

УДК 616.24 – 006:363.04:577

**ИССЛЕДОВАНИЕ АРГИРОФИЛЬНЫХ БЕЛКОВ
ЯДРЫШКООБРАЗУЮЩИХ РАЙОНОВ И АНТИГЕНА КИ-67
ПРИ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОМ РАКЕ ЛЕГКОГО**

²Лазарев А.Ф., ¹Кобяков Д.С., ²Авдалян А.М., ³Лушникова Е.Л.,
³Непомнящих Л.М., ¹Климачевский А.А.

¹БУ «Когалымская городская больница», Когалым, e-mail: dskob@yandex.ru;

²Лаборатория молекулярной диагностики Алтайского филиала РОНЦ
им. Н.Н. Блохина РАМН, Барнаул, e-mail: ashot_avdalyan@mail.ru;

³ФГБУ «НИИ региональной патологии и патоморфологии» СО РАМН,
Новосибирск, e-mail: pathol@soramn.ru

Исследованы аргирофильные белки, ассоциированные с ядрышкообразующими районами (Ag-ЯОР) и антиген Ki-67 в немелкоклеточном раке легкого (НМРЛ). Определяли опухоли с низким и высоким содержанием Ag-ЯОР и индекса метки (ИМ) Ki-67. Содержание Ag-ЯОР имело связь с важнейшими клинико-морфологическими параметрами по системе TNM: показателями T, N, размером первичной опухоли до 3 см и более, стадией заболевания, гистогенезом и дифференцировкой опухоли. ИМ Ki-67 взаимосвязан с размером первичной опухоли до 3 см и более, стадией заболевания и дифференцировкой опухоли. Выживаемость больных НМРЛ лучше в опухолях с низким содержанием Ag-ЯОР или ИМ Ki-67 по сравнению с опухолями с высоким содержанием Ag-ЯОР или ИМ Ki-67. Выживаемость больных НМРЛ зависит от взаимного содержания Ag-ЯОР и ИМ Ki-67: высокая выживаемость связана с низким содержанием Ag-ЯОР и ИМ Ki-67, низкая – с высоким содержанием Ag-ЯОР и ИМ Ki-67, промежуточная – с противоположными значениями содержания Ag-ЯОР и ИМ Ki-67. Показатель N, размер опухоли, гистогенез, содержание Ag-ЯОР – независимые факторы прогноза НМРЛ. Выживаемость больных НМРЛ с отсутствием метастазов в лимфатические узлы связана с размером опухоли, а при наличии метастазов – с содержанием Ag-ЯОР и размером опухоли. При НМРЛ молекулярно-биологические параметры (Ag-ЯОР и Ki-67) взаимосвязаны с клинико-морфологическими параметрами по системе TNM и выживаемостью больных.

Ключевые слова: аргирофильные белки ядрышкообразующих районов, Ki-67, немелкоклеточный рак легкого

**STUDY OF ARGYROPHILIC PROTEINS OF NUCLEOLAR ORGANIZER REGIONS
AND ANTIGEN KI-67 IN NON-SMALL CELL LUNG CANCER**

²Lazarev A.F., ¹Kobyakov D.S., ²Avdalyan A.M., ³Lushnikova E.L.,
³Nepomnyaschikh L.M., ¹Klimachevskiy A.A.

¹Budget institution «Kogalymskaya City Hospital», Kogalym, e-mail: dskob@yandex.ru;

²Laboratory of Molecular Diagnosis, Altai branch N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center,
Barnaul, e-mail: ashot_avdalyan@mail.ru;

³FGBU (Federal State Budgetary Institution) Research Institute of regional pathology and
pathomorphology SO (Siberian Department) RAMS, Novosibirsk, e-mail: pathol@soramn.ru

Investigated argyrophilic proteins associated with nucleolar organizer regions (Ag-NOR proteins) and antigen Ki-67 in non-small cell lung cancer (NSCLC). Defined tumors with low and high Ag-NOR proteins and labeling index (LI) Ki-67. Ag-NOR proteins connected with the most important clinical and morphological parameters by TNM system: parameters T, N, tumor size to 3 cm or more, stage of disease, histogenesis and tumor differentiation. LI Ki-67 correlated with tumor size to 3 cm or more, stage of disease and tumor differentiation. Survival of patients NSCLC better with low Ag-NOR proteins or LI Ki-67 as compared to tumors with high Ag-NOR proteins or LI Ki-67. Survival of patients NSCLC depends on the relative Ag-NOR proteins and LI Ki-67: high survival rate associated with low Ag-NOR proteins and LI Ki-67, low – with high Ag-NOR proteins and LI Ki-67, intermediate – with opposite values of Ag-NOR proteins and LI Ki-67. Parameter N, tumor size, histogenesis, Ag-NOR proteins – independent prognostic factors NSCLC. Survival of patients NSCLC with absence of metastasis to the lymph nodes associated with tumor size, with presence of metastases – with Ag-NOR proteins and tumor size. In NSCLC molecular biological parameters (Ag-NOR and Ki-67) correlated with clinical and morphological parameters on the TNM system and survival of patients.

Keywords: argyrophilic proteins of nucleolar organizer regions, Ki-67, non-small cell lung cancer

Рак легкого является преобладающей формой среди злокачественных новообразований, из которого до 80% приходится на немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ). Отдаленные результаты лечения и выживаемости больных НМРЛ далеки от желаемых. В связи с этим актуальным является изучение мор-

фологических критериев, связанных с важнейшими клинико-морфологическими параметрами опухоли, выживаемостью больных и способных с большой долей вероятности прогнозировать течение заболевания.

Пролиферация – основополагающий процесс в возникновении и развитии

опухоли, а также фактор прогноза ее биологического поведения. На сегодняшний день существуют определенные трудности в достоверной оценке пролиферативного потенциала опухоли, так как пролиферация включает в себя не только количество пролиферирующих клеток (пролиферативная активность, фракция роста), но и скорость прохождения клеткой фаз митоза (продолжительность клеточного цикла).

Для оценки пролиферативной активности общепризнанным и доступным является иммуногистохимическое определение уровня антигена Ki-67. В многочисленных исследованиях показана связь этого маркера с прогнозом при НМРЛ [2, 8].

Аргирофильные белки, ассоциированные с ядрышкообразующими районами (Ag-ЯОР), являются маркером скорости клеточного цикла. До 75% окрашивания Ag-ЯОР составляют два главных аргирофильных белка С23 (нуклеолин) и В23 (нуклеофозмин), играющих важнейшую роль в синтезе рРНК [12]. Эти белки выявляются в ядрах клеток на протяжении всего клеточного цикла, количественно увеличиваясь в 1,5–3 раза в S- и G₂-фазы [13]. Показана обратная зависимость между количественным содержанием Ag-ЯОР и длительностью клеточного цикла [3], временем удвоения опухоли [9].

Анализ существующей литературы показал противоречивый характер связи антигена Ki-67 и Ag-ЯОР с клинико-морфологическими параметрами и выживаемостью больных НМРЛ [1, 2, 4, 8, 10, 11]. Кроме того, отсутствуют работы, уточняющие взаимную связь антигена Ki-67 и Ag-ЯОР с клинико-морфологическими параметрами и выживаемостью при НМРЛ.

Исходя из вышеизложенного, целью работы стало исследование антигена Ki-67 и Ag-ЯОР во взаимосвязи с клинико-морфологическими параметрами и выживаемостью при НМРЛ.

Материал и методы исследования

Исследованы 210 операционных материалов НМРЛ, удаленных за период 2007–2009 гг. в Алтайском краевом онкологическом диспансере (случаи с М1 и множественными опухолями исключены из исследования). Средний возраст пациентов составил 59 лет (от 35 до 75 лет), 177 мужчин (84%) и 33 женщины (16%). Выполнена лобэктомия 148 пациентам (70%) и пневмонэктомия 62 пациентам (30%). Предоперационная химиотерапия и лучевая терапия не проводились. Постоперационная химиотерапия проведена 21 пациенту (10%), чаще использовались цисплатин и этопозид. Постоперационная лучевая терапия проведена 64 пациентам (30%), суммарной очаговой дозой 50–60 Гр. Патогистологическая характеристика опухолей определена согласно классификации TNM 7 пересмотра [14] и представлена в табл. 1.

Таблица 1

Распределение случаев с высоким и низким содержанием Ag-ЯОР и ИМ Ki-67 при НМРЛ (абсолютное количество (в процентах)).

Характеристика	Количество случаев	–Ag-ЯОР		+Ag-ЯОР	
		–Ki-67	+Ki-67	–Ki-67	+Ki-67
Первичная опухоль					
Т 1	54 (26)	25 (46)	16 (30)	6 (11)	7 (13)
Т 2 и Т 3	156 (74)	36 (23)	28 (18)	30 (19)	62 (40)
наибольший размер					
< 3 см	87 (41)	38 (44)	23 (26)	11 (13)	15 (17)
> 3 см	123 (59)	23 (19)	21 (17)	25 (20)	54 (44)
Лимфатические узлы					
N 0	134 (64)	45 (33)	32 (24)	20 (15)	37 (28)
N 1–3	76 (36)	16 (21)	12 (16)	16 (21)	32 (42)
Стадия					
I	107 (51)	40 (37)	24 (23)	16 (15)	27 (25)
II и III	103 (49)	21 (21)	20 (19)	20 (19)	42 (41)
Гистогенез					
аденокарцинома	94 (45)	34 (36)	23 (25)	21 (22)	16 (17)
плоскоклеточный рак	116 (55)	27 (23)	21 (18)	15 (13)	53 (46)
Дифференцировка					
высокая	54 (26)	29 (54)	8 (15)	8 (15)	9 (16)
умеренная и низкая	156 (74)	32 (21)	36 (23)	28 (18)	60 (38)

Кусочки ткани фиксировали 18–24 часа в 10% нейтральном забуференном формалине. После стандартной проводки операционного материала готовили гистологические срезы толщиной 4 мкм. Пре-

параты окрашивали гематоксилином и эозином, ШИК-реактивом/альциановым синим, по Крейбергу. Иммуногистохимическим методом определяли антиген Ki-67 (клон М1В-1), цитokerатины 7 (клон SP52),

20 (клон SP33), High Molecular Weight (клон 34βE12) в автоматическом стейнере Ventana XT. Определяли индекс метки (ИМ) Ki-67 – количество положительно окрашенных клеток от общего количества подсчитанных клеток (в процентах). В каждом случае исследовали 1000 клеток в 5–7 полях зрения, при увеличении $\times 400$. Так как распределение ИМ Ki-67 в НМРЛ было непараметрическим, то меру центральной тенденции представляли в виде медианы, которая составила 25% (интерквартильный интервал 18–42%). Данное значение считали пороговым, что согласуется с данными литературы [8]. Соответственно, случаи с ИМ Ki-67 25% и более считались с высоким ИМ Ki-67 (+Ki-67), до 25% – с низким (–Ki-67).

Для изучения Ag-ЯОР срезы окрашивали азотнокислым серебром по одностадийной методике [15]. Перед окрашиванием срезы автоклавировали при 120°C 20 минут, в 0,01 М цитратном буфере (рН = 6,0). Докрашивание ядер не проводили, срезы заключали в канадский бальзам. В каждом случае определяли площадь Ag-ЯОР (в $\mu\text{м}^2$) в ядрах 100–120 случайно выбранных клеток с 10–15 цифровых изображений, полученных с соответствующих полей зрения микроскопа при увеличении $\times 1000$ (объектив $\times 100$, 1,25, oil). Компьютерный анализ изображений проводили в программе ImageJ 1.42. Для исключения ошибки измерений гранулы размером менее 0,1 $\mu\text{м}^2$ исключены из анализа. В качестве внутреннего контроля окрашивания использовали площадь Ag-ЯОР в ядрах малых лимфоцитов [7]. Находили индекс площади Ag-ЯОР – частное от деления площадей Ag-ЯОР в клетке опухоли и малом лимфоците. Так как распределение индекса площади Ag-ЯОР в НМРЛ было параметрическим, то меру центральной тенденции представляли в виде среднего значения, которое составило 6,51 (стандартное отклонение 1,68). По аналогии с оценкой ИМ Ki-67, случаи с индексом площади Ag-ЯОР 6,51 и более считались с высоким содержанием Ag-ЯОР (+Ag-ЯОР), до 6,51 – с низким (–Ag-ЯОР).

Статистический анализ полученных данных осуществляли в программе STATISTICA 6.0. При проверке статистических гипотез применяли двусторонний точный критерий Фишера для таблиц 2×2 , для выявления корреляции – тест χ^2 . Определяли общую скорректированную выживаемость больных за пятилетний период после операции, использовали метод Каплана – Мейера, логарифмический ранговый тест, регрессионную модель Кокса. Достоверность оценивали при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

В НМРЛ найдена корреляция между индексом площади Ag-ЯОР и ИМ Ki-67 ($r=0,33$, $p < 0,001$). Кросстабулированное распределение случаев НМРЛ с высоким и низким содержанием Ag-ЯОР и ИМ Ki-67 в зависимости от морфологических параметров опухоли представлено в таблице 1.

Отмечалось статистически значимое увеличение количества случаев с +Ag-ЯОР в группе опухолей T2 и T3 по сравнению с T1 – 92 (59%) и 13 (24%) случаев соответственно ($p < 0,001$). Однако при исследовании ИМ Ki-67 статистически

значимого отличия не получено в этих группах – 90 (58%) и 23 (43%) случая соответственно ($p = 0,06$). В НМРЛ с размером первичной опухоли более 3 см количество случаев с +Ag-ЯОР и +Ki-67 больше, чем в опухоли менее 3 см: для содержания Ag-ЯОР – 79 (64%) и 26 (30%) случаев соответственно ($p < 0,001$); для ИМ Ki-67 – 75 (61%) и 38 (43%) случаев соответственно ($p = 0,02$). Количество случаев с +Ag-ЯОР достоверно больше в группе опухолей с наличием метастазов в лимфатические узлы по сравнению с опухолями без метастазов – соответственно 48 (63%) и 57 (43%) случаев ($p < 0,01$). Количество случаев с +Ki-67 достоверно не отличается между этими группами – соответственно 44 (58%) и 69 (52%) случаев ($p = 0,4$). Количество случаев с +Ag-ЯОР достоверно больше во II–III стадии заболевания по сравнению с I стадией – соответственно 62 (60%) и 43 (40%) случаев ($p = 0,006$). Количество случаев с +Ki-67 достоверно не отличается между II–III и I стадиями заболевания – соответственно 62 (60%) и 51 (48%) случаев ($p = 0,07$). Количество случаев с +Ag-ЯОР и +Ki-67 достоверно больше в плоскоклеточном раке легкого, чем в аденокарциноме: для содержания Ag-ЯОР – 68 (59%) и 37 (39%) случаев соответственно ($p = 0,008$); для ИМ Ki-67 – 74 (64%) и 39 (42%) случаев соответственно ($p = 0,001$). Количество случаев с +Ag-ЯОР и +Ki-67 достоверно больше в группе опухолей с умеренной и низкой дифференцировкой по сравнению с высокодифференцированными опухолями: для содержания Ag-ЯОР – 88 (56%) и 17 (31%) случаев соответственно ($p < 0,01$); для ИМ Ki-67 – 96 (61%) и 17 (31%) случаев соответственно ($p < 0,001$).

Содержание Ag-ЯОР в НМРЛ имело корреляцию с показателем T ($p < 0,001$), размером первичной опухоли до 3 см и более ($p < 0,001$), показателем N ($p < 0,01$), стадией заболевания ($p < 0,01$), гистогенезом ($p < 0,01$) и дифференцировкой опухоли ($p < 0,01$). ИМ Ki-67 был взаимосвязан с размером первичной опухоли до 3 см и более ($p < 0,01$), гистогенезом ($p < 0,001$) и дифференцировкой опухоли ($p < 0,01$).

На основании полученных данных выделены четыре типа НМРЛ в зависимости от содержания Ag-ЯОР и ИМ Ki-67: –Ag-ЯОР/-Ki-67 – 1 тип, –Ag-ЯОР/+Ki-67 – 2 тип (рис. 1, а, б), +Ag-ЯОР/-Ki-67 – 3 тип (рис. 1, в, г) и +Ag-ЯОР/+Ki-67 – 4 тип.

Общая скорректированная выживаемость больных НМРЛ за пятилетний период после операции составила $40,3 \pm 3,7\%$. Выживаемость больных НМРЛ имела

статистически значимое отличие в зависимости от содержания Ag-ЯОР и ИМ Ki-67 (табл. 2, рис. 2, а, б). Также в этих группах прослеживалась зависимость выживаемости больных от взаимного содержания Ag-ЯОР и ИМ Ki-67 (табл. 2, рис. 2, в). Наблюдалось последовательное уменьшение выживаемости в ряду: 1 тип, 2 тип, 3 тип и 4 тип опухоли. В группе опухолей с низким или высоким содержанием Ag-ЯОР выживаемость не отличалась при низком или высоком ИМ Ki-67 (между $-Ag-ЯОР/Ki-67$ и $-Ag-ЯОР/+Ki-67$, между $+Ag-ЯОР/-Ki-67$ и $+Ag-ЯОР/+Ki-67$). В группе опухолей с низким ИМ Ki-67 выживаемость выше в опухолях с низким содержанием Ag-ЯОР ($-Ag-ЯОР/-Ki-67$) по сравнению с опухолями с высоким содержанием Ag-ЯОР и ($+Ag-ЯОР/-Ki-67$). Анало-

гично, в группе опухолей с высоким ИМ Ki-67 выживаемость выше в опухолях с низким содержанием Ag-ЯОР ($-Ag-ЯОР/+Ki-67$) по сравнению с опухолями с высоким содержанием Ag-ЯОР ($+Ag-ЯОР/+Ki-67$). Также не найдено статистически значимого отличия в выживаемости больных с типами $-Ag-ЯОР/+Ki-67$ и $+Ag-ЯОР/-Ki-67$. Исходя из полученных данных, типы $-Ag-ЯОР/+Ki-67$ и $+Ag-ЯОР/-Ki-67$ НМРЛ объединены в один «промежуточный» тип, в котором содержание Ag-ЯОР и ИМ Ki-67 имели противоположные значения. Выживаемость больных с «промежуточным» типом опухолей статистически значимо отличалась от опухолей типов $-Ag-ЯОР/-Ki-67$ ($p = 0,03$) и $+Ag-ЯОР/+Ki-67$ ($p = 0,007$) и имела промежуточное значение (табл. 2, рис. 2, г).

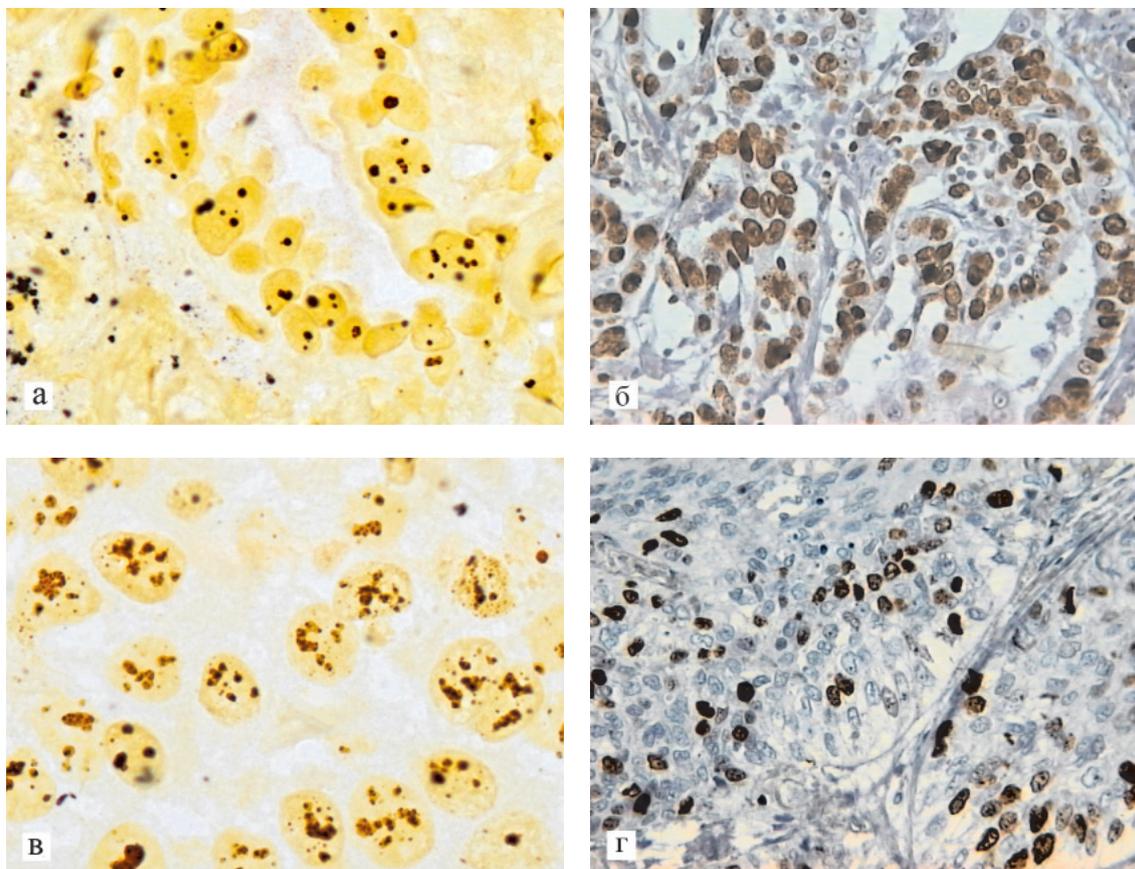


Рис. 1. Немелкоклеточный рак легкого: умеренно дифференцированная аденокарцинома с низким содержанием Ag-ЯОР (а) и высоким ИМ Ki-67 (б), умеренно дифференцированный плоскоклеточный рак с высоким содержанием Ag-ЯОР (в) и низким ИМ Ki-67 (г): а, в – окраска азотнокислым серебром, $\times 1000$; б, г – иммуногистохимический метод, $\times 400$

При проведении многомерного регрессионного анализа: тип операции, постоперационная химиорадиотерапия, показатель T, стадия заболевания, степень дифференцировки, ИМ Ki-67, – данные о выделении

четырёх или трёх типов опухолей (по взаимному содержанию Ag-ЯОР и ИМ Ki-67) не имели влияния на выживаемость больных НМРЛ. Четыре критерия – показатель N (отсутствие или наличие метастазов),

размер опухоли (до 3 см или более), гистогенез (аденокарцинома или плоскоклеточный рак), содержание Ag-ЯОР (низкое или высокое) – имели независимое влияние на выживаемость больных НМРЛ, из которых показатель N имел наибольшее значение (табл. 3). Исходя из этого, исследовано влияние на выживаемость размера опухоли, гистогенеза и содержания Ag-ЯОР

в опухолях с отсутствием и наличием метастазов в региональные лимфатические узлы. В НМРЛ с отсутствием метастазов в лимфатические узлы выживаемость больных была связана с размером и гистогенезом опухоли ($\chi^2 = 25,0$, $p < 0,001$), а при наличии метастазов – с размером опухоли и содержанием Ag-ЯОР ($\chi^2 = 19,0$, $p < 0,001$) (табл. 3).

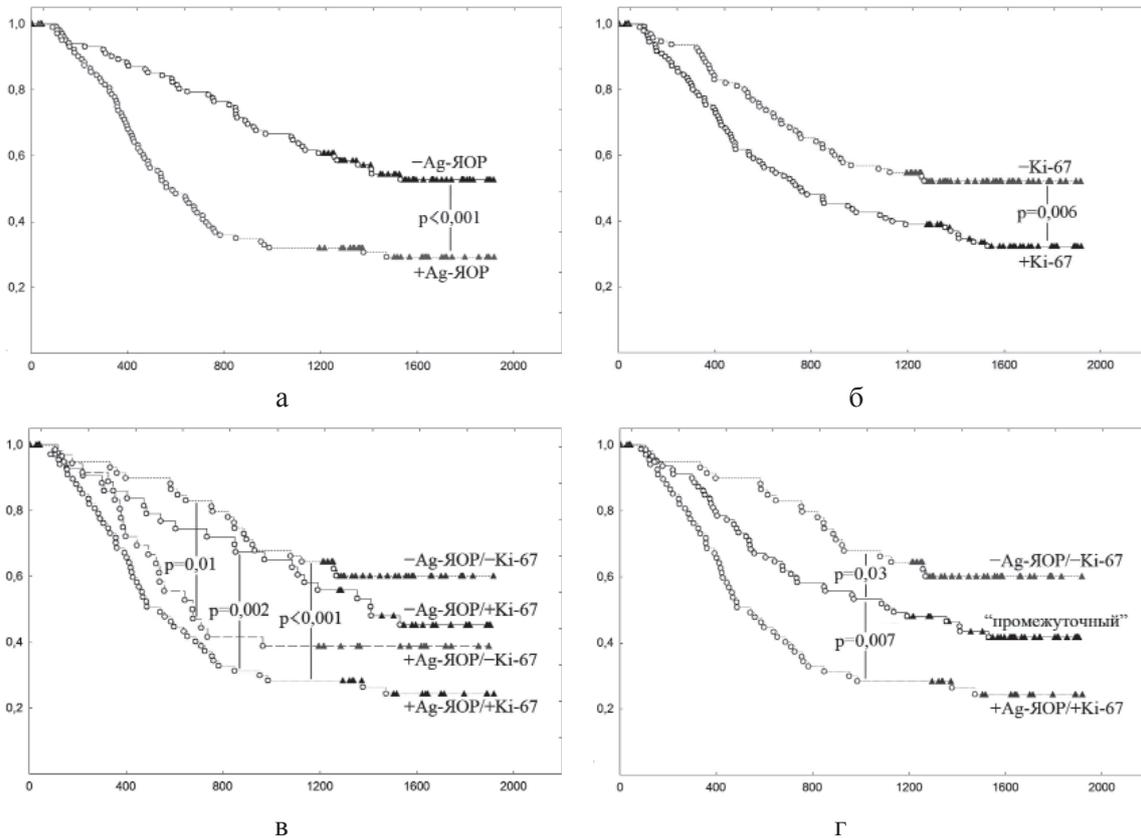


Рис. 2. Графики выживаемости по Каплану – Мейеру больных немелкоклеточным раком легкого: с низким и высоким содержанием Ag-ЯОР-белков (а); с низким и высоким ИМ Ki-67 (б); четырех (в) и трех (г) типов опухоли (по взаимному содержанию Ag-ЯОР-белков и ИМ Ki-67). По оси абсцисс – время жизни (в днях), по оси ординат – доля выживших больных

Таблица 2

Ag-ЯОР, ИМ Ki-67 и выживаемость при НМРЛ

Характеристика	Количество случаев (абс. (%))	Пятилетняя общая скорректированная выживаемость (%)
Содержание Ag-ЯОР		
низкое	105 (50)	51,9 ± 5,4
высокое	105 (50)	28,9 ± 4,7
ИМ Ki-67		
низкий	97 (46)	50,3 ± 5,5
высокий	113 (54)	31,6 ± 4,7
Тип опухоли по содержанию Ag-ЯОР и ИМ Ki-67		
1 тип: -Ag-ЯОР/-Ki-67	61 (29)	56,8 ± 7,4
2 тип: -Ag-ЯОР/+Ki-67	44 (21)	43,9 ± 8,1
3 тип: +Ag-ЯОР/-Ki-67	36 (17)	33,8 ± 8,7
4 тип: +Ag-ЯОР/+Ki-67	69 (33)	23,8 ± 5,6
«промежуточный» тип	80 (38)	41,0 ± 5,9

Таблица 3

Регрессионный анализ по Коксу и факторы прогноза при НМРЛ

Фактор прогноза	β	Стандартная ошибка	p
Показатель N	1,41	0,20	< 0,001
Размер опухоли	0,88	0,21	< 0,001
Гистогенез	0,63	0,19	< 0,001
Содержание Ag-ЯОР	0,51	0,21	0,01
Отсутствие метастазов			
Размер опухоли	1,08	0,32	< 0,001
Гистогенез	0,96	0,29	< 0,001
Содержание Ag-ЯОР	0,45	0,29	0,1
Наличие метастазов			
Размер опухоли	0,73	0,29	0,01
Гистогенез	0,36	0,26	0,2
Содержание Ag-ЯОР	0,70	0,31	0,02

В нашем исследовании найдена корреляция содержания Ag-ЯОР и ИМ Ki-67 в НМРЛ, что согласуется с данными литературы [7]. Содержание Ag-ЯОР в клетках НМРЛ было связано с целым рядом клинико-морфологических параметров по системе TNM: показателями T, N, размером первичной опухоли до 3 см и более, стадией заболевания, гистогенезом, дифференцировкой опухоли. Kaneko S. с соавторами получили аналогичные выводы при исследовании ядрышковых организаторов при раке легкого [6]. ИМ Ki-67 в НМРЛ взаимосвязан с размером первичной опухоли до 3 см и более, гистогенезом и дифференцировкой опухоли.

Выживаемость больных НМРЛ с –Ag-ЯОР или –Ki-67 достоверно выше по сравнению с опухолями с +Ag-ЯОР или +Ki-67. Такая взаимосвязь активности ядрышковых организаторов и количества Ki-67 положительных клеток с выживаемостью больных НМРЛ прослежена и в других исследованиях [4, 10, 11]. По данным литературы, взаимосвязь Ag-ЯОР с выживаемостью больных карциномой разных органов и гистогенеза значительно чаще прослеживается при определении площади Ag-ЯОР с помощью компьютерного анализа изображений, чем при визуальном подсчете количества Ag-ЯОР.

В зависимости от взаимного содержания Ag-ЯОР и ИМ Ki-67 выделены четыре типа НМРЛ и найдено последовательное уменьшение выживаемости в ряду: –Ag-ЯОР/–Ki-67, –Ag-ЯОР/+Ki-67, +Ag-ЯОР/–Ki-67, +Ag-ЯОР/+Ki-67. Сходные актуариальные кривые выживаемости, на основе взаимного содержания Ag-ЯОР и ИМ Ki-67, получены Lorenzato M. с соавторами [7] при исследовании рака молочной железы. Райхлин Н.Т. с соавторами [1] в исследовании 20 «малых» раков легкого (размером до 3 см) показали, что для больных с продолжительностью жизни 3–5 лет характерен тип –Ag-ЯОР/+Ki-67, а с продолжитель-

ностью жизни до 2 лет характерен тип +Ag-ЯОР/–Ki-67. В нашем исследовании не получено статистически значимое отличие в выживаемости больных НМРЛ типов –Ag-ЯОР/+Ki-67 и +Ag-ЯОР/–Ki-67. Поэтому, эти два типа были объединены в один (с противоположными значениями содержания Ag-ЯОР и ИМ Ki-67), в котором выживаемость достоверно отличалась от –Ag-ЯОР/–Ki-67 типа и +Ag-ЯОР/+Ki-67 типа и имела промежуточное значение.

При проведении многомерного регрессионного анализа четыре критерия – показатель N, размер опухоли, гистогенез, содержание Ag-ЯОР – имели независимое влияние на выживаемость больных. Многочисленные исследования, посвященные изучению активности ядрышковых организаторов в злокачественных опухолях, также указывают, что содержание Ag-ЯОР является независимым фактором прогноза [10]. В НМРЛ с отсутствием метастазов в лимфатические узлы выживаемость больных была связана с размером и гистогенезом опухоли, а при наличии метастазов – с размером опухоли и содержанием Ag-ЯОР. Вероятно, выживаемость больных НМРЛ без метастатического потенциала связана с гистогенетическим происхождением раковых клеток и скоростью роста первичной опухоли (локальным увеличением размера), а с появлением метастатического потенциала – со скоростью роста первичной опухоли и скоростью клеточного цикла раковых клеток, как в первичной опухоли, так и в метастазах.

Таким образом, при НМРЛ молекулярно-биологические параметры (Ag-ЯОР и Ki-67) взаимосвязаны с клинико-морфологическими параметрами по системе TNM и выживаемостью больных.

Выводы

В НМРЛ клинико-морфологическими параметрами по системе TNM взаимо-

связаны с молекулярно-биологическими параметрами – Ag-ЯОР и ИМ Ki-67. Выживаемость больных НМРЛ зависит как от раздельного, так и от взаимного содержания Ag-ЯОР и ИМ Ki-67. Клинико-морфологические (показатель N, размер опухоли, гистогенез) и молекулярно-биологические (Ag-ЯОР) параметры являются независимыми факторами прогноза при НМРЛ.

Список литературы

1. Райхлин Н.Т., Букаева И.А., Смирнова Е.А., Гуревич Л.Е., Делекторская В.В., Полоцкий Б.Е., Лактионов К.К., Ардзинба М.С. Значение экспрессии ядрышковых аргирофильных белков и антигена Ki-67 в определении пролиферативной активности клеток и прогноза «малого» (T1) рака легкого // Архив патологии. – 2008. – № 3. – С. 15–18.
2. Brown D.C., Gatter K.C. Ki67 protein: the immaculate deception? // *Histopathology*. – 2002. – № 40. – С. 2–11.
3. Canet V., Montmasson M.P., Usson Y., Giroud F., Brugal G. Correlation between silver-stained nucleolar organizer region area and cell cycle time // *Cytometry*. – 2000. – № 43. – С. 110–116.
4. Carvalho P.E., Antonangelo L., Bernardi F.D., Leao L.E., Rodrigues O.R., Capelozzi V.L. Useful prognostic panel markers to express the biological tumor status in resected lung adenocarcinomas // *Jpn J Clin Oncol*. – 2000. – № 30. – С. 478–486.
5. Derenzini M., Trere D. Standardization of interphase AgNOR measurement by means of an automated image analysis system using lymphocytes as an internal control // *J Pathol*. – 1991. – № 165. – С. 337–342.
6. Kaneko S., Ishida T., Sugio K., Yokoyama H., Sugimachi K. Nucleolar organizer regions as a prognostic indicator for stage I non-small cell lung cancer // *Cancer Res*. – 1991. – № 51. – С. 4008–4011.
7. Lorenzato M., Abboud P., Lechki C., Browarnyj F., O'Donohue M.F., Ploton D., Adnet J.J. Proliferation assessment in breast cancer: a double-staining technique for AgNOR quantification in MIB-1 positive cells especially adapted for image cytometry // *Micron*. – 2000. – № 31. – С. 151–159.
8. Martin B., Paesmans M., Mascaux C., Berghmans T., Lohaire P., Meert A.P., Lafitte J.J., Sculier J.P. Ki-67 expression and patients survival in lung cancer: systematic review of the literature with meta-analysis // *Br J Cancer*. – 2004. – № 91. – С. 2018–2025.
9. Ogura S., Abe S., Sukoh N., Kunikane H., Nakajima I., Inoue K., Kawakami Y. Correlation between nucleolar organizer regions visualized by silver staining and the growth rate of lung adenocarcinoma // *Cancer*. – 1992. – № 70. – С. 63–68.
10. Pich A., Chiusa L., Margaria E. Prognostic relevance of AgNORs in tumor pathology // *Micron*. – 2000. – № 31. – С. 133–141.
11. Rodrigues O.R., Antonangelo L., Yagi N., Minamoto H., Schmidt Júnior A.F., Capelozzi V.L., Goldenberg S., Saldiva P.H. Prognostic significance of argyrophilic nucleolar organizer region (AgNOR) in resected non-small cell lung cancer (NSCLC) // *Jpn J Clin Oncol*. – 1997. – № 27. – С. 298–304.
12. Roussel P., Hernandez-Verdun D. Identification of AgNOR proteins, markers of proliferation related to ribosomal gene activity // *Exp Cell Res*. – 1994. – № 214: 465–472.
13. Sirri V., Roussel P., Hernandez-Verdun D. The AgNOR proteins: qualitative and quantitative changes during the cell cycle // *Micron*. – 2000. – № 31. – С. 121–126.
14. Sobin L., Gospodarowicz M., Wittekind C. TNM classification of malignant tumours, 7th edition. – Wiley-Blackwell, Oxford, 2009.
15. Trere D. AgNOR staining and quantification // *Micron*. – 2000. – № 31. – С. 127–131.

References

1. Raikhlin N.T., Bukaeva I.A., Smirnova E.A., Gurevich L.E., Delektorskaia V.V., Polotskii B.E., Laktionov K.K., Ardzinba M.S. *Arkh Patol* 2008; no. 70: 15–18.
2. Brown D.C., Gatter K.C. Ki67 protein: the immaculate deception? *Histopathology* 2002; no. 40. pp. 2–11.
3. Canet V., Montmasson M.P., Usson Y., Giroud F., Brugal G. Correlation between silver-stained nucleolar organizer region area and cell cycle time. *Cytometry* 2000; no. 43. pp. 110–116.
4. Carvalho P.E., Antonangelo L., Bernardi F.D., Leao L.E., Rodrigues O.R., Capelozzi V.L. Useful prognostic panel markers to express the biological tumor status in resected lung adenocarcinomas. *Jpn J Clin Oncol* 2000; no. 30. pp. 478–486.
5. Derenzini M., Trere D. Standardization of interphase AgNOR measurement by means of an automated image analysis system using lymphocytes as an internal control. *J Pathol* 1991; no. 165. pp. 337–342.
6. Kaneko S., Ishida T., Sugio K., Yokoyama H., Sugimachi K. Nucleolar organizer regions as a prognostic indicator for stage I non-small cell lung cancer. *Cancer Res* 1991; no. 51. pp. 4008–4011.
7. Lorenzato M., Abboud P., Lechki C., Browarnyj F., O'Donohue M.F., Ploton D., Adnet J.J. Proliferation assessment in breast cancer: a double-staining technique for AgNOR quantification in MIB-1 positive cells especially adapted for image cytometry. *Micron* 2000; no. 31. pp. 151–159.
8. Martin B., Paesmans M., Mascaux C., Berghmans T., Lohaire P., Meert A.P., Lafitte J.J., Sculier J.P. Ki-67 expression and patients survival in lung cancer: systematic review of the literature with meta-analysis. *Br J Cancer* 2004; no. 91. pp. 2018–2025.
9. Ogura S., Abe S., Sukoh N., Kunikane H., Nakajima I., Inoue K., Kawakami Y. Correlation between nucleolar organizer regions visualized by silver staining and the growth rate of lung adenocarcinoma. *Cancer* 1992; no. 70. pp. 63–68.
10. Pich A., Chiusa L., Margaria E. Prognostic relevance of AgNORs in tumor pathology. *Micron* 2000; no. 31. pp. 133–141.
11. Rodrigues O.R., Antonangelo L., Yagi N., Minamoto H., Schmidt Júnior A.F., Capelozzi V.L., Goldenberg S., Saldiva P.H. Prognostic significance of argyrophilic nucleolar organizer region (AgNOR) in resected non-small cell lung cancer (NSCLC). *Jpn J Clin Oncol* 1997; no. 27. pp. 298–304.
12. Roussel P., Hernandez-Verdun D. Identification of AgNOR proteins, markers of proliferation related to ribosomal gene activity. *Exp Cell Res* 1994; no. 214. pp. 465–472.
13. Sirri V., Roussel P., Hernandez-Verdun D. The AgNOR proteins: qualitative and quantitative changes during the cell cycle. *Micron* 2000; no. 31. pp. 121–126.
14. Sobin L., Gospodarowicz M., Wittekind C. TNM classification of malignant tumours, 7th edition. Wiley-Blackwell, Oxford, 2009.
15. Trere D. AgNOR staining and quantification. *Micron* 2000; no. 31. pp. 127–131.

Рецензенты:

Лепилов А.В., д.м.н., профессор кафедры патологической анатомии с секционным курсом, ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет», г. Барнаул;

Талалаев С.В., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой гистологии, ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет», г. Барнаул.

Работа поступила в редакцию 25.09.2014.