

Влияние гиперэкспрессии топоизомеразы II α в ткани первичной опухоли толстой кишки на прогноз у больных метастатическим колоректальным раком

А.Д. Даренская, Н.В. Доброва, Е.В. Степанова

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России;
Россия, 115478 Москва, Каширское шоссе, 23

Контакты: Анна Дмитриевна Даренская darenskaya@bk.ru

Введение. Использование клинико-морфологических характеристик недостаточно для прогнозирования заболевания у больных метастатическим колоректальным раком (мКРР). Агрессивность опухолевого процесса может значительно различаться у пациентов со сходными клиническими и морфологическими признаками заболевания. Предполагается, что эти различия обусловлены молекулярно-биологическими особенностями опухолей и являются дополнительными факторами, прогнозирующими выживаемость больных.

Цель исследования — изучить влияние гиперэкспрессии топоизомеразы II α (топоII α) в ткани первичной опухоли толстой кишки на прогноз у больных мКРР.

Материалы и методы. В исследование включали пациентов с мКРР, ранее не получавших лекарственного лечения по поводу диссеминированной болезни, с морфологически верифицированным диагнозом аденокарциномы толстой кишки и получивших в рамках настоящего исследования в качестве 1-й линии лекарственного лечения двухкомпонентный режим химиотерапии на основе оксалиплатина и капецитабина. Проводили оценку непосредственных и отдаленных результатов лечения. Иммуногистохимическим методом в ткани первичной опухоли толстой кишки (в биопсийном/операционном материале), полученной до начала 1-й линии лекарственной терапии, оценивали уровень экспрессии молекулярно-биологического маркера — топоII α . Полученные данные по экспрессии топоII α сопоставляли с непосредственными и отдаленными результатами лечения. Проводили анализ влияния экспрессии топоII α в ткани первичной опухоли на непосредственную клиническую эффективность 1-й линии химиотерапии, выживаемость без прогрессирования и общую выживаемость (ОВ) больных мКРР.

Результаты. У 39 больных мКРР иммуногистохимическим методом проведен анализ экспрессии топоII α в ткани первичной опухоли. Статистически достоверной взаимосвязи между экспрессией топоII α в опухоли и выживаемостью без прогрессирования не получено, т. е. медиана последней достоверно не различалась у больных, положительных и отрицательных по топоII α ($p > 0,05$). При оценке влияния экспрессии топоII α на ОВ обнаружено статистически достоверное увеличение ОВ в группе пациентов с низкой экспрессией или отсутствием экспрессии топоII α в опухоли (медиана ОВ $16,30 \pm 2,03$ мес; 95 % доверительный интервал 12,32–20,28) по сравнению с больными, у которых отмечалась гиперэкспрессия топоII α (медиана ОВ $7,7 \pm 4,98$ мес; 95 % доверительный интервал 0,00–17,46), $p = 0,007$.

Заключение. Гиперэкспрессия топоII α — фактор неблагоприятного прогноза ОВ больных мКРР, получивших в 1-й линии лекарственного лечения двухкомпонентный режим химиотерапии на основе оксалиплатина и капецитабина.

Ключевые слова: топоизомераза II α , метастатический колоректальный рак, 1-я линия лекарственного лечения, химиотерапия, оксалиплатин, капецитабин, молекулярно-биологические маркеры

Для цитирования: Даренская А.Д., Доброва Н.В., Степанова Е.В. Влияние гиперэкспрессии топоизомеразы II α в ткани первичной опухоли толстой кишки на прогноз у больных метастатическим колоректальным раком. Онкологическая колопроктология 2018;8(3):26–35.

DOI: 10.17650/2220-3478-2018-8-3-26-35

Impact of topoisomerase II α overexpression in the primary colon tumor on the prognosis of metastatic colorectal cancer

A.D. Darenskaya, N.V. Dobrova, E.V. Stepanova

N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia;
23 Kashirskoe Shosse, Moscow 115478, Russia

Background. The evaluation of clinical and morphological characteristics is not sufficient to predict the prognosis of metastatic colorectal cancer (mRCC). Tumor aggressiveness may vary significantly even in patients with similar clinical and morphological disease characteristics. These differences are believed to be associated with molecular tumor characteristics and can be used as additional prognostic factors for patient survival.

Objective: to evaluate the effect of topoisomerase II α overexpression (topoII α) in primary colon tumor on the mRCC prognosis.

Materials and methods. The study cohort included patients with mRCC that have not previously received treatment for disseminated disease. All participants had a morphologically verified diagnosis of colon adenocarcinoma and received first-line chemotherapy with oxali-

platin and capecitabine. We evaluated both short-term and long-term treatment outcomes. We also assessed the expression of topoII α in primary colon tumors (biopsy/surgical specimens obtained prior to initiation of first-line treatment) using immunohistochemical methods. We aimed to evaluate the association between the level of topoII α expression and short-term/long-term treatment outcomes. We analyzed the impact of topoII α expression in the primary tumor on the efficacy of first-line chemotherapy, progression-free survival (PFS) and overall survival (OS) in patients with mRCC.

Results. Immunohistochemical evaluation of topoII α expression in the primary tumor was conducted for 39 patients with mRCC. We found no correlation between topoII α expression and PFS, i.e. median PFS did not differ significantly between patients with topoII α -positive and topoII α -negative tumors ($p > 0.05$). Individuals with low levels of topoII α expression in the primary tumor and those with topoII α -negative cancer demonstrated significantly higher OS than patients with topoII α overexpression (median OS 16.30 ± 2.0 months; 95 % confidence interval $12.32-20.28$ vs 7.7 ± 4.98 months; 95 % confidence interval $0.00-17.46$; $p = 0.007$).

Conclusion. Overexpression of topoII α is a factor of poor prognosis associated with poorer OS in patients with mRCC that received first-line chemotherapy with oxaliplatin and capecitabine.

Key words: topoisomerase II α , metastatic colorectal cancer, first-line treatment, chemotherapy, oxaliplatin, capecitabine, molecular biomarkers

For citation: Darenskaya A.D., Dobrova N.V., Stepanova E.V. Impact of topoisomerase II α overexpression in the primary colon tumor on the prognosis of metastatic colorectal cancer. *Onkologicheskaya Koloproktologiya = Colorectal Oncology* 2018;8(3):26–35.

Введение

Несмотря на то что в последние десятилетия достигнут значительный прогресс в химиотерапии (ХТ) [1–4] и хирургическом лечении метастатического колоректального рака (мКРР), и алгоритмы лечения больных изменились, в том числе благодаря использованию мультидисциплинарного подхода, достижения 1-й линии противоопухолевой терапии остаются неудовлетворительными, а отдаленные результаты – недостаточными. Пятилетняя общая выживаемость (ОВ) пациентов с мКРР находится на низком уровне (0–10 %). Среди причин недостаточной эффективности лекарственного лечения мКРР можно предположить особенности кинетики опухолевого роста, врожденную и приобретенную лекарственную резистентность клеток, свойства физиологического микроокружения опухолевых клеток, репопуляцию новообразования, стволовые опухолевые клетки. Однако данные факторы не всегда учитываются при проведении лекарственного лечения. Очевидно, что для увеличения показателей выживаемости больных необходим пересмотр общепринятой стратегии лечения мКРР.

В настоящее время не вызывает сомнения тот факт, что использование клинико-морфологических характеристик (гистологическое строение опухоли, степень ее дифференцировки (G), глубина инвазии опухоли в кишечную стенку, инвазия лимфатических и кровеносных сосудов, статус лимфатических узлов, лимфоидная инфильтрация в опухоли, уровень опухолеассоциированных антигенов и др.) является недостаточным для прогнозирования заболевания и эффекта проводимой терапии у больных колоректальным раком (КРР) [5–10]. Агрессивность опухолевого процесса не всегда определяется этими критериями и может значительно различаться у пациентов со сходными клиническими и морфологическими признаками заболевания. Предполагается, что эти различия обусловлены молекулярно-биологическими особенностями опухолей и являются дополнительными

факторами, прогнозирующими выживаемость больных КРР [11–25].

Большое внимание уделяется молекулярно-биологическому маркеру (МБМ) – топоизомеразе II α (topoII α), что обусловлено ее механизмом действия и функциональными особенностями.

ТопоII α – белок с ферментативной активностью, кодируется геном *TOP2A*, расположенным на 17q21–22. Активность topoII α зависит от фазы клеточного цикла. ТопоII α выявляется в клетках в S-, G2- и M-фазы клеточного цикла, в связи с чем является маркером пролиферативной активности [26, 27]. Морфофункциональные особенности topoII α обуславливают участие этого фермента в репликации, транскрипции, конденсации и сегрегации ДНК [28, 29].

Исследование активности topoII α применяется в онкологии для определения химиорезистентности опухоли, риска развития метастазов и прогноза заболевания [30–32]. Изменения в гене *TOP2A* (амплификации и/или делеции) взаимосвязаны с чувствительностью опухоли к препаратам – ингибиторам topoII α . Повышенная экспрессия белка topoII α приводит к более короткой ОВ больных [33, 34].

Целью настоящего исследования было изучение влияния гиперэкспрессии topoII α в ткани первичной опухоли толстой кишки на прогноз у больных мКРР, получивших в 1-й линии лекарственного лечения режим ХТ на основе оксалиплатина и капецитабина.

Материалы и методы

В настоящее проспективное исследование включали пациентов с мКРР, ранее не получавших лекарственного лечения по поводу диссеминированной болезни, с морфологически верифицированным диагнозом аденокарциномы толстой кишки и получивших в рамках настоящего исследования в качестве 1-й линии лекарственного лечения в отделении химиотерапии и комбинированного лечения злокачественных

опухолей НИИ клинической онкологии им. Н.Н. Трапезникова ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» («НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина») Минздрава России двухкомпонентный режим ХТ на основе оксалиплатина и капецитабина по следующей схеме: оксалиплатин 130 мг/м² поверхности тела внутривенно (в/в) капельно в виде 2-часовой инфузии в 1-й день + капецитабин 2000 мг/м²/сут в 1–14-й дни, 1 нед – перерыв. Цикл – каждые 3 нед. Критериями включения в исследование также являлись удовлетворительное состояние пациентов (0–2 балла по шкале ECOG), нормальные показатели функций кроветворения, печени и почек, отсутствие серьезной сопутствующей патологии.

Оценивали непосредственные и отдаленные результаты лечения.

До начала лечения всем больным проводили морфологическую (гистологическую) верификацию диагноза аденокарциномы толстой кишки. С целью получения материала для гистологического и последующего иммуногистохимического (ИГХ) исследований выполняли биопсию опухоли толстой кишки. Опухолевый материал подвергали рутинной гистологической обработке: фиксировали в 10 % растворе формалина, после промывки в воде и обезвоживания заливали в парафин. В случае выполнения данной процедуры в другом лечебном учреждении обязательным было представление в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России зафиксированных в формалине и залитых парафином (по общепринятой методике) образцов опухолевой ткани из первичной опухоли (биопсийный и/или операционный материал) (радикальные или паллиативные операции). Все представленные готовые гистологические препараты были пересмотрены в отделе патологической анатомии опухолей человека ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России.

ИГХ-методом в ткани первичной опухоли толстой кишки (биопсийном или операционном материале), полученной до начала 1-й линии лекарственной терапии, проводили оценку уровня экспрессии МБМ – topoIIa.

Для ИГХ-исследования использовали зафиксированные в формалине и залитые парафином образцы опухолевой ткани, предназначенные для стандартного морфологического исследования. ИГХ-анализ проводили на серийных срезах с парафиновых блоков, содержащих ткань первичной опухоли толстой кишки, полученной до начала 1-й линии лекарственной терапии, в лаборатории биомаркеров и механизмов опухолевого ангиогенеза НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России. Данные об образцах опухолевой ткани, поступивших в лабораторию, заносили в отчетный журнал. В работе использованы первичные антитела фирмы Dako, разведение – 1:300,

буфер для «демаскировки» антигенов – 10 мМ цитратный буфер (рН 6,0), клон – Ki-S1.

Парафиновые срезы депарафинировали и регидратировали по стандартной методике. Для «демаскировки» антигенов срезы прогревали на водяной бане в предварительно нагретом до +95–99 °С цитратном буфере в течение 30 мин. Затем стекла охлаждали при комнатной температуре в течение 15–20 мин и переносили в фосфатный буфер на 5 мин. Для блокирования эндогенной пероксидазы срезы инкубировали 20 мин в темноте с 3 % перекисью водорода, приготовленной на дистиллированной воде, а затем промывали 5 мин в фосфатном буфере. Для блокирования неспецифического связывания антител срезы инкубировали 15 мин с 1 % раствором бычьего сывороточного альбумина. Инкубацию с первичными антителами проводили при +4 °С в течение 16 ч. После первичных антител стекла промывали 2 раза по 5 мин в фосфатном буфере. Инкубацию со вторыми антителами, мечеными пероксидазой и стрептавидином с использованием LSAB-набора (Dako), проводили при комнатной температуре в течение 20 мин, затем срезы промывали 2 раза по 5 мин.

Для визуализации ИГХ-реакции использовали DAB-набор (Dako). Реакцию проводили в темноте в течение 5–10 мин. Срезы докрашивали гематоксилином Майера и заключали в синтетическую основу. Оценку результатов окрашивания проводили с применением светового микроскопа Nikon (Германия) под увеличением $\times 10$, $\times 20$, $\times 40$. Определяли тип специфического окрашивания, который зависел от локализации продукта реакции в клетке (цитоплазматический, мембранный, ядерный, смешанный). Количество положительных клеток оценивали в зонах, содержащих их максимальное количество. В качестве отрицательного контроля использовали окрашивание срезов опухоли проявочными антителами без нанесения первичных антител. В качестве положительного контроля рассматривалось окрашивание образцов с известной экспрессией.

Уровень экспрессии topoIIa в опухолевых клетках оценивали с использованием следующих критериев. Интенсивность окрашивания оценивали в баллах от 0 до 3 (0 – отсутствие окрашивания опухолевых клеток, 1 – слабое окрашивание, 2 – среднее окрашивание, 3 – сильное окрашивание). Количество окрашенных опухолевых клеток оценивалось также в баллах, от 0 до 4 (0 баллов – от 0 до 5 % окрашенных клеток, 1 – от 6 до 25 %, 2 – от 26 до 50 %, 3 – от 51 до 75 %, 4 – от 76 до 100 %). Статус экспрессии topoIIa оценивали как сумму баллов интенсивности окрашивания и баллов количества окрашенных клеток в каждом случае. Опухоли с общей оценкой 0–3 балла рассматривались как опухоли с низкой экспрессией или отсутствием экспрессии topoIIa (topoIIa⁻), ≥ 4 баллов – как высокоположительные по topoIIa (topoIIa⁺).

Использованные в работе критерии оценки уровня экспрессии *topoIIa* и разделения опухолей на положительные и отрицательные по экспрессии данного маркера были взяты из источников литературы [23].

Полученные в нашем исследовании данные по экспрессии *topoIIa* были сопоставлены с непосредственными и отдаленными результатами лечения. Проводили анализ влияния экспрессии *topoIIa* в ткани первичной опухоли на непосредственную клиническую эффективность 1-й линии ХТ, выживаемость без прогрессирования (ВБП) и ОВ больных мКРР.

Критерием оценки отдаленных результатов лечения являлась ОВ, которая определялась как временной интервал от даты начала лекарственного лечения по поводу метастатической болезни до даты смерти (по любой причине) пациента или даты последнего контакта с ним (в случае выбывших из-под наблюдения пациентов) [35].

ВБП рассчитывалась от даты начала лекарственного лечения по поводу диссеминированной болезни до даты регистрации прогрессирования заболевания (ПЗ), смерти больного от любой причины или последней его явки.

Частота объективного ответа опухоли на лекарственное лечение определялась как процент больных, удовлетворяющих соответствующим критериям (полная регрессия (ПР) + частичная регрессия (ЧР)) ответа при солидных опухолях (Response Evaluation Criteria In Solid Tumors (RECIST), v. 1.1) [36], от общего числа пациентов.

Сбор и первичную обработку материала осуществляли с использованием базы данных Microsoft® Office Excel 2013. При составлении базы данных оценивали стандартные составляющие историй болезни, включающие паспортную часть, данные анамнеза жизни и заболевания, результаты физикального осмотра и объективных лабораторных и инструментальных методов исследования. Для статистической обработки все данные о пациентах и результаты лечения перед внесением в базу были стандартизованы с помощью специально разработанного кодификатора. Рассчитывали среднее значение показателей, стандартную ошибку среднего, а также их медианы.

Статистический анализ и графическое оформление полученных результатов проводили на персональном компьютере с помощью известных статистических методов при использовании пакета статистических программ SPSS Statistics (v. 21.0 for Windows). Рассчитывали медиану времени до соответствующего события с двусторонним 95 % доверительным интервалом (ДИ). Сравнение больных, характеристик опухолей, распространенности заболевания и статистическую достоверность различий (p) значений признаков в группах оценивали с помощью теста χ^2 , для малых выборок рассчитывали непараметрический точный критерий Фишера. Различия между показателями

считали статистически достоверными при $p < 0,05$ (95 % точности). Корреляционный анализ проводили с помощью коэффициента корреляции Пирсона и коэффициента ранговой корреляции Спирмена. Расчет выживаемости больных проводили методом Каплана–Мейера, взаимосвязь экспрессии *topoIIa* с выживаемостью больных мКРР также оценивали методом Каплана–Мейера. Проводили построение кривых выживаемости по Каплану–Мейеру. Достоверность различий в выживаемости между группами оценивали с помощью *log-rank*-теста. Различия между группами считали достоверными при $p < 0,05$. Для оценки независимости признаков и расчета отношения рисков использовали модель пропорционального регрессионного анализа Кокса.

Результаты

Из 104 включенных в исследование больных мКРР нами была выделена подгруппа из 39 пациентов с образцами опухолевой ткани, доступной для проведения ИГХ-исследования. Детальная клинико-морфологическая характеристика больных мКРР, в опухолевой ткани которых до начала 1-й линии лекарственной терапии изучена экспрессия *topoIIa* ($n = 39$), представлена в таблице.

Эффективность двухкомпонентного режима ХТ на основе оксалиплатина и капецитабина в 1-й линии лекарственного лечения мКРР. Оценка эффективности двухкомпонентного режима ХТ на основе оксалиплатина и капецитабина в 1-й линии лекарственной терапии проведена у всех 39 (100 %) больных мКРР. Эффективность лечения оценивали у больных, получивших ≥ 2 курсов ХТ.

Из 39 больных мКРР, получивших в качестве 1-й линии лекарственного лечения двухкомпонентный режим ХТ на основе оксалиплатина и капецитабина, в опухолевой ткани которых до начала лечения изучена экспрессия *topoIIa*, объективный ответ (ПР + ЧР) зарегистрирован у 11 (28,2 %) больных. Длительная стабилизация болезни (СБ ≥ 6 мес) достигнута у 10 (25,6 %) пациентов. Контроль над болезнью (ПР + ЧР + СБ ≥ 6 мес) осуществлен в 53,8 % случаев ($n = 21$). На фоне достигнутой СБ ПЗ в течение 6 мес от начала 1-й линии лечения обнаружено у 8 (20,5 %) пациентов (СБ < 6 мес). У 10 (25,6 %) пациентов зарегистрирована рефрактерность к проводимой терапии (раннее ПЗ, зафиксированное при первом контрольном обследовании в течение 2 мес от начала 1-й линии лечения). Таким образом, неэффективным лечение оказалось для 18 (46,2 %) больных.

Медиана времени до прогрессирования (ВДП) для данной подгруппы больных ($n = 39$) составила $5,7 \pm 1,51$ мес (95 % ДИ 2,74–8,66) (от 0,7 до 30,2 мес).

Медиана ОВ составила $15,7 \pm 2,34$ мес (95 % ДИ 11,11–20,29) (от 0,9 до 55,9 мес). На момент проведения анализа 5 (12,8 %) больных живы, продолжают

Клинико-морфологическая характеристика больных метастатическим КРР, в опухолевой ткани которых до начала 1-й линии лекарственного лечения (двухкомпонентного режима ХТ на основе оксалиплатина и капецитабина) была изучена экспрессия *topoIIa* ($n = 39$)

Clinical and morphological characteristics of patients with metastatic CRC that were tested for the level of *topoIIa* expression in tumor tissue prior to initiation of first-line treatment (CT with oxaliplatin and capecitabine) ($n = 39$)

Параметр Parameter	Значение Value
Медиана возраста больных, лет Median age, years	63,00 ± 10,78 (36–87)
Пол, n (%): Gender, n (%): мужской male женский female	14 (35,9) 25 (64,1)
Локализация первичной опухоли, n (%): Primary tumor location, n (%): прямая кишка rectum ободочная кишка colon первично-множественный синхронный/метакронный рак multiple primary synchronous/metachronous cancer	11 (28,2) 24 (61,5) 4 (10,3)
Удаленная первичная опухоль, n (%) Remote primary tumor, n (%)	37 (94,9)
Первичная опухоль (pT) (в соответствии с классификацией TNM), n (%): Primary tumor (pT) (according to TNM classification), n (%): T1 T2 T3 T4 Tx (в связи с неудаленной первичной опухолью данных для оценки глубины ее прорастания в кишечную стенку недостаточно) Tx (since the primary tumor was not removed, the depth of its invasion into the intestinal wall could not be assessed)	0 2 (5,1) 31 (79,5) 4 (10,3) 2 (5,1)
ЛУ (pN) (в соответствии с классификацией TNM), n (%): LN (pN) (according to TNM classification), n (%): N0 (поражения метастазами регионарных ЛУ нет) N0 (no regional LN metastasis) N1 (метастазы в 1–3 регионарных ЛУ) N1 (metastases in 1–3 regional LN) N2 (метастазы в 4 и более регионарных ЛУ) N2 (metastases in ≥4 regional LN) Nx (в связи с неудаленной первичной опухолью данных для оценки регионарных ЛУ недостаточно) Nx (since the primary tumor was not removed, regional LN could not be assessed)	9 (23,1) 16 (41,0) 11 (28,2) 3 (7,7)
Гистологическая форма и степень дифференцировки (G) первичной опухоли, n (%)*: Histological form and differentiation degree (G) of the primary tumor, n (%)*: высокодифференцированная АК (G ₁) highly differentiated AC (G ₁) умеренно дифференцированная АК (G ₂) moderately differentiated AC (G ₂) низкодифференцированная АК (G ₃) poorly differentiated AC (G ₃) АК с признаками слизеобразования AC with signs of mucus formation АК без уточнения степени дифференцировки AC without specifying the degree of differentiation	4 (10,3) 27 (69,2) 3 (7,7) 4 (10,3) 1 (2,6)
RAS-статус опухоли, n (%): RAS status of the tumor, n (%): «дикий» “wild” «мутированный» “mutated” не определен (молекулярно-генетический анализ не выполнен из-за небольшого размера опухолевого образца) (биопсийный материал) (недостаточно материала для исследования) not determined (molecular genetic analysis is not performed due to the small size of the tumor sample) (biopsy material) (not enough material for research)	9 (23,1) 10 (25,6) 20 (51,3)

Продолжение таблицы
Continuation of table

Параметр Parameter	Значение Value
Предшествующее (до включения в исследование) лечение по поводу первичной опухоли, <i>n</i> (%): Previous (before enrollment into the study) treatment for primary tumor, <i>n</i> (%):	
предоперационный курс химио-/лучевой терапии + радикальная операция preoperative chemotherapy/radiotherapy + radical surgery	2 (5,1)
радикальная операция radical surgery	35 (89,7)
радикальная операция + адьювантная ХТ** radical surgery + adjuvant CT**	2 (5,1)
Выявление отдаленных метастазов КРР, <i>n</i> (%): Detection of distant CRC metastases, <i>n</i> (%):	
синхронно (диагноз метастатического КРР установлен одновременно с обнаружением первичной опухоли (исходно диссеминированный процесс) или в течение первых 3 мес после ее удаления) synchronous (the diagnosis of metastatic CRC was established simultaneously with primary tumor detection (initially disseminated process) or during the first 3 months after its removal)	33 (84,6)
метахронно (≥3 мес после оперативного вмешательства на первичной опухоли) metachronous (≥3 months after the primary tumor surgery)	6 (15,4)
Среднее время от момента выполнения радикальной операции по поводу КРР до появления отдаленных метастазов, мес Mean time interval between the CRC radical surgery and the emergence of distant metastases, months	30,17 ± 22,88 (5,6–78,8)
Количество зон отдаленного метастазирования, <i>n</i> (%): Number of zones of distant metastasis, <i>n</i> (%)	
1	21 (53,85)
2	11 (28,2)
≥3	7 (17,95)
Локализация отдаленных метастазов на момент включения в исследование, <i>n</i> (%): Location of distant metastases at the moment of enrollment into the study, <i>n</i> (%)	
изолированное поражение печени isolated liver lesions	18 (46,2)
изолированное поражение легких isolated lung lesions	3 (7,7)
печень + легкие liver + lungs	3 (7,7)
печень + метастатическое поражение других органов liver + metastatic lesions in other organs	13 (33,3)
легкие + метастатическое поражение других органов lungs + metastatic lesions in other organs	2 (5,1)
Максимальный размер метастазов в печени (<i>n</i> = 34) до начала 1-й линии ХТ (см), <i>n</i> (%): Maximum size of liver metastases (<i>n</i> = 34) prior to initiation of first-line CT (cm), <i>n</i> (%)	
<5	11 (32,4)
5–10	14 (41,2)
10,1–15	8 (23,5)
>15	1 (2,9)
Уровень раково-эмбрионального антигена (нг/мл) до начала 1-й линии ХТ, <i>n</i> (%): Level of oncofetal antigen (ng/mL) prior to initiation of first-line CT, <i>n</i> (%)	
норма (<5) normal (<5)	5 (12,8)
5–100	14 (35,9)
101–1000	15 (38,5)
1001–10000	3 (7,7)
>10000	1 (2,55)
неизвестен unknown	1 (2,55)

лечение и/или наблюдение, 34 (87,2 %) пациента умерли от ПЗ.

Взаимосвязь непосредственных и отдаленных результатов лекарственного лечения с экспрессией *topoIIa* в ткани первичной опухоли толстой кишки у больных мКРР, получивших в качестве 1-й линии лекарственного лечения двухкомпонентный режим ХТ на основе оксали-

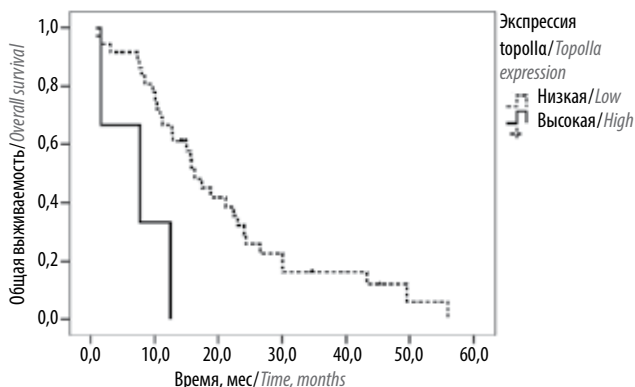
платина и капецитабина. В нашем исследовании у 39 больных проведена оценка влияния экспрессии *topoIIa* на непосредственную клиническую эффективность 1-й линии ХТ на основе оксалиплатина и капецитабина (ЧР – 11 (28,2 %), СБ – 10 (25,6 %), неэффективным лечение оказалось в 18 (46,2 %) случаях). Статистически значимой взаимосвязи между экспрес-

Окончание таблицы
End of the table

Параметр Parameter	Значение Value
Уровень опухолевого маркера СА 19-9 (Ед/мл) до начала 1-й линии ХТ, n (%): Level of CA 19-9 (U/mL) prior to initiation of first-line CT, n (%):	
норма (<37) normal (<37)	14 (35,9)
37–100	1 (2,6)
101–1000	10 (25,6)
1001–10000	5 (12,8)
>10 000	3 (7,7)
неизвестен unknown	6 (15,4)

Примечание. КРР – колоректальный рак, ЛУ – лимфатические узлы, АК – аденокарцинома, ХТ – химиотерапия. *В ряде случаев в одной и той же опухоли определялись участки различной степени дифференцировки. В этой ситуации в расчет принимали опухоль с более низкой степенью дифференцировки (это же касается и пациентов с наличием первично-множественных синхронных/метахронных опухолей толстой кишки). **Ни у одного из этих больных не отмечалось появления метастазов на фоне проведения или в течение 6 мес после окончания адъювантного лечения.

Note. CRC – colorectal cancer, LN – lymph nodes, AC – adenocarcinoma, CT – chemotherapy. *Some patients had non-homogenous tumors that demonstrated various degrees of differentiation in different areas. In such cases, we considered the tumor with a lower degree of differentiation (the same applies to patients with multiple primary synchronous/metachronous colon tumors). **None of these patients developed metastases during adjuvant treatment and within the next 6 months after its completion.



Общая выживаемость больных метастатическим колоректальным раком в зависимости от экспрессии topoIIa в ткани первичной опухоли
Overall survival of patients with metastatic colorectal cancer depending on the level of topoIIa expression in the primary tumor

сией topoIIa и эффективностью проводимого лечения получено не было ($p > 0,05$).

Нами проведен анализ влияния экспрессии topoIIa в опухоли на ВДП у больных мКРР на фоне 1-й линии ХТ с включением оксалиплатина и капецитабина. Статистически достоверной взаимосвязи между экспрессией topoIIa в опухоли и ВДП у данной группы больных мКРР получено не было, т.е. медиана ВДП достоверно не различалась у больных, положительных и отрицательных по экспрессии topoIIa. Так, медиана ВДП у больных с topoIIa⁺ (с высокой экспрессией) опухолью составила $1,6 \pm 0,74$ мес (95 % ДИ 0,16–3,04), с topoIIa⁻ (с низкой экспрессией или отсутствием экспрессии) опухолью – $5,7 \pm 1,50$ мес (95 % ДИ 2,76–8,64), $p = 0,317$.

При оценке влияния экспрессии topoIIa в опухоли на ОВ больных мКРР, получивших в 1-й линии

лекарственного лечения ХТ на основе оксалиплатина и капецитабина, обнаружено статистически достоверное увеличение ОВ в группе пациентов с низкой экспрессией или отсутствием экспрессии topoIIa в опухолевых клетках (topoIIa⁻) (медиана ОВ $16,3 \pm 2,03$ мес (95 % ДИ 12,32–20,28)) по сравнению с группой больных, у которых отмечалась гиперэкспрессия topoIIa в опухоли (topoIIa⁺) (медиана ОВ $7,7 \pm 4,98$ мес (95 % ДИ 0–17,46)), $p = 0,007$ (см. рисунок).

Таким образом, по нашим данным, гиперэкспрессия topoIIa показала себя как фактор неблагоприятного прогноза ОВ больных мКРР.

Обсуждение

В последнее время достигнут значительный прогресс в понимании молекулярных нарушений при злокачественных опухолях, но до сих пор наши знания не находят достаточного применения в клинической практике. Имеются многочисленные и часто противоречивые сообщения о прогностическом и предсказывающем значении МБМ при различных злокачественных новообразованиях, в том числе при КРР. Несмотря на многообразие идентифицированных молекулярных нарушений в опухолевой ткани, ни одно из них в настоящее время не рассматривается в клинической практике в качестве надежного предиктора эффективности ХТ 1-й линии у больных мКРР. Отсутствие четкой связи между результатами терапии и потенциальными МБМ может объясняться различными причинами. Одна из причин недостаточной прогностической значимости маркера может быть связана с особенностями биологии опухоли. Каждая опухоль индивидуальна по изменениям, происходящим во вре-

мя трансформации. В опухолевых клетках каждой опухоли могут определяться как благоприятные, так и неблагоприятные прогностические факторы, которые при взаимодействии определяют прогноз заболевания.

Более того, спектр молекулярных нарушений настолько широк, что может существенно варьировать даже в пределах одного и того же опухолевого образования, обуславливая внутриопухолевую гетерогенность. Представляя собой результат клонального разнообразия в пределах одного новообразования, внутриопухолевая гетерогенность может проявляться в неоднородности генетического статуса, экспрессии белков, морфологии и других характеристик опухоли. Внутриопухолевая гетерогенность также является одним из механизмов клональной эволюции и адаптации опухоли к меняющимся условиям микроокружения, поддерживающих ее злокачественный потенциал. Соотношение разных популяций опухолевых клеток в пределах одной опухоли и преобладание одного из клонов на определенном этапе опухолевого развития во многом обуславливают индивидуальное разнообразие опухолей, делая каждую опухоль уникальной с точки зрения ее биологического поведения, прогноза и чувствительности к терапии в пределах одной нозологической формы.

В результате проведенного нами исследования подробно изучены и детально проанализированы особенности экспрессии *topoIIa* при мКРР; изучено прогностическое значение экспрессии *topoIIa* в опухоли у больных мКРР: проанализировано влияние экспрессии *topoIIa* в ткани первичной опухоли на ВБП и ОВ больных мКРР. В нашей работе было установлено, что у больных мКРР, получивших в 1-й линии лекарственного лечения оксалиплатин и капецитабин, высокая экспрессия маркера в ткани первичной опухоли толстой кишки – фактор неблагоприятного прогноза ОВ ($p = 0,007$). Это согласуется с данными других авторов, которые используют МБМ для оценки прогноза заболевания при различных злокачественных опухолях [30–32]. В ряде работ указано, что повышенная экспрессия белка *topoIIa* приводит к укорочению ОВ больных [33, 34].

Полученные нами данные позволяют предположить, что вышеуказанный маркер в перспективе может быть использован в клинической практике для индивидуального прогнозирования течения заболевания у больных мКРР.

На основании полученных в работе результатов выделены группы благоприятного и неблагоприятного прогноза течения опухолевого процесса. Разделение пациентов с мКРР по прогнозу заболевания позволяет выбрать оптимальную лечебную тактику. Принадлежность пациента по результатам оценки экспрессии *topoIIa* к группе неблагоприятного прогноза диктует

необходимость более тщательной программы диагностических мероприятий, проведения расширенного объема контрольных обследований, использования дополнительных методов лечения (т.е. применения мультидисциплинарного подхода) и, возможно, выбора более агрессивной тактики лечения.

Таким образом, при изучении экспрессии *topoIIa* в ткани первичной опухоли толстой кишки у больных мКРР нами были получены новые молекулярно-биологические характеристики злокачественных опухолей толстой кишки, которые дополняют фундаментальные и клинические представления об этом заболевании и определяют необходимость создания новых терапевтических подходов к лечению злокачественных опухолей на рациональной основе. Полученные нами данные имеют большое значение для планирования направления дальнейших исследований.

Заключение

Необходимо отметить, что успешные клинические исследования маркеров для прогнозирования эффективности лечения позволяют надеяться на их скорое появление в рутинной клинической практике, что не только увеличит эффективность терапии и продолжительность жизни, но и улучшит качество жизни больных КРР.

Проведенное нами исследование позволило на основании полученных данных выделить маркер (*topoIIa*), который в перспективе может быть использован в реальной клинической практике для индивидуального прогнозирования течения заболевания у больных мКРР. По нашим данным, для больных мКРР, получивших в 1-й линии лекарственного лечения двухкомпонентный режим ХТ на основе оксалиплатина и капецитабина, высокая экспрессия *topoIIa* в ткани первичной опухоли является фактором неблагоприятного прогноза ОВ ($p = 0,007$). Таким образом, нами разработан подход для индивидуализации ХТ пациентов с мКРР на основе оценки уровня экспрессии *topoIIa*.

Необходимо дальнейшее изучение и подтверждение выявленных в нашем исследовании закономерностей для точного прогнозирования и улучшения результатов лечения опухолей данной локализации. Взаимодействие различных маркеров и их суммарная значимость для прогноза течения заболевания остаются недостаточно исследованными. Нужны дополнительные комплексные исследования экспрессии МБМ для более точного определения их клинической значимости. Исследование комплекса маркеров поможет точнее определить метастатический потенциал опухоли и оценить ее агрессивность. Дальнейшие исследования в этой области помогут разрешить оставшиеся вопросы и оптимизировать лечебные подходы в отношении разных групп пациентов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Даренская А.Д., Добрава Н.В. Первый опыт применения нового режима химиотерапии на основе тройной комбинации: иринотекан + оксалиплатин + длительная инфузия 5-фторурацила в 1-й линии лекарственной терапии метастатического колоректального рака. Онкологическая колопроктология 2018;1:50–66. [Darenskaya A.D., Dobrova N.V. Triple combination of irinotecan + oxaliplatin + 5-fluorouracil as first-line chemotherapy for metastatic colorectal cancer: first experience with a new treatment regimen. *Onkologicheskaya koloproktologiya = Colorectal Oncology* 2018;1:50–66. (In Russ.)].
2. Даренская А.Д., Добрава Н.В. Новый режим первой линии химиотерапии метастатического колоректального рака. Фарматека 2014;8:57–61. [Darenskaya A.D., Dobrova N.V. New regimen of first-line chemotherapy for metastatic colorectal cancer. *Farmateka = Pharmateca* 2014;8:57–61. (In Russ.)].
3. Darenskaya A., Dobrova N.V., Lichinitser M. Oxaliplatin, irinotecan, and fluorouracil in the prolonged regimen for the first-line therapy of metastatic colorectal cancer: new therapy regimen. *J Clin Oncol* 2015;33(Suppl):abstr e14617.
4. Даренская А.Д., Добрава Н.В., Жукова Л.Г. и др. Клинический случай успешного лечения метастатического колоректального рака с достижением полного патоморфологического ответа (первая линия химиотерапии). Фарматека 2016;8:93–9. [Darenskaya A.D., Dobrova N.V., Zhukova L.G. et al. Successful treatment of metastatic colorectal cancer with achieving complete pathological response (first-line chemotherapy): a case report. *Farmateka = Pharmateca* 2016;8:93–9. (In Russ.)].
5. Baldus S.E. Clinical, pathological and molecular prognostic factors in colorectal carcinomas. *Pathologie* 2003;24(1):49–60.
6. Bianco A.R., Carlomagno C., de Laurentiis M. et al. Prognostic factors in human colorectal cancer. *Tumori* 1997;83(1 Suppl 1):S15–18. PMID: 9154061.
7. McLeod H.L., Murray G.I. Tumour markers of prognosis in colorectal cancer. *Br J Cancer* 1999;79(2):191–203. PMID: 9888457. DOI: 10.1038/sj.bjc.6690033.
8. Piard F., Martin L., Chapusot C. et al. New histologic prognostic factors in colorectal cancer. *Gastroenterol Clin Biol* 2002;26(Suppl 5):B62–73.
9. Yamada H., Kondo S., Okushiba S. et al. Analysis of predictive factors for recurrence after hepatectomy for colorectal liver metastases. *World J Surg* 2001;25(9):1129–33.
10. Онкология: учебник с компакт-диск. Под ред. В.И. Чиссова, С.Л. Дарьяловой. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. 560 с. [Oncology: educational guidance with a CD. Ed. by V.I. Chissov, S.L. Daryalova. Moscow: GEOTAR-Media, 2007. 560 p. (In Russ.)].
11. Adachi Y., Inomata M., Kakisako K. et al. Histopathologic characteristics of colorectal cancer with liver metastasis. *Dis Colon Rectum* 1999;42(8):1053–6. PMID: 10458130.
12. Adachi Y., Yasuda K., Kakisako K. et al. Histopathologic criteria for local excision of colorectal cancer: multivariate analysis. *Ann Surg Oncol* 1999;6(4):385–88.
13. Ahmed F.E., Vos P.W., Holbert D. Modeling survival in colon cancer: a methodological review. *Mol Cancer* 2007;6(1):15. PMID: 17295918. DOI: 10.1186/1476-4598-6-15.
14. Bendardaf R., Lamlum H., Pyrhonen S. Prognostic and predictive molecular markers in colorectal carcinoma. *Anticancer Res* 2004;24(4):2519–30.
15. Compton C.C. Colorectal carcinoma: diagnostic, prognostic, and molecular features. *Mol Pathol* 2003;16(4):376–88.
16. Davies R.J., Miller R., Coleman N. Colorectal cancer screening: prospects for molecular stool analysis. *Nat Rev Cancer* 2005;5:199–209.
17. Forte A., D'Urso A., Gallinaro L.S. et al. Prognostic markers of the epithelial tumors of the large intestine. *Ann Ital Chir* 2002;73(6):587–96. PMID: 12820582.
18. Houlston R.S. What we could do now: molecular pathology of colorectal cancer. *Mol Pathol* 2001;54:206–14. PMID: 11477132
19. Zlobec I., Lugli A. Prognostic and predictive factors in colorectal cancer. *J Clin Pathol* 2008;61(5):561–9. PMID: 18326017. DOI: 10.1136/jcp.2007.054858.
20. Кныш В.И. Рак ободочной и прямой кишки. М.: Медицина, 1997. 301 с. [Knysh V.I. Colon and rectal cancer. Moscow: Meditsina, 1997. 301 p. (In Russ.)].
21. Делекторская В.В. Молекулярно-биологические маркеры метастазирования и прогноза при раке толстой кишки. Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М., 2007. 23 с. [Delektorskaya V.V. Molecular biomarkers of colon cancer metastasis and prognosis. Summary of thesis ... of doctor of medical sciences. Moscow, 2007. 23 p. (In Russ.)].
22. Даренская А.Д. Первая линия лекарственной терапии метастатического колоректального рака. Новый режим лечения. Прогностическая значимость молекулярно-биологических маркеров. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2017. 34 с. [Darenskaya A.D. First-line chemotherapy for metastatic colorectal cancer. New treatment regimen. Prognostic value of molecular biomarkers. Summary of thesis ... of candidate of medical sciences. Moscow, 2017. 34 p. (In Russ.)].
23. Степанова Е.В. Клинические и экспериментальные аспекты изучения молекулярно-биологических маркеров при злокачественных новообразованиях. Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М., 2008. 24 с. [Stepanova E.V. Clinical and experimental aspects of investigating molecular biomarkers in malignant neoplasms. Summary of thesis ... of doctor of medical sciences. Moscow, 2008. 24 p. (In Russ.)].
24. Даренская А.Д., Добрава Н.В., Хоченков Д.А., Степанова Е.В. Прогностическое значение уровня экспрессии е-кадгерина в ткани первичной опухоли толстой кишки у больных метастатическим колоректальным раком, получивших в первой линии лекарственного лечения новый режим химиотерапии на основе тройной комбинации: иринотекан + оксалиплатин + длительная инфузия 5-фторурацила. Фарматека 2018;7(360):89–96. [Darenskaya A.D., Dobrova N.V., Khochenkov D.A., Stepanova E.V. Prognostic value of E-cadherin expression in the primary colon tumor in patients with metastatic colorectal cancer who received first-line chemotherapy with irinotecan + oxaliplatin + long-term infusion of 5-fluorouracil. *Farmateka = Pharmateca* 2018;7(360):89–96. (In Russ.)].
25. Даренская А.Д., Добрава Н.В., Степанова Е.В. Молекулы межклеточной адгезии (е-кадгерин, β-катенин) при колоректальном раке: характеристика; роль в механизмах опухолевой инвазии, метастазирования и регуляции опухолевого прогрессирования; влияние на прогноз (обзор литературы). Фарматека 2018;7(360):33–9. [Darenskaya A.D., Dobrova N.V., Stepanova E.V. Intercellular adhesion molecules (E-cadherin, β-catenin) in colorectal cancer: characteristics; their role in tumor invasion, metastasis, and regulation of tumor progression; effect on prognosis (literature review). *Farmateka = Pharmateca* 2018;7(360):33–9. (In Russ.)].
26. Beresford M.J., Wilson G.D., Makris A. Measuring proliferation in breast cancer: practicalities and applications. *Breast Cancer Res* 1999;162(1):63–8.
27. Zhao H., Yu H., Liu Y. et al. DNA topoisomerase II-alpha as a proliferation marker in human gliomas: correlation with PCNA expression and patient survival. *Clin Neuropathol* 2008;27(2):83–90. PMID: 18402387.
28. Chang C., Goulding S., Ernschawn W., Carmena M. RNAi analysis reveals an unexpected role for topoisomerase II in chromosome arm congression to a metaphase plate. *J Cell Sci* 2003;116(Pt 23):4715–26. PMID: 14600258. DOI: 10.1242/jcs.00797.
29. Nitiss J.L. DNA topoisomerase II and its growing repertoire of biological functions.

- Nat Rev Cancer 2009;65(3):355–62. PMID: 19377505. DOI: 10.1038/nrc2608.
30. Петров С.В., Хасанов Р.Ш., Орлова Р.В. и др. Количественное иммуногистохимическое исследование маркеров клеточного цикла – возможная альтернатива чип-диагностике рака молочной железы. Вопросы онкологии 2007;5: 526–30. [Petrov S.V., Khasanov R.Sh., Orlova R.V. et al. Quantitative immunohistochemical assessment of cell cycle markers – possible alternative to biochip-based diagnostics of breast cancer. *Voprosy onkologii = Problems in Oncology* 2007;5:526–30. (In Russ.)].
31. Соболева Ю.В. Сравнительный анализ взаимодействия процессов пролиферации, апоптоза и межклеточной адгезии при центральном и периферическом плоскоклеточном раке легкого. Тихоокеанский медицинский журнал 2009;1:61–2. [Soboleva Yu.V. Comparative analysis of interactions between cell proliferation, apoptosis, and intercellular adhesion in central and peripheral squamous cell lung carcinoma. *Tikhookeanskii meditsinskiy zhurnal = Pacific Medical Journal* 2009;1:61–2. (In Russ.)].
32. Тарасова М.В., Пожариский К.М., Тен В.П. и др. Проллиферативные свойства и регуляторы фаз митотического цикла клеток аденокарциномы предстательной железы. Архив патологии 2009;6:20–3. [Tarasova M.V., Pozhariskiy K.M., Ten V.P. et al. Proliferative characteristics of prostate adenocarcinoma cells and cell cycle regulators. *Arkhiv patologii = Archives of Pathology* 2009;6:20–3. (In Russ.)].
33. Авдальян А.М., Бобров И.П., Климачев В.В. и др. Активность Топоизомеразе IIα и уровень пролиферативной активности по степени бромдезоксипуридиновой (BrdU) метки в лейомиосаркоме тела матки. Архив патологии 2011;1: 24–9. [Avdalyan A.M., Bobrov I.P., Klimachev V.V. et al. Topoisomerase IIα activity and proliferative activity measured using the Bromodeoxyuridine assay (BrdU) in uterine leiomyosarcoma. *Arkhiv patologii = Archives of Pathology* 2011;1:24–9. (In Russ.)].
34. Авдальян А.М. Патоморфологический и иммуногистохимический анализ лейомиомы и лейомиосаркомы тела матки: дифференциальная диагностика и прогноз. Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. Новосибирск, 2013. 35 с. [Avdalyan A.M. Pathomorphological and immunohistochemical analysis of uterine leiomyoma and leiomyosarcoma: differential diagnosis and prognosis. Summary of thesis ... of doctor of medical sciences. Novosibirsk, 2013. 35 p. (In Russ.)].
35. Guidance for Industry Clinical Trial Endpoints for the Approval of Cancer Drugs and Biologics. U.S. Department of Health and Human Services, FDA, CDER, CBER, 2007.
36. Therasse P., Arbuck S.G., Eisenhauer E.A. et al. New guidelines to evaluate the response to treatment in solid tumors. European Organization for Research and Treatment of Cancer, National Cancer Institute of the United States, National Cancer Institute of Canada. *J Natl Cancer Inst* 2000;92(3):205–16. PMID: 10655437.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Financing. The study was performed without external funding.

Информированное согласие. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Informed consent. All patients gave written informed consent to participate in the study.

Статья поступила: 03.09.2018. **Принята к публикации:** 02.10.2018.

Article received: 03.09.2018. **Accepted for publication:** 02.10.2018.