

*На правах рукописи*

*Генерал*

**ИВАНОВА**

**Анастасия Константиновна**

**ОПТИМИЗАЦИЯ ТАКТИКИ АДЬЮВАНТНОЙ  
ХИМИОТЕРАПИИ У БОЛЬНЫХ РАКОМ ОБОДОЧНОЙ КИШКИ  
С УЧЕТОМ КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК**

14.01.12 – Онкология, медицинские науки

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Санкт-Петербург – 2022

Работа выполнена на кафедре радиологии, хирургии и онкологии Федерального бюджетного государственного учреждения «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий имени академика А.М. Гранова» Минздрава России

**Научный руководитель:**

*Орлова Рашида Вахидовна* – доктор медицинских наук, профессор

**Научный консультант:**

*Раскин Григорий Александрович* – доктор медицинских наук, доцент

**Официальные оппоненты:**

*Проценко Светлана Анатольевна* – доктор медицинских наук, профессор отделения аспирантуры и ординатуры, заведующий отделением химиотерапии и инновационных технологий, ведущий научный сотрудник научного отдела инновационных методов терапевтической онкологии и реабилитации ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России

*Захаренко Александр Анатольевич* – доктор медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой онкологии ФПО, руководитель отдела онкохирургии ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России

**Ведущая организация:** Казанская государственная медицинская академия – филиал федерального государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 20 \_\_\_\_ года в \_\_\_\_\_ часов на заседании диссертационного совета Д 208.116.01 при ФГБУ «РНЦРХТ им. ак. А.М. Гранова» Минздрава России по адресу: 197758, Санкт-Петербург, поселок Песочный, ул. Ленинградская д. 70

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ «РНЦРХТ им. ак. А.М. Гранова» Минздрава России и на сайте центра:  
<https://rrcrst.ru/dissertacionnyj-sovet/dissertacionnyie-issledovaniya>

Автореферат разослан « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 20 \_\_\_\_ года

Ученый секретарь  
диссертационного совета Д 208.116.01  
кандидат медицинских наук



**Генералов Михаил Игоревич**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность темы исследования

Ежегодно отмечается рост впервые выявленных случаев рака ободочной кишки (РОК) как в мире, так и в Российской Федерации (Каприн А.Д., 2021; Zheng Y., Wang Z.Z., 2021). За последние 10 лет в нашей стране показатель заболеваемости РОК увеличился с 107,5 до 161,3 на 100 000 населения и переместился с шестого на второе место. Учитывая высокий уровень модернизации и внедрение программ скрининга, удельный вес ранних стадий РОК (I, II, III стадии) значительно вырос и составил в 2020 году 71,4%. Основным методом лечения ранних стадий РОК остается радикальная операция. При выявлении глубокой инвазии первичной опухоли (T4) или поражения региональных лимфоузлов (N1-2) всем пациентам наряду с радикальным хирургическим лечением проводится адъювантная химиотерапия (АХТ) (Каприн А.Д., 2021). Кроме того, на показатель безрецидивной выживаемости (БРВ) влияют прогностические факторы. К неблагоприятным факторам прогноза при РОК относят: низкую степень дифференцировки, наличие лимфоваскулярной/периневральной инвазии, R+, операцию в условиях кишечной непроходимости/перитонита, неадекватный объем лимфодиссекции (менее 12 лимфоузлов), РЭА>2,35 нг/мл после операции (Федянин М.Ю., Ачкасов С.И., Болотина Л.В., 2021). На современном этапе развития фундаментальной онкологии известно, что РОК – это биологически гетерогенная опухоль и определение таких молекулярно-биологических маркеров как микросателлитная нестабильность (MSI), KRAS мутация, BRAF мутация, экспрессия HER2neu является хорошо изученными при метастатической стадии (Федянин М.Ю. и соавт., 2020; Tie J. et al., 2011; Matsuda S. et al., 2018). Но влияние этих факторов на показатель БРВ у больных ранними стадиями РОК в настоящее время не достаточно изучено и является предметом клинических исследований. Исключение составляет отдельная когорта пациентов с наличием микросателлитной нестабильности (MSI), которая имеет показатель 5-летней выживаемости более 90% после радикального хирургического лечения без проведения АХТ (Sargent D., Marsoni S., Monges G., 2010). Современные практические рекомендации по определению тактики противоопухолевой терапии после радикального хирургического лечения при ранних стадиях РОК не учитывают биологическую гетерогенность опухоли. Проведение стандартного комплексного лечения без индивидуализации биологического профиля опухоли может приводить у части пациентов к снижению показателя БРВ, а у части пациентов – к его повышению. По всей вероятности, на этот показатель у пациентов ранним РОК влияет не только стадия заболевания, но и биологическая гетерогенность опухоли.

В настоящее время идет широкий поиск дополнительных маркеров опухолевого роста, которые принимают непосредственное участие в метастазировании опухоли. Так, например, особое внимание как отечественных, так и зарубежных авторов обращено к цитокинам, а именно к их

подклассу – хемокинам (Чердынцева Н.В. и соавт., 2006; Hanahan D., Weinberg R., 2000). Основным механизмом действия хемокинов является индуцирование хемотаксиса ряда клеток, а также их участие в межклеточных взаимодействиях и в иммунологическом ответе. Хемокины представлены, в основном, четырьмя большими семействами: CXС(a), CC(b), C(y) и CX3C(8) (Susek K.H., Karvouni M., Alici E., 2018), каждое из которых взаимодействует со своими поверхностными рецепторами – CXCR, CCR, CR, CX3CR (Симбирцев А.С., 2004). Первым был исследован хемокиновый рецептор CXCR4 и выявлена его связь с появлением метастазов в легких при раке молочной железы (Kato M., Kitayama J., Kazama S., 2003). В эксперименте CXCR4 экспрессируется многими опухолями и ассоциируется с резким усилением ангиогенеза и более агрессивным течением опухолевого процесса (Rivera C.G. et al., 2011; Dayer R. et al., 2018; Shi Y. et al., 2020).

В связи с этим, изучение влияния клинических характеристик в сочетании с морфологическими факторами, такими как индекс пролиферации Ki-67, KRAS мутация, экспрессия хемокиновых рецепторов на показатель БРВ у пациентов II-III стадий РОК после радикального хирургического лечения с целью оптимизации тактики АХТ является высокоактуальным.

### **Цель исследования**

Повышение эффективности лечения больных раком ободочной кишки путем оптимизации адьювантного противоопухолевого лечения с учетом результатов анализа их клинико-морфологических характеристик.

### **Задачи исследования**

1. Оценить показатель БРВ у пациентов с РОК при II стадии (T4N0M0) и III стадии заболевания (T1-4N1-2M0) после проведенного радикального лечения (операция±АХТ).
2. Сравнить влияние KRAS мутации, уровня пролиферации Ki-67, локализации первичной опухоли, уровня РЭА в крови, дифференцировки опухоли, перинеуральной и сосудистой инвазии опухоли на длительность БРВ у больных ранним РОК в различных подгруппах (подгруппа 1 – пациенты с отдаленными метастазами (ОМ), подгруппа 2 – без ОМ).
3. Изучить уровень экспрессии хемокиновых рецепторов CXCR4, CCR10 в аденокарциноме ободочной кишки и оценить его влияние на показатель БРВ у больных с ранними стадиями РОК.
4. Определить алгоритм комплексного лечения у больных ранним РОК на основе многофакторного анализа с включением изученных клинико-морфологических характеристик.

### **Научная новизна исследования**

1. Впервые в РФ оценены новые прогностические факторы, определяющие назначение комплексного лечения больным операбельным РОК вне зависимости от стадии заболевания: правосторонняя локализация опухоли, индекс пролиферации Ki-67, экспрессия хемокинового рецептора CXCR4

- и создан алгоритм лечения больных РОК на основании полученных данных.
2. Впервые в РФ была изучена экспрессия хемокиновых рецепторов CXCR4 и CCR10 в опухолевой ткани РОК и выявлено достоверное влияние экспрессии хемокинового рецептора CXCR4 на показатель БРВ.
  3. Впервые выделена шкала определения уровня экспрессии хемокиновых рецепторов: низкий уровень (0-30%), средний уровень (30-70%), высокий уровень (70-100%). Уровень экспрессии определялся процентом выявления рецепторов хемокинов в аденокарциноме толстой кишки.

### **Теоретическая и практическая значимость исследования**

В результате проведенной работы показана значимость экспрессии хемокинового рецептора CXCR4, индекса пролиферации Ki-67 и локализации опухоли для определения групп прогноза у пациентов ранним РОК после радикального хирургического лечения. Выделены группы благоприятного и неблагоприятного прогноза на основе изученных клинико-морфологических характеристик, разработан алгоритм для выбора тактики лечения. Рекомендуется использовать иммуногистохимическую оценку экспрессии хемокинового рецептора CXCR4 и уровня пролиферации по Ki-67. Однако необходимо помнить, что прогностическую значимость имеет низкий уровень пролиферации Ki-67 (менее 30%) и обуславливает высокий риск развития рецидивов и метастазирования в аденокарциномах толстой кишки. Высокий пролиферативный уровень не имеет самостоятельного прогностического значения, однако в совокупности с негативной реакцией на CXCR4 может определять благоприятное клиническое течение.

### **Основные положения, выносимые на защиту**

1. Экспрессия хемокинового рецептора CXCR4 в опухолевой ткани у пациентов операбельным РОК более 30% является неблагоприятным прогностическим фактором вне зависимости от стадии и характеризует высокую вероятность раннего метастазирования ( $p=0,0001$ ).
2. Уровень пролиферации Ki-67 менее 30% свидетельствует об агрессивности опухоли и должен учитываться при выборе тактики лечения при операбельном РОК ( $p=0,0006$ ).
3. У больных с II стадией РОК неблагоприятным фактором прогноза является правосторонняя локализация опухоли ( $p=0,0248$ ).

### **Апробация и внедрение результатов исследования**

**Реализация результатов исследования.** Результаты исследования рекомендованы к использованию в клинической практике СПб ГБУЗ «Городской клинический онкологический диспансер».

Основные результаты и положения работы доложены на научно-практической конференции «Актуальные вопросы лечения колоректального рака» (г. Ярославль, 05.10.18); на Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Мультидисциплинарный подход: особенности междисциплинарного взаимодействия в лечении онкологических

больных» (Санкт-Петербург, 11-12 октября 2018); на конференции «Три кита клинической онкологии: химиотерапия, таргетная терапия, иммунотерапия» (Санкт-Петербург, 28.03.2019); на региональной конференции с международным участием о внедрении передовых разработок в клиническую практику «Онкология будущего» в конкурсе молодых ученых работа заняла 1-е место (Санкт-Петербург, 10-11 октября 2019).

### **Публикации**

По теме диссертации опубликовано 12 печатных работ, 5 – в изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ.

### **Объем и структура диссертации**

Диссертация изложена на 119 страницах компьютерного текста, состоит из следующих глав: введение, обзор литературы, описание материала и методов исследования, результаты собственного исследования, обсуждение результатов, выводы, практические рекомендации. Диссертация иллюстрирована 15 таблицами и 27 рисунками. Список литературы включает в себя 132 источника из них 23 отечественных и 109 зарубежных.

## **СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **Материал и методы**

В открытое проспективное нерандомизированное исследование в параллельных группах в период с 2010 по 2016 год было включено 113 пациентов, у которых после проведенного радикального хирургического лечения верифицирована аденокарцинома ободочной кишки II (T4N0M0) или III стадии (ТлюбоеN1-2M0) в СПб ГБУЗ ГКОД.

В зависимости от стадии заболевания все пациенты были разделены на 2 группы: Группа А (53 пациента) – пациенты, у которых выявлена II стадия заболевания (Dukes B), Группа В (60 пациентов) – пациенты, у которых выявлена III стадия заболевания (Dukes C). Всем пациентам было проведено лечение по имеющимся на тот момент стандартам (2010-2016 гг.), так пациентам в группе А было проведено только хирургическое лечение, а пациентам в группе В – комплексное лечение (хирургическое лечение + адьювантная химиотерапия).

Адьювантная химиотерапия проводилась пациентам группы В в течении 6 месяцев после хирургического лечения по стандартным схемам FOLFOX4 или De Gramont.

После проведенного лечения все пациенты находились под динамическим наблюдением и им выполнялись диагностические процедуры согласно стандартам наблюдения пациентов имеющих рак ободочной кишки в течение 5 лет после хирургического вмешательства.

Дизайн нашего исследования выглядел следующим образом (рисунок 1):

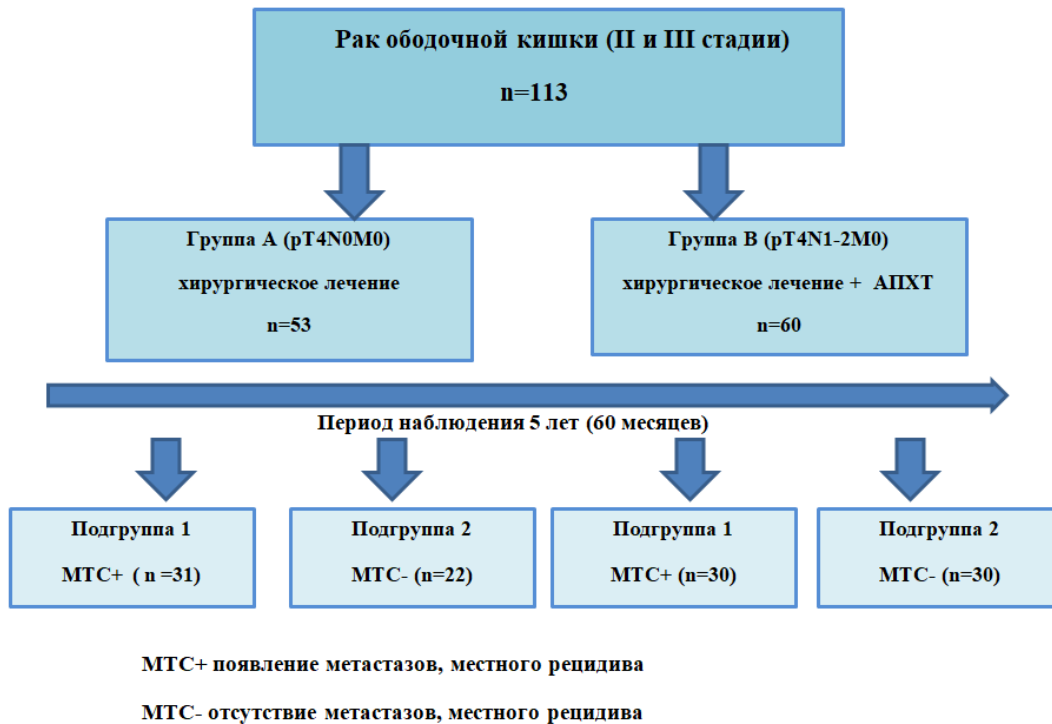


Рисунок 1 – Дизайн исследования

Как видно из рисунка 1 пациенты после радикального лечения наблюдались в течении 60 месяцев. С момента наблюдения у пациентов в различные сроки были выявлены отдаленные метастазы, в связи с чем, все пациенты в группе А и В были распределены на подгруппы.

У пациентов подгруппы 1 каждой группы в течение 60 месяцев не было зарегистрировано отдаленных метастазов или местного рецидива при использовании стандартных методик наблюдения; у пациентов подгруппы 2 зарегистрировано прогрессирование процесса в виде появления отдаленных метастазов или местного рецидива при использовании стандартных методик наблюдения.

Далее у всех пациентов были оценены клинические характеристики (возраст, пол, локализация первичной опухоли, характер выполненной операции) и морфологические характеристики опухоли, для этого гистологические блоки были направлены на иммуногистохимическое исследование с целью определения уровня экспрессии Ki-67; наличия и уровня экспрессии хемокиновых рецепторов CCRX4 и CCR10 и молекулярно-генетический анализ (определение мутации в 12,13 кодонах гена KRAS).

Уровень экспрессии хемокиновых рецепторов определялся по шкале, выделенной нами самостоятельно, и дифференцировался интенсивностью окраски гематоксилином в процентном содержании рецепторов хемокинов в аденокарциноме толстой кишки: низкий (0-30%), средний (30-70%), высокий (70-100%).

Под микроскопом ( $\times 400$ ) уровни экспрессии хемокиновых рецепторов CXCR4 выглядели как видно на рисунках 2-4.

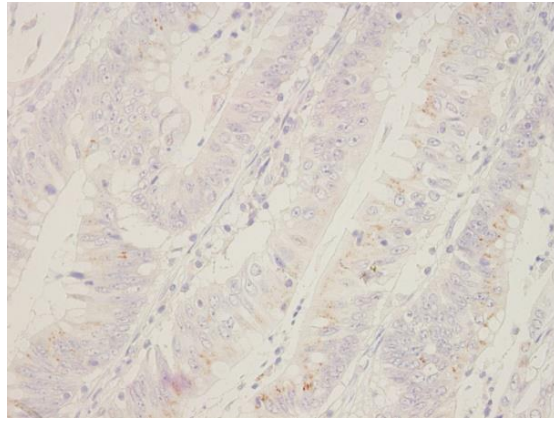


Рисунок 2 – Низкий уровень хемокиновых рецепторов (×400)

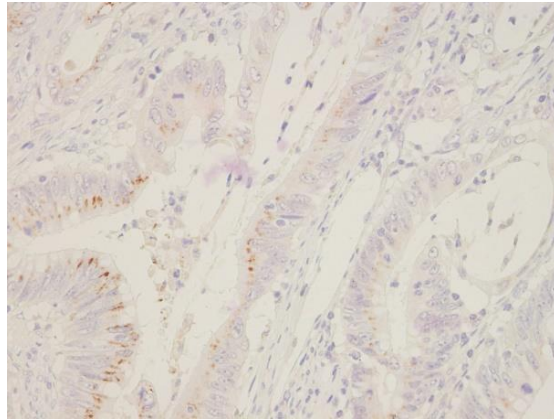


Рисунок 3 – Средний уровень хемокиновых рецепторов (×400)

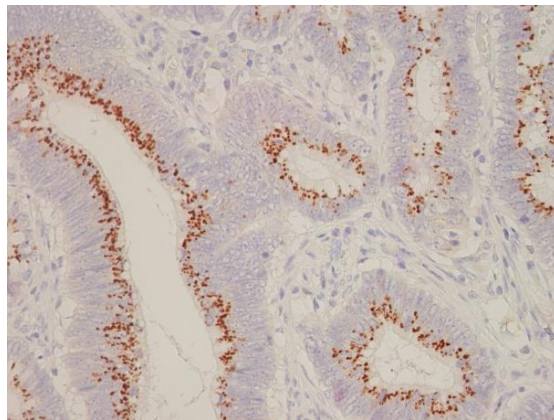


Рисунок 4 – Высокий уровень хемокиновых рецепторов (×400)

Статистический анализ выполнен с использованием статистического пакета MedCalc (ver. 19.4.1), MicroSoft Exel (ver. 16.16.22). Расчет объема выборки производили с помощью программы Pass (ver. 11.0.7).



## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

На первом этапе нашего исследования все пациенты, которым было проведено радикальное лечение (группа А) или комплексное лечение (группа В) наблюдались в течении 60 месяцев и в зависимости от появления отдаленных метастазов или местного рецидива были распределены в 2 подгруппы. За период наблюдения у пациентов в 1 подгруппе группы А было выявлено прогрессирование опухолевого процесса в промежутке от 1 месяца до 44 месяцев, а в 1 подгруппе группы В в промежутке от 2 месяцев до 60 месяцев. Медиана БРВ в 1 подгруппе группы А составила 9,5 месяцев (95% ДИ от 8 до 13 месяцев), а в 1 подгруппе группы В – 9 месяцев (95% ДИ от 3 до 9 месяцев); медиана БРВ у пациентов 2 подгруппы не была достигнута в группе А и В так как все пациенты пережили более 60 месяцев.

Таким образом, в результате оценки показателя БРВ у пациентов разных подгрупп наглядно видно, что на данный показатель влияет не только стадия заболевания, но и, вероятнее всего, совокупность прогностических факторов, в связи с чем на втором этапе нашего исследования мы изучили клинико-морфологические характеристики у больных ранним РОК при II (группа А) и III (группа В) стадии заболевания и их влияние на показатель БРВ.

### **Клинико-морфологические характеристики у больных раком ободочной кишки со II стадией T4N0M0 (группа А)**

В 1 подгруппу группы А был включен 31 пациент, во 2 подгруппу – 22 пациента. Проведенный сравнительный анализ демографических характеристик пациентов обеих подгрупп позволил определить, что в 1 подгруппе значимо чаще встречались пациенты более молодого возраста от 18-44 лет (16,5% против 0%;  $p=0,045$ ). Однако, в подгруппе 2 в 55% случаев пациенты имели возраст от 45-59 лет, что достоверно отличалось от подгруппы 1, где пациентов этой возрастной когорты было всего 19% ( $p=0,006$ ).

У всех пациентов группы А гистологически верифицирована аденокарцинома с различной локализацией первичной опухоли.

В 1 подгруппе пациентов (МТС+) правосторонняя локализация опухоли выявлялась 6 пациентов (19,4%), а во 2 подгруппе (МТС-) у 12 пациентов (54,5%).

Хирургическое лечение представлено различными операциями в каждой подгруппе в соответствии с локализацией первичной опухоли в радикальном объеме. Резекция сигмовидной кишки проводилась чаще у пациентов в 1 подгруппе – 58% против 36,3% соответственно ( $p=0,119$ ). Левосторонняя гемиколэктомия ( $p=0,196$ ), правосторонняя гемиколэктомия ( $p=0,194$ ), резекция поперечно-ободочной кишки ( $p=0,655$ ) одинаково часто были проведены в обеих подгруппах.

Клиническая характеристика больных РОК группы А представлена в таблице 1.

Таблица 1 – Клиническая характеристика больных раком ободочной кишки группы А (стадия T4N0M0) (n=53)

Характеристика пациентов	Подгруппа 1 (n=31) (MTC+)	Подгруппа 2 (n=22) (MTC-)	p-value
Стадия pT4N0M0	31 (100%)	31 (100%)	p=1,00
Возраст *			
18-44	5 (16,5%)	0 (0%)	p=0,045
45-59	6 (19%)	12 (55%)	p=0,006
60-74	18 (58%)	10 (45%)	p=0,350
старше 75	2 (6,5%)	0 (0%)	p=0,222
Пол			
Женщины	16 (51,61%)	12 (54,5%)	p=0,835
Мужчины	15 (48,39%)	10 (45,5%)	p=0,829
Локализация первичной опухоли:			
– правые отделы ободочной кишки;	6 (19,4%)	12 (54,5%)	p=0,007
– левые отделы ободочной кишки	25 (80,6%)	10 (45,5%)	p=0,007
Характер хирургического лечения:			
– резекция сигмовидной кишки;	18 (58%)	8 (36,3%)	p=0,119
– левосторонняя гемиколэктомия;	7 (22,5%)	2 (9%)	p=0,196
– резекция слепой кишки;	0 (0%)	4 (18,3%)	p=0,013
– правосторонняя гемиколэктомия;	3 (9,75%)	5 (22,7%)	p=0,194
– резекция поперечно-ободочной кишки	3 (9,75%)	3 (13,7%)	p=0,655
Примечание – * – ВОЗ, 2019 г.			

Морфологическая характеристика первичной опухоли пациентов группы А представлена в таблице 2.

Таблица 2 – Морфологическая характеристика первичной опухоли больных раком ободочной кишки группы А (стадия T4N0M0) (n=53)

Морфологический признак	Подгруппа 1 (n=31)	Подгруппа 2 (n=22)	p-value
Дифференцировка опухоли			
G1	2 (6,5%)	7 (32%)	p=0,015
G2	27 (87%)	12 (54,5%)	p=0,008
G3	0 (0%)	3 (13,5%)	p=0,035
G1+2	2 (6,5%)	0 (0%)	p=0,222

## Продолжение таблицы 2

Морфологический признак	Подгруппа 1 (n=31)	Подгруппа 2 (n=22)	p-value
СХСR4 (экспрессия)			
0-30% низкая	6 (19,35%)	16 (72,72%)	p=0,0001
30-70% средняя	16 (51,5%)	1 (4,55%)	p=0,0003
70-100% высокая	9 (29,05%)	5 (22,73%)	p<0,0001
ССР 10	0 (100%)	0 (100%)	p=1,00
Ki 67 (уровень)			
0-15% низкий	0 (0%)	0 (0%)	p=1,00
15-30% средний	4 (12,9%)	1 (4,55%)	p=0,305
30-100% высокий	27 (87,1%)	21 (95,45%)	p=0,305
KRAS мутация			
выявлена	14 (45,16%)	9 (40,90%)	p=0,757
не выявлена	17 (54,84%)	13 (59,09%)	p=0,758

Проведенный сравнительный анализ показал, что у пациентов 2-ой подгруппы значимо чаще выявлялась опухоль высокой ( $p=0,015$ ) и низкой ( $p=0,035$ ) дифференцировки. В подгруппе 1 большинство пациентов имели умеренную дифференцировку опухоли ( $p=0,008$ ). Сочетание высоко и умеренной дифференцировки встречалось только в подгруппе 1, но количество зарегистрированных случаев достоверно не отличалось от подгруппы 2 ( $p=0,222$ ).

В 1 подгруппе выявлена экспрессия хемокинового рецептора СХСR4 в первичной опухоли со средним значением  $50\% \pm 29,01\%$  (95% ДИ от 39,36% до 60,64%). Более чем у половины пациентов (51,6%) в опухоли определялась экспрессия в пределах 30-70% и почти у трети пациентов (29,1%) более 70%. Низкий уровень экспрессии рецептора СХСR4 выявлен лишь в опухоли 6 пациентов, что составило 19%. При исследовании экспрессии хемокинового рецептора СХСR4 во 2-ой подгруппе, среднее значение данного показателя составило  $27,73\% \pm 7,58\%$  (95% ДИ от 11,97% до 43,49%), что почти в два раза меньше, чем в подгруппе 1.

Таким образом, при сравнении двух подгрупп по уровню экспрессии СХСR4 с использованием критерия Манна-Уитни в 1 подгруппе уровень экспрессии изучаемого рецептора оказался достоверно выше, чем в 2 подгруппе ( $U=201,50$ ;  $Z=2,535$ ;  $p=0,011$ ) (рисунок 5), что является показателем высокого метастатического потенциала опухоли и показателем неблагоприятного прогноза у больных РОК после радикального хирургического лечения.

При иммуногистохимическом исследовании презентации хемокиновых рецепторов ССR10 на поверхности опухолевой клетки, экспрессии изучаемого рецептора выявлено не было ни в одном случае.

При сравнении уровня индекса пролиферации Ki-67 с использованием критерия Манна-Уитни в 1 подгруппе уровень этого показателя оказался достоверно ниже, чем в 2 подгруппе ( $U=96,50$ ;  $Z=4,482$ ;  $p<0,0001$ ).

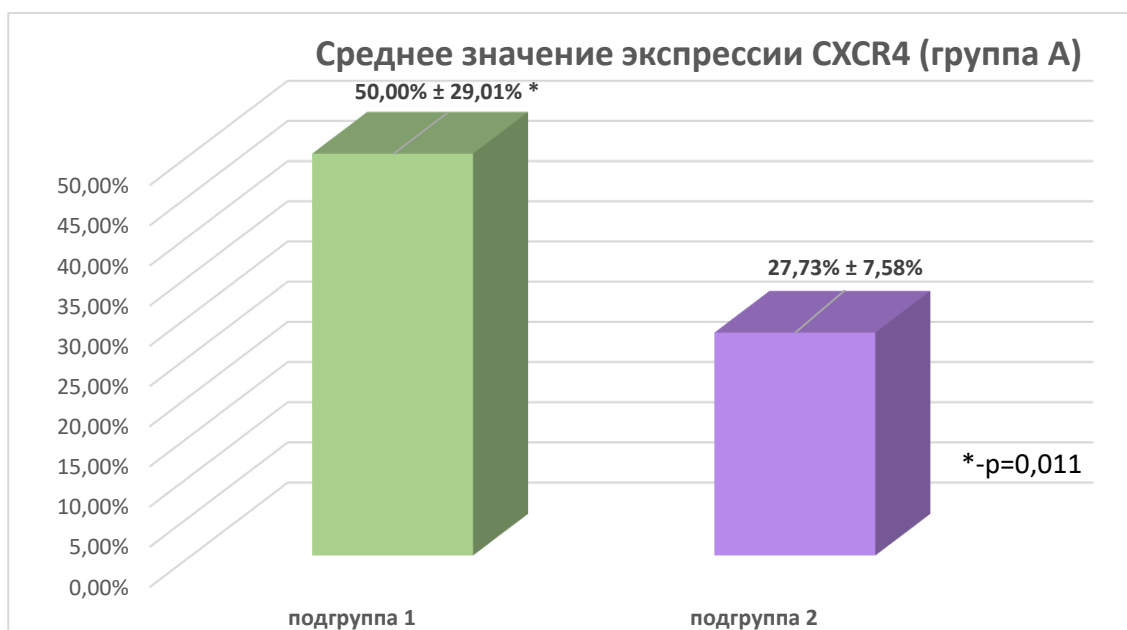


Рисунок 5 – Сравнение уровня экспрессии CXCR4 в исследуемых группах

При молекулярно-генетическом исследовании, мутация в гене KRAS обнаружена у 14 (45,1%) пациентов 1-ой подгруппы и у 9 пациентов (40,90%) 2 подгруппы ( $p=0,757$ ). При оценке этого показателя в изучаемых подгруппах пациентов группы А с использованием критерия Манна-Уитни статистической разницы выявлено не было: 14 против 9, соответственно ( $U=315,50$ ;  $Z=0,524$ ;  $p=0,6001$ ).

#### **Клинико-морфологические характеристики у больных раком ободочной кишки с III стадией T4N1-2M0 (группа В)**

При изучении демографических характеристик пациентов обеих подгрупп было выявлено, что в подгруппе 1 значимо чаще встречались пациенты в возрасте от 18-44 лет (10% против 0%;  $p=0,0756$ ). Пациенты возрастных групп от 60-74 лет и старше 75 лет одинаково часто встречались в обеих подгруппах ( $p=1,0$  в обеих подгруппах). По гендерному признаку пациенты обеих групп были сопоставимы ( $p=0,4363$  и  $p=0,4363$ ).

У всех пациентов группы В гистологически верифицирована аденокарцинома с различной локализацией первичной опухоли. При сравнении значимых отличий выявлено не было, поражение правого и левого фланга было сопоставимо ( $p=0,4363$ ).

В отличие от группы пациентов А, пациенты данной группы в послеоперационном периоде имели повышение уровня РЭА в 33,3% случаев в 1 подгруппе и в 40% случаев в 2 подгруппе пациентов, при сравнительном анализе подгруппы были сопоставимы ( $p=0,5902$ ).

В обеих подгруппах большая часть пациентов получала в качестве адъювантной химиотерапии схему FOLFOX4 – 66,7% и 60% соответственно, при сравнительном анализе значимых отличий выявлено не было ( $p=0,5902$ ).

Клиническая характеристика больных РОК группы В представлена в таблице 3.

Таблица 3 – Клиническая характеристика больных раком ободочной кишки группы В (стадия T4N1-2M0) (n=60)

Характеристика пациентов	Подгруппа 1 (n=30) (MTC+)	Подгруппа 2 (n=30) (MTC-)	p-value
Стадия pT4N1M0 pT4N2M0	8 (26,7%) 22 (73,3%)	10 (33,3%) 20 (66,7%)	p=0,5770 p=0,5770
Возраст 18-44 45-59 60-74 старше 75	3 (10%) 6 (20%) 21 (70%) 0 (0%)	0 (0%) 9 (30%) 21 (70%) 0 (0%)	p=0,0756 p=0,3711 p=1,00 p=1,00
Пол Женщины Мужчины	15 (50%) 15 (50%)	12 (40%) 18 (60%)	p=0,4363 p=0,4363
Локализация опухоли: – правые отделы ободочной кишки – левые отделы ободочной кишки	15 (50%) 15 (50%)	18 (60%) 12 (40%)	p=0,4363 p=0,4363
Характер хирургического лечения – резекция сигмовидной кишки – левосторонняя гемиколэктомия – операция Гартмана – правосторонняя гемиколэктомия	2 (6,7%) 3 (10%) 5 (16,7%) 20 (66,6%)	4 (13,4%) 7 (23,3%) 7 (23,3%) 12 (40%)	p=0,3881 p=0,1667 p=0,5228 p=0,9389
Повышение уровня РЭА более 5 нг/мл перед операцией выявлено не выявлено	10 (33,3%) 20 (66,7%)	12 (40%) 18 (60%)	p=0,5902 p=0,5902

Морфологическая характеристика первичной опухоли пациентов группы В представлена в таблице 4.

Таблица 4 – Морфологическая характеристика первичной опухоли больных раком ободочной кишки группы В (стадия T4N1-2M0) (n=60)

Морфологический признак	Подгруппа 1 (n=30) MTC(+)	Подгруппа 2 (n=30) MTC(-)	p-value
Дифференцировка опухоли G1 G2 G3	9 (30%) 18 (60%) 3 (10%)	0 (0%) 21 (70%) 9 (30%)	p=0,0011 p=0,4168 p=0,0528
CXCR4 (экспрессия) 0-30% низкая 30-70% средняя 70-100% высокая	0 (0%) 6 (20%) 24 (80%)	21 (70%) 9 (30%) 0 (0%)	p<0,00001 p=0,3711 p<0,00001

## Продолжение таблицы 4

Морфологический признак	Подгруппа 1 (n=30) МТС(+)	Подгруппа 2 (n=30) МТС(-)	p-value
Ki-67 (уровень)			
0-15% низкий	0 (0%)	0 (0%)	p=1,00
15-30% средний	9 (30%)	6 (20%)	p=0,3711
30-100% высокий	21 (70%)	24 (80%)	p=0,3711
KRAS мутация			
выявлена	15 (50%)	15 (50%)	p=1,00
не выявлена	15 (50%)	15 (50%)	p=1,00

У пациентов 1 подгруппы значительно чаще встречались опухоли высокой дифференцировки ( $p=0,0011$ ), а у пациентов 2 подгруппы чаще выявлялись опухоли низкой дифференцировки ( $p=0,0528$ ).

В 1 подгруппе группы В выявлена экспрессия хемокинового рецептора CXCR4 в первичной опухоли со средним значением  $67,00\% \pm 8,95\%$  (95% ДИ от 46,75% до 87,25%). При исследовании экспрессии хемокинового рецептора CXCR4 у пациентов 2 подгруппы среднее значение данного показателя составила  $14,50\% \pm 5,29\%$  (95% ДИ от 2,52% до 26,48%), что значительно меньше, чем в подгруппе 1 (рисунок 6).

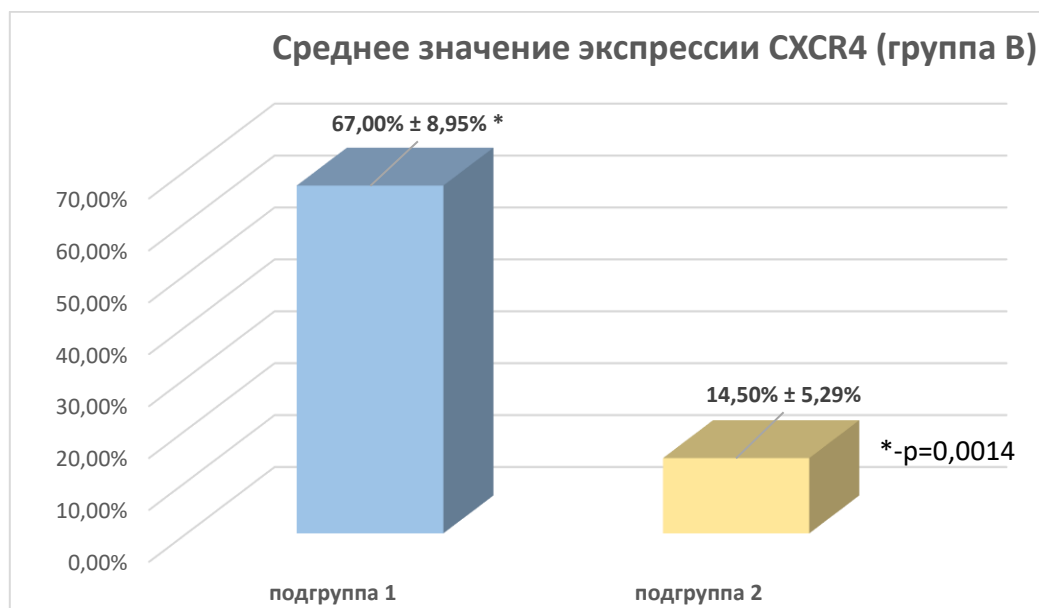


Рисунок 6 – Сравнение уровня экспрессии CXCR4 в исследуемых подгруппах

При сравнении двух подгрупп по уровню экспрессии CCRX 4 с использованием критерия Манна-Уитни в 1 подгруппе уровень экспрессии, как и у пациентов группы А, оказался достоверно выше, чем в 2 подгруппе ( $U=8,00$ ;  $Z=3,193$ ;  $p=0,0014$ ).

Таким образом, у пациентов группы В, также как и у пациентов группы А, экспрессия хемокинового рецептора CXCR4 в опухолевой ткани выше у пациентов в подгруппе 1 (МТС+), что позволяет нам сделать вывод о том, что

экспрессия CXCR4 выше 30% в опухолевой ткани РОК – это показатель неблагоприятного прогноза для больных РОК после радикального хирургического лечения как при II так и при III стадиях.

### Результаты однофакторного анализа влияния рассматриваемых факторов на БРВ

На третьем этапе нашего исследования с помощью однофакторного анализа проанализировано влияние основных клинических характеристик:

- возраст пациента;
- локализация первичной опухоли;
- дифференцировка опухоли.

И морфологических характеристик опухоли:

- экспрессия хемокинового рецептора CXCR4;
- уровень Ki-67;
- наличие KRAS мутации,

на безрецидивную выживаемость больных в рассматриваемых группах.

Результаты однофакторного анализа влияния клиничко-морфологических характеристик у больных в группах А и В представлены в таблицах 5 и 6.

Таблица 5 – Результаты однофакторного анализа влияния клиничко-морфологических характеристик на показатель БРВ у больных группы А

Показатель	Медиана (мес.) (95% ДИ)	Log-rank test p-value
<b>Возраст, лет:</b> ≤58 >58	не достигнута 19,0 (95% ДИ 10,0-42,0)	0,2163
<b>Локализация опухоли (фланк):</b> правый левый	не достигнута 19,0 (95% ДИ 11,0-32,0)	<b>0,0390</b>
<b>Дифференцировка опухоли:</b> высокая умеренная низкая умеренная/высокая	не достигнута 14,0 (95% ДИ 10,0-32,0) не достигнута 12,0 (95% ДИ 12,0-26,0)	0,0635
<b>Экспрессия хемокинового рецептора CXCR 4:</b> ≤ 30% 31-70% ≥71%	не достигнута 13,0 (95% ДИ 6,0-19,0) 12,0 (95% ДИ 4,0-31,0)	<b>0,0008</b>
<b>Уровень Ki-67:</b> >30 ≤30	не достигнута 12,0 (95% ДИ 8,0-19,0)	<b>&lt;0,0001</b>
<b>KRAS мутация:</b> есть мутация «дикий тип»	14,0 (95% ДИ 10,0-30,0) 32,0 (95% ДИ 12,0-42,0)	0,5246

Таблица 6 – Результаты однофакторного анализа влияния клинико-морфологических характеристик на показатель БРВ у больных группы В

Показатель	Медиана (мес.) (95% ДИ)	Log-rank test p-value
<b>Возраст, лет:</b> ≤58 >58	не достигнута 19,0 (95% ДИ 10,0-42,0)	0,2163
<b>Локализация опухоли (фланк):</b> правый левый	не достигнута 9,0 (95% ДИ 3,0-9,0)	0,6930
<b>Дифференцировка:</b> высокая умеренная низкая	не достигнута 7,0 (95% ДИ 3,0-7,0) 3,0 (95% ДИ 2,0-9,0)	0,1981
<b>Экспрессия хемокинового рецептора CXCR 4:</b> ≤30% 31-70% ≥71%	не достигнута 7,0 (95% ДИ 3,0-9,0) 2,0 (95% ДИ 1,0-4,0)	<b>0,0001</b>
<b>Уровень Ki-67:</b> >30 ≤30	не достигнута 7,0 (95% ДИ 2,0-9,0)	0,5206
<b>K-RAS мутация:</b> есть мутация «дикий тип»	9,0 (95% ДИ 2,0-9,0) 7,0 (95% ДИ 1,0-7,0)	0,9774

В результате проведенного однофакторного анализа у пациентов в группе А факторами значимо оказывающими влияние на показатель БРВ и требующими включение в многофакторную модель были следующие: локализация первичной опухоли (фланк), уровень экспрессии хемокинового рецептора CXCR4, уровень пролиферации Ki-67. У пациентов в группе В единственным значимым фактором оказался уровень экспрессии хемокинового рецептора CXCR4.

### **Зависимость показателя безрецидивной выживаемости от уровня экспрессии хемокинового рецептора CXCR4 в группах А и В**

#### **Группа А**

Медиана БРВ у пациентов с низким уровнем хемокинового рецептора CXCR4 не была достигнута на момент окончания исследования, в связи с этим рассчитан средний уровень медианы БРВ  $48,619 \pm 4,256$  месяцев (95% ДИ от 40,277 до 56,961).

Медиана БРВ у пациентов с средним и высоким уровнем хемокинового рецептора CXCR4 были сопоставимы и составили: у пациентов со средним



уровнем 13 месяцев (95% ДИ от 6 до 19 месяцев), у пациентов с высоким уровнем 12 месяцев (95% ДИ от 8 до 31 месяца). Показатель 3-годовой БРВ в группе с низким уровнем экспрессии CXCR4 составил 81%, со средним уровнем – 39%, с высоким уровнем – 16%. 5-летний показатель БРВ в группах с высоким, средним и низким уровнем экспрессии CXCR4 составил соответственно 76%, 36% и 16%.

С целью оценки влияния уровня экспрессии хемокинового рецептора CXCR4 на показатель БРВ нами была построена регрессионная модель Кокса, показавшая наличие значимой зависимости медианы безрецидивной выживаемости у пациентов РОК от экспрессии хемокинового рецептора CXCR4 в опухолевой ткани ( $p=0,0157$ , 95% ДИ 1,0024-1,0226). Зависимость медианы БРВ от уровня экспрессии CXCR4 в группе А представлена на рисунке 7.

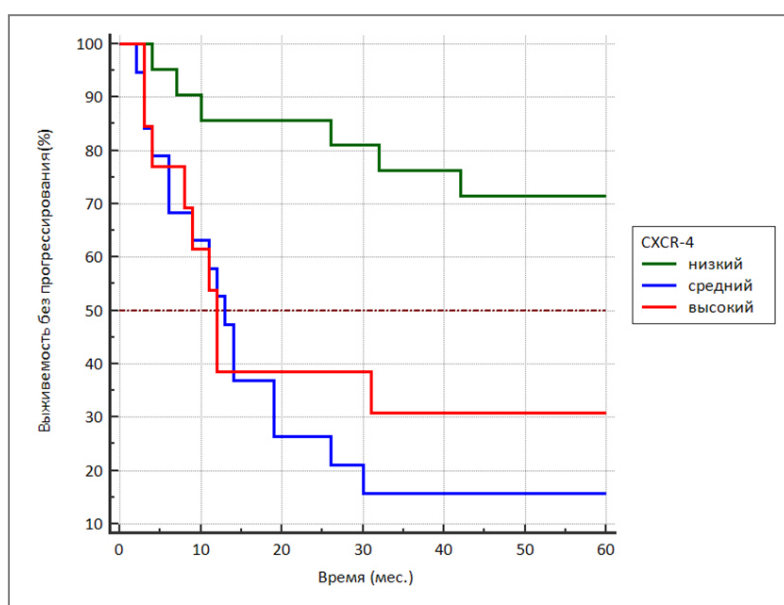


Рисунок 7 – Зависимость медианы БРВ от уровня экспрессии CXCR4 в группе А

По рисунку видно, что те пациенты, у которых определялась высокая и средняя экспрессия хемокинового рецептора CXCR4 в опухолевой ткани имели безрецидивную выживаемость ниже, чем те пациенты в опухолевой ткани которых была выявлена низкая экспрессия данного рецептора.

### **Группа В**

Медиана БРВ у пациентов с низким уровнем экспрессии хемокинового рецептора не достигнута, поэтому рассчитано среднее значение –  $53,89 \pm 5,76$  (95% ДИ от 42,60 до 65,18). Показатель 5-летней БРВ составил 89%. У пациентов со средним уровнем экспрессии – медиана БРВ составила 7 месяцев (95% ДИ от 3 до 9 месяцев), показатель 5-летней БРВ – 29%, у пациентов с высоким уровнем экспрессии – 2 месяца (95% ДИ от 1 до 4 месяцев).

Общая значимость регрессионной модели зависимости показателя БРВ от уровня экспрессии CXCR4 была достоверной:  $p=0,0002$ . Зависимость медианы БРВ от уровня экспрессии CXCR4 в группе Б представлена на рисунке 8.

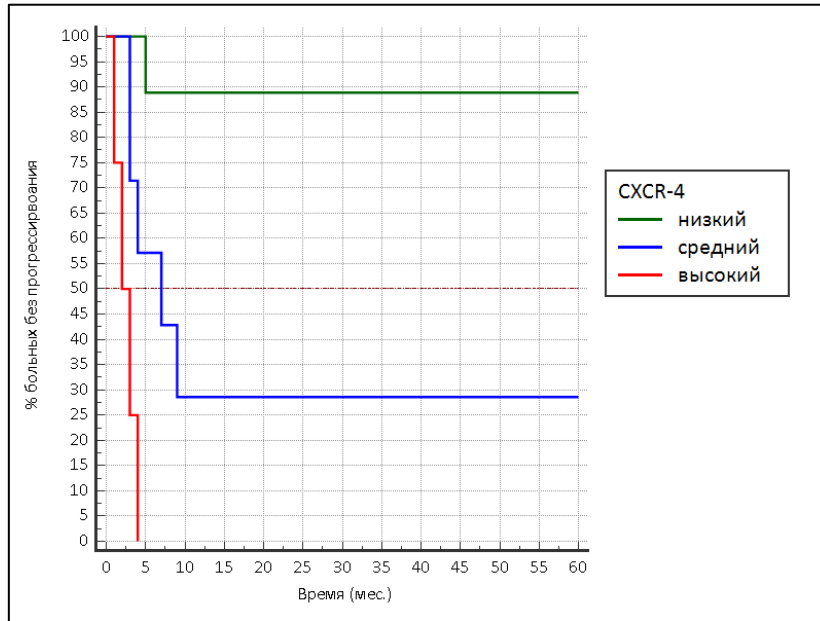


Рисунок 8 – Зависимость медианы БРВ от уровня экспрессии CXCR4 в группе В

Таким образом, медиана безрецидивного периода оказалась значимо более низкой в подгруппах пациентов с отдаленными метастазами, где выявлена высокая экспрессия хемокиновых рецепторов в опухолевой ткани, что позволяет сделать вывод, согласно которому чем выше экспрессия хемокиновых рецепторов, тем агрессивнее опухоль и ниже показатель БРВ.

Учитывая многообразие факторов, которые могут оказывать влияние на выживаемость пациентов и необходимость назначения адъювантной химиотерапии нами была построена регрессионная модель Кокса (многофакторный анализ) для каждой группы с целью определения значимости каждого из факторов.

### **Многофакторный анализ оценки зависимости показателя БРВ от факторов прогноза у пациентов группы А**

Выявленные с помощью однофакторного анализа прогностические факторы, а также стандартные факторы прогноза течения заболевания (возраст и пол пациента) были включены в многофакторный анализ (таблица 7).

Из таблицы 7 видно, что значимыми факторами, влияющими на показатель БРВ в группе А ( II стадия РОК) являются: экспрессия хемокинового рецептора CXCR4, индекс пролиферации Ki-67 и локализация опухоли.

Таблица 7 – Многофакторный анализ у пациентов в группе А для показателя БРВ

Регрессионная модель Кокса	Достоверность	Уровень значимости
Индекс пролиферации Ki67	Значимая	<b>p&lt;0,0001</b>
KRAS мутация	Не значимая	p=0,5324
Возраст	Не значимая	p=0,7000
Пол	Не значимая	p=0,8934
Фланк	Значимая	<b>p=0,0248</b>
Экспрессия хемокинового рецептора CXCR4	Значимая	<b>p=0,0157</b>

### Многофакторный анализ оценки зависимости показателя БРВ от факторов прогноза у пациентов группы В

Выявленные с помощью однофакторного анализа прогностические факторы, а также стандартные факторы прогноза течения заболевания (возраст и пол пациента) были включены в многофакторный анализ (таблица 8).

Таблица 8 – Многофакторный анализ у пациентов в группе В для показателя БРВ

Регрессионная модель Кокса	Достоверность	Уровень значимости
Уровень экспрессии хемокинового рецептора CXCR4	Значимая	<b>p=0,0001</b>
Индекс пролиферации Ki67	Незначимая	p=0,9238
KRAS мутация	Не значимая	p=0,9782
Возраст	Не значимая	p=0,3006
Пол	Не значимая	p=0,6391
Фланк	Не значимая	p=0,6990

Из таблицы 8 видно, что значимым фактором, влияющим на показатель БРВ в группе В (III стадия РОК) является экспрессия хемокинового рецептора CXCR4.

Таким образом, в результате нашей работы выявлены дополнительные факторы прогноза при раннем РОК: экспрессия хемокинового рецептора CXCR4, индекс пролиферации Ki-67 и локализация опухоли.

С целью оптимизации адъювантной химиотерапии у пациентов РОК нами были выделены группы благоприятного и неблагоприятного прогноза и разработан следующий алгоритм (рисунок 9).



Рисунок 9 – Рекомендуемый алгоритм назначения адъювантной химиотерапии у больных ранним РСК

## ВЫВОДЫ

1. Частота прогрессирования у больных РСК после радикального хирургического лечения при II стадии составила 58,5% при медиане БРВ – 26 месяцев (95% ДИ 12,0-42,0); при III стадии – 50% при медиане БРВ 9 месяцев (95% ДИ 3,0-9,0).
2. При сравнении влияния клиничко-морфологических характеристик на частоту метастазирования и медиану БРВ в подгруппах больных РСК II стадии выявлен высокий уровень прогностической значимости правосторонней локализации первичной опухоли ( $p=0,00248$ ), показателя пролиферативной активности Кi-67 менее 30% ( $p<0,0001$ ) и экспрессии хемокинового рецептора CXCR4 выше 30% ( $p=0,0157$ ); при III стадии – только экспрессии хемокинового рецептора CXCR4 более 30% ( $p=0,0001$ ).
3. При изучении презентативности хемокиновых рецепторов в аденокарциноме ободочной кишки иммуногистохимическим методом определена шкала градации экспрессии хемокиновых рецепторов: низкая (0-30%), средняя (30-70%) и высокая (70-100%). Экспрессия хемокинового рецептора CCR10 не была выявлена ни в одном случае РСК.

4. У пациентов с низким уровнем экспрессии хемокинового рецептора CXCR4 в опухолевой ткани не выявлено случаев отдаленного метастазирования и медиана БРВ не достигнута независимо от стадии РОК. У пациентов с II стадией РОК при среднем и высоком уровне экспрессии хемокинового рецептора медиана БРВ составила 13 и 12 месяцев соответственно ( $p=0,0001$ ), при III стадии – 7 и 2 месяца соответственно ( $p=0,0008$ ).
5. По результатам многофакторного анализа были выделены группы благоприятного и неблагоприятного прогноза (в зависимости от уровня порогового значения экспрессии хемокинового рецептора CXCR4 >30% или <30%, уровня пролиферации Ki67 >30% или <30% и локализации первичной опухоли) и определен алгоритм назначения АХТ больным с ранним РОК после радикального хирургического лечения.

### **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. Целесообразно внедрить в перечень стандартного иммуногистохимического исследования раннего РОК определение уровня экспрессии хемокинового рецептора CXCR4 и индекса пролиферации Ki-67.
2. Пациентов с уровнем экспрессии хемокинового рецептора CXCR4 более 30%, низким уровнем пролиферации Ki-67 (менее 30%), правосторонней локализацией следует отнести в группу неблагоприятного прогноза и рекомендовать проведение комплексного лечения вне зависимости от стадии (операция+АПХТ).
3. Пациентов с низким уровнем экспрессии хемокинового рецептора CXCR4 (менее 30%), уровнем пролиферации Ki-67 более 30%, левосторонней локализацией следует отнести в группу благоприятного прогноза и рекомендовать проведение только радикального хирургического лечения вне зависимости от стадии.

**СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. Глушаков, Р.И. Экспрессия хемокиновых рецепторов в опухолевой ткани рака яичника у пациенток с гипертиреозом / Р.И. Глушаков, А.К. Иванова, Г.А. Раскин, Н.И. Тапильская // Вестник РВМА. – 2012. – Т. 40, № 4. – С. 81-86.
2. Манихас, Г.М. Роль хемокинов и их рецепторов в метастазировании рака ободочной кишки / Г.М. Манихас, Р.В. Орлова, Г.А. Раскин, А.К. Иванова // Сборник научных трудов, посвященный 65-летию СПбГУЗ «ГКОД» и 20-летию СПб общественной организации «Ассоциация помощи онкологическим больным «Антирак». – Санкт-Петербург, 2012. – С. 187.
3. Иванова, А.К. Определение дополнительных факторов прогноза и их влияние на показатели выживаемости больных раком толстой кишки / А.К. Иванова, С.А. Кошкин // Фундаментальная наука и клиническая медицина-человек и его здоровье : сборник тезисов XVI конференции. – Санкт-Петербург, 2013. – С. 171.
4. **Раскин, Г.А. Роль стволовых раковых клеток, хемокинов и их рецепторов в канцерогенезе, рецидивировании и метастазировании опухолей / Г.А. Раскин, Р.В. Орлова, А.Э. Протасова, С.В. Петров, А.К. Иванова, К.М. Пожарисский // Вопросы онкологии. – 2013. – № 6. – С. 694-700.**
5. **Орлова, Р.В. Химиотерапия злокачественных опухолей: проблемы и перспективы / Р.В. Орлова, Р.И. Вайзьян, А.К. Иванова, Е.К. Тихонова, Е.Ю. Зорина // Вопросы онкологии. – 2015. – № 2. – С. 244-251.**
6. Орлова, Р.В. Значимость определения экспрессии хемокиновых рецепторов у пациентов с колоректальным раком / Р.В. Орлова, Г.А. Раскин, А.К. Иванова // Сборник научных трудов, посвященный 70-летию СПбГБУЗ «ГКОД». – Санкт-Петербург, 2017. – С. 74.
7. Иванова, А.К. Роль хемокиновых рецепторов в метастазировании рака ободочной кишки / А.К. Иванова, Р.В. Орлова, А.В. Андросова // Материалы первого международного Форума онкологии и радиологии, 23-28 сентября 2018 года. – Москва, 2018. – С. 61.
8. Орлова, Р.В. Оценка влияния экспрессии хемокиновых рецепторов CXCR4, CCR10 в опухолевой ткани на показатель безрецидивной выживаемости больных раком ободочной кишки / Р.В. Орлова, А.К. Иванова, Г.А. Раскин, С.И. Кутукова, А.В. Андросова // Злокачественные опухоли. – 2019. – № 1. – С. 16-21.
9. **Орлова, Р.В. Экспрессия хемокинового рецептора CXCR4 в опухолевой ткани как дополнительный фактор прогноза больных раком ободочной кишки / Р.В. Орлова, А.К. Иванова, Г.А. Раскин, С.И. Кутукова // Фарматека. – 2019. – № 12. – С. 44-49.**
10. **Раскин, Г.А. Морфологические и молекулярные особенности метастазов аденокарциномы толстой кишки в печень / Г.А. Раскин, А.К. Иванова, М.С. Мухина, Р.В. Орлова // Анналы хирургической гепатологии. – 2019. – Т. 24, № 4. – С. 12-17.**

11. Федянин, М.Ю. Оценка токсичности и эффективности терапии комбинацией FOLFIRI и афлиберцепта при метастатическом раке толстой кишки в РФ: первые результаты многоцентрового ретроспективного исследования / М.Ю. Федянин, Л.Ю. Владимирова, В.А. Чубенко, Р.В. Орлова, А.К. Иванова // Злокачественные опухоли. – 2019. – Т. 9, № 2. – С. 53-60.
12. **Иванова, А.К.** Оптимизация тактики адъювантной химиотерапии больных раком ободочной кишки с учетом клинико-морфологических характеристик / А.К. Иванова, Р.В. Орлова, Г.А. Раскин, С.И. Кутукова // Фарматека. – 2021. – № 7. – С. 89-96.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- АХТ – адъювантная химиотерапия
- БРВ – безрецидивная выживаемость
- ОМ – отдаленные метастазы
- РОК – рак ободочной кишки
- РЭА – раково-эмбриональный антиген
- MSI – микросателлитная нестабильность