

Д.С. Осинський¹
С.П. Меренцев¹
М.В. Дятел¹
А.В. Ковельська²
Л.Д. Гуменюк²
Л.М. Бубновська²

¹Київський міський клінічний
онкологічний центр
МОЗ України

²Інститут експериментальної
патології, онкології
і радіобіології
ім. Р.Є. Кавецького
НАН України, Київ, Україна

Ключові слова: рак шлунка,
гістологічна класифікація
за Лауреном, гіпоксія,
ангіогенез, виживаність.

АСОЦІАЦІЯ РІВНЯ ГІПОКСІЇ ТА ПОКАЗНИКІВ АНГІОГЕНЕЗУ У ТКАНИНІ РАКУ ШЛУНКА З ГІСТОЛОГІЧНИМИ ТИПАМИ ЗА ЛАУРЕНОМ

Мета: визначити наявність асоціації між гіпоксією тканини раку шлунка (РШ) та гістологічними типами за Лауреном. **Об'єкт і методи:** обстежено 202 хворих із діагнозом первинного РШ, які не отримували лікування до операції, з подальшим дослідженням пухлинного матеріалу. Проведено імуногістохімічне визначення кількості VEGF-позитивних клітин і щільності мікросудин (ШМС) у пухлині та ЯМР-спектроскопію для оцінки рівня гіпоксії, статистичний аналіз результатів. **Результати:** кількість пухлин кишкового типу становила 36,6%, дифузного — 48,5% та змішаного — 14,9%. Кількість VEGF-позитивних клітин у РШ кишкового та змішаного типу зростала за умов гіпоксії пухлини. У тканині РШ усіх типів за Лауреном визначалася велика кількість VEGF-позитивних клітин (більше медіани), особливо у пухлинах дифузного типу. У РШ змішаного типу виявили невисокий рівень ШМС, що вказує на низький ступінь ангіогенезу за цим показником. Встановлено при цьому, що пухлин змішаного типу, що характеризуються гіпоксією, більше, ніж таких із задовільною оксигенацією. Ризик несприятливого прогнозу у хворих на РШ кишкового типу за умов гіпоксії пухлини зростає у 3 рази, дифузного та змішаного — у 2 рази. Вірогідність несприятливого перебігу захворювання при РШ кишкового типу при гіпоксії підвищується у 4 рази, дифузного — у 5 разів. Тривалість життя хворих на РШ виявилася найменшою при пухлині дифузного типу. За умов гіпоксії пухлини тривалість життя зменшувалася при всіх типах РШ, особливо змішаному. **Висновок:** гіпоксія пухлини стимулює агресивність РШ незалежно від гістологічного типу за Лауреном, значну роль у цьому процесі відіграє VEGF. Виявлені асоціативні зв'язки між гіпоксія-залежними показниками пухлини і клінічними характеристиками процесу дозволяють припустити, що РШ змішаного типу характеризується прихованою агресивністю.

ВСТУП

Відомо, що гіпоксію розглядають як один із ключових факторів формування агресивності пухлини та її злоякісної прогресії [1]. Існують експериментальні та клінічні підтвердження того, що гіпоксична фракція солідних пухлин стимулює ріст новоутворення та його метастатичний потенціал і знижує чутливість до іонізуючої радіації та низки хімотерапевтичних препаратів [2–4]. Певні гіпоксія-асоційовані фактори пухлинного мікрооточення, зокрема HIF-1 α , VEGF, GLUT-1, рівень гіпоксії, щільність мікросудин (ШМС), запропоновано використовувати як прогностичні маркери [5–7]. Наразі широко застосовують відомі класичні прогностичні критерії, такі як класифікація R (об'єм резекції), категорії T і N, стадія TNM, наявність віддалених метастазів, ступінь диференціювання, гістологічна структура [8]. Однак відомо, що рівень гіпоксії у тканині раку шлунка (РШ) не корелює з клініко-патологічними характеристиками пухлини [9], подібну осо-

бливість відзначають і в інших типах злоякісних пухлин людини [10].

У клінічній практиці серед гістологічних класифікацій РШ чільне місце посідає класифікація Лаурена, яку продовжують активно використовувати, особливо у закордонних клініках [11]. За цією класифікацією розрізняють два головні типи РШ: кишковий (інтестинальний) і дифузний, а також змішаний тип РШ. Пухлини кишкового типу виникають на фоні хронічного гастриту з кишковою метаплазією, дисплазією та атрофією слизової оболонки шлунка та формуванням добре диференційованих залоз. Для пухлин цього типу характерним є лімфогенне метастазування та відносно сприятливий перебіг захворювання. РШ дифузного типу характеризується низькою диференціацією клітин та їх слабким зчепленням, проростанням у стінку шлунка та прилеглі тканини, раннім метастазуванням, більш агресивним клінічним перебігом і гіршим прогнозом. За класифікацією WHO, добре та помірно диференційований РШ належить до киш-

кового типу за Лауреном, тоді як слабкодиференційований та недиференційований або перстнеподібно-клітинний — до дифузного [12].

Цікавими виявилися дані S.Y. Oh та співавторів [13] щодо зв'язку між рівнем VEGF у сироватці крові хворих на РШ і гістологічними типами пухлини за Лауреном, зокрема встановлено більш низький рівень VEGF у крові пацієнтів із дифузним типом РШ. Цей факт виявився певним чином несподіваним, тому що слід було б очікувати на прямий зв'язок між більш агресивними пухлинами, якими є пухлини дифузного типу, та активним ангиогенезом, тобто підвищенням рівнем сироваткового VEGF. Можна припустити, що рівень VEGF у крові не є тим показником, який достовірно характеризує стан ангиогенезу у тканині РШ, що і спричиняє невідповідність між факторами, які є маркерами несприятливого прогнозу.

Зважаючи на відомі дані щодо участі гіпоксія-асоційованого профілю пухлини у формуванні її агресивності та у злоякісній прогресії, доцільним було проаналізувати можливий зв'язок між рівнем гіпоксії РШ і його гістологічними типами за класифікацією Лаурена. Слід при цьому зауважити, що у доступній літературі інформації щодо подібних спроб не знайдено.

ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Обстежено 202 хворих (121 чоловік та 81 жінка) з діагнозом первинний РШ, які лікувалися у Київському міському клінічному онкологічному центрі. Хворі не отримували лікування до операції. Зразки видаленої під час операції пухлини миттєво занурювали в рідкий азот для подальшого дослідження методом ЯМР-спектроскопії з метою визначення рівня гіпоксії у пухлині [5] та у забуферений 10% формалін для імуногістохімічного визначення кількості VEGF-позитивних клітин і ЩМС [14]. Стадію захворювання визначали відповідно до номенклатури TNM [15], гістологічну класифікацію пухлини — згідно з рекомендаціями WHO [16]. Рівень гіпоксії у пухлині встановлювали методом ЯМР-спектроскопії перхлорних екстрактів тканини та оцінювали на підставі метаболічного співвідношення РМЕ/Рі. При співвідношенні РМЕ/Рі < 1,4 пухлини характеризуються глибокою та помірною гіпоксією, при РМЕ/Рі > 1,4 — вважаються слабкогіпоксичними чи задовільно оксигенованими. Метод визначення співвідношення РМЕ/Рі та ефективність його використання для оцінки гіпоксії тканини описано раніше [5, 9]. Хворі отримували хірургічне лікування чи післяопераційну хіміотерапію за стандартними схемами [17]. Усі пацієнти були сповіщені про дослідження та дали свою згоду на використання операційного матеріалу.

Статистичні аналізи виконано за допомогою пакетів прикладних програм NCSS 2000/PASS 2000 та Prism, version 4.3. χ^2 тест використано для визначення кореляції між гістологічними типами РШ

за Лауреном і клініко-патологічними характеристиками. Прогностичне значення показників оцінювали за допомогою пропорційної моделі Сох з використанням χ^2 тесту, коефіцієнтів ризику (hazard ratio — HR) і вірогідності (odds ratio — OR). Статистична значущість прийнята при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Клінічні характеристики обстежених пацієнтів наведено у табл. 1. Хворих на РШ кишкового типу було 74 (36,6%), дифузного — 98 (48,5%) та змішаного — 30 (14,9%). Як свідчать дані табл. 1, пацієнти з РШ дифузного типу молодші за хворих із кишковим і змішаним типом РШ, що є характерним для цієї патології [18]. Слід відмітити превалювання ($p = 0,0001$) перстнеподібно-клітинного та недиференційованого РШ, які належать до дифузного типу за Лауреном. Встановлено також, що новоутворення зі ступенем диференціювання G₄ становили більшість ($p = 0,0001$) пухлин дифузного типу, які найчастіше ($p = 0,0001$) виявляли при III й особливо IV стадії пухлинного процесу. Визначено також більшу частоту карцином дифузного типу у хворих із категоріями pT₃₋₄, N₁₋₂ та M₁ ($p = 0,0043$, $p = 0,0001$, $p = 0,0047$ відповідно). Слід відмітити, що у нашому дослідженні пухлин дифузного типу виявлено більше, ніж пухлин кишкового типу, що дещо відрізняється від частоти типів РШ за Лауреном, наданої в доступній літературі. У більшості повідомлень пухлини кишкового типу переважають над пухлинами дифузного, хоча різниця є невеликою, зокрема 62,3 і 27,9% [19], 58,0 і 25,0% [20], 59,0 і 30,0% [21] відповідно. Наші дані збігаються з результатами дослідження M. Qiu та співавторів [22], які виявили кишковий тип у 33,9% і дифузний — у 51,0% хворих. Цікаві дані навели M. Yu та співавторів [23] щодо частоти пухлин шлунка за класифікацією Лаурена у хворих двох різних національностей: у китайців кишковий тип виявлено у 37,7% і дифузний — у 52,6% пацієнтів, тоді як у японців — у 47,0 та 30,9% хворих відповідно. Виявлена перевага дифузного типу над кишковим у китайців певною мірою підтверджує генетичну детермінованість кишкового типу РШ [24], хоча висловлюються пропозиції щодо необхідності переглянути цю гіпотезу [21]. Важливо зауважити, що у нашому дослідженні була значна кількість хворих на перстнеподібно-клітинний РШ (53 особи), який відносять до дифузного типу за Лауреном [12], що певним чином вплинуло на загальну кількість пухлин цього типу.

Розподіл пацієнтів із РШ різного гістологічного типу за Лауреном залежно від рівня гіпоксії пухлини наведено в табл. 2. Привертає увагу значне переважає пухлини із сильною гіпоксією (РМЕ/Рі < 1,4) — у 2 рази ($p < 0,001$) — у підгрупі РШ змішаного типу. Частота пухлин кишкового та дифузного типу із сильною та слабкою гіпоксією суттєво не відрізнялася.

Клінічна характеристика хворих на РШ відповідно до гістологічної класифікації Лаурена

Показник	Типи РШ за класифікацією Лаурена, n (%)			p
	Кишковий 74 (36,6)	Дифузний 98 (48,5)	Змішаний 30 (14,9)	
Вік				
Середній (розподіл), років	62,8 (32–81)	56,4 (31–80)	62,2 (49–77)	
Стать				
Чоловіки	46 (62,2)	55 (56,1)	20 (66,7)	0,5189
Жінки	28 (37,8)	43 (43,9)	10 (33,3)	
Гістологічна структура РШ				
Аденокарцинома	68 (91,9)	19 (19,4)	27 (90,0)	0,0001
Слизовий рак	6 (8,1)	1 (1,0)	2 (6,7)	
Перснеподібно-клітинний рак	0	53 (54,1)	0	
Недиференційований рак	0	25 (25,5)	1 (3,3)	
Локалізація пухлини у шлунку				
Верхня третина	11 (14,9)	12 (12,2)	5 (16,7)	0,1250
Середня третина	21 (28,4)	37 (37,8)	9 (30,0)	
Нижня третина	42 (56,7)	41 (41,8)	15 (50,0)	
Тотальне ураження	0	8 (8,2)	1 (3,3)	
Ступінь диференціювання*				
G ₁	6 (8,1)	0	0	0,0001
G ₂	35 (47,3)	0	1 (3,3)	
G ₃	25 (33,8)	37 (37,7)	27 (90,0)	
G ₄	3 (4,0)	61 (62,2)	2 (6,7)	
Стадія TNM				
I	24 (32,4)	8 (8,2)	3 (10,0)	0,0001
II	19 (25,7)	17 (17,3)	9 (30,0)	
III	26 (35,1)	47 (48,0)	13 (43,3)	
IV	5 (6,8)	26 (26,5)	5 (16,7)	
Категорія pT				
1	6 (8,1)	3 (3,1)	1 (3,3)	0,0043
2	23 (31,1)	8 (8,2)	6 (20,0)	
3	31 (41,9)	58 (59,2)	15 (50,0)	
4	14 (18,9)	29 (29,5)	8 (26,7)	
Категорія pN				
N _x	0	5 (5,1)	2 (6,7)	0,0001
N ₀	48 (64,9)	31 (31,6)	12 (40,0)	
N ₁	16 (21,6)	28 (28,6)	12 (40,0)	
N ₂	10 (13,5)	34 (34,7)	4 (13,3)	
Віддалені метастази				
Відсутні (M ₀)	70 (94,6)	75 (76,5)	26 (86,7)	0,0047
Наявні (M ₁)	4 (5,4)	23 (23,5)	4 (13,3)	

*У 5 (6,8%) хворих – Gx, ступінь диференціювання не міг бути визначений.

Таблиця 2

Розподіл хворих на РШ різного гістологічного типу за Лауреном залежно від рівня гіпоксії пухлини

Рівень гіпоксії	Кількість хворих на РШ різного гістологічного типу, %		
	Кишковий	Дифузний	Змішаний
RME/Pi < 1,4 (сильна гіпоксія)	51,2	45,3	66,7
RME/Pi > 1,4 (слабка гіпоксія)	48,8	54,7	33,3*

*p < 0,001 порівняно зі значенням при сильній гіпоксії.

Оскільки гіпоксія пухлини є одним із ключових чинників, які опосередковують агресивність останньої, важливим було визначення зв'язків між гіпоксія-асоційованими факторами пухлинного мікрооточення та гістологічними типами за Лауреном, які характеризують злоякісність новоутворення. Встановлено, що за умов гіпоксії кількість VEGF-позитивних клітин у пухлинах кишкового та змішаного типу є дещо більшою, ніж за умов задовільної оксигенації (відповідно 58,8 проти 49,2% та 59,2 проти 45,4%), але різниця виявилася статистично недостовірною (p > 0,05) (табл. 3). Аналіз зв'язку між типом пухлини за Лауре-

ном і кількістю VEGF-позитивних пухлин зі значенням цього параметра вищим і нижчим за медіану показав, що пухлини з кількістю VEGF-позитивних клітин, більшою за медіану (> 47,0%), достовірно переважають за всіх гістологічних типів, причому це особливо виражено при РШ дифузного типу (в 3,3 раза; p < 0,01) (табл. 4). При всіх гістологічних типах РШ за Лауреном середня частота VEGF-позитивних клітин у підгрупі «вище медіани» була достовірно більшою за таку в підгрупі «нижче медіани» (72,7–78,4% проти 21,2–27,5%): при кишковому типі — в 3,5, при дифузному — в 3,2, при змішаному — в 2,6 раза (табл. 5). Одержані дані можуть вказувати на активну участь VEGF у становленні агресивності РШ.

Таблиця 3

VEGF-позитивні клітини у тканині РШ різного гістологічного типу за Лауреном залежно від рівня гіпоксії пухлини (RME/Pi < 1,4 або > 1,4)

Кількість VEGF-позитивних клітин залежно від гістологічного типу РШ, %					
Кишковий		Дифузний		Змішаний	
< 1,4	> 1,4	< 1,4	> 1,4	< 1,4	> 1,4
58,8	49,2	70,1	76,2	59,2	45,4
(10,5–89,2)	(17,0–97,7)	(69,0–85,4)	(29,1–96,7)	(16,7–89,0)	(24,1–66,6)

Таблиця 4
Частота пухлин різного гістологічного типу за Лауреном залежно від медіани відносної кількості (47%) VEGF-позитивних клітин у пухлинах

Тип пухлин	Розподіл пухлин залежно від медіани VEGF-позитивних клітин, %		Співвідношення відносної кількості пухлин із кількістю VEGF-позитивних клітин вище та нижче медіани, разів (р)
	< 47,0	> 47,0	
Кишковий	35,3	64,7	1,80 (< 0,05)
Дифузний	23,1	76,9	3,30 (< 0,01)
Змішаний	37,5	62,5	1,65 (0,05)

При змішаному типі порівняно з кишковим – $p > 0,05$; змішаному типі порівняно з дифузним – $p < 0,01$; кишковому типі порівняно з дифузним – $p > 0,05$.

Таблиця 5
VEGF-позитивні клітини у тканині РШ різного гістологічного типу за Лауреном

Кількість VEGF-позитивних клітин за різним гістологічним типом, %					
Кишковий		Дифузний		Змішаний	
< 47	> 47	< 47	> 47	< 47	> 47
21,2 (10,5– 43,8)	73,3 (47,1– 97,7)*	24,7 (21,0– 29,6)	78,4 (47,0– 96,7)*	27,5 (16,7– 41,7)	72,7 (56,0– 89,0)*

Обчислювали кількість VEGF-позитивних клітин у підгрупах нижче та вище медіани (47%). * $p < 0,001$ порівняно з середнім показником підгрупи нижче медіани (< 47%).

Виявлено, що ЩМС у пухлинах кишкового і дифузного типу не корелює з рівнем гіпоксії. Хоча у пухлинах кишкового типу при гіпоксії середнє значення ЩМС ($163,6 \pm 30,1$ мікросудин (мкс)/мм²) перевищує медіану цього показника (142 мкс/мм²), зростання статистично недостовірне (табл. 6). Водночас середнє значення ЩМС у пухлинах змішаного типу при сильній гіпоксії ($PME/Pi < 1,4$) виявилося значно нижчим за медіану ($p < 0,05$). Встановлено також, що відносна кількість пухлин змішаного типу, в яких ЩМС є нижчою за медіану, достовірно переважає таку зі значенням ЩМС вищим за медіану, що свідчить про низький рівень ангиогенезу у цих пухлинах (табл. 7).

Отримані результати стосовно РШ змішаного типу за Лауреном потребують обговорення з погляду можливого перегляду ступеня його злоякісності. Встановлено (див. табл. 2), що відносна кількість пухлин змішаного типу із сильною гіпоксією є достовірно більшою ($p < 0,001$), ніж пухлин із задовільною оксигенацією. У таких випадках слід очікувати посилення неоангіогенезу як компенсаторного механізму, але зростання кількості VEGF-позитивних клітин у пухлинах цього типу незначне (див. табл. 3). Привертає увагу і той факт, що кількість пухлин зі значенням ЩМС нижче медіани значно переважає кількість новоутворень із ЩМС вище медіани (див. табл. 6). Ці дані можуть вказу-

вати на відсутність зв'язку між гіпоксичним станом РШ змішаного типу та активним неоангіогенезом, як слід було б очікувати на підставі відомого факту щодо стимулюючого впливу гіпоксії на ангиогенез. Визначення механізмів такого явища потребує спеціального дослідження. Водночас виявлення значно більшої кількості пухлин змішаного типу у стані гіпоксії (яка є провідним фактором пухлинної прогресії) вказує на необхідність більш ретельного вивчення пухлин цього типу як потенційно агресивніших, ніж вважають.

Таблиця 7
Розподіл пухлин різного гістологічного типу за Лауреном за показником ЩМС залежно від медіани останнього (142 мкс/мм²)

Кількість пухлин різного гістологічного типу, %					
Кишковий		Дифузний		Змішаний	
< 142	> 142	< 142	> 142	< 142	> 142
46,7	53,3	46,2	53,8	83,3	16,7*

* $p < 0,05$ порівняно зі значенням у підгрупі нижче медіани (< 142 мкс/мм²).

Визначено ризик несприятливого прогнозу захворювання відповідно до гістологічного типу за Лауреном у всіх хворих, незалежно від рівня гіпоксії у пухлині: ризик зростав майже у 3 рази за наявності пухлин дифузного типу порівняно з пухлинами кишкового типу ($HR = 2,7$; $\chi^2 = 16,19$; $p < 0,001$) і у 1,7 рази при зіставленні з пухлинами змішаного типу ($HR = 1,71$; $\chi^2 = 4,975$; $p < 0,05$); у 1,5 рази при пухлинах змішаного типу порівняно з пухлинами кишкового типу ($HR = 1,57$; $\chi^2 = 6,98$; $p < 0,01$). За наявності гіпоксії пухлини ризик несприятливого прогнозу для хворих на РШ дифузного типу був у 2 рази вищим порівняно з хворими з кишковим ($HR = 2,01$; $\chi^2 = 6,98$; $p < 0,01$) та змішаним ($HR = 2,44$; $\chi^2 = 6,84$; $p < 0,01$) типами, що свідчить про агресивніший перебіг РШ дифузного типу й за умов гіпоксії. Встановлено також, що ризик несприятливого прогнозу пухлинного процесу у хворих на РШ кишкового типу за умов гіпоксії зростає у 3 рази ($HR = 3,15$; $\chi^2 = 4,68$; $p < 0,05$) порівняно з таким при задовільній оксигенації.

Також визначено вірогідність несприятливого перебігу пухлинного процесу у хворих із різними типами РШ. За умов задовільної оксигенації вірогідність несприятливого клінічного перебігу РШ дифузного типу порівняно з кишковим більша у 10 разів ($OR = 10,37$; 95% confidence interval (CI) 2,4818–43,335; $p < 0,001$), що свідчить про більшу агресивність дифузного типу РШ порівняно з кишковим. При гіпоксії вірогідність несприятливого клінічного перебігу РШ дифузного типу підвищується більш ніж у 5 разів при зіставленні з кишковим типом ($OR = 5,25$; 95% CI 1,4743–18,690; $p < 0,01$). Ви-

Таблиця 6
ЩМС у тканині РШ різного гістологічного типу за Лауреном залежно від рівня гіпоксії пухлини ($PME/Pi < 1,4$ або $> 1,4$)

ЩМС за гістологічним типом РШ, мкс/мм ²					
Кишковий		Дифузний		Змішаний	
< 1,4	> 1,4	< 1,4	> 1,4	< 1,4	> 1,4
163,6 ± 30,1	128,7 ± 15,9	147,4 ± 20,1	151,0 ± 23,5	116,1 ± 17,3	160,75 ± 15,6

Тривалість життя хворих на РШ різного гістологічного типу за Лауреном залежно від рівня гіпоксії пухлини (PME/Pi < 1,4 або > 1,4)

Тривалість життя хворих на РШ різного гістологічного типу, міс					
Кишковий		Дифузний		Змішаний	
< 1,4	> 1,4	< 1,4	> 1,4	< 1,4	> 1,4
18,40 ± 3,35**	23,40 ± 5,70*	10,60 ± 1,63	13,60 ± 1,85	10,60 ± 1,63	13,6 ± 1,85
18,30 ± 2,83***		13,40 ± 1,22		16,75 ± 2,92	

*p < 0,05 – порівняно з дифузним типом за умов PME/Pi > 1,4; **p < 0,05 – порівняно з дифузним типом за умов PME/Pi < 1,4; ***p = 0,05 – порівняно з дифузним типом РШ.

рогідність несприятливого перебігу РШ кишковий типу при гіпоксії порівняно із задовільною оксигенацією зростає майже у 4 рази (OR = 3,99; 95% CI 0,8916–18,060; p < 0,05).

Аналіз виживаності показав, що визначена без урахування рівня гіпоксії середня тривалість життя хворих на РШ різного гістологічного типу за Лауреном найменша при дифузному типі (табл. 8), що збігається з відомими даними літератури [25, 26]. Слід при цьому зазначити, що аналізували відомості про пацієнтів, які отримували як лише хірургічне втручання, так і ад'ювантну хіміотерапію. Важливим є факт зменшення за умов гіпоксії (PME/Pi < 1,4) тривалості життя хворих на РШ усіх гістологічних типів, особливо змішаного: порівняно з середнім для цього типу РШ показником тривалості життя — в 1,6 раза (16,75 проти 10,60 міс). Це дозволяє припустити, що змішаний тип РШ, вірогідно, характеризується своєрідною «прихованою» агресивністю, на яку досі не звертали уваги.

ВИСНОВКИ

1. Встановлено низькі показники тривалості життя хворих на РШ незалежно від гістологічного типу за Лауреном за умов гіпоксії пухлинної тканини, що підтверджує її ключову роль у злякисній прогресії та вказує, вірогідно, на необхідність при оцінці прогностичного значення гістологічних типів враховувати особливості мікрооточення пухлинних клітин, асоційовані з внутрішньопухлинною гіпоксією.

2. У формуванні агресивності всіх гістологічних типів РШ за Лауреном бере участь VEGF, хоча достовірний зв'язок між ЩМС і гістологічним типом відсутній.

3. Встановлено, що 60% пухлин шлунка змішаного типу за Лауреном характеризуються високим рівнем гіпоксії, що, враховуючи провідну роль останньої у формуванні агресивності новоутворення, може вказувати на більшу злякисність РШ змішаного типу, ніж вважають.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Vaupel P, Mayer A. Hypoxia in cancer: significance and impact on clinical outcome. *Cancer Metastasis Rev* 2007; **26**: 225–39.

2. Walsh JC, Lebedev A, Aten E, et al. The clinical importance of assessing tumor hypoxia: relationship of tumor hypoxia to prognosis and therapeutic opportunities. *Antioxid Redox Signal* 2014; **21**: 1516–54.

3. Chouaib S, Messa Y, Couve S, et al. Hypoxia promotes tumor growth in linking angiogenesis to immune escape. *Frontiers in Oncology* 2012; **3**: article 21, 1–10.

4. Gilkes DM, Semenza GL, Wirtz D. Hypoxia and the extracellular matrix: drivers of tumor metastasis. *Nat Rev Cancer* 2014; **14**: 430–9.

5. Бубновська ЛМ, Ковельська АВ, Болдескул ІЄ та ін. Рівень гіпоксії у тканині раку шлунка та перебіг захворювання. *Онкологія* 2009; **11**: 39–44.

6. Rademakers SE, Lok J, van der Kogel AJ, et al. Metabolic markers in relation to hypoxia; staining patterns and colocalization of pimonidazole, HIF-1alpha, CAIX, LDH-5, GLUT-1, MCT1 and MCT4. *BMC Cancer* 2011; **11**: 167.

7. Hoeben BAW, Starmans MHW, Leijenaar RTH. Systematic analysis of ¹⁸F-FDG PET and metabolism, proliferation and hypoxia markers for classification of head and neck tumors. *BMC Cancer* 2014; **14**: 130.

8. Catalano V, Labianca R, Beretta GD, et al. Gastric cancer. *Crit Rev Oncol Hematol* 2009; **71**: 127–64.

9. Osinsky S, Bubnovskaya L, Ganusevich I, et al. Hypoxia, tumour-associated macrophages, microvessel density, VEGF and matrix metalloproteinases in human gastric cancer: interaction and impact on survival. *Clin Transl Oncol* 2011; **13**: 133–8.

10. Wouters BG, Wepler SA, Koritzinsky M, et al. Hypoxia as a target for combined modality treatments. *Eur J Cancer* 2002; **38**: 240–57.

11. Lauren T. The two histological main types of gastric carcinoma. *Acta Pathol Microbiol Scand* 1965; **64**: 31–49.

12. Roukos DH, Agnantis NJ, Fatouros M, Kappas AM. Gastric cancer: introduction, pathology, epidemiology. *Gastric Breast Cancer* 2002; **1**: 1–3.

13. Oh SY, Kwon H-C, Kim SH, et al. Prognostic significance of serum levels of vascular endothelial growth factor and insulin-like growth factor-1 in advanced gastric cancer patients treated with FOLFOX chemotherapy. *Chemotherapy* 2012; **58**: 426–34.

14. Ковельська А, Гуменок Л, Осинський Д та ін. Показники ангиогенезу у тканині раку шлунка людини та їх клінічне значення. *Онкологія* 2012; **14**: 286–92.

15. International Union Against Cancer. TNM Classification of Malignant Tumors, 6th ed. *LH Sobin, C Wittekind*, eds. New York: Wiley-Liss, 2002: 21.

16. Fenoglio-Preiser C, Carneiro F, Correa P, et al. Gastric carcinoma. In: World Health Organization Classification of tumours: pathology and genetics, tumours of the digestive system. *SR Hamilton, LAAaltonen*, eds. Lyon: IARC Press, 2000; **3** (chapter 3): 39–52.

17. Osinsky DS, Bubnovskaya LN, Kovelskaya AV, Merentsev SP. Association between hypoxia level in gastric cancer, assessed by ³¹P NMR spectroscopy, and results of patients treatment with different methods. *Онкологія* 2014; **16**: 283–7.

18. Fuchs CS, Mayer RJ. Gastric carcinoma. *New Engl J Med* 1995; **333**: 32–41.

19. Lazăr D, Tăban S, Sporea I, et al. Gastric cancer: correlation between clinicopathological factors and survival of patients (II). *Romanian J Morphol Embryol* 2009; **50**: 185–94.

20. Chiaravalli AM, Klersy C, Vanoli A, et al. Histotype-based prognostic classification of gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2012; **18**: 896–904.

21. Ekström AM, Hansson L-E, Signorello LB, et al. Decreasing incidence of both major histologic subtypes of gastric adenocarcinoma — a population-based study in Sweden. *Br J Cancer* 2000; **83**: 391–6.

22. Qiu M, Zhou Y, Zhang X, *et al.* Lauren classification combined with HER2 status is a better prognostic factor in Chinese gastric cancer patients. *BMC Cancer* 2014; **14**: 823.

23. Yu M, Zheng H-C, Xia P, *et al.* Comparison in pathological behaviours and prognosis of gastric cancers from general hospitals between China and Japan. *Indian J Med Res* 2010; **132**: 295–302.

24. Correa P, Shiao YH. Phenotypic and genotypic events in gastric carcinogenesis. *Cancer Res* 1994; **54**: 1941s–3s.

25. Ming S. Cellular and molecular pathology of gastric carcinoma and precursor lesions: a critical review. *Gastric Cancer* 1998; **1**: 31–50.

26. Qiu M-Z, Cai M-Y, Zhang D-S, *et al.* Clinicopathological characteristics and prognostic analysis of Lauren classification in gastric adenocarcinoma in China. *J Transl Med* 2013; **11**: 58.

ASSOCIATION BETWEEN HYPOXIA LEVEL AND ANGIOGENESIS INDICES IN GASTRIC CANCER TISSUE AND LAUREN'S CLASSIFICATION

D.S. Osinsky, S.P. Merentsev, M.V. Dyatel,
A.V. Kovelska, L.D. Gumeniuk, L.M. Bubnovska

Summary. *Aim:* to evaluate the association between hypoxia in gastric cancer (GC) and Lauren histological types. *Object and methods:* the study involved 202 patients with a diagnosis of primary GC, which are not treated before surgery with subsequent tumor research material. An immunohistochemical analysis determines the amount of VEGF-positive cells and microvessel density in the tumor and NMR-spectroscopy to assess hypoxia, statistical analysis of results. *Results:* the number of intestinal type tumors was 36.6%, diffuse — 48.5% and mixed — 14.9%. Number of VEGF-positive cells in the intestinal GC and mixed types grown under conditions of hypoxic tumor.

In all types of GC Lauren was determined by a large number of VEGF-positive cells (above median), especially in tumors of the diffuse type. In GC mixed type, give low level of microvessels density, indicating a low level of angiogenesis on this indicator. It is established here that the mixed type tumors, which are characterized by hypoxia, are more than those with good oxygenation. The risk of unfavorable prognosis in patients with intestinal type GC for tumor hypoxia increases 3 times, diffuse and mixed — 2 times. Probability of adverse disease at GC intestinal type hypoxia increases 4 times and diffuse — 5 times. The life expectancy of patients with at least proved GC diffuse type. When tumor hypoxia decreased life expectancy for all types of GC, especially mixed type. Conclusion: hypoxia promotes tumor aggressiveness of GC regardless of histological type for Lauren, a significant role in this process is played by VEGF. Revealed an association between hypoxia-dependent tumors and clinical performance characteristics of the process suggest that GC mixed type characterized by latent aggressiveness.

Key Words: gastric cancer, Lauren classification, hypoxia, angiogenesis, survival.

Адреса для листування:

Осинський Д.С.

03115, Київ, вул. Верховинна, 69

Київський міський клінічний онкологічний центр МОЗ України

E-mail: dosinsky@ukr.net

Одержано: 02.02.2015