

DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-175-3-60-65

УДК 616.37–006.6–091.8–076–037–033.2:611.4

Оценка маркеров опухолевой инвазии, определяющих риск лимфогенного метастазирования при раке поджелудочной железы

Завьялова М. В.^{1,2}, Вторушин С. В.^{1,2}, Крахмаль Н. В.¹, Ракина Ю. Ю.³, Кошель А. П.¹¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 634050 г. Томск, ул. Московский тракт 2² Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН», 634009 г. Томск, пер. Кооперативный 5³ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Сибирский федеральный научно-клинический центр Федерального медико-биологического агентства», 636070 Томская область, г. Северск, ул. Мира 4

Evaluation of cancer invasion markers determining the risk of lymph node metastasis in pancreatic cancer

M. V. Zavyalova^{1,2}, S. V. Vtorushin^{1,2}, N. V. Krakhmal¹, Yu. Yu. Rakina³, A. P. Koshel¹¹ Siberian State Medical University, 634050 Tomsk, Moskovskiy trakt 2² Cancer Research Institute of Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, 634009 Tomsk, per. Kooperativnyj 5³ Siberian Federal Scientific and Clinical Center FMBA of Russia, 636070, Tomskaya oblast', Seversk, Mira 4

Для цитирования: Завьялова М. В., Вторушин С. В., Крахмаль Н. В., Ракина Ю. Ю., Кошель А. П. Оценка маркеров опухолевой инвазии, определяющих риск лимфогенного метастазирования при раке поджелудочной железы. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2020;175(3): 60–65. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-175-3-60-65

For citation: M. V. Zavyalova, S. V. Vtorushin, N. V. Krakhmal, Yu. Yu. Rakina, A. P. Koshel Evaluation of cancer invasion markers determining the risk of lymph node metastasis in pancreatic cancer. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2020;175(3): 60–65. (In Russ.) DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-175-3-60-65

✉ *Corresponding author:***Крахмаль****Надежда Валерьевна**
Nadezhda V. Krakhmal
krakhmal@mail.ru**Завьялова Марина Викторовна**, д.м.н., заведующий кафедрой патологической анатомии; ведущий научный сотрудник отделения общей и молекулярной патологии онкологической клиники**Вторушин Сергей Владимирович**, д.м.н., профессор кафедры патологической анатомии; ведущий научный сотрудник отделения общей и молекулярной патологии онкологической клиники**Крахмаль Надежда Валерьевна**, к.м.н., доцент кафедры патологической анатомии**Ракина Юлия Юрьевна**, врач-хирург хирургического отделения № 3**Кошель Андрей Петрович**, д.м.н., заведующий кафедрой хирургии с курсом мобилизационной подготовки и медицины катастрофMarina V. Zavyalova, MD, Head of the Department of pathological anatomy; Leading Researcher of the Department of General and Molecular Pathology; ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-9429-9831>Sergey V. Vtorushin, MD, Professor of the Department of pathological anatomy; Leading Researcher of the Department of General and Molecular Pathology; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-1195-4008>Nadezhda V. Krakhmal, Cand. of Med. Sci., Associate Professor of the Department of pathological anatomy; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-1909-1681>; Scopus ID: 56678622400

Yuliya Yu. Rakina, surgeon, Department of Surgery 3

Andrey P. Koshel, MD, Head of the Surgery Department with a course of mobilization training and disaster medicine

Резюме

Цель исследования: Оценить экспрессионные особенности маркеров опухолевой инвазии в протоковой аденокарциноме поджелудочной железы и определить их взаимосвязь с частотой лимфогенного метастазирования.

Материалы и методы: Были исследованы 84 случая протоковой аденокарциномы поджелудочной железы с проведением морфологического и иммуногистохимического исследований с применением антител MMP2, Integrin $\beta 1$ и $\beta 3$, β -catenin, Twist и Snail, которые по данным литературы ассоциированы с повышенными инвазивными свойствами опухоли.

Результаты: Исследование показало наличие взаимосвязей между показателями экспрессии изучаемых маркеров в различных структурах паренхиматозного компонента опухоли с частотой лимфогенного метастазирования при раке поджелудочной железы.

Заключение: Результаты исследования показывают возможность применения исследуемых маркеров в качестве дополнительных морфологических параметров, позволяющих оценить и прогнозировать риск лимфогенной диссеминации при раке поджелудочной железы.

Ключевые слова: опухолевая инвазия, рак поджелудочной железы, лимфогенное метастазирование

Summary

The aim of the study was to evaluate the expression features of cancer invasion markers in ductal pancreatic adenocarcinoma and determine their relationship with the frequency of lymph node metastasis.

Materials and methods: 84 cases of pancreatic ductal adenocarcinoma were studied with morphological and immunohistochemical studies using antibodies MMP2, Integrin $\beta 1$ and $\beta 3$, β -catenin, Twist and Snail, which associated with increased invasive properties of the tumor according to the literature.

Results: The study showed the presence of relationships between the expression indicators of the studied markers in different structures of the parenchymal component of the tumor with the frequency of lymph node metastasis in pancreatic cancer.

Conclusion: The results of the study show the possibility of using these markers as additional morphological parameters that allow us to assess and predict the risk of lymphogenous dissemination of pancreatic cancer.

Keywords: cancer invasion, pancreatic cancer, lymph node metastasis

Введение

Заболееваемость раком поджелудочной железы ежегодно растет. В России по данным статистики в 2017 году в структуре заболеваемости злокачественными новообразованиями на долю карцином поджелудочной железы приходилось около 3% как среди мужчин, так и среди женщин [1]. По данным Н. Matsubayashi (2019) в Японии смертность от рака поджелудочной железы составляет более 30 тысяч случаев в год, при этом злокачественные новообразования указанной локализации занимают 4 место в структуре онкологической заболеваемости [2]. Результаты L. Rahib и A. P. Stark указывают на то, что к 2030 году в США рак поджелудочной железы будет являться одним из лидирующих в структуре смертности от онкологических заболеваний [3, 4].

Высокие показатели заболеваемости, крайне низкий показатель 5-летней выживаемости пациентов, составляющий по разным литературным источникам от 7 до 13%, агрессивное и нередко бессимптомное течение, и как следствие, постановка диагноза на поздних стадиях определяют не только необходимость поиска методов и маркеров ранней диагностики патологии, но и параметров, позволяющих понимать биологические свойства опухоли и прогнозировать ее поведение. Известно, что выявление и лечение пациентов, у которых диагноз рака поджелудочной железы верифицирован при размере первичного опухолевого узла менее 10 мм, позволило бы увеличить 5-летние показатели до значений 80–85% [2, 5, 6].

Среди всех морфологических вариантов рака поджелудочной железы самым распространенным и одновременно одним из наиболее агрессивных является протоковая аденокарцинома [7, 8]. Факторы, определяющие прогноз заболевания при данном гистотипе опухоли как благоприятный, давно описаны в литературе и повсеместно применяются в прак-

тической работе. В частности, к таковым относят малый размер первичного узла, высокую степень дифференцировки (Grade) карциномы (G1), «негативные» границы резекции, проводимая адъювантная химиотерапия и лучевая терапия [4].

Метастатическое поражение лимфоузлов при раке поджелудочной железы, регистрируемое более чем у 60% пациентов, расценивают как один из наиболее важных прогностических показателей среди всех клинико-морфологических факторов. Несмотря на описываемые достижения как в плане хирургических методов, так и в отношении применения разных схем химиотерапии и лучевого воздействия на опухолевую ткань, наличие лимфогенных метастазов, особенно у пациентов после операции, сразу определяет прогноз как крайне неблагоприятный [9, 10]. Оценка статуса лимфатических узлов и стадирование заболевания во многом определяется выполненным объемом лимфаденэктомии, а также точностью и адекватностью последующего патоморфологического исследования, при этом нельзя исключить возможность ложной интерпретации данных вследствие субъективных факторов. По этой причине исследования, посвященные поиску молекулярных маркеров, позволяющих на ранних стадиях диагностировать опухолевый процесс, прогнозировать течение и исход заболевания, вероятность разных форм прогрессирования, в частности, лимфогенного метастазирования, при раке поджелудочной железы являются актуальными [11].

В течение последних лет проводятся детальные исследования маркеров, которые, по данным литературы, могут способствовать приобретению опухолевыми клетками более агрессивных свойств как в отношении инвазивного роста, так и в отношении повышенной миграционной активности

при прогрессии злокачественного процесса. Среди таких маркеров широко изучаются матриксные металлопротеиназы (ММП) подсемейства желатиназы, в частности, ММП2 и ММП9, молекулы интегринных рецепторов (Integrin), транскрипционные факторы, а также маркеры, позволяющие оценить степень выраженности в опухоли феномена

эпителиально-мезенхимального перехода [12, 13, 14]. Целью нашего исследования явились оценка экспрессионных особенностей молекулярных маркеров опухолевой инвазии в протоковой аденокарциноме поджелудочной железы и определение их взаимосвязи с параметрами лимфогенного метастазирования.

Материалы и методы

Исследование было проведено на базе хирургических отделений ОГАУЗ «Медицинский центр им. Г.К. Жерлова» и ФГБУ СибФНКЦ ФМБА России Медицинский центр № 2 (2007–2016 годы). Группу исследования составили 84 пациента с диагностированным и морфологически подтвержденным диагнозом рака поджелудочной железы. Гистотип новообразования во всех исследованных случаях соответствовал протоковой аденокарциноме согласно принятой классификации опухолей пищеварительной системы ВОЗ (Лион, 2010) [15]. Возраст пациентов, включенных в исследование, варьировал от 37 до 85 лет (средний возраст составил $61,5 \pm 10,0$ лет). Распределение больных относительно половой принадлежности было приблизительно одинаковым – 51% случаев приходилось на долю мужчин ($n=43$), 49% – составили женщины ($n=41$). Определение распространенности онкологического процесса осуществлялось в соответствии с 7 международной классификацией по системе TNM (AJCC, 2010) (табл. 1).

Морфологический этап работы включал в себя исследование операционного или биопсийного материала. Фиксация, проводка, заливка материала, полученного в результате оперативного вмешательства, а также изготовление гистологических срезов проводились по стандартной методике. Морфологическое исследование препаратов, окрашенных гематоксилином и эозином, осуществлялось с помощью светового микроскопа «Axio Lab.A1» (Carl Zeiss, Германия). Фотографии гистологических срезов были получены с использованием гистосканера MIRAX MIDI (Carl Zeiss, Германия). Производилась гистологическая оценка морфологического строения опухолевой ткани поджелудочной железы, в которой определялось наличие железистоподобных структур, трабекулярных структур и групп опухолевых клеток, дискретно расположенных в строме опухоли [14]. Иммуногистохимический этап осуществлялся согласно стандартным протоколам.

Результаты

Оценка индекса Ki67 в первичной опухоли при протоковой аденокарциноме поджелудочной железы и сопоставление данного показателя с частотой лимфогенного метастазирования показали, что пролиферативная активность значимо выше практически во всех опухолевых структурах в случаях с наличием лимфогенных метастазов. Так, в железистоподобных структурах паренхиматозного компонента ткани новообразования процент экспрессии Ki67 был статисти-

чески значимо выше в случаях обнаружения в регионарных лимфоузлах фокусов метастатического поражения ($n=23$) относительно случаев с их отсутствием ($n=52$) ($19,7 \pm 5,3$ и $7,4 \pm 5,4$; $F=81,2$; $p=0,0000$). Аналогичного рода связь была обнаружена относительно индекса Ki67 в трабекулярных структурах опухоли ($n=13$ и $n=9$) и в дискретных клетках ($n=16$ и $n=8$) ($20,5 \pm 3,1$ и $12,2 \pm 7,5$; $F=12,8$; $p=0,001$ и $22,4 \pm 4,8$ и $13,3 \pm 9,5$; $F=9,7$; $p=0,004$ соответственно).

Индекс пролиферативной активности опухоли изучался с использованием антитела к Ki67 (MIB-1, RTU, мышинные, моноклональные, фирмы «Dako»). Экспрессия Ki67 оценивалась как процент опухолевых клеток с наличием позитивной экспрессии маркера в каждом из присутствующих типов структур инфильтративного компонента первичного опухолевого узла (в 10 случайным образом выбранных полях зрения на 1000 клеток; увеличение $\times 400$). В качестве маркеров опухолевой инвазии была определена панель антител, среди которых в исследование вошли антитела фирмы Abcam к ММП2 (6E3F8 ab86607; мышинные; моноклональные; 1:200); Integrin $\beta 1$ (4B7R ab3167; мышинные; моноклональные; 1:20); Integrin $\beta 3$ (EPR2417Y ab75872; кроличьи; моноклональные; 1:250); β -catenin (E247 ab32572; кроличьи; моноклональные; 1:200); Twist (Twist2C1a ab50887; мышинные; моноклональные; 1:50); Snail (кроличьи; поликлональные; 1:1600). В инфильтративном компоненте ткани новообразования в каждом из присутствующих типов структур проводилась оценка экспрессии указанных маркеров, определялось наличие (позитивная экспрессия) или отсутствие (негативная экспрессия) экспрессии. В случаях наличия позитивной экспрессии оценивались интенсивность и процент опухолевых клеток, экспрессирующих тот или иной маркер (в 10 случайным образом выбранных полях зрения на 1000 клеток; увеличение $\times 400$). Заключительный этап включал сопоставление выявленных особенностей экспрессии молекулярных маркеров с частотой метастатического поражения регионарных лимфатических узлов. Обработка данных выполнялась с помощью программы «Statistica 10.0» Анализ проводился с использованием методов описательной статистики, дисперсионного анализа и непараметрических методов исследования. Для расчета достоверности различий применялись непараметрический критерий «Хи-квадрат». Различия между исследуемыми признаками считались статистически значимыми при $p < 0,05$ [16].

В настоящем исследовании были изучены особенности экспрессии маркеров, ассоциированных с повышенными инвазивными свойствами опухоли. Представлены результаты, отражающие экспрессионные показатели изучаемых маркеров в различных структурах инфильтративного компонента протоковой аденокарциномы поджелудочной железы и их взаимосвязь с наличием либо отсутствием метастатического поражения регионарных лимфоузлов (табл. 2–4).

Результаты исследования показали, что при наличии лимфогенных метастазов позитивная экспрессия MMP2 во всех типах структур инфильтративного компонента опухоли регистрируется статистически значимо чаще, чем в случаях с отсутствием метастатического поражения лимфоузлов. Аналогичного рода закономерность была выявлена и при оценке факторов транскрипции Snail

и Twist, а также в отношении маркера Integrin β3. Необходимо отметить, что значимо чаще позитивная экспрессия Integrin β1 регистрировалась при отсутствии очагов метастатического поражения в лимфоузлах относительно случаев с их наличием как в железистоподобных (91% и 9% соответственно; $\chi^2=43,6$; $p=0,0000$), так и в трабекулярных (69% и 31% соответственно; $\chi^2=10,5$; $p=0,001$) структурах, а также в дискретных группах опухолевых клеток (73% и 27% соответственно; $\chi^2=12,2$; $p=0,0004$). Подобно Integrin β1 экспрессия β-catenin также статистически значимо чаще была позитивной в железистоподобных структурах (98% и 2% соответственно; $\chi^2=60,5$; $p=0,0000$), трабекулярных структурах (90% и 10% соответственно; $\chi^2=16,4$; $p=0,00004$) и в дискретных группах клеток опухоли (88% и 12% соответственно; $\chi^2=13,5$; $p=0,0002$) при отсутствии лимфогенных метастазов (табл. 2, 3, 4).

Обсуждение

Исследование позволило оценить и выявить особенности экспрессии некоторых молекулярных маркеров, ассоциированных с более агрессивными свойствами злокачественных новообразований в отношении инвазивного роста и, соответственно,

прогрессирования онкологического процесса, в частности, при протоковой аденокарциноме поджелудочной железы. В этом плане интерес представляют полученные нами данные относительно экспрессии интегриновых рецепторов в опухолевых

Параметр	Значения параметра	Частота встречаемости
Стадия опухолевого процесса	I	4% (n=3)
	II	21% (n=18)
	III	8,5% (n=7)
	IV	52,5% (n=44)
	не определена	14% (n=12)
Оперативное лечение	выполнено	94% (n=79)
	не проводилось	6% (n=5)
	головка	75% (n=63)
Локализация опухоли в поджелудочной железе	тело	11% (n=9)
	хвост	7% (n=6)
	не установлена	7% (n=6)
Гистологический тип опухоли	Протоковая аденокарцинома	100% (n=84)
Лимфогенные метастазы	отсутствие метастазов (N0)	63% (n=53)
	наличие метастазов (N+)	37% (n=31)

Таблица 1.

Клинико-морфологическая характеристика случаев с протоковой аденокарциномой поджелудочной железы

Table 1.

Clinical and morphological characteristics of cases with ductal adenocarcinoma of the pancreas

Экспрессия маркеров опухолевой инвазии	Лимфогенные метастазы (количество больных, абсолютное число,%)											
	Отсутствуют (N-)						Присутствуют (N+)					
	MMP2	Integrin β1	Integrin β3	Twist	Snail	β-катенин	MMP2	Integrin β1	Integrin β3	Twist	Snail	β-катенин
Негативная экспрессия маркера	42/42 (100%)	2/19 (10%)	50/53 (94%)	49/54 (91%)	40/40 (100%)	2/23 (9%)	0/42 (0%)	17/19 (90%)	3/53 (6%)	5/54 (9%)	0/40 (0%)	21/23 (91%)
Позитивная экспрессия маркера	10/32 (31%)	50/55 (91%)	2/20 (10%)	2/19 (10%)	12/34 (35%)	50/51 (98%)	22/32 (69%) $\chi^2=41,1$; $p=0,0000$	5/55 (9%) $\chi^2=43,6$; $p=0,0000$	18/20 (90%) $\chi^2=50,4$; $p=0,0000$	17/19 (90%) $\chi^2=42,9$; $p=0,0000$	22/34 (65%) $\chi^2=36,8$; $p=0,0000$	1/51 (2%) $\chi^2=60,5$; $p=0,0000$

Таблица 2.

Связь лимфогенного метастазирования с экспрессией маркеров опухолевой инвазии в железистоподобных структурах паренхиматозного компонента протоковой аденокарциномы поджелудочной железы

Table 2.

The association of lymphogenous metastasis with the expression of tumor invasion markers in the glandular structures of the parenchymal component of the pancreatic ductal adenocarcinoma

Таблица 3.

Связь лимфогенного метастазирования с экспрессией маркеров опухолевой инвазии в трабекулярных структурах паренхиматозного компонента протоковой аденокарциномы поджелудочной железы

Table 3.

The association of lymphogenous metastasis with the expression of tumor invasion markers in the trabecular structures of the parenchymal component of the pancreatic ductal adenocarcinoma

Экспрессия маркеров опухолевой инвазии	Лимфогенные метастазы (количество больных, абсолютное число, %)											
	Отсутствуют (N-)						Присутствуют (N+)					
	MMP2	Integrin β1	Integrin β3	Twist	Snail	β-катенин	MMP2	Integrin β1	Integrin β3	Twist	Snail	β-катенин
Негативная экспрессия маркера	3/3 (100%)	0/9 (0%)	9/11 (82%)	4/7 (57%)	4/4 (100%)	1/23 (4%)	0/3 (0%)	9/9 (100%)	2/11 (18%)	3/7 (43%)	0/4 (0%)	22/23 (96%)
Позитивная экспрессия маркера	5/17 (29%)	9/13 (69%)	0/10 (0%)	0/11 (0%)	5/19 (26%)	9/10 (90%)	12/17 (71%) χ ² =5,2; p=0,02	4/13 (31%) χ ² =10,5; p=0,001	10/10 (100%) χ ² =14,3; p=0,0001	11/11 (100%) χ ² =8,1; p=0,004	14/19 (74%) χ ² =7,5; p=0,006	1/10 (10%) χ ² =16,4; p=0,00004

Таблица 4.

Связь лимфогенного метастазирования с экспрессией маркеров опухолевой инвазии в дискретных группах опухолевых клеток протоковой аденокарциномы поджелудочной железы

Table 4.

The association of lymphogenous metastasis with the expression of tumor invasion markers in the discrete groups of tumor cells of the pancreatic ductal adenocarcinoma

Экспрессия маркеров опухолевой инвазии	Лимфогенные метастазы (количество больных, абсолютное число, %)											
	Отсутствуют (N-)						Присутствуют (N+)					
	MMP2	Integrin β1	Integrin β3	Twist	Snail	β-катенин	MMP2	Integrin β1	Integrin β3	Twist	Snail	β-катенин
Негативная экспрессия маркера	4/5 (80%)	1/15 (6%)	9/14 (64%)	8/11 (73%)	4/4 (100%)	2/17 (11%)	1/5 (20%)	14/15 (94%)	5/14 (36%)	3/11 (27%)	0/4 (0%)	15/17 (89%)
Позитивная экспрессия маркера	4/17 (23%)	8/11 (73%)	2/12 (17%)	1/15 (7%)	4/20 (20%)	7/8 (88%)	13/17 (77%) χ ² =5,3; p=0,02	3/11 (27%) χ ² =12,2; p=0,00004	10/12 (83%) χ ² =5,9; p=0,01	14/15 (93%) χ ² =12,2; p=0,00004	16/20 (80%) χ ² =9,6; p=0,001	1/8 (12%) χ ² =13,5; p=0,0002

структурах при их сопоставлении с частотой лимфогенной диссеминации. При отсутствии метастазов в регионарных лимфоузлах чаще регистрировалась позитивная экспрессия Integrin β1, при этом экспрессия Integrin β3 значимо чаще была негативной. В литературе имеются сведения, демонстрирующие аналогичного рода закономерности, но при опухолях другой локализации. Подобная зависимость была описана при раке молочной железы в работе N. E. Ramirez, в которой отмечалась утрата экспрессии Integrin β1 в клетках карциномы при крайне высокой его экспрессии в физиологически нормальных эпителиальных клетках ацинусов и протоков молочной железы [17]. Данный факт позволяет предположить, что изучаемый маркер может быть расценен как маркер, определяющий низкий метастатический потенциал опухоли. S. Navaki с соавторами на основании собственных результатов при исследовании культуры опухолевых клеток рака молочной железы показали усиление инвазивных свойств опухолевых клеток и их способности к повышенной миграции с более высокой экспрессией Integrin β3, что в свою очередь, может определять развитие и формирование метастазов, в том числе лимфогенных [18].

Высокую частоту позитивной экспрессии факторов транскрипции Twist и Snail в структурах паренхиматозного компонента протоковой аденокарциномы поджелудочной железы в случаях наличия метастазов в лимфоузлах можно объяснить более выраженной степенью эпителиально-мезенхимального перехода в опухолевых клетках, поскольку известно, что данные маркеры имеют определяющее значение в механизмах инициации указанного процесса, а приобретение злокачественно измененными клетками более выраженных мезенхимальных свойств может усилить их потенциал в отношении метастатической диссеминации. Таким образом, наше исследование позволило частично подтвердить уже имеющиеся данные и обнаружить наличие определенных закономерностей между особенностями экспрессии маркеров, ассоциированных с опухолевой инвазией, при протоковой аденокарциноме поджелудочной железы, что, в свою очередь, могло бы говорить о возможности применения полученных результатов при оценке прогноза риска лимфогенного метастазирования у таких пациентов и необходимости их дальнейшего изучения.

Литература | References

1. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. («ред.») Злокачественные новообразования в России в 2017 году (заболеваемость и смертность). Москва, РИИС ФИАН, 2018. 250 с.
Kaprin A. D., Starinskii V. V., Petrova G. V. («ed.») Zlokachestvennye novoobrazovaniya v Rossii v 2017 godu (zabolevaemost' i smertnost') [Malignant neoplasms in Russia in 2017 (morbidity and mortality)]. Moscow, RIIS FIAN Publ., 2018. 250 p.
2. Matsubayashi H., Ishiwatari H., Sasaki K. et al. Detecting early pancreatic cancer: Current problems and future prospects. *Gut and Liver*, Published online April 23, 2019.
3. Rahib L., Smith B. D., Aizenberg R. et al. Projecting cancer incidence and deaths to 2030: the unexpected burden of thyroid, liver, and pancreas cancers in the United States. *Cancer Res*, 2014, Vol.74(11), pp. 2913–2921.
4. Stark A.P., Sacks G. D., Rochefort M. M. et al. Long-term survival in patients with pancreatic ductal adenocarcinoma. *Surgery*, 2016, Vol.159(6), pp. 1520–1527.
5. Egawa S., Toma H., Ohigashi H., et al. Japan Pancreatic Cancer Registry; 30th year anniversary: Japan Pancreas Society. *Pancreas*. 2012, Vol.41, pp. 985–992.
6. Kim J., Bamlet W.R., Oberg A. L. et al. Detection of early pancreatic ductal adenocarcinoma using thrombospondin-2 and CA19–9 blood markers. *Sci Transl Med*, 2017, Vol.9(398).
7. Momeny M., Esmaeili F., Hamzehlou S. et al. The ERBB receptor inhibitor dacomitinib suppresses proliferation and invasion of pancreatic ductal adenocarcinoma cells. *Cell Oncol (Dordr)*, 2019. Epub Apr 25.
8. Berger A.W., Schwerdel D., Reinacher-Schick A. et al. A blood-based multi marker assay supports the differential diagnosis of early-stage pancreatic cancer. *Theranostics*, 2019, Vol.9(5), pp. 1280–1287.
9. Yamamoto Y., Ikoma H., Morimura R. et al. The clinical impact of the lymph node ratio as a prognostic factor after resection of pancreatic cancer. *Anticancer Res*, 2014, Vol.34(5), pp. 2383–2394.
10. Tol J.A., van Dieren S., van Gulik T.M. et al. Impact of lymph node ratio on survival in patients with pancreatic and periampullary cancer. *Br J Surg*, 2015, Vol.102(3), pp. 237–245.
11. Lemberger M., Loewenstein S., Lubezky N. et al. MicroRNA profiling of pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC) reveals signature expression related to lymph node metastasis. *Oncotarget*, 2019, 10(27), pp. 2644–2656.
12. Spano D., Heck C., de Antonellis P. et al. Molecular networks that regulate cancer metastasis. *Seminar in Cancer Biology*. 2012, Vol.12, pp. 234–249.
13. Krakhmal N.V., Zavyalova M. V., Denisov E. V., Perelmuter V.M., Vtorushin S. V. Cancer invasion: patterns and mechanism. *Act Nat*. 2015, Vol.7(2), pp. 17–28.
14. Ракина Ю.Ю., Завьялова М.В., Крахмаль Н.В. с соавт. Морфологические и экспрессионные особенности протоковой аденокарциномы поджелудочной железы // Сибирский онкологический журнал. – 2017. – Т. 16(4). – С. 26–31.
Rakina Yu. Yu., Zavyalova M. V., Krakhmal N. V. et al. morfologicheskie i ekspressionnye osobennosti protokovoy adenokarcinomy podzheludochnoj zhelezy [Morphological and expression features of pancreatic ductal adenocarcinoma]. Sibirskiy onkologicheskii zhurnal – Siberian Oncological Journal, 2017, vol. 16, no. 4, pp. 26–31.
15. Bosman F.T., Carneiro F., Hruban R. H., Theise N. D. («ед.») WHO Classification of Tumours of the Digestive System. Fourth Edition. 2010.
16. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. – Москва: МедиаСфера, – 2002.
Rebrova O. Yu. Statisticheskii analiz medicinskikh dannih. Primenenie paketa prikladnykh programm STATISTICA [Statistical analysis of medical data. Application of the STATISTICA application package]. Moscow, Mediasphera Publ., 2002. 312 p.
17. Ramirez N.E., Zhang Z., Madamanchi A. et al. The $\alpha 2\beta 1$ integrin is a metastasis suppressor in mouse models and human cancer. *J Clin Invest*. – 2011;121(1):226–237.
18. Havaki S., Kouloukoussa M., Atawi K. et al. Altered expression pattern of integrin alphavbeta3 correlates with actin cytoskeleton in primary cultures of human breast cancer. *Cancer Cell Int*. 2007. Vol.7(6).