

# Прогностическое значение уровня экспрессии Вах в ткани первичной опухоли толстой кишки у больных метастатическим колоректальным раком, получивших в 1-й линии лекарственного лечения новый режим химиотерапии на основе тройной комбинации: иринотекан + оксалиплатин + длительная инфузия 5-фторурацила

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](mailto:darenskaya@bk.ru)

**Цель исследования** — оценить прогностическое значение уровня экспрессии Вах в ткани первичной опухоли толстой кишки у больных метастатическим колоректальным раком (мКРР), получивших в 1-й линии лекарственного лечения новый режим химиотерапии (ХТ) на основе тройной комбинации: иринотекан + оксалиплатин + длительная инфузия 5-фторурацила.

**Материалы и методы.** В исследование включали пациентов с мКРР, ранее не получавших лекарственного лечения по поводу диссеминированной болезни, с морфологически (гистологически) верифицированным диагнозом аденокарциномы толстой кишки и получивших в рамках настоящего исследования в качестве 1-й линии лекарственного лечения новый, разработанный нами, режим ХТ на основе тройной комбинации: иринотекан + оксалиплатин + длительная инфузия 5-фторурацила. Проводили оценку непосредственных и отдаленных результатов лечения. Иммуногистохимическим методом в ткани первичной опухоли толстой кишки (биопсийном/операционном материале), полученной до начала 1-й линии лекарственной терапии, проводили оценку уровня экспрессии молекулярно-биологического маркера Вах. Полученные данные по экспрессии Вах были сопоставлены с непосредственными и отдаленными результатами лечения.

**Результаты.** У 17 из 20 включенных в исследование больных мКРР иммуногистохимическим методом проведен анализ экспрессии Вах в ткани первичной опухоли толстой кишки, ассоциации данного маркера с прогнозом течения заболевания. При анализе влияния экспрессии маркера в опухоли на время до прогрессирования у больных мКРР на фоне 1-й линии ХТ с использованием тройной комбинации обнаружено, что высокая экспрессия Вах является благоприятным фактором, прогнозирующим увеличение времени до прогрессирования: медиана времени до прогрессирования у больных с гиперэкспрессией Вах в опухоли была достоверно выше, чем у пациентов с низкой экспрессией Вах или ее отсутствием —  $15,7 \pm 3,38$  мес против  $8,6 \pm 0,6$  мес,  $p = 0,012$ . При анализе влияния экспрессии Вах в опухоли на общую выживаемость (ОВ) больных мКРР отмечено увеличение ОВ в группе пациентов с гиперэкспрессией Вах (при медиане наблюдения  $17,3 \pm 2,54$  мес медиана ОВ не достигнута, среднее значение —  $31,26 \pm 2,85$  мес) по сравнению с группой больных с низкой экспрессией Вах или ее отсутствием (медиана ОВ составила  $13,60 \pm 3,03$  мес),  $p = 0,021$ .

**Выводы.** По нашим данным, гиперэкспрессия Вах в ткани первичной опухоли толстой кишки показала себя как фактор благоприятного прогноза выживаемости без прогрессирования и ОВ для больных мКРР, получивших в 1-й линии лекарственного лечения режим ХТ на основе тройной комбинации.

**Ключевые слова:** молекулярно-биологические маркеры, Вах, метастатический колоректальный рак, 1-я линия лекарственного лечения, химиотерапия, иринотекан, оксалиплатин, 5-фторурацил

**Для цитирования:** Даренская А.Д., Доброва Н.В., Степанова Е.В. Прогностическое значение уровня экспрессии Вах в ткани первичной опухоли толстой кишки у больных метастатическим колоректальным раком, получивших в 1-й линии лекарственного лечения новый режим химиотерапии на основе тройной комбинации: иринотекан + оксалиплатин + длительная инфузия 5-фторурацила. Онкологическая колопроктология 2019;9(1):51–9.

DOI: 10.17650/2220-3478-2019-9-1-51-59

**Prognostic value of Bax expression in the primary colon tumor of patients with metastatic colorectal cancer receiving first-line treatment with a triple combination of irinotecan + oxaliplatin + long-term infusion of 5-fluorouracil**

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

**Objective:** to evaluate the prognostic value of Bax expression in the primary colon tumor of patients with metastatic colorectal cancer (mCRC) receiving first-line treatment with a triple combination of irinotecan + oxaliplatin + long-term infusion of 5-fluorouracil.

**Materials and methods.** The study included patients with mCRC (morphologically (histologically) verified diagnosis of colonic adenocarcinoma) that have never received treatment for disseminated disease. Study participants received a new first-line treatment regimen with a triple combination of irinotecan + oxaliplatin + long-term infusion of 5-fluorouracil. We evaluated both short-term and long-term treatment outcomes. We also assessed the level of Bax expression in primary tumor samples (biopsy/surgery specimens) collected prior to initiation of first-line treatment using immunohistochemical methods. We analyzed the correlation between the levels of Bax expression and short-term/long-term treatment outcomes.

**Results.** Seventeen out of 20 mCRC patients included in the study were tested for Bax expression in the primary tumor using immunohistochemical staining. The analysis of correlation between Bax expression in tumor tissue and time-to-progression in patients with mCRC receiving first-line treatment with a triple combination of drugs demonstrated that high Bax expression was a favorable prognostic factor associated with longer time-to-progression. Median time-to-progression was significantly longer in patients with Bax overexpression than in those with low levels of Bax expression or no expression:  $15.7 \pm 3.38$  months vs  $8.6 \pm 0.6$  months,  $p = 0.012$ . When analyzing the impact of Bax expression on the overall survival (OS) in patients with mCRC, we found that patients with Bax overexpression demonstrated better OS (median follow-up time  $17.3 \pm 2.54$ ; OS was not reached; mean value  $31.26 \pm 2.85$  months) than patients with low Bax expression or no expression (median OS  $13.60 \pm 3.03$  months),  $p = 0.021$ .

**Conclusion.** Our results suggest that Bax overexpression in the primary colon tumor is a favorable prognostic factor associated with longer progression-free survival and OS in mCRC patients receiving first-line treatment with a triple combination of drugs.

**Key words:** molecular biomarkers, Bax, metastatic colorectal cancer, first-line treatment, chemotherapy, irinotecan, oxaliplatin, 5-fluorouracil

**For citation:** Darenskaya A.D., Dobrova N.V., Stepanova E.V. Prognostic value of Bax expression in the primary colon tumor of patients with metastatic colorectal cancer receiving first-line treatment with a triple combination of irinotecan + oxaliplatin + long-term infusion of 5-fluorouracil. *Onkologicheskaya Koloproktologiya = Colorectal Oncology* 2019;9(1):51–9.

## Введение

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 течения заболевания и предсказания эффекта проводимой терапии у больных колоректальным раком (КРР) [1–6]. 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 метастатическим колоректальным раком (мКРР) [7–21].

**Целью** настоящего исследования была оценка прогностического значения уровня экспрессии Bax в ткани первичной опухоли толстой кишки у больных мКРР, получивших в 1-й линии лекарственного лечения новый режим химиотерапии (ХТ) на основе тройной комбинации: иринотекан (Iri) + оксалиплатин (Оха) + длительная инфузия 5-фторурацила (5-FU).

## Материалы и методы

В настоящее исследование включали пациентов с мКРР, ранее не получавших лекарственного лечения по поводу диссеминированной болезни,

с морфологически (гистологически) 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 «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России новый, разработанный нами, высокоэффективный режим ХТ на основе тройной комбинации: Iri 100 мг/м<sup>2</sup> поверхности тела, внутривенно капельно, 90-минутная инфузия, дни 1 и 15 + Оха 65 мг/м<sup>2</sup> поверхности тела, внутривенно капельно, 2-часовая инфузия, дни 1 и 15 (после инфузии Iri) + 5-FU 200 мг/м<sup>2</sup>/сут, длительная непрерывная 14-дневная внутривенная инфузия с использованием помпы (№ 2) со скоростью 2 мл/ч. Интервал – 2 нед. Начало очередного курса – с 29-го дня [22–26].

Проводили оценку непосредственных и отдаленных результатов лечения.

Письменное информированное согласие пациента на участие в исследовании должно было быть получено до выполнения любых связанных с исследованием оценок или процедур.

Критериями включения в исследование также являлись удовлетворительное общее состояние пациентов (функциональный статус по шкале Восточной объединенной онкологической группы (Eastern Cooperative Oncology Group, ECOG) 0–2 балла), нормальные показатели функции кроветворения, печени и почек, отсутствие серьезной сопутствующей патологии.

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 молекулярно-биологического маркера (МБМ) Вах (Vcl-2 associated x protein) — проапоптотического белка (активатора апоптоза).

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 1:5000, буфер для «демаскировки» антигенов — 10 мМ цитратный буфер (рН 6,0).

Парафиновые срезы депарафинировали и регидратировали по стандартной методике. Для «демаскировки» антигенов проводили прогревание срезов 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.

Для дальнейшего сравнительного ИГХ-исследования выделяли 2 основных уровня иммунореактивности: низкий уровень, или редуцированная экспрессия Вах в опухоли (Вах<sup>-</sup>), и высокий уровень, или гиперэкспрессия Вах (Вах<sup>+</sup>). Используемые в работе критерии оценки уровня экспрессии Вах и разделения опухолей на положительные и отрицательные по экспрессии данного маркера были взяты из источников литературы [27]. Опухоль считали отрицательной по Вах, если в ткани опухоли отсутствовала цитоплазматическая реактивность с антителами или количество окрашенных клеток было <25 %, и положительной по Вах, если наблюдалось значимое окрашивание цитоплазмы >25 % опухолевых клеток.

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

Одним из первичных критериев для оценки непосредственной эффективности ХТ являлся ответ на проводимое лечение, который оценивали на основании критериев RECIST (Response Evaluation Criteria In Solid Tumors), редакция 1.1 [28] (с периодичностью каждые 2 мес).

Частота объективного ответа (ЧОО) опухоли на лекарственное лечение определялась как доля больных, удовлетворяющих соответствующим критериям (полная регрессия (ПР) + частичная регрессия (ЧР)) ответа при солидных опухолях (RECIST, редакция 1.1) [28], от общего числа пациентов.

Понятие контроля над болезнью объединяло частоту ПР, ЧР и стабилизации болезни (СБ).

Критерием оценки отдаленных результатов лечения являлась ОВ, которая определялась временным интервалом от даты начала лекарственного лечения по поводу метастатической болезни и до даты смерти (по любой причине) пациента или даты последнего контакта с ним (в случае выбывших из-под наблюдения пациентов) [29].

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

Длительность наблюдения за пациентами исчислялась от даты начала лекарственного лечения по поводу диссеминированной болезни до даты последней явки или смерти.

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 обследования. 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 (v. 13.0. и v. 21.0. for Windows). Производили расчет медианы времени до соответствующего события с двусторонними 95 % доверительными интервалами (ДИ). Сравнение больных, характеристик опухолей, распространенности заболевания и определение статистической достоверности различий ( $p$ ) значений признаков в группах проводили с помощью теста  $\chi^2$ , 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 Вах с выживаемостью больных мКРР также оценивали методом Каплана–Мейера. Проводили построение кривых выживаемости по Каплану–Мейеру. Достоверность различий в ОВ и ВБП между группами оценивали с помощью  $\log$ -rank-теста. Различия между группами считали достоверными при  $p < 0,05$ . Для оценки

независимости признаков и расчета сравнительного риска использовали модель пропорционального регрессионного анализа Кокса.

### Результаты

Из 20 включенных в исследование больных мКРР нами была выделена подгруппа из 17 пациентов с образцами опухолевой ткани, доступной для проведения ИГХ-исследования. Детальная клиничко-морфологическая характеристика включенных в исследование больных мКРР, в опухолевой ткани которых до начала 1-й линии лекарственной терапии (режима ХТ на основе тройной комбинации: Iгi + Оха + длительная инфузия 5-FU) изучена экспрессия Вах ( $n = 17$ ), представлена в таблице.

Оценка эффективности режима ХТ на основе тройной комбинации: Iгi + Оха + длительная инфузия 5-FU в 1-й линии лекарственной терапии проведена у всех 20 (100 %) больных мКРР. Оценка эффективности лечения проводилась у больных, получивших 2 и более курсов ХТ.

Из 20 больных мКРР, получивших в качестве 1-й линии лекарственного лечения ХТ на основе тройной комбинации: Iгi + Оха + длительная инфузия 5-FU, ПР зарегистрирована у 2 (10 %) больных (живы >3 лет), ЧР – у 15 (75 %). Таким образом, ЧОО опухоли на лечение (ПР + ЧР) составила 85 % ( $n = 17$ ). Длительная стабилизация болезни (СБ  $\geq 6$  мес) достигнута у 2 (10 %) больных, причем у 1 из них отмечено уменьшение размеров контрольных очагов на 25,2 % по критериям RECIST. Контроль над болезнью (ПР + ЧР + СБ  $\geq 6$  мес) осуществлен в 95 % случаев ( $n = 19$ ). Неэффективным лечение оказалось только у 1 больного (на фоне достигнутой СБ ПЗ обнаружено в течение 6 мес от начала 1-й линии лечения) (СБ <6 мес). При этом следует отметить, что при значительных размерах множественных метастазов в печени и легких ни у одного из 20 пациентов не было зарегистрировано рефрактерности к проводимой терапии (раннего ПЗ, зафиксированного при первом контрольном обследовании в течение 2 мес от начала 1-й линии лечения).

Разработанный новый режим 1-й линии ХТ позволил достичь высоких показателей выживаемости. При медиане длительности наблюдения за 20 больными от начала 1-й линии лекарственной терапии  $17,3 \pm 2,54$  мес (95 % ДИ 12,31–22,29) и среднем сроке наблюдения  $25,85 \pm 2,89$  мес (95 % ДИ 20,18–31,51) (от 8 до 35,8 мес) ПЗ после 1-й линии лечения отмечено у 14 (70 %) больных (на момент проведения статистического анализа). Медиана времени до прогрессирования (ВДП) достигла  $10,8 \pm 2,13$  мес (95 % ДИ 6,62–14,98) (от 3 до 34,3 мес). Медиана ОВ не достигнута, так как на момент проведения анализа 13 (65 %) из 20 больных живы, продолжают лечение и/или наблюдение, 3 (23,1 %) из которых не имеют признаков болезни. Умерли от ПЗ 7 (35 %) больных. Показатель

*Клинико-морфологическая характеристика больных метастатическим колоректальным раком, в опухолевой ткани которых до начала 1-й линии лекарственной терапии (режима химиотерапии на основе тройной комбинации: иринотекан + оксалиплатин + длительная инфузия 5-фторурацила) изучена экспрессия Vax (n = 17)*

*Clinical and morphological characteristics of patients with metastatic colorectal cancer tested for Vax expression in their tumor tissue prior to initiation of first-line treatment (triple combination chemotherapy with irinotecan + oxaliplatin + long-term infusion of 5-fluorouracil) (n = 17)*

Параметр Parameter	Значение Value
Медиана возраста больных, m ± M, лет Median age, m ± M, years	60,5 ± 7,4 (от 43 до 73) (range: 43 to 73)
Локализация первичной опухоли, n (%): Primary tumor location, n (%):	
прямая кишка rectum	6 (35,3)
ободочная кишка colon	10 (58,8)
первично-множественный синхронный рак толстой кишки multiple primary synchronous colon cancer	1 (5,9)
Первичная опухоль (pT) (в соответствии с TNM), n (%): Primary tumor stage (pT) (according to TNM classification), n (%):	
T2	1 (5,9)
T3	10 (58,8)
T4	3 (17,65)
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)	3 (17,65)
Лимфатические узлы (pN) (в соответствии с TNM), n (%): Lymph node involvement (pN) (according to TNM classification), n (%):	
N0 (поражения метастазами регионарных лимфатических узлов нет) N0 (no regional lymph node metastasis)	4 (23,5)
N1 (метастазы в 1–3 регионарных лимфатических узлах) N1 (metastases in 1–3 regional lymph nodes)	2 (11,8)
N2 (метастазы в 4 и более регионарных лимфатических узлах) N2 (metastases in ≥ 4 regional lymph nodes)	7 (41,2)
Nx (данных для оценки регионарных лимфатических узлов недостаточно) Nx (regional lymph nodes could not be assessed)	4 (23,5)
Гистологическая форма и степень дифференцировки (G) первичной опухоли*, n (%): Histological type and differentiation grade (G) of the primary tumor*, n (%):	
высокодифференцированная аденокарцинома (G <sub>1</sub> ) well differentiated adenocarcinoma (G <sub>1</sub> )	2 (11,8)
умеренно дифференцированная аденокарцинома (G <sub>2</sub> ) moderately differentiated adenocarcinoma (G <sub>2</sub> )	12 (70,5)
низкодифференцированная аденокарцинома (G <sub>3</sub> ) poorly differentiated adenocarcinoma (G <sub>3</sub> )	1 (5,9)
аденокарцинома без уточнения степени дифференцировки adenocarcinoma with unknown differentiation grade	2 (11,8)
RAS-статус опухоли, n (%): Tumor RAS mutation status, n (%):	
«дикий» wild type	6 (35,3)
мутированный mutant	11 (64,7)
Удаленная первичная опухоль, n (%) Removed primary tumor, n (%)	12 (70,5)
Выявление отдаленных метастазов колоректального рака, n (%): Identification of distant colorectal cancer metastases, n (%):	
синхронно (диагноз метастатического колоректального рака установлен одновременно с обнаружением первичной опухоли или в течение первых 3 мес после ее удаления) (≤3 мес) synchronous (the diagnosis of metastatic colorectal cancer was established simultaneously with the detection of the primary tumor or within the first 3 months after its removal)	15 (88,2)
метахронно (≥3 мес после радикального оперативного вмешательства на первичной опухоли) metachronous (≥ 3 months after radical surgery for primary tumor)	2 (11,8)

Окончание таблицы  
End of the table

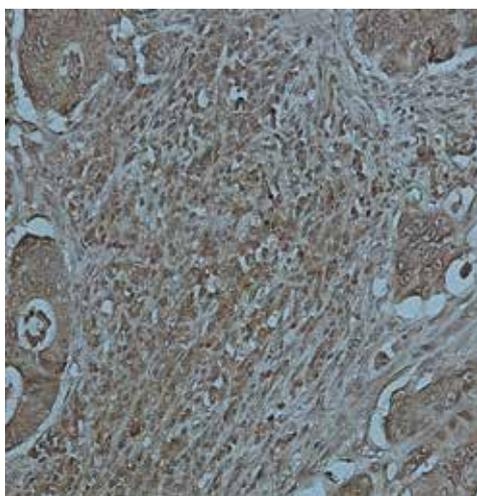
Параметр Parameter	Значение Value
Локализация отдаленных метастазов, n (%): Location of distant metastases, n (%):	
изолированное поражение легких lungs (isolated lesion)	1 (5,9)
изолированное поражение печени liver (isolated lesion)	9 (52,9)
печень + метастатическое поражение других органов liver + metastases to other organs	7 (41,2)
Исходный уровень раково-эмбрионального антигена до начала химиотерапии (нг/мл), n (%): Baseline level of oncofetal antigen prior to chemotherapy initiation (ng/mL), n (%):	
норма (<5) normal (<5)	3 (17,7)
5–100	5 (29,4)
101–1000	5 (29,4)
1001–10000	4 (23,5)

\*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 пациента с первично-множественными синхронными опухолями толстой кишки).

\*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 the patient with multiple primary synchronous colon tumors).

1-летней ОВ составил 88,9 %. Двое (10 %) больных, наблюдавшихся <1 года (8,0–11,2 мес) с момента начала 1-й линии ХТ на основе тройной комбинации, были исключены из анализа данных 1-летней ОВ.

У 13 (76,5 %) из 17 включенных в исследование больных мКРР, получивших в качестве 1-й линии лекарственного лечения новый режим ХТ на основе тройной комбинации, в ткани первичной опухоли толстой кишки наблюдалась высокая экспрессия Вах (рис. 1).



**Рис. 1.** Иммуногистохимическое исследование: высокая экспрессия Вах (3<sup>+</sup>) в опухолевой ткани рака толстой кишки. Наличие цитоплазматического окрашивания высокой интенсивности 100 % опухолевых клеток

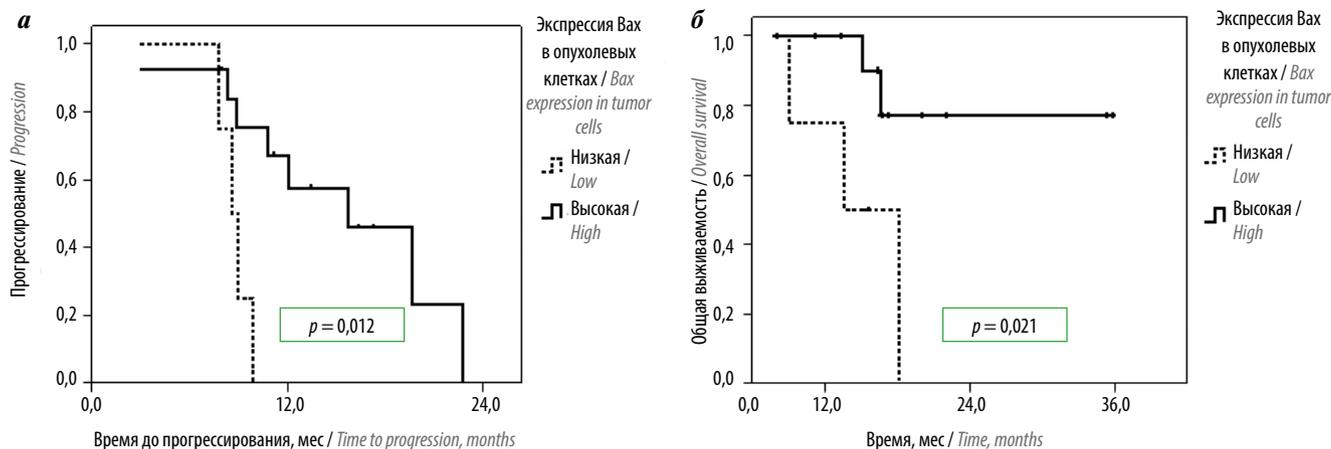
**Fig. 1.** Immunohistochemical examination: high level of Bax expression (3<sup>+</sup>) in colon tumor tissue. Highly intensive cytoplasmic staining in 100 % of tumor cells

Полученные в нашем исследовании данные по экспрессии Вах были сопоставлены с непосредственными и отдаленными результатами лекарственного лечения (ЧОО, ВДП, ОВ).

Оценить влияние экспрессии маркера в опухоли у 17 больных мКРР на непосредственную клиническую эффективность 1-й линии ХТ на основе тройной комбинации не представлялось возможным, так как подгруппы оказались неравнозначны по числу пациентов (объективный эффект наблюдался у 15 больных, СБ – у 2 больных).

При анализе влияния экспрессии Вах в опухоли на ВДП заболевания у больных мКРР на фоне 1-й линии ХТ с использованием тройной комбинации обнаружено, что высокая экспрессия Вах является благоприятным фактором, прогнозирующим увеличение ВДП: медиана ВДП после 1-й линии ХТ на основе тройной комбинации у больных с гиперэкспрессией Вах в опухоли (Вах<sup>+</sup>) была достоверно выше, чем у пациентов с низкой экспрессией Вах или ее отсутствием (Вах<sup>-</sup>) – 15,7 ± 3,38 мес (95 % ДИ 9,07–22,33) против 8,6 ± 0,6 мес (95 % ДИ 7,42–9,78) (ПЗ – у 8 (61,5 %) из 13 больных и у всех 4 (100 %) пациентов соответственно), *p* = 0,012 (рис. 2а).

При анализе корреляции экспрессии Вах в опухоли с ОВ выявлено увеличение ОВ больных мКРР с гиперэкспрессией Вах в опухоли (при медиане наблюдения 17,3 ± 2,54 мес медиана ОВ не достигнута (на момент анализа данных 11 (84,6 %) из 13 больных живы, продолжают лечение и/или наблюдение), среднее значение – 31,26 ± 2,85 мес (95 % ДИ 25,67–36,85)) по сравнению с пациентами, у которых отмечалась



**Рис. 2.** Время до прогрессирования (а) и общая выживаемость (б) больных метастатическим колоректальным раком в зависимости от экспрессии Вах в ткани первичной опухоли

**Fig. 2.** Time to progression (a) and overall survival (б) of patients with metastatic colorectal cancer depending on the level of Bax expression in the primary tumor

низкая экспрессия Вах или ее отсутствие (жив лишь 1 (25 %) из 4 пациентов) (медиана ОВ составила 13,60 ± 3,03 мес (95 % ДИ 7,66–19,55)),  $p = 0,021$  (рис. 2б).

Таким образом, по нашим данным, гиперэкспрессия Вах в ткани первичной опухоли толстой кишки показала себя как фактор благоприятного прогноза ВБП и ОВ больных мКРР, получивших в качестве 1-й линии лекарственного лечения новый режим ХТ на основе тройной комбинации: Iгi + Оха + длительная инфузия 5-FU.

### 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, часто противоречивые сообщения о прогностическом 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 время 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 внутриопуховую гетерогенность. Представляя собой результат клонального разнообразия в пределах одного новообразования, внутриопуховая гетерогенность может проявляться в неоднородности генетического статуса, экспрессии белков, морфологии и других характеристик опухоли. Внутриопуховая 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 изучено прогностическое значение уровня экспрессии Вах в ткани первичной опухоли толстой кишки у больных мКРР: проанализировано влияние экспрессии Вах в опухоли на ВБП и ОВ больных мКРР. В нашей работе было установлено, что у больных мКРР, получивших в 1-й линии лекарственного лечения режим ХТ на основе тройной комбинации: Iгi + Оха + длительная инфузия 5-FU, высокая экспрессия маркера в ткани первичной опухоли толстой кишки коррелировала с увеличением ВДП ( $p = 0,012$ ), а также являлась фактором благоприятного прогноза ОВ ( $p = 0,021$ ). Следует подчеркнуть, что впервые в мире получены сведения о корреляции экспрессии Вах в ткани первичной опухоли толстой кишки и эффективности режима 1-й линии ХТ на основе тройной комбинации: Iгi + Оха + длительная инфузия 5-FU у больных мКРР, и, как следствие, продемонстрирована возможность использования данного МБМ для оценки течения

опухолевого процесса и прогноза ВБП и ОВ данной группы больных.

На основании полученных в работе результатов выделены группы благоприятного и неблагоприятного прогноза течения опухолевого процесса. Разделение пациентов с диссеминированным КРР по прогнозу заболевания позволяет выбрать оптимальную лечебную тактику. Принадлежность пациента (по результатам оценки уровня экспрессии Вах) 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, нами разработан подход для индивидуализации ХТ пациентов с диссеминированным КРР на основе оценки уровня экспрессии Вах.

При изучении экспрессии Вах в ткани первичной опухоли толстой кишки у больных мКРР, получивших в 1-й линии лекарственного лечения режим ХТ на основе тройной комбинации, 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.

## Выводы

В 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 лечения и продолжительность жизни, но и улучшит качество жизни больных КРР.

Проведенное нами исследование позволило на основании полученных данных выделить маркер (Вах), который в перспективе может быть использован в реальной клинической практике для индивидуального прогнозирования течения заболевания у больных мКРР. Однако, учитывая относительно небольшое число больных, включенных в наше исследование, необходимо дальнейшее изучение и подтверждение выявленных нами закономерностей для более точного прогнозирования и улучшения результатов лечения опухолей данной локализации.

Кроме того, взаимодействие различных маркеров и их суммарная значимость для прогноза течения заболевания остаются недостаточно изученными. Нужны дополнительные комплексные исследования экспрессии МБМ для более точного определения их клинической значимости. Исследование комплекса маркеров поможет с большей точностью оценить метастатический потенциал опухоли и ее агрессивность. Дальнейшие разработки в этой области помогут разрешить оставшиеся вопросы и оптимизировать лечебные подходы в отношении разных групп пациентов.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Baldus S.E. Clinical, pathological and molecular prognostic factors in colorectal carcinomas. *Pathologie* 2003;24(1):49–60. PMID: 12601478. DOI: 10.1007/s00292-002-0592-7.
2. Bianco A.R., Carlomagno C., de Laurentiis M. et al. Prognostic factors in human colorectal cancer. *Tumori* 1997;83(1 Suppl):S15–8.
3. 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.
4. Piard F., Martin L., Chapusot C. et al. New histologic prognostic factors in colorectal cancer. *Gastroenterol Clin Biol* 2002;26(Suppl 5):B62–73. PMID: 12068272.
5. 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.
6. 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.)].
7. Даренская А.Д., Доброва 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.)].
8. Даренская А.Д., Доброва Н.В., Степанова Е.В. Влияние гиперэкспрессии топоизомеразы II $\alpha$  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. [Darenskaya A.D., Dobrova N.V., Stepanova E.V. Impact of topoisomerase II $\alpha$  overexpression in the primary colon tumor on the prognosis of metastatic colorectal cancer. *Onkologicheskaya koloproktologiya = Colorectal oncology* 2018;8(3):26–35. (In Russ.)].
9. Даренская А.Д., Доброва Н.В., Степанова Е.В. Топоизомераза II $\alpha$  (ТопоII $\alpha$ ) как фактор прогноза у больных метастатическим колоректальным раком, получивших в I линии лекарственного лечения режим х/т на основе оксалиплатина + капецитабина. *Злокачественные опухоли* 2018;8(3 Suppl 1):155. [Darenskaya A.D., Dobrova N.V., Stepanova E.V. Topoisomerase II $\alpha$  (ТопоII $\alpha$ ) as

- a prognostic factor in patients with metastatic colorectal cancer receiving first-line treatment with oxaliplatin + capecitabine. *Zlokachestvennyye opukholi = Malignant Tumors* 2018;8(3 Suppl 1):155. (In Russ.).
10. Даренская А.Д., Доброва 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 = Pharmateka* 2018;7(360):33–9. (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):385–8.
  13. Ahmed F.E., Vos P.W., Holbert D. Modeling survival in colon cancer: a methodological review. *Mol Cancer* 2007;6(1):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. *Mod 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(3):199–209. PMID: 15738983. DOI: 10.1038/nrc1545.
  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(4):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. 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.)].
  21. 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.)].
  22. Даренская А.Д., Доброва Н.В. Первый опыт применения нового режима химиотерапии на основе тройной комбинации: иринотекан + оксалиплатин + длительная инфузия 5-фторурацила в I линии лекарственной терапии метастатического колоректального рака. Онкологическая колопроктология 2018;1:50–66. DOI: 10.17650/2220-3478-2018-8-1-50-66. [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.)].
  23. Даренская А.Д., Доброва 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.)].
  24. Darenskaya A., Dobrova N.V., Lichinitser M.R. 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):e14617.
  25. 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.)].
  26. Даренская А.Д., Доброва 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 = Pharmateka* 2016;8:93–9. (In Russ.)].
  27. 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.)].
  28. 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.
  29. Guidance for Industry Clinical Trial Endpoints for the Approval of Cancer Drugs and Biologics. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research, Center for Biologics Evaluation and Research, 2007.

**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.