типа и коллагена III типа. Самостоятельно проведен морфометрический анализ с подсчетом стромальных и клеточных структур с описанием гистологического материала и последующим микрофотографированием полученных объектов. Весь материал систематизирован, документирован, оформлен в главы диссертационной работы лично автором.

Апробация работы

Основные положения диссертации доложены и обсуждены на:

- XIII Съезд онкологов и радиологов стран СНГ и Евразии 27-29 апреля 2021 выступил с докладом. Казахстан. г.Алматы - «Эпидемиологические аспекты структуры колоректального рака на примере приграничных областей».

- XIII Съезд онкологов и радиологов стран СНГ и Евразии совместно с Ассоциацией директоров институтов онкологии и радиологии СНГ и Евразии (АДИОР) 29 апреля 2022 год выступил с докладом. Россия. г.Москва. (онлайн) - «Структура колоректального рака в Актыобинской области».

- X Ежегодная Международная Научно-Практическая Конференция «АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ МЕДИЦИНЫ» 27-28 Апреля 2023 год, г.Баку, Азербайджан - «Состояние паренхиматозно-стромального соотношения опухоли в зависимости от локализации при колоректальном раке».

- IX съезд Онкологов и Радиологов Республики Казахстан с международным участием. 26-27 октября 2023 года, г.Астана - «Номограмма выживаемости у пациентов с колоректальным раком. Ретроспективный анализ за 2019-2021 годы».

Список научных трудов, опубликованных по теме диссертации

По материалам диссертации опубликовано 6 научных работ, из них:

1 публикация в научных изданиях, рекомендованных Комитетом по контролю в сфере образования и науки МОН РК: «Паренхиматозно-стромальное соотношение в опухолях колоректального рака как индикатор метастазирования» // Онкология и Радиология Казахстана. - №3(69). - 2023. – С. 34-37.

5 публикации в международных научных изданиях, входящих на момент публикации статей в информационную базу Scopus и PubMed:

1. «Colorectal cancer and microbiota: systematic review» // Gastroenterology Review. – 2024. - Vol. 19(1). 2023 IF-1,3. Q-1 Medicine. CiteScore 2023-2,2. Перцентиль-90-й.

2. «Parenchymal-Stromal Ratio in Colorectal Cancer Tumors: A Mini Review» // Journal of Family and Reproductive Health. – Vol. 18(1) (March 2024). 2023 IF-0,0. Q-2. Medicine. CiteScore 2023-0,0. Перцентиль-55-й.

3. «Diagnostic and prognostic significance of keloid-like collagen remodeling patterns in the extracellular matrix of colorectal cancer» // Pathology and Oncology Research. 2024. – Vol.30. CiteScore 2023-6,3. Q-1. Процентиль-80-й.

4. «Evolution of Colorectal Cancer Trends and Treatment Outcomes: A Comprehensive Retrospective Analysis (2019-2023) in West Kazakhstan» // Asian Pacific Journal of Cancer Prevention (APJCP). 2024. - Vol. 25(8). CiteScore 2023-2.8. Процентиль-46-й. Q-3.

5. «Brief review of colorectal cancer and its microenvironment» // Medical Journal of the Islamic Republic of Iran. – 2024. Vol. 38(108). 2023 IF-2,4. Q-2. Medicine. CiteScore 2023-2,4. Процентиль-54-й.

Материалы и методы исследования:

Основная научно-исследовательская работа выполнена на базе Медицинского Центра НАО Западно-Казахстанский Медицинский Университет имени Марата Оспанова в отделение патоморфологии и на кафедре онкологии. Исследование выполнено в соответствии с этическими принципами, установленными локальным этическим комитетом (протокол № 9 от 19.11.2021 г.).

По первой задаче исследование представляет собой ретроспективное когортное исследование, проведенное с целью анализа демографических и клинических характеристик пациентов с колоректальным раком (КРР) в Актыубинской области за период с 2019 по 2023 годы на базе Медицинского Центра НАО Западно-Казахстанский Медицинский Университет имени Марата Оспанова расположенного по адресу г.Актобе, микрорайон Жанаконьыс, 8. Была изучена медицинская документация пациентов с КРР.

Набор данных представлял полную информацию о пациентах, которая давала возможность провести комплексный анализ их состояния, факторов риска, лечения и исходов. Все данные были получены из Комплексной медицинской информационной системы «Damimed», а также после изучения амбулаторных карт пациентов.

Для достижения последующих задач диссертационной работы проведено ретроспективное слепое исследование гистохимического паттерна экстрацеллюлярного матрикса колоректальной аденокарциномы с определением прогностически значимого уровня келлоидоподобного коллагена в инвазивном крае опухоли с промежуточной десмопластической реакцией.

В структуре исследования было выделено 3 основных этапа:

1 этап исследования: исследование прогностически значимого уровня келлоидоподобного коллагена в инвазивном крае опухоли толстого кишечника с промежуточной десмопластической реакцией.

2 этап исследования: этаблирование метода гистофенотипирования келлоидоподобного коллагена в инвазивном крае опухоли толстого кишечника с промежуточной десмопластической реакцией.

3 этап исследования: стандартизация метода путем сравнительного анализа количества CD3, CD4, CD8, CD20, CD56 и CD163 положительных

иммунных клеток в микроокружении (келлоидоподобный коллаген стромы) инвазивного края колоректальной аденокарциномы.

Конечные точки и определения. Первичной конечной точкой исследования была безрецидивная выживаемость. Безрецидивная выживаемость определялась как время в месяцах между датой операции и датой рецидива рака (определяемой как первая дата рентгенологического или гистологического диагноза местного рецидива опухоли или метастаза рака толстой кишки) или дата последнего наблюдения (с максимальным периодом 5 лет). Общая выживаемость определялась как продолжительность от операции до смерти или последнего наблюдения. Пациенты, живые на момент последнего наблюдения, регистрировались как цензурированные события.

Гистологическое исследование стандартным методом окрашивания гематоксилином и эозином.

Гистохимическое исследование. Процедура окрашивания трихромом Массона. Пучки коллагеновых волокон окрашивали и отличали от клеточных компонентов с помощью трихромного красителя Массона. Для окраски трихромом Массона использовали коммерческий набор (Трихромный краситель (Массон) Bio-Optica (Италия)) по стандартному протоколу. Волокна коллагена определялись как темно-синие волокна с черными ядрами. Процедура серебрения по Гомори. Для гистологической оценки ретикулиновых волокон использовали гистохимическое окрашивание серебрение по Гомори, набор красителей Reticulum (модифицированный Gomori's), Bio-Optica (Италия) по стандартному протоколу. Ретикулиновые волокна определялись как черные или темно-коричневые волокна с серыми ядрами.

Иммуногистохимическое исследование. Иммунные клетки, инфильтрирующие опухоль, выявляли иммуногистохимически с использованием антител против CD3, CD4, CD8, CD20, CD56 и CD163. Разведение каждого антитела составляет 1:100 для CD3, 1:50 для CD4 и CD8, и 1:200 для CD20, CD56 и CD163. Лимфатические узлы использовали в качестве контроля.

Морфометрическая оценка относительного количества келлоидоподобного коллагена. Микропрепараты были анонимизированы до начала исследования и пересмотр микропрепаратов проводился без информации о клинических данных или результатах лечения пациентов. Келлоидоподобный коллаген оценивали на инвазивном участке опухоли микропрепаратов, окрашенных гематоксилином и эозином и трихромом Массона. Для каждого случая определяли наиболее инвазивную часть удаленной опухоли («инвазивный фронт»), определяемую как область с наиболее глубокой инфильтрацией ткани опухолью или область, где опухолевая ткань граничит с неопухолевым тканью. На микропрепарате наиболее инвазивного края опухоли выбирали 10 полей зрения при увеличении $\times 40$. Участки стромы с локализованным воспалением, предположительно вызванным внешними патогенами, например, вокруг

микроскопических абсцессов вследствие внутриопухолевой перфорации не учитывались. Стромальные клетки в участках с артефактами размозжения, некроза и воспаления не оценивались. Поле микроскопа за вычетом ткани, которую необходимо визуально игнорировать устанавливалось равным 100%. Количество келлоидоподобного коллагена в строме оценивали с шагом 10% (10%, 20%, 30% и т. д.) на поле зрения. Относительное количество келлоидоподобного коллагена для каждого случая рассчитывали, как среднее арифметическое всех полученных значений

Морфометрическая оценка гистопаттерна ретикулиновых волокон. Ретикулиновые волокна определялись как черные или темно-коричневые волокна с серыми ядрами. При оценке волокон ретикулина оценивали их локализацию и характер расположения. Вся поверхность каждого среза была изучена при 100-кратном увеличении. При гистопатологическом анализе ретикулина оценивалось его наличие в соответствии с полуколичественной системой оценки («<5%» – минимальное, «6-30%» – фокальное, «>30%» – диффузное) и нативная структура («тонкие нитевидные волокна / толстые, разволокну́нные волокна», «четкие / размытые границы», «упорядоченное / хаотичное распределение волокон», «прерывистые / непрерывные»).

Морфометрическая оценка гистопатологических прогностических факторов. Соотношение «stroma-паренхима» (TSR) оценивали на окрашенных гематоксилином и эозином срезах ткани первичной опухоли толщиной 4 мкм анализировали с помощью световой микроскопии. Микропрепараты первичной опухоли отбирались из наиболее инвазивной части аденокарциномы толстой кишки. Количество стромальной ткани оценивалось с шагом 10% (10%, 20%, 30% и т.д.) на поле изображения. Для статистического анализа группы стромального соотношения делились на группы с высокой и низкой стромой. Высокий уровень стромы определяется как >50% площади стромы, а низкий уровень стромы - как площадь стромы ≤50% в гистологическом срезе, что априори определено как значение, имеющее максимальную дискриминационную способность. Десмопластическую реакцию оценивали с использованием срезов тканей, окрашенных гематоксилином и эозином, дифференцируя как зрелую, промежуточную и незрелую, как описано Hideki Ueno et al. Десмопластическую реакцию считали незрелой, если миксоидные изменения присутствовали в фиброзной строме независимо от келлоидоподобного коллагена. В противном случае его классифицировали как промежуточный, если строма содержала келлоидоподобный коллаген, но не имела миксоидных изменений, или зрелый, если строма не содержала ни келлоидоподобного коллагена, ни миксоидных изменений. Почкование опухоли определяли, как изолированную раковую клетку или кластер, включающий <5 клеток на инвазивном фронте, и классифицировали как степени BD1, BD2 и BD3 в соответствии с международными критериями. Сосудистая инвазия определялась как наличие опухолевых клеток в мышечном слое кровеносных сосудов или инвазия в мышечный слой сосуда или эндотелий, инвазия лимфатических сосудов определялась как наличие гнезд опухолевых клеток в

лимфатических сосудах. Периневральная инвазия определялась как наличие опухолевых клеток в трех слоях оболочки нерва или в непосредственной близости от нерва, поражающих не менее 33% всей его окружности.

Индекс Klintrup-Mäkinen оценивался в соответствии с критериями, установленными Klintrup К. Воспалительная реакция оценивалась как низкая если иммунные клетки отсутствовали или отмечалось их незначительное увеличение на инвазивном фронте. Воспалительная реакция оценивалась как высокая если имелся лентообразный или чашеобразный инфильтрат воспалительных клеток на инвазивном крае опухоли с разрушением раковых клеток.

Процент инфильтрирующих опухоль лимфоцитов оценивали путем визуальной оценки площади, занимаемой мононуклеарными клетками, над площадью стромы на 10 полей зрения, на микропрепаратах, окрашенных гематоксилином и эозином, используя порог 42% в качестве предельного процента площади, занимаемой лимфоцитами в соответствии с точкой отсечения, установленной Iseki Y.

Морфометрическая оценка иммунных клеток. Для статистического анализа все опухоли разделяли на случаи с высоким или низким содержанием CD3, CD4, CD8, CD20, CD56 и CD163 в соответствии с медианным соотношением. Репрезентативные изображения были получены с помощью световой микроскопии с использованием микроскопа Zeiss AxioLab 4.0 с программным обеспечением «Image».

Методы статистической обработки данных. Все статистические процедуры были выполнены с использованием программного обеспечения Statistica 10.0 и IBM SPSS Statistic 27.0 (Inc., Chicago, IL, USA, an IBM Company). Аналитические рамки были разработаны под руководством Союза по международному контролю рака и Руководства по клинической онкологии. Для обеспечения достоверности выводов был проведен анализ мощности для определения требуемого размера выборки для выявления значительных демографических связей с желаемыми результатами при соблюдении обычного статистического порогового значения мощности 0,80 или выше. Качественные и количественные переменные сравнивали с помощью критерия χ^2 или Стьюдента соответственно (критерий Манна-Уитни или Краскала-Уоллиса, когда условия достоверности критериев Стьюдента и χ^2 не были выполнены). Значение $p < 0,05$ считалось статистически значимым.

Анализ выживаемости проводился с использованием кривых Каплана-Мейера, а статистически значимые различия определялись с помощью лог-рангового теста. Метод Каплана-Мейера использовался для расчета общей и безрецидивной выживаемости. Одномерный и многомерный анализ с использованием модели регрессионного анализа пропорциональных рисков Кокса был проведен для расчета HR и 95% CI.

Основные результаты исследования:

В исследование включены 650 пациентов с диагнозом «колоректальный рак», что позволило получить полное представление о социально-

демографических и клинических характеристиках данной популяции. Среди обследованных отмечается умеренное преобладание мужчин (59,7%) по сравнению с женщинами (40,3%). Возрастное распределение показывает, что большинство пациентов (63,1%) находятся в возрастной группе от 24 до 65 лет, тогда как оставшиеся 36,9% старше 65 лет. Гендерных различий в возрастной структуре обнаружено не было ($p=0,965$). Кроме того, анализ статуса мутации гена KRAS выявил, что подавляющее большинство пациентов (76,0%) не имеют данной мутации. Существенных различий в распространенности мутации между мужчинами и женщинами также не зафиксировано ($p=0,86$). Эти результаты демонстрируют относительную однородность исследуемой группы по основным социально-демографическим и клиническим параметрам.

Результаты одномерной логистической регрессии. Возраст стал важным фактором, влияющим на прогрессирование рака, при этом лица в возрасте от 24 до 65 лет показали снижение риска ($p=0,04$) по сравнению с лицами старше 65 лет. Гендер не показал статистически значимой связи, мужчины и женщины имели ОШ 0,745 (95% ДИ=0,253-1,425, $p=0,42$). Мутации KRAS показали незначительно значимую ассоциацию ($p=0,02$), с положительными мутациями, дающими ОШ 1,024 (95% ДИ=0,774-1,345). У лиц в возрасте 24-65 лет коэффициент вероятности (0,977) воздействия на лечение рака несколько ниже, чем у лиц старше 65 лет (ОШ=1,038). Гендерный фактор не оказал существенного влияния на лечение рака, при этом соотношение шансов мужчин и женщин составило соответственно 0,936 и 1,103. Возраст, является решающим фактором раковых исходов, и у лиц возрастной группы 24-65 лет ОШ=1,038 (95%ДИ=0,913-1,180) с незначительным p -уровнем 0,566, в то время как группа 65+ лет, имеют ОШ=0,942 (95%ДИ=0,769-1,154) со значением $p=0,624$. Гендерный фактор не оказывает существенного влияния на смертность, поскольку у мужчин ОШ=1,017 (95%ДИ=0,890-1,162), а у женщин – ОШ=0,975 (95%ДИ=0,802-1,185). Примечательно, что мутации KRAS, генетический фактор, не имеют существенной связи ($p=0,776$). Влияние морфологии опухоли значительно: при аденокарциноме, ОШ=1,086 (ДИ=0,887-1,329) и $p=0,02$, в то время как другие морфологии имеют более низкий ОШ=0,948 (95%ДИ=0,833-1,078) со значением $p=0,007$.

Результаты многомерной логистической регрессии и показали, что отношение шансов для аденокарциномы составляет 1,032 (95%ДИ=0,745-1,429, $p=0,03$). Это наводит на мысль о незначительной связи с аденокарциномой, хотя результат не является статистически значимым. Что касается стадии опухоли, то отношение шансов для первой стадии составляет 0,935 (95%ДИ=0,658-1,327, $p=0,02$). Это указывает на более низкую вероятность оказаться на первой стадии по сравнению с последней стадией, и связь является статистически значимой. Что касается опухолевой инфильтрации, то отношение шансов на низкую степень инфильтрации составляет 1,216 (95%ДИ=0,880-1,680, $p=0,04$). Хотя соотношение шансов указывает на повышенную вероятность низкой инфильтрации, результат не является статистически значимым. Наконец, при поражении лимфатических

узлов отношение шансов для ≤ 3 лимфатических узлов составляет 0,824 (95%ДИ=0,582-1,167, $p=0,03$). Коэффициент вероятности для мужчин составляет 0,969 (95%ДИ=0,701-1,339) с $p=0,09$, что указывает на незначительную тенденцию к снижению смертности по сравнению с женщинами. Морфология опухоли, в частности аденокарцинома, показывает отношение шансов 1,037 (95%ДИ=0,749-1,434) и $p=0,07$, что указывает на пограничную несертифицированную связь со смертностью. Стадия опухоли представляет интересные выводы, первый этап показывает ОШ=0,934 (95%ДИ=0,658-1,324) и $p=0,01$, что указывает на потенциальный защитный эффект против смертности. И наоборот, последний этап не достигает статистической значимости, что указывает на более сложную взаимосвязь между стадией опухоли и смертностью. Инфильтрация опухоли показывает отношение шансов 1,195 (95%ДИ=0,867-1,648) со значением $p=0,03$ для категории "Низкий", что указывает на слабую склонность к увеличению смертности по сравнению с категорией "Высокий".

Регрессионный анализ общей выживаемости и безрецидивной выживаемости с применением модели пропорциональных рисков Кокса показал, что для пациентов, в опухоли которых относительное количество келлоидоподобного коллагена в строме опухоли составило более 30% отношение рисков рецидива составило 3,16 (95%ДИ=1,480-6,749; $p=0,003$) и смерти 2,01 (95%ДИ=1,198-3,369; $p=0,008$) по сравнению с пациентами в опухоли которых определялось менее 30% келлоидоподобного коллагена. Для порога отсечения келлоидоподобного коллагена в строме опухоли, отличного от 30%, статистически значимые различия в общей и безрецидивной выживаемости пациентов исследуемой выборки выявлены не были ($p>0,05$). Результаты показали, что наличие более 30% келлоидоподобного коллагена в строме инвазивного края опухоли коррелирует с наличием такого агрессивного клинического признака как T-стадия ($p=0,009$).

Однофакторный и многофакторный регрессионный анализ прогностических факторов общей выживаемости и безрецидивной выживаемости показал следующее: риск летального исхода у пациентов с диффузным келлоидоподобным коллагеном был в 3,3 (95%ДИ=1,9-5,72) раз выше по сравнению с пациентами с очаговым келлоидоподобным коллагеном ($p<0,001$).

Безрецидивная выживаемость была статистически значимо ниже среди пациентов с диффузным келлоидоподобным коллагеном по сравнению с пациентами с очаговым келлоидоподобным коллагеном (ОР=2,92, 95%ДИ=1,88-4,53, $p<0,001$).

В группе с келлоидоподобным коллагеном, составляющим Тип А $\leq 30\%$ стромы определены следующие показатели: одногодичная общая выживаемость составила 86,5%, трехгодичная общая выживаемость – 78%, пятигодичная общая выживаемость – 76,3%; одногодичная безрецидивная выживаемость составила 86,5%, трехгодичная безрецидивная выживаемость – 71,5%, пятигодичная безрецидивная выживаемость – 64,2%.

В группе с келлоидоподобным коллагеном, составляющим Тип В >30% стромы определены следующие показатели: одногодичная общая выживаемость, составила 75,7%, трехгодичная общая выживаемость – 54,6%, пятигодичная общая выживаемость – 45,9%; одногодичная безрецидивная выживаемость составила 70,1%, трехгодичная безрецидивная выживаемость – 40,2%, пятигодичная безрецидивная выживаемость – 30,4%.

У пациентов с высокой инфильтрацией лимфоцитами (OR=0,499, 95%ДИ=0,318-0,785, p=0,003) по сравнению с пациентами, в опухоли которых определялся более низкий уровень лимфоцитарной инфильтрации. Перитуморальная лимфоцитарная реакция (OR=0,616, 95%ДИ=0,434-0,875, p=0,007), Кроноподобная лимфоидная реакция (OR=0,686, 95%ДИ=0,475-0,990, p=0,044), индекс Klintrup–Mäkinen (OR=0,494, 95%ДИ=0,292-0,835, p=0,008) и процент лимфоцитов, инфильтрующих опухоль (OR=0,570, 95%ДИ=0,363-0,894, p=0,014) также были значимыми прогностическими факторами для безрецидивной выживаемости.

У пациентов с диффузным келлоидоподобным коллагеном в строме опухоли (гистофенотип стромы Тип В (келлоидоподобный коллаген >30%) наблюдался заметно более высокий риск рецидива (OR=2,741, 95%ДИ=1,753-4,286, p=0,004), чем у пациентов с очаговым келлоидоподобным коллагеном (гистофенотип стромы тип А (келлоидоподобный коллаген ≤0,3).

Кроноподобная лимфоидная реакция, индекс Klintrup–Mäkinena и процент инфильтрирующих опухоль лимфоцитов не являлись прогностическими факторами для неблагоприятного исхода в отличие от структурного паттерна венозной инвазии (OR=1,669, 95%ДИ=1,054-2,642, p=0,029) и распределения келлоидоподобного коллагена в строме опухоли.

Многофакторный регрессионный анализ прогностических факторов безрецидивной выживаемости с применением модели пропорциональных рисков Кокса показал, что диффузное распределение коллагена в строме инвазивного края опухоли (гистофенотип стромы Тип В (келлоидоподобный коллаген ≥0,3) является независимым фактором значимо связанными с безрецидивной выживаемостью (OR=2,019, 95%ДИ=1,201-3,395, p=0,008).

Многофакторный регрессионный анализ прогностических факторов общей выживаемости с применением модели пропорциональных рисков Кокса показал, что диффузное распределение коллагена в строме инвазивного края опухоли (гистофенотип стромы Тип В (келлоидоподобный коллаген ≥0,3) является независимым фактором значимо связанными с общей выживаемостью (OR=2,325, 95%ДИ=1,241-4,354, p=0,008).

Таким образом, данные результаты продемонстрировали, что большое количество (более 30%) келлоидоподобного коллагена в строме колоректальной аденокарциномы независимо связано с плохим прогнозом для пациентов.

Сравнительный анализ CD3, CD4, CD8, CD20, CD56 и CD163 положительных иммунных клеток в группах с очаговым и диффузным содержанием келлоидоподобного коллагена в инвазивном крае колоректальной аденокарциномы показал, что результаты

гистохимического исследования иммунных клеток в строме колоректального рака, стратифицированных по содержанию келлоидоподобного коллагена в инвазивном крае опухоли, в подгруппе с очаговым содержанием келлоидоподобного коллагена в инвазивном крае опухоли с промежуточной десмопластической реакцией CD3 положительные иммунные клетки были выше медианного значения группы (n=175) в 44 (62,5%) опухолей, ниже – в 29 (37,2%) опухолей.

CD4 положительные иммунные клетки были выше медианного значения группы в 41 (52,6%) случае, ниже – в 37 (47,4%) случаях. CD8 положительные иммунные клетки были выше медианного значения группы в 59 (75,6%) случае, ниже – в 19 (24,4%) случаях. CD20 положительные иммунные клетки были выше медианного значения группы в 40 (51,3%) случае, ниже – в 38 (24,4%) случаях. CD56 положительные иммунные клетки были выше медианного значения группы в 9 (11,5%) случаях, ниже – в 8 (10,3%) случаях. CD163 положительные иммунные клетки были выше медианного значения группы в 17 (21,8%) случаях, ниже – в 61 (78,2%) случаях.

В подгруппе с диффузным содержанием келлоидоподобного коллагена в инвазивном крае опухоли с промежуточной десмопластической реакцией CD3 положительные иммунные клетки были выше медианного значения группы (n=175) в 39 (40,2%) опухолей, ниже – в 58 (59,8%) опухолей. CD4 положительные иммунные клетки были выше медианного значения группы в 47 (48,5%) случае, ниже – в 50 (51,5%) случаях. CD8 положительные иммунные клетки были выше медианного значения группы в 29 (29,9%) случае, ниже – в 68 (70,1%) случаях. CD20 положительные иммунные клетки были выше медианного значения группы в 48 (49,5%) случае, ниже – в 49 (50,5%) случаях. CD56 положительные иммунные клетки были выше медианного значения группы в 8 (8,2%) случаях, ниже – в 9 (9,3%) случаях, не определялись в 80 (82,5%) случаях. CD163 положительные иммунные клетки были выше медианного значения группы в 71 (73,2%) случаях, ниже – в 26 (26,8%) случаях.

Выводы:

1. В Актюбинской области на основе данных 650 пациентов, среди которых 59,7% – мужчины и 40,3% – женщины. Возраст (>65 лет, p=0,04), стадия опухоли (IV стадия, p=0,046), глубина инфильтрации (p=0,001) и метастатический статус (83,4% пациентов имели метастазы, p=0,02) оказывают значительное влияние на прогрессию заболевания и смертность. Основными методами лечения были хирургическая резекция в сочетании с химиотерапией (49,1%) или лучевой терапией (50,9%), при этом отсутствие метастазов повышало вероятность успешного лечения (ОШ=1,764, p=0,002). Полученные результаты подчеркивают необходимость индивидуализированного подхода к диагностике и терапии КРР, учитывающего ключевые прогностические факторы.

2. Установлен прогностически значимый пороговый уровень относительного содержания КПК в строме инвазивного края с промежуточной десмопластической реакцией на основе максимальной дискриминационной способности для общей выживаемости и безрецидивной выживаемости - 30%. Содержание КПК более 30% связано с худшими показателями общей и безрецидивной выживаемости по сравнению с пациентами с опухолями с содержанием менее 30% КПК.

3. Диффузный гистотип КПК (>30%) является независимым фактором риска послеоперационного рецидива (ОР=2,019 95%ДИ=1,201-3,395, $p=0,008$); риска смерти (ОР=2,325, 95%ДИ=1,241-4,354, $p=0,008$). Он коррелирует со Т-стадией ($p=0,038$), N-стадией ($p=0,002$), G ($p=0,034$), венозной ($p=0,007$) и лимфатической инвазией ($p=0,006$); обратно коррелирует с высокой степенью лимфоцитарной ($p=0,001$), внутриопухолевой перигранулярной ($p=0,009$) и перитуморальной лимфоцитарной инфильтрацией ($p=0,001$), высоким индексом Klintrup-Mäkinen ($p=0,01$). Пациенты с очаговым содержанием келлоидоподобного коллагена в строме опухоли (<30%) характеризовались более длительным безрецидивным периодом, чем пациенты с диффузным содержанием (более 30%) ($p < 0,01$).

4. При очаговом типе КПК (<30%) процент высокого количества CD3⁺ и CD8⁺ клеток встречаются чаще по сравнению с диффузным ($p=0,003$ и $p < 0,0001$), что характеризуется более длительными сроками общей и безрецидивной выживаемости. В опухолях с диффузным типом КПК (>30%) чаще встречается количество случаев с высоким содержанием CD163⁺ клеток по сравнению с очаговым ($p < 0,0001$), это согласуется с данными о связи высокой экспрессии CD163 с большей инфильтрацией макрофагами и ассоциируется с худшим прогнозом.