

*На правах рукописи*



**ЗЕМЦОВА ИРИНА ЮРЬЕВНА**

**ФАКТОРЫ ПРОГНОЗА ТЕЧЕНИЯ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ЛЕГКОГО  
У БОЛЬНЫХ ПОСЛЕ РАДИКАЛЬНОГО ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ**

14.01.17 – Хирургия

14.01.12 – Онкология

Автореферат

диссертации на соискание учёной степени

кандидата медицинских наук

Санкт-Петербург – 2021

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет»

**Научные руководители:**

доктор медицинских наук, профессор **Петр Казимирович Яблонский**

доктор медицинских наук **Григорий Александрович Раскин**

**Официальные оппоненты:**

**Пикин Олег Валентинович**, доктор медицинских наук, Московский научный исследовательский онкологический институт имени П.А. Герцена – филиал федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, торакальное хирургическое отделение, заведующий

**Арсеньев Андрей Иванович**, доктор медицинских наук, федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Петрова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, научное отделение радиационной онкологии и ядерной медицины, ведущий научный сотрудник

**Ведущая организация:** Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлов» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «29» июня 2021 г. в \_\_\_\_\_ часов на заседании диссертационного совета Д208.092.01 при федеральном государственном бюджетном учреждении «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации (191036, Санкт-Петербург, Лиговский пр., 2-4, тел. (812) 775-75-55). С диссертацией можно ознакомиться на официальном сайте [www.spbniif.ru](http://www.spbniif.ru) федерального государственного бюджетного учреждения «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации и в научной библиотеке (191036, г. Санкт-Петербург, Лиговский пр., д. 2-4, тел. (812) 775-75-55).

Автореферат разослан « \_\_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2021 г.

Ученый секретарь диссертационного совета

доктор медицинских наук, профессор

Виноградова Татьяна Ивановна

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы исследования.** Рак легкого является одной из ведущих причин смертности от онкологических заболеваний во всем мире (Ettinger D.S. et al., 2021; Wankhede D. et al., 2021). В настоящее время основным критерием, определяющим прогноз заболевания пациентов, страдающих раком легкого, является стадия опухоли, установленная в соответствии с международной классификации TNM (Schil P.E. et al., 2018; Ettinger D.S. et al., 2021). Так, по данным крупных многоцентровых исследований, 5-летняя выживаемость больных при I стадии составляет лишь 68%-92%, при II варьирует от 40% до 60%, а при IIIA не превышает 15%-37% (Goldstraw P. et al., 2016; McDonald F. et al., 2017; Zhao Y. et al., 2019). Установлено, что степень лимфогенного распространения опухоли является одним из ведущих прогностических факторов при выборе оптимальной тактики лечения и определении возможностей хирургического лечения у больных немелкоклеточным раком легкого (НМРЛ) (Яблонский П.К. и др., 2015; Mo Y. et al., 2015). При I-II стадиях НМРЛ основным методом лечения является радикальное хирургическое вмешательство, в то время как у пациентов с IIIA-N2 стадией рака легкого роль хирургического лечения окончательно не определена (McDonald F. et al., 2017; Postmus P.E. et al., 2017; Sanchez-Lorente D. et al., 2018). Очевидно, что гетерогенность N2 стадии обуславливает неоднозначные результаты лечения больных местно-распространенным НМРЛ и должна учитываться при определении показаний и сроков выполнения операции у данной категории пациентов.

Общепринято, что при ранних стадиях НМРЛ «золотым стандартом» лечения является радикальное хирургическое вмешательство (Ганцев Ш.Х. и др., 2017; McDonald F. et al., 2017; Postmus P.E. et al., 2017; Ettinger D.S. et al., 2021). Однако даже среди больных НМРЛ, оперированных по поводу I-II стадий заболевания, нередко наблюдаются ранние рецидивы и прогрессирование опухоли, что с одной стороны отражает несовершенство и ограничения системы TNM, а с другой – подчеркивает необходимость изучения и оценки других факторов прогноза заболевания (Ruffini E. et al., 2009; Goldstraw P. et al., 2016; Schil P.E. et al., 2018). В последние годы многие авторы помимо стандартных прогностических факторов (пол, возраст, гистологический тип опухоли, стадия злокачественного заболевания) описывают прогностическую ценность маркеров периферической крови, ассоциированных с системным воспалением (Mizuguchi S. et al., 2018; Hamid U.I. et al., 2019; Ettinger D.S. et al., 2021). Наиболее обсуждаемыми в литературе являются такие показатели, как отношение нейтрофилов и лимфоцитов (нейтрофильно-лимфоцитарный индекс,

НЛИ), тромбоцитов и лимфоцитов (тромбоцитарно-лимфоцитарный индекс, ТЛИ) и отношение произведения нейтрофилов и тромбоцитов к лимфоцитам (индекс системного воспаления, ИСВ). Многими авторами отмечено, что показатели метаболической активности опухоли по данным позитронной эмиссионной томографии, совмещенной с компьютерной томографией (ПЭТ/КТ), также являются прогностическими факторами при НМРЛ (Яблонский П.К. и др., 2017; Ren H.L. et al., 2016; Wang S. et al., 2020). Однако пороговое значение SUV (standard uptake value) для оценки прогноза пациентов с НМРЛ в исследованиях различно. Низкие показатели выживаемости и раннее прогрессирование заболевания свидетельствуют о том, что при определении показаний к хирургическому лечению при ранних стадиях НМРЛ необходимо учитывать и дополнительные факторы, включающие в себя иммунобиологические характеристики опухоли (Имянитов Е.Н., 2017; Лактионов К.К. и др., 2017). К подобным критериям относят экспрессию клетками опухоли programmed cell death ligand-1 (PD-L1), маркеров опухолевых стволовых клеток: CD44 и альдегиддегидрогеназа-1 (Aldehyde dehydrogenase1, ALDH1), наличие инфильтрирующих опухоль CD8-положительных лимфоцитов и другие (Hu B. et al., 2017; Tiwari N. et al., 2018; Heng W. et al., 2019). Таким образом, исследования о влиянии вышеперечисленных факторов на прогноз больных НМРЛ противоречивы или недостаточны и требуют более детального изучения.

**Степень разработанности темы исследования.** В мировой литературе публикации, посвященные вопросам влияния патоморфологических, биологических и иммунологических факторов прогноза на результаты лечения больных немелкоклеточным раком легкого при различных вариантах лимфогенного метастазирования опухоли противоречивы, а исследования, в которых проведен анализ отдаленных результатов хирургического лечения НМРЛ в зависимости от особенностей противоопухолевого иммунитета, биологической агрессивности опухоли, а также маркерного профиля опухолевых стволовых клеток, в отечественной литературе нам не встретились.

**Цель исследования:** Улучшить результаты хирургического лечения больных немелкоклеточным раком легкого путем уточнения прогностической значимости ряда клинико-анатомических, патоморфологических и иммунобиологических характеристик опухоли.

#### **Задачи исследования**

1. Изучить отдаленные результаты хирургического лечения больных I-III стадиями НМРЛ в зависимости от особенностей лимфогенного метастазирования опухоли.

2. Сопоставить влияние клинических, рентгенологических, патоморфологических и лабораторных факторов на прогноз заболевания у больных, оперированных по поводу ранних стадий НМРЛ.
3. С помощью метода иммуногистохимии изучить влияние иммунологических и биологических свойств опухоли на отдаленные результаты хирургического лечения пациентов с НМРЛ I стадии.
4. Провести сравнительный анализ биологических и иммунологических характеристик опухоли при раннем прогрессировании заболевания у больных I стадией НМРЛ.

**Научная новизна исследования.** Впервые обоснована возможность хирургического лечения больных местно-распространенным немелкоклеточным раком лёгкого с учетом гетерогенности N2.

Впервые в отечественной литературе продемонстрирована значимость в качестве факторов прогноза уровня накопления SUV первичной опухоли в легком при ПЭТ/КТ и маркеров системного воспаления (индекс системного воспаления и нейтрофильно-лимфоцитарный индекс) у больных на ранних стадиях НМРЛ.

Впервые сформулирована оригинальная концепция, объясняющая раннее прогрессирование рака легкого после радикальных операций у больных I стадией НМРЛ.

**Теоретическая и практическая значимость исследования.** Сопоставление клинических, патоморфологических, биологических и иммунологических критериев течения заболевания у больных I-III стадиями немелкоклеточного рака легкого позволило выявить прогностические факторы, которые характеризуют не только степень распространения заболевания (TNM стадия), но и биологические особенности опухолевого роста и эффективность иммунного ответа пациента. Одним из возможных путей улучшения отдаленных результатов хирургического лечения больных НМРЛ является учет всех этих факторов как при определении показаний к самому хирургическому вмешательству, так и при назначении адъювантного лечения.

**Методология и методы исследования.** Методологическая основа диссертационной работы сформирована путем последовательного применения методов научного познания (общенаучных и специальных). Актуальность, цель и задачи исследования сформулированы на основании анализа зарубежной и отечественной литературы.

Объектом сплошного ретроспективного исследования явились 535 пациентов с диагнозом НМРЛ, находившихся на лечении на базе кафедры госпитальной хирургии медицинского факультета Санкт-Петербургского государственного университета, в центре интенсивной пульмонологии и торакальной хирургии Санкт-Петербургского

государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Городская многопрофильная больница №2» с октября 2003 по декабрь 2017 года. Для получения необходимой научной информации применялись основные клинические, лабораторные, инструментальные, а также общенаучные методы. Предметом исследования было изучение отдаленных результатов хирургического лечения больных I-III стадиями немелкоклеточного рака легкого. На основании полученных данных были выявлены факторы, влияющие на прогноз у пациентов, оперированных по поводу I-III стадий НМРЛ, а также определены иммунобиологические особенности опухоли при раннем рецидиве заболевания.

При проведении данного исследования соблюдались требования Национального стандарта Российской Федерации «Надлежащая клиническая практика» ГОСТ Р 52379-2005, использовались современные методы обработки информации и статистического анализа.

#### **Положения, выносимые на защиту**

1. Наличие метастазов в бифуркационных лимфоузлах, метастатическое поражение двух и более зон лимфатических узлов, а также N2 стадия, установленная на предоперационном этапе, являются неблагоприятными факторами в отношении прогноза заболевания у пациентов, перенесших хирургическое лечение при IIIA (N2) стадии НМРЛ.
2. Возраст больного старше 70 лет,  $SUV \geq 6$  в проекции опухоли в легком по данным ПЭТ/КТ, значения индекса системного воспаления  $\geq 489,67 \times 10^9/\text{л}$  и нейтрофильно-лимфоцитарного индекса  $\geq 2,03 \times 10^9/\text{л}$  являются факторами, ухудшающими прогноз оперированных больных на ранних стадиях НМРЛ.
3. Высокий уровень экспрессии клетками опухоли белка PD-L1 является неблагоприятным прогностическим фактором у пациентов с I стадией НМРЛ.
4. Сочетание высокого значения уровня экспрессии PD-L1 и маркера опухолевых стволовых клеток ALDH1 при низком уровне инфильтрации опухоли CD8-положительными лимфоцитами являются факторами прогрессирования заболевания у больных, оперированных по поводу I стадии НМРЛ.

#### **Степень достоверности и апробация результатов исследования.**

Достоверность результатов диссертационного исследования подтверждается достаточным количеством наблюдений, а также использованием современных методов обработки полученных результатов и статистического анализа.

Результаты научного исследования внедрены в практику работы центра интенсивной пульмонологии и торакальной хирургии СПб ГБУЗ «Городская многопрофильная больница №2» (г. Санкт-Петербург), центра торакальной хирургии ФГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт

фтизиопульмонологии» Минздрава России (г. Санкт-Петербург), онкоторакального отделения СПб ГБУЗ «Городской клинический онкологический диспансер» (г. Санкт-Петербург), а также используются в педагогической, научной и практической деятельности сотрудниками кафедры госпитальной хирургии Медицинского факультета федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет».

Основные положения диссертационного исследования были представлены и доложены на XVIII Всероссийской медико-биологической конференции молодых исследователей (с международным участием) «Фундаментальная наука и клиническая медицина – Человек и его здоровье» в 2015 году (Санкт-Петербург, Россия); на XXIII Международной медико-биологической конференции молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина – Человек и его здоровье» в 2020 году (Санкт-Петербург, Россия); на XXV международном конгрессе Европейского общества торакальных хирургов в 2017 году (Инсбрук, Австрия); на международном конгрессе Европейского респираторного общества в 2018 году (Париж, Франция).

**Публикации.** По теме диссертации опубликовано 6 печатных работ, в которых изложены основные положения диссертационного исследования. Из них 2 статьи - в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук.

**Личный вклад автора.** Автором совместно с руководителями определена цель научной работы. Самостоятельно поставлены задачи, разработан дизайн исследования, произведен поиск, а также анализ отечественной и зарубежной литературы. При сборе материала проведена значительная работа по созданию базы данных на 535 пациентов, находившихся на лечении в центре интенсивной пульмонологии и торакальной хирургии СПбГБУЗ «Городская многопрофильная больница №2» с 2003 по 2017 гг. Самостоятельно осуществлено клиническое обследование, до- и послеоперационное ведение, а также анализ результатов лечения большей части пациентов с немелкоклеточным раком легкого, получавших лечение с 2012 года. Автор лично участвовала в большинстве оперативных вмешательств с 2015 года, принимая непосредственное участие в операциях у больных, как на этапе хирургического стадирования, так и при выполнении анатомической резекции легкого. Совместно с патоморфологами производила оценку результатов иммуногистохимического исследования гистологических препаратов. Все результаты исследования получены, статистически обработаны и проанализированы автором самостоятельно.

**Объем и структура диссертации.** Диссертация изложена на 126 страницах, состоит из введения, 5 глав, включающих 13 разделов, заключения, выводов, практических рекомендаций и библиографического указателя. Работа иллюстрирована 25 таблицами, 32 рисунками. Список литературы включает 194 источника, среди которых 19 работ отечественных авторов и 175 зарубежных.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

**Во введении** обоснована актуальность темы исследования прогностических факторов результатов хирургического лечения немелкоклеточного рака легкого, сформулированы цель и задачи, изложены научная новизна, теоретическая и практическая значимость исследования, положения, выносимые на защиту; представлена информация о достоверности и апробации результатов работы, а также об объеме и структуре диссертации.

**В первой главе** представлен обзор публикаций, имеющихся в англо- и русскоязычных информационных базах данных PubMed, Clinical Trials, Up To Date, E-library по теме факторов прогноза у оперированных больных по поводу немелкоклеточного рака легкого. Изложены общеклинические, патоморфологические, биологические, иммунологические прогностические факторы, а также выявлены основные несовершенства и ограничения классификации злокачественных опухолей по системе TNM. Изучены отдаленные результаты хирургического лечения пациентов в зависимости от объема оперативного вмешательства, особенностей лимфогенного метастазирования опухоли, в том числе, с учетом гетерогенности критерия N при IIIA (N2) стадии НМРЛ. Объяснена необходимость поиска новых прогностических факторов, учитывающих биологическую агрессивность опухоли и особенности противоопухолевого иммунитета, что позволило бы своевременно выбрать оптимальную тактику лечения и определить показания к дополнительному послеоперационному лечению.

**Во второй главе** представлены клинический материал и методы исследования. В сплошное ретроспективное исследование были включены данные клинического обследования и лечения 535 пациентов с диагнозом НМРЛ, проходивших лечение на клинической базе кафедры госпитальной хирургии медицинского факультета СПбГУ в центре интенсивной пульмонологии и торакальной хирургии СПбГБУЗ «ГМПБ №2» с октября 2003 по декабрь 2017 года, признанных функционально операбельными и потенциально резектабельными по данным методов предоперационного обследования.

### Критерии включения в исследование:

- Верифицированный диагноз НМРЛ;

- Пациенты с I-IIIА стадией НМРЛ по классификации TNM (509 больных, перенесших хирургическое лечение, и 26 пациентов – химиолучевую терапию).

Критерии исключения из исследования:

- IIIВ(N3) и IV стадии заболевания по классификации TNM;
- Пациенты, умершие в стационаре в раннем послеоперационном периоде.

Характеристика обследованных пациентов. Более половины пациентов представлено мужчинами в возрасте от 51 года до 70 лет (56,1%). Средний возраст пациентов составил 62±9лет. Распределение больных по полу и возрасту представлено в таблице 1.

Таблица 1 – Распределение больных по полу и возрасту

Возраст	Количество больных					
	Мужчины		Женщины		Всего	
	n	%	n	%	n	%
<40 лет	5	0,9	3	0,6	8	1,5
41-50 лет	31	5,8	14	2,6	45	8,4
51-60 лет	130	24,2	32	5,9	162	30,1
61-70 лет	170	31,9	43	8,1	213	39,8
> 70 лет	78	14,6	29	5,4	107	20,0
Всего	414	77,4	121	22,6	535	100,0

*Примечание: n – абсолютное количество пациентов*

По клинико-анатомической форме и гистологическому типу рака больные распределились следующим образом (таблица 2).

Таблица 2 – Распределение больных по клинико-анатомической форме и гистологическому типу рака

Гистологический тип	Клинико-анатомическая форма					
	Центральная		Периферическая		Всего	
	n	%	n	%	n	%
Плоскоклеточный рак	194	36,4	123	23,0	317	59,4
Аденокарцинома	14	2,6	139	25,9	153	28,5
Железисто-плоскоклеточный рак	4	0,7	19	3,6	23	4,3
Другие	6	1,1	36	6,7	42	7,8
Всего	218	40,8	317	59,2	535	100,0

*Примечание: n – абсолютное количество пациентов*

Как видно из таблицы 2, периферические опухоли наблюдались несколько чаще (59,2%), в то же время среди больных с центральным раком преобладал плоскоклеточный вариант строения опухоли (89%). При периферической форме опухоли плоскоклеточный рак и аденокарцинома выявлялись практически с одинаковой

частотой (23,0% и 25,9% соответственно). Железисто-плоскоклеточный рак и другие гистологические типы опухоли (крупноклеточный, светлоклеточный и др.) чаще выявлялись при периферической форме НМРЛ.

Окончательная стадия рака легкого устанавливалась в соответствии с классификацией TNM 7-ого пересмотра по результатам гистологического исследования резецированной легочной ткани и лимфатических узлов. Распределение больных в соответствии с классификацией TNM в зависимости от N стадии представлено в таблице 3.

Таблица 3 – Распределение больных в соответствии с классификацией TNM 7-ого пересмотра в зависимости от N стадии

Стадия TNM	N стадия							
	N0		N1		N2		Всего	
	n	%	n	%	n	%	n	%
IA	78	14,6	0	0	0	0	78	14,6
IB	181	33,9	0	0	0	0	181	33,9
IIA	38	7,1	13	2,4	0	0	51	9,5
IIB	43	8,0	52	9,7	0	0	95	17,7
IIIA	4	0,8	14	2,6	99	18,5	117	21,9
IIIB	13	2,4	0	0	0	0	13	2,4
Всего	357	66,8	79	14,7	99	18,5	535	100,0

*Примечание: n – абсолютное количество пациентов*

Из таблицы 3 видно, что у большей части пациентов (76%) диагностированы I и II стадии заболевания, в то время как местно-распространенная форма НМРЛ выявлена у 130 больных (24%).

Основные методы исследования. Всем пациентам, поступившим для проведения хирургического лечения, при определении резектабельности и оценки функциональной операбельности выполнялись общеклинические лабораторные и инструментальные исследования (клинический и биохимический анализы крови, ЭКГ, ЭХО-КГ, спирометрия, УЗИ органов брюшной полости, рентгенография органов грудной полости, КТ, фибробронхоскопия). Морфологическая верификация диагноза осуществлялась по результатам визуальной или чрезбронхиальной биопсии легкого при фибробронхоскопии, трансторакальной тонкоигольной биопсии под контролем КТ, интраоперационной биопсии. Изучение влияния клинических маркеров воспаления на прогноз больных I-II стадиями НМРЛ производилось с помощью расчета следующих соотношений (по результатам клинического анализа периферической крови на предоперационном этапе): нейтрофильно-лимфоцитарного индекса (НЛИ, отношение абсолютного числа нейтрофилов к абсолютному числу лимфоцитов); тромбоцитарно-

лимфацитарного индекса (ТЛИ, отношение абсолютного числа тромбоцитов к абсолютному числу лимфоцитов); индекса системного воспаления (ИСВ, отношение произведения абсолютного числа нейтрофилов и тромбоцитов к абсолютному числу лимфоцитов).

Для оценки первичной опухоли в легком и степени распространенности метастатического процесса всем пациентам выполнялась КТ органов грудной полости. ПЭТ, а также совмещенная ПЭТ/КТ, выполнялись по стандартной методике, начиная с 2007 года и проведены 164 больным (31%). Для предоперационного N-стадирования использовался алгоритм, принятый в центре интенсивной пульмонологии и торакальной хирургии в 2008 году и соответствующий последним практическим рекомендациям ESTS и ESMO (Петров А.С., 2017; Postmus P.E. et al., 2017).

Основные принципы хирургического лечения пациентов. Хирургическое лечение больных выполнялось в условиях комбинированной анестезии с проведением однолегочной вентиляции и состояло из двух обязательных компонентов: анатомической резекции легкого (лоб-, билоб- или пневмонэктомии) и лимфодиссекции. Пневмонэктомия проведена 108 (21%) пациентам, билобэктомия произведена у 37 (7%) больных, 364 (72%) больным была выполнена лобэктомия, из которых у 31 (6%) пациента хирургическое вмешательство было дополнено бронхо- и ангиопластикой. У большей части пациентов (410/81%) операции были выполнены с использованием торакотомного доступа, торакоскопический доступ использовался у 99 (19%) пациентов.

Для определения гистологического типа опухоли и установления окончательной (патологической) N стадии резецированное легкое и лимфатические узлы отправляли на патоморфологическое исследование с изготовлением парафиновых срезов и последующим изучением микропрепаратов, окрашенных гематоксилином-эозином по стандартной методике.

Оценка особенностей лимфогенного метастазирования опухоли у пациентов с IIIA (N2) стадией изучалась в зависимости от клинической N стадии заболевания, одиночного или множественного метастатического поражения зон лимфатических узлов, наличия метастазов в бифуркационных и доля-специфичных лимфоузлах (ДСЛУ). Разделение лимфоузлов средостения на зоны выполнялось в соответствии с классификацией Международного общества по изучению и лечению рака легкого и включало в себя четыре зоны: верхнюю (ЛУ 1, 2, 3, 4 групп), аортопульмональную (ЛУ 5, 6 групп), бифуркационную (ЛУ 7 группы) и нижнюю (ЛУ 8, 9 групп) (Rush V.W. et al., 2007). ДСЛУ для локализации опухоли в верхней доле правого легкого считались ЛУ 2R-4R групп; средней доле – ЛУ 2R-4R, 7 групп; нижней доле правого легкого – ЛУ 7, 8R-9R групп; верхней доле левого легкого – ЛУ 2L-4L, 5-6 групп; нижней доле левого легкого – ЛУ 7, 8L-9L групп (Baba T. et al., 2012).

Исследование экспрессии PD-L1, ALDH1, CD8 и CD44 было проведено на операционном материале с использованием метода иммуногистохимии по стандартной методике у 28 больных, радикально прооперированных по поводу НМРЛ I стадии, которые на основании отдаленных результатов лечения были разделены на 2 группы: группу №1 (n=14) составили пациенты с ранним прогрессированием опухоли, группу №2 (n=14) - пациенты с НМРЛ I стадии с длительным безрецидивным периодом. Для анализа были исследованы срезы толщиной 3-4 мкм с фиксированных формалином парафиновых блоков.

Оценка экспрессии белка PD-L1 осуществлялась с использованием Tumor Proportion Score (TPS, %) путем подсчета отношения опухолевых клеток с полным или частичным окрашиванием мембраны PD-L1 (+) к общему количеству клеток опухоли. При  $TPS \geq 1\%$  экспрессия оценивалась как низкая, при  $TPS > 50\%$  - высокая (Ventana Medical Systems, 2017). При исследовании экспрессии CD44, реакция окраски цитоплазматической мембраны клетки оценивалась полуколичественно. Интенсивность окрашивания CD44 определялась как отрицательная (0 баллов), слабая (1 балл), умеренная (2 балла) или сильная (3 балла), также определялся процент окрашенных клеток к общему числу клеток опухоли. Для интерпретации данных использовалась шкала H-Score (произведение балла за интенсивность экспрессии и процента окрашенных клеток, диапазон 0-300). Полученные значения H-Score были разделены на группы, характеризующие экспрессию маркера. Первая группа с низким уровнем экспрессии CD44 (H-score <150) и вторая - с высокой экспрессией CD44 (H-score  $\geq 150$ ). Среднее значение H-score использовалось в качестве порогового значения в исследованиях по определению экспрессии CD44 при различных опухолях (Sadeghi A. Et al., 2019). Оценка экспрессии маркера стволовых клеток ALDH1 проводилась полуколичественным методом и соответствовала алгоритму оценки экспрессии белка CD44 (Abourbih S. et al., 2013). Значение CD8-положительных клеток определялось как процент окрашенных иммунных клеток от числа клеток опухоли, без учета перитуморальной инфильтрации и зоны стромы с некрозом, и оценивалось как низкое (<30%) или высокое ( $\geq 30\%$ ) (Teng F. et al., 2016).

Статистический анализ данных. Статистическая обработка материала выполнялась с использованием программного пакета для обработки информации SPSS (версия 23). Для сравнения порядковых переменных использовались непараметрические критерии Манна-Уитни (для 2-х выборок) и Краскала-Уоллиса (для 3-х и более выборок), достоверными считались различия с уровнем значимости ( $p < 0,05$ ). Общая и онкоспецифическая выживаемость больных оценивались методом Каплана-Мейера (для оценки достоверности различий между кривыми выживаемости применялся Logrank-тест). Общая выживаемость рассчитывалась как время от момента начала лечения до

смерти больного от любого события. Онкоспецифическая выживаемость определялась нами как время от начала лечения до смерти пациента, при этом, больные, умершие от других заболеваний, расценивались как цензурированные. Для определения порогового значения изучаемых факторов был проведен ROC-анализ. Для определения взаимосвязи между уровнем экспрессии иммуногистохимических маркеров использовался корреляционный анализ, при котором рассчитывался коэффициент ранговой корреляции Спирмена. Для факторного анализа и оценки риска раннего наступления события использовался регрессионный анализ Кокса.

**В третьей главе** диссертационного исследования изложены результаты оценки отдаленных результатов хирургического лечения всех больных НМРЛ в зависимости от общеклинических показателей и особенностей лимфогенного метастазирования опухоли.

Для изучения параметров выживаемости были проанализированы отдаленные результаты лечения, которые были получены у 468 из 535 больных, что составило 87%.

Таблица 4 – Распределение больных с учетом времени наблюдения и стадии НМРЛ

Время наблюдения	I стадия		II стадия		III стадия		Всего	
	n	%	n	%	n	%	n	%
1 год	220	47,0	130	27,8	118	25,2	468	100,0
2 года	200	42,7	105	22,4	71	15,1	376	80,2
3 года	163	34,8	72	15,4	35	7,5	270	57,7
4 года	130	27,8	54	11,5	20	4,3	204	43,6
5 лет	103	22,0	45	9,6	15	3,2	163	34,8
5-10 лет	84	17,9	38	8,1	9	1,9	131	27,9
10-15 лет	14	2,9	9	1,9	2	0,4	25	5,2

*Примечание: n – абсолютное количество пациентов*

Как видно из таблицы 4, треть больных, оперированных по поводу I-III стадий НМРЛ, наблюдалась пять и более лет. При этом, максимальный срок наблюдения пациентов составил 177 месяцев. В ходе диссертационного исследования были изучены параметры выживаемости всех пациентов в зависимости от возраста, пола, клинко-анатомической формы рака и гистологического типа опухоли (рисунок 1).

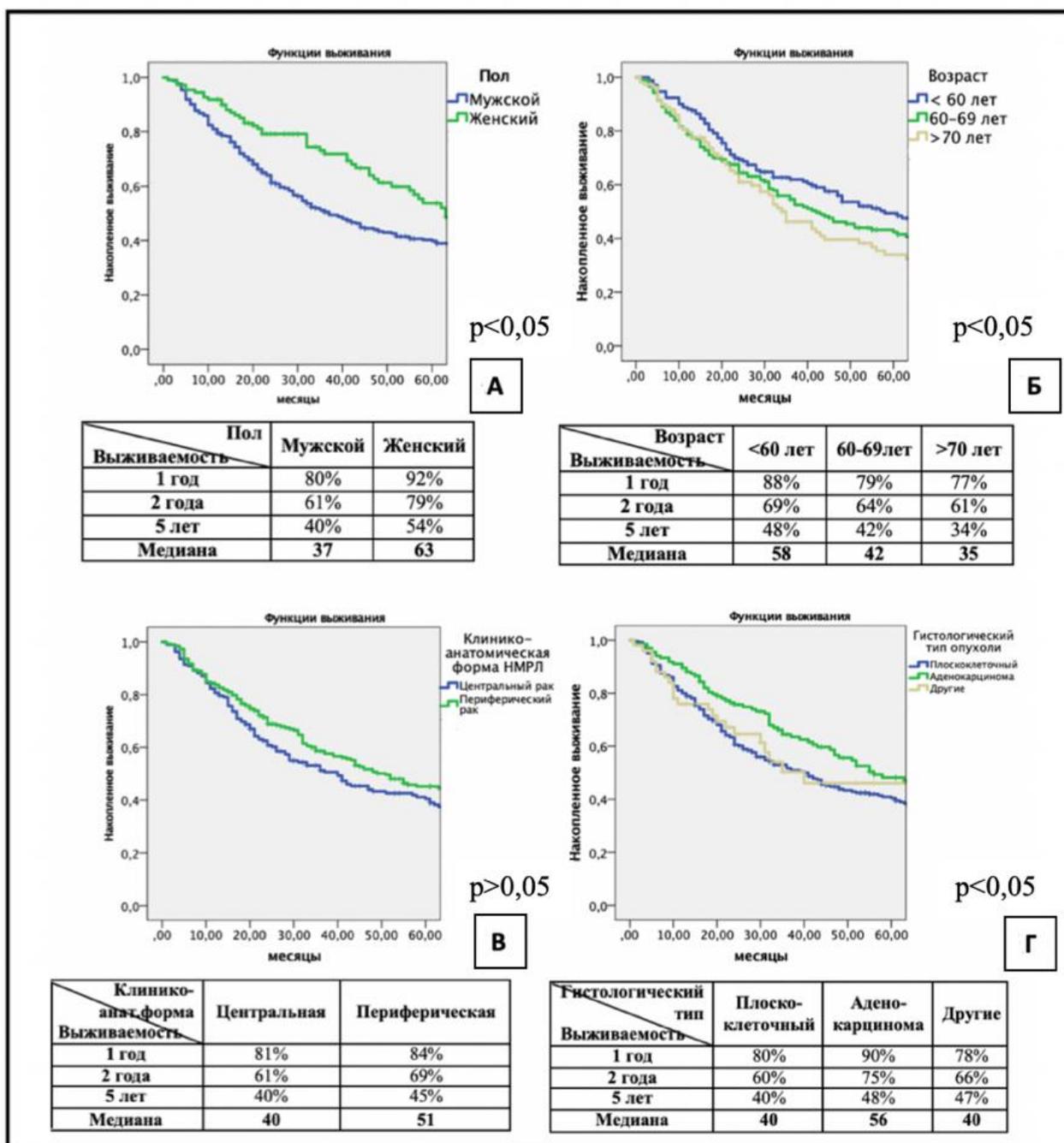


Рисунок 1 – Общая выживаемость больных в зависимости от пола(1А), возраста (1Б), клинико-анатомической формы опухоли(1В) и гистологического типа рака (1Г)

При изучении отдаленных результатов лечения больных в зависимости от пола было выявлено, что 5-летняя выживаемость у женщин значительно выше, чем у мужчин, и составила 54% и 40% соответственно (рисунок 1А). Анализ отдаленных результатов лечения больных в зависимости от возраста также выявил достоверные различия в 5-летней выживаемости (рисунок 1Б). Так, в группах больных до 60 лет, от 60 до 69 и старше 70 лет, 5-летняя выживаемость составила 48%, 42% и 34% соответственно ( $p < 0,05$ ). Как видно на рисунке 1В, статистически значимых различий выживаемости пациентов в зависимости от клинико-анатомической формы опухоли получено не было.

При этом, у пациентов с плоскоклеточным раком легкого отдаленные результаты хирургического лечения в сравнении с аденокарциномой были значительно хуже (рисунок 1Г).

Анализ отдаленных результатов хирургического лечения в зависимости от стадии по классификации TNM показал, что пятилетняя выживаемость больных при I, II и III стадиях НМРЛ составила 58%, 39% и 17% соответственно (рисунок 2А).

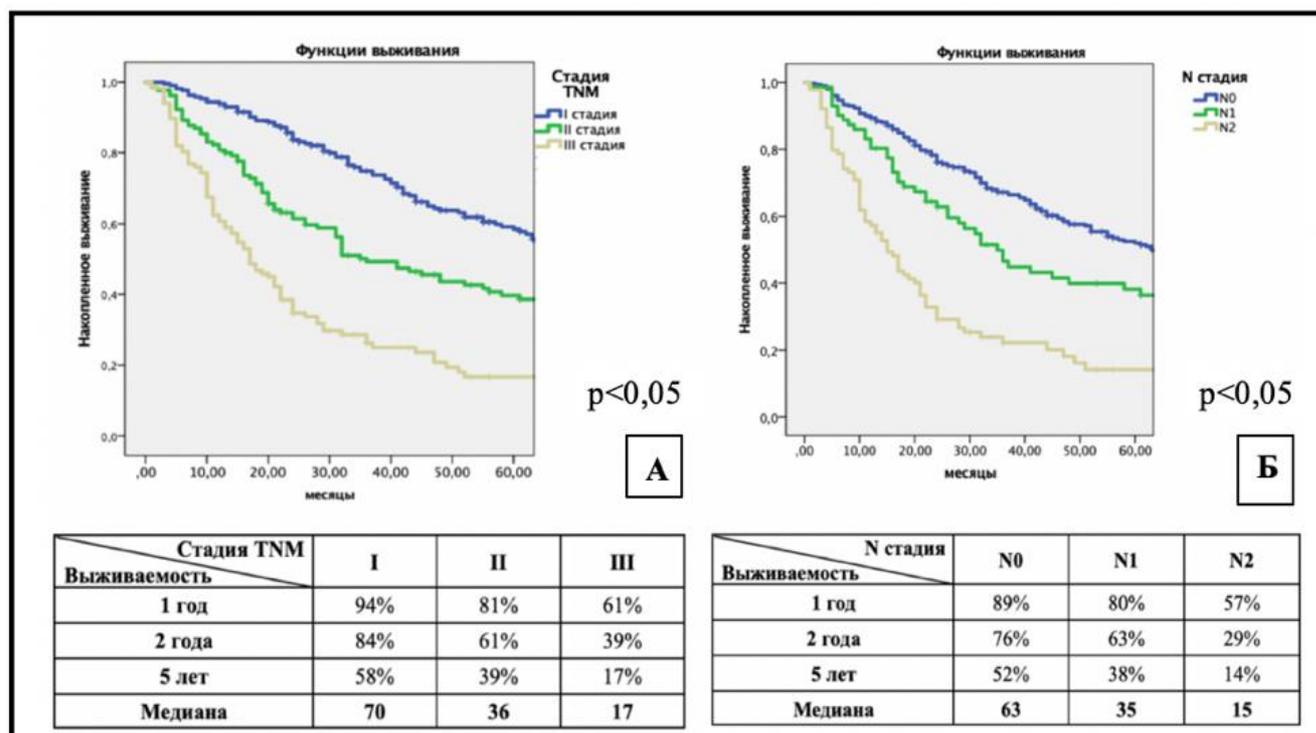


Рисунок 2 – Общая выживаемость больных в зависимости от TNM-стадии НМРЛ (А) и N стадии (Б)

Как видно на рисунке 2Б, отдаленные результаты лечения в зависимости от N стадии также имели достоверные различия выживаемости: 2-х и 5-летняя выживаемость при N0, N1 и N2 составила 76% и 52%, 63% и 38%, 29% и 14% соответственно. Выявленная зависимость отдаленных результатов хирургического лечения от критерия N подчеркивает его важнейшую роль в определении прогноза пациентов с НМРЛ.

В дальнейшем нами был проведен анализ отдаленных результатов хирургического лечения больных при pN2 стадии в зависимости от варианта лечения и особенностей лимфогенного метастазирования опухоли. С помощью регрессионной модели Кокса был произведен факторный анализ выживаемости больных IIIA (N2) стадией НМРЛ (таблица 5).

Таблица 5 – Одно- и многофакторный регрессионный анализ при IIIA (N2) стадии НМРЛ

Показатель	Однофакторный анализ			Многофакторный анализ		
	ОР	95% ДИ	p	ОР	95%ДИ	p
Метастазы в бифуркационных ЛУ	2,093	1,035-4,233	0,04	1,842	0,891-3,810	0,099
Клиническая N2 стадия	2,854	1,414-5,764	0,003	2,156	0,995-4,672	0,044
2 и более зоны пораженных ЛУ	2,38	1,184-4,780	0,015	1,711	0,802-3,653	0,165

При анализе нами было выявлено, что наличие метастазов в бифуркационных ЛУ, клиническая N2 стадия, установленная по результатам предоперационного стадирования, поражение двух и более зон лимфатических узлов средостения являются статистически значимыми факторами в отношении неблагоприятного прогноза у больных IIIA(N2) стадией НМРЛ (ОР 2,093, ДИ: 1,035-4,233; ОР 2,854, ДИ: 1,414-5,764; ОР 2,38, ДИ: 1,184-4,780, соответственно,  $p < 0,05$ ). Кроме того, клиническая N стадия, установленная при дооперационном стадировании, по данным многофакторного анализа, имеет роль независимого неблагоприятного прогностического фактора (ОР=2,156, ДИ: 0,995-4,672,  $p < 0,05$ ).

**В четвертой главе** диссертационного исследования с целью выявления факторов, определяющих прогноз пациентов, был проведен детальный анализ отдаленных результатов хирургического лечения больных I-II стадиями НМРЛ.

Нами были проанализированы отдаленные результаты хирургического лечения у 156 пациентов с I-II стадиями НМРЛ в зависимости от значений индексов, характеризующих системное воспаление на основании результатов клинического анализа периферической крови. При расчете значений относительных индексов средние показатели НЛИ, ТЛИ и ИСВ составили  $2,57 \pm 1,79 \times 10^9/\text{л}$ ;  $139,36 \pm 68,24 \times 10^9/\text{л}$  и  $757,58 \pm 663,63 \times 10^9/\text{л}$  соответственно. Пороговые значения, рассчитанные при ROC анализе, для НЛИ, ТЛИ и ИСВ составили  $2,03 \times 10^9/\text{л}$ ,  $109,17 \times 10^9/\text{л}$  и  $489,67 \times 10^9/\text{л}$  соответственно. При анализе отдаленных результатов хирургического лечения были выявлены значимые различия в зависимости от показателей нейтрофильно-лимфоцитарного индекса и маркера системного воспаления (рисунок 3).

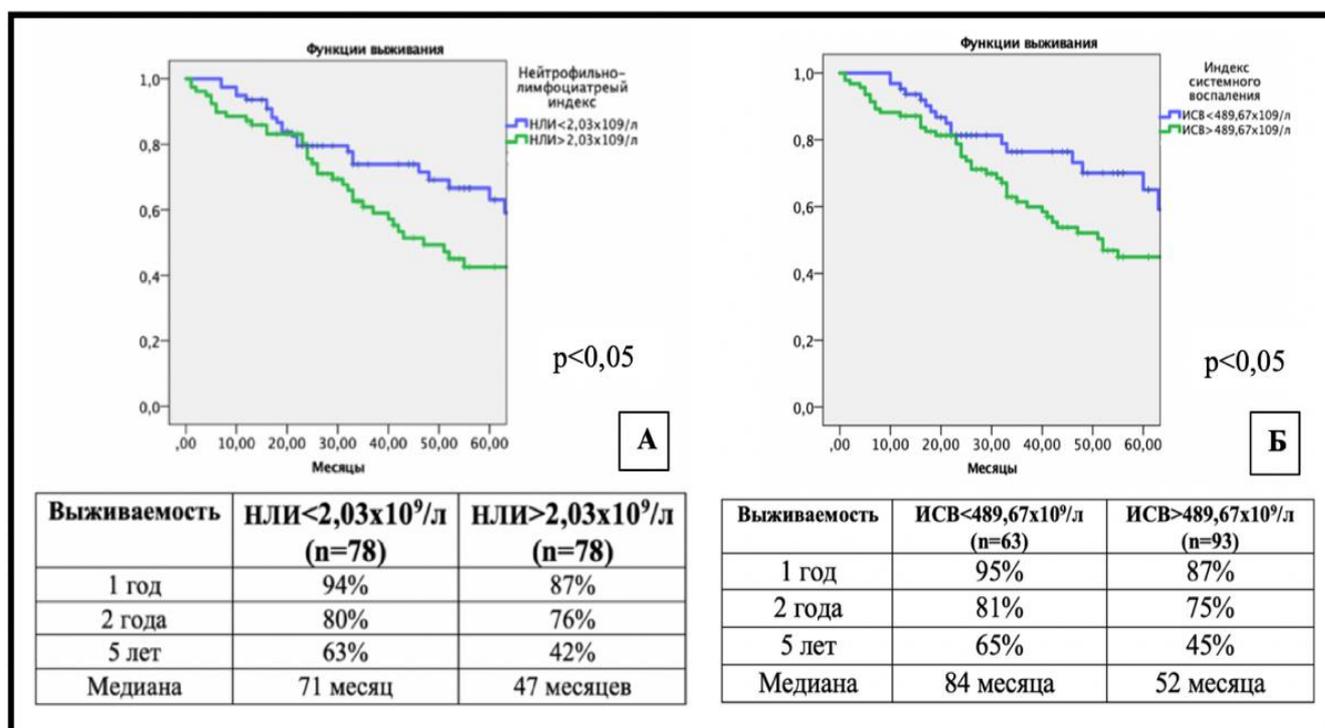


Рисунок 3 – Отдаленные результаты хирургического лечения больных в зависимости от значений нейтрофильно-лимфоцитарного индекса (3А) и индекса системного воспаления (3Б)

Как видно на рисунке 3А, 5-летняя выживаемость больных при высоком значении нейтрофильно-лимфоцитарного индекса ( $>2,03 \times 10^9/\text{л}$ ) была ниже, чем при НЛИ менее  $2,03 \times 10^9/\text{л}$ , и составила 42% против 63%, соответственно ( $p < 0,05$ ). Высокое значение индекса системного воспаления ( $>489,67 \times 10^9/\text{л}$ ) достоверно ухудшало отдаленные результаты хирургического лечения пациентов, а 5-летняя выживаемость больных составила 45% против 65% при  $\text{ИСВ} < 489,67 \times 10^9/\text{л}$  ( $p < 0,05$ ; рисунок 3Б).

В дальнейшем нами были проанализированы отдаленные результаты хирургического лечения больных НМРЛ I-II стадии в зависимости от уровня SUV первичной опухоли у 117 пациентов. С помощью ROC-анализа было установлено пороговое значение (cut-off) для уровня SUV равное 6. При изучении данных было выявлено, что общая 2-х и 5-летняя выживаемость пациентов при SUV опухоли меньше 6, значительно выше, чем у больных при  $\text{SUV} \geq 6$  и составляет 92% и 65% против 73% и 46%, соответственно (рисунок 4).

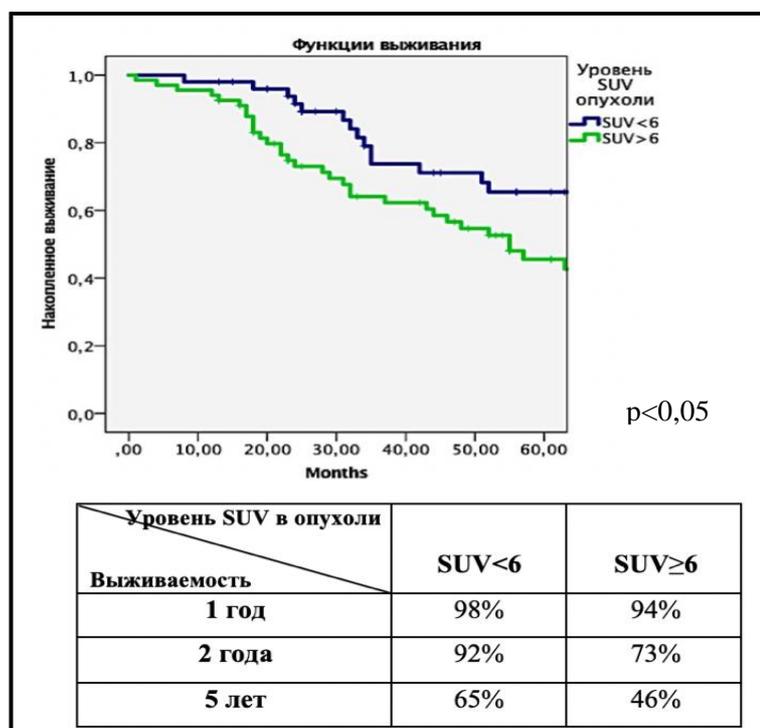


Рисунок 4 – Общая выживаемость больных в зависимости от уровня SUV первичной опухоли в легком

Для выявления прогностической значимости изученных параметров выживаемости нами был проведен регрессионный анализ Кокса (таблица 6).

Таблица 6 – Факторный регрессионный анализ при I-II стадиях НМРЛ

Показатель	Факторный анализ		
	ОР	95% ДИ	p
Пол (женский)	0,534	0,291-1,980	0,04
Возраст (>70 лет)	1,908	1,361-2,677	0,000
Гистологический тип опухоли (аденокарцинома)	0,998	0,817-1,217	0,9
Объем резекции легкого (лобэктомия)	0,849	0,543-1,328	0,474
Количество удаленных групп лимфоузлов (<6)	1,117	0,822-1,519	0,479
НЛИ (>2,03x10 <sup>9</sup> /л)	1,626	0,994-2,659	0,053
ИСВ (>489,67x10 <sup>9</sup> )	1,735	1,018-2,956	0,043
SUV первичной опухоли в легком по данным ПЭТ/КТ (>6)	1,909	1,907-3,321	0,022

Возраст пациента более 70 лет, высокие показатели НЛИ и ИСВ являлись неблагоприятными факторами в отношении прогноза заболевания (ОР 1,908 ДИ: 1,361-2,677; 1,626 ДИ: 0,994-2,659 и 1,735 ДИ: 1,018-2,956 соответственно,  $p < 0,05$ ). Также было выявлено, что высокий уровень SUV первичной опухоли в легком является статистически значимым неблагоприятным прогностическим фактором (ОР 1,909; ДИ:

1,907-3,321;  $p < 0,05$ ). Гистологический тип опухоли и объем хирургического вмешательства не имели прогностической ценности. При анализе результатов в зависимости от количества удаленных групп лимфоузлов было выявлено, что меньший объем лимфодиссекции являлся неблагоприятным прогностическим фактором, однако полученные различия оказались недостоверными (ОР 1,117; ДИ: 0,822-1,519;  $p > 0,05$ ).

**В пятой главе диссертационного исследования** изучен вопрос иммунологических и биологических особенностей опухоли у больных I стадией НМРЛ.

Для анализа потенциальных иммунобиологических прогностических факторов были сформированы 2 группы пациентов ( $n=28$ ): группа №1 ( $n=14$ ) составили пациенты с ранним прогрессированием опухоли, группа №2 ( $n=14$ ) - пациенты с НМРЛ I стадии с длительным безрецидивным периодом.

При сравнительном анализе были выявлены значимые различия уровней экспрессии PD-L1, ALDH1 и CD8 между группами №1 и №2 (таблица 7).

Таблица 7 – Распределение пациентов в зависимости от значений PD-L1, CD8, ALDH1, CD44

Маркер	Группа №1	Группа №2	Достоверность различий (p)
<i>PD-L1 (процент окрашенных опухолевых клеток)</i>			
<b>PD-L1 <math>\geq</math> 50%</b>	57% (n=8)	21% (n=3)	<b>p&lt;0,05</b>
<b>PD-L1&lt;50%</b>	43% (n=6)	79% (n=11)	<b>p&lt;0,05</b>
<i>CD8 (процент окрашенных иммунных клеток от числа клеток опухоли)</i>			
<b>CD8 <math>\geq</math> 30%</b>	14% (n=2)	50% (n=7)	<b>p&lt;0.05</b>
<b>CD8&lt;30%</b>	86% (n=12)	50% (n=7)	<b>p&lt;0.05</b>
<i>ALDH1 ( значение H-score)</i>			
<b>H-score <math>\geq</math> 150</b>	64% (n=9)	0% (n=0)	<b>p&lt;0.05</b>
<b>H-score &lt; 150</b>	36 % (n=5)	100% (n=14)	<b>p&lt;0.05</b>
<i>CD44 ( значение H-score)</i>			
<b>H-score <math>\geq</math> 150</b>	71% (n=10)	86% (n=12)	p>0.05
<b>H-score &lt; 150</b>	29% (n=4)	14% (n=2)	p>0.05

Так, при раннем прогрессировании НМРЛ у больных I стадией наблюдались высокий уровень экспрессии PD-L1, а также высокое значение ALDH1 ( $H\text{-score} \geq 150$ ) в сравнении с пациентами с НМРЛ I стадии с длительным безрецидивным периодом. При этом, практически у всех больных из группы №1 ( $n=12$ ) наблюдался низкий процент окрашивания опухоль-инфильтрирующих иммунных клеток ( $CD8 < 30\%$ ). Кроме того, ни у одного из пациентов группы №2 не было выявлено высокой экспрессии ALDH1. При сравнении показателей H-score CD44 значимых различий в выживаемости получено не было.

При проведении корреляционного анализа выявлена значимая взаимосвязь между процентом окрашенных клеток опухоли PD-L1 и процентом окрашенных CD8-положительных иммунных клеток ( $r=0,6$ ;  $p<0,05$ ), а также между уровнями экспрессии ALDH1 и CD44 ( $r=0,6$ ;  $p<0,05$ ).

Регрессионный анализ Кокса показал, что высокий уровень экспрессии PD-L1 клетками опухоли является неблагоприятным фактором в отношении прогноза заболевания у больных, оперированных по поводу I стадии НМРЛ (ОР=5,723;  $p<0,05$ ; 95% ДИ 1,751-18,697). Высокий уровень экспрессии ALDH1 по результатам нашего исследования также являлся неблагоприятным прогностическим фактором у данной категории больных, однако ввиду малого количества наблюдений статистической значимости получено не было (ОР=3,355;  $p=0,06$ ; 95% ДИ 0,928-12,128).

### **Заключение**

В проведенном ретроспективном исследовании продемонстрированы возможные факторы прогноза течения немелкоклеточного рака легкого I-III стадии после хирургического лечения. Отдаленные результаты лечения больных и возможность оперативного вмешательства во многом определяются корректностью определения степени лимфогенного метастазирования опухоли, а результаты хирургического лечения определяются прогностической гетерогенностью N2 стадии. При этом, наличие метастазов в бифуркационных лимфатических узлах, метастатическое поражение двух и более зон лимфатических узлов, а также N2 стадия, установленная на предоперационном этапе, являются неблагоприятными прогностическими факторами у пациентов с IIIA(N2) стадией НМРЛ. При ранних стадиях заболевания возраст больного старше 70 лет, SUV первичной опухоли больше 6 при ПЭТ/КТ, высокое значение индекса системного воспаления и нейтрофильно-лейкоцитарного индекса являются неблагоприятными факторами в отношении прогноза НМРЛ. Выявленные особенности экспрессии PD-L1, CD8, ALDH1 и CD44 позволяют предположить, что в основе раннего прогрессирования опухоли могут лежать особенности противоопухолевого иммунитета и маркерного профиля опухолевых стволовых клеток.

### **ВЫВОДЫ**

1. Критерий N является ведущим прогностическим фактором пятилетней выживаемости больных, оперированных по поводу I-III стадий НМРЛ. При этом, установленная клиническая N2 стадия на предоперационном этапе, наличие метастазов в бифуркационных лимфоузлах, а также метастатическое поражение двух и более зон лимфоузлов средостения значимо ухудшают прогноз пациентов, перенесших хирургическое лечение по поводу IIIA (N2) стадии НМРЛ.

2. Высокое накопление радиофармпрепарата (18-ФДГ) в проекции опухоли при ПЭТ/КТ ( $SUV \geq 6$ ), возраст пациента старше 70 лет, высокое значение индекса системного воспаления и нейтрофильно-лимфоцитарного индекса являются факторами неблагоприятного прогноза у больных немелкоклеточным раком легкого I-II стадии.
3. Высокий уровень экспрессии PD-L1 является неблагоприятным фактором в отношении прогноза заболевания после хирургического лечения у больных I стадией НМРЛ.
4. Возможными причинами раннего прогрессирования НМРЛ у пациентов, оперированных по поводу I стадии, являются высокая экспрессия PD-L1 и маркера опухолевых стволовых клеток ALDH1, а также низкий уровень инфильтрации опухоли CD8-положительными лимфоцитами.

### **Практические рекомендации**

1. Перед проведением оперативного лечения всем пациентам целесообразно выполнять комплексное предоперационное N-стадирование с целью выбора оптимальной тактики, а хирургическое вмешательство у больных III(A)N2 стадией НМРЛ следует рассматривать с учетом ее гетерогенности и только в рамках комплексного мультимодального лечения.
2. При выполнении хирургического этапа лечения НМРЛ всем пациентам необходимо выполнять систематическую лимфодиссекцию, что позволяет более достоверно устанавливать окончательную N-стадию, оценивать прогноз больных и своевременно определять показания к послеоперационной противоопухолевой терапии.
3. Всем больным НМРЛ на предоперационном этапе обследования рекомендуется выполнять ПЭТ/КТ с определением уровня SUV первичной опухоли в легком и рассчитывать показатели клинических маркеров воспаления (нейтрофильно-лимфоцитарный индекс, индекс системного воспаления).
4. Определение высоких уровней экспрессии PD-L1, ALDH1 и CD44 клетками опухоли, а также низкого уровня инфильтрации опухоли CD8-положительными лимфоцитами могут быть использованы в качестве критериев биологической агрессивности опухоли у больных на ранних стадиях НМРЛ и рассмотрены как показание к проведению адьювантного лечения.

### **Перспективы дальнейшей разработки темы исследования**

В проведенном диссертационном исследовании впервые продемонстрирована значимость таких факторов, как уровень SUV первичной опухоли в легком при ПЭТ/КТ

и маркеров системного воспаления (индекс системного воспаления и нейтрофильно-лимфоцитарный индекс) для оценки прогноза пациентов, оперированных по поводу ранних стадий НМРЛ. Вместе с тем, обоснована возможность хирургического лечения больных местно-распространенным немелкоклеточным раком лёгкого с учетом гетерогенности N2 стадии.

Наиболее интересной представляется сформулированная оригинальная концепция, объясняющая раннее прогрессирование рака легкого после радикальных операций у больных I стадией НМРЛ, в основе которой лежат фундаментальные иммунологические и биологические характеристики опухоли. Именно это направление работы представляется наиболее перспективным, так как более углубленный анализ биологических особенностей опухолевого роста и эффективности иммунного ответа больных НМРЛ позволит точнее определять прогноз пациентов, своевременно выбирать оптимальную тактику лечения, в том числе, устанавливать показания к хирургическому вмешательству, а также к адъювантной терапии.

Внедрение в широкую клиническую практику изученных в диссертационном исследовании критериев, а также поиск новых иммуногистохимических и молекулярно-биологических факторов прогноза позволит улучшить отдаленные результаты лечения пациентов с НМРЛ.

#### **Список опубликованных работ по теме диссертации**

##### **Работы, опубликованные в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных высшей аттестационной комиссией при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации, для публикации основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук**

1. Отдаленные результаты хирургического лечения больных немелкоклеточным раком легкого при PN0-N1 / П.К. Яблонский, А.С. Петров, И.Ю. Земцова, М.А. Атюков // Вопросы онкологии. – 2017. – Т. 63, № 1. – С. 99-103.
2. Случай успешного лечения плоскоклеточного рака правого легкого IIIA стадии (иммунотерапия + хирургическое лечение), с последующей расширенной видеоторакоскопической сегментэктомией S6 по поводу метастатического рака левого легкого IA стадии / А.С. Петров, М.А. Атюков, О.А. Жемчугова, И.Ю. Земцова, М.Н. Янчий, П.К. Яблонский // Вопросы онкологии. – 2020. – Т. 66, № 3. – С. 291-295.

##### **Работы, опубликованные в других изданиях**

3. Земцова, И.Ю. Отдаленные результаты хирургического лечения больных I–II стадией немелкоклеточного рака легкого / И.Ю. Земцова, А.С. Петров // Фундаментальная наука и клиническая медицина - Человек и его здоровье: тезисы XIX Международной медико-биологической конференции молодых исследователей. — Санкт-Петербург: СПбГУ, 2016. — С. 224-225.
4. Long-term outcomes after surgery for non-small cell lung cancer depending on features of N staging / A. Petrov, I. Zemtsova, M. Atiukov [et al.] // 25<sup>th</sup> European Conference on

- General Thoracic Surgery (Congress Innsbruck, 28-31 May 2017). - Innsbruck, Austria, 2017. – P. 265.
5. Prognostic role of PET/CT in surgically treated pN0-1 Non-Small-Cell Lung Cancer / I. Zemtsova, A. Petrov, M. Atiukov [et al.] // European Respiratory Journal. – 2018. – Vol. 52, № S62. – P. 2765.
  6. Жемчугова, О.А. Прогностическая роль индексов системного воспаления у больных, оперированных по поводу I-II стадий НМРЛ / О.А. Жемчугова, И.Ю. Земцова // *Фундаментальная наука и клиническая медицина - Человек и его здоровье: XXIII Международная медико-биологическая конференция молодых исследователей, посвященная 25-летию медицинского факультета СПбГУ: материалы научной конференции.* – Санкт-Петербург: Сциентиа, 2020. – С. 317-318.

### **Список сокращений и условных обозначений**

ДСЛУ – доля-специфичный лимфатический узел  
 ИСВ – индекс системного воспаления  
 ЛУ – лимфатический узел  
 НЛИ – нейтрофильно-лимфоцитарный индекс  
 НМРЛ – немелкоклеточный рак легкого  
 ПЭТ/КТ – при позитронной эмиссионной томографии, совмещенной с компьютерной томографией  
 ТЛИ – тромбоцитарно-лимфоцитарный индекс  
 ФДГ - фтордезоксиглюкоза  
 ALDH1 – aldehyde dehydrogenase1  
 ESMO – European Society for Medical Oncology  
 ESTS – European Society of Thoracic Surgeons  
 PD-L1 – programmed cell death ligand-1  
 SUV – standard uptake value  
 ТИЛ-клетки – tumor-infiltrating lymphocytes  
 TPS – tumor proportion score