

**НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ПАТОЛОГІЇ, ОНКОЛОГІЇ
І РАДІОБІОЛОГІЇ ім. Р.Є. КАВЕЦЬКОГО**

ГЛЯНЬКО МИХАЙЛО ВАСИЛЬОВИЧ

УДК: 616-006.6:615.28+577.2

**Індивідуалізація комбінованого лікування хворих на рак
прямої кишки: молекулярно-біологічні аспекти**

14.01.07 – онкологія

АВТОРЕФЕРАТ

дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук



Київ – 2021

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Інституті експериментальної патології, онкології і радіобіології ім.Р.Є.Кавецького НАН України та на базі КНП «Обласне територіальне медичне об'єднання м.Краматорська» МОЗ України.

Науковий керівник

- член-кореспондент НАМН України, доктор медичних наук, професор **Думанський Юрій Васильович**, головний науковий співробітник відділу моніторингу пухлинного процесу та дизайну терапії Інституту експериментальної патології, онкології і радіобіології ім.Р.Є.Кавецького НАН України.

Офіційні опоненти:

- доктор медичних наук, професор **СОРОКІН Богдан Вікторович**, професор кафедри онкології Національної медичної академії післядипломної освіти ім.П.Л. Шупика МОЗ України;
- доктор медичних наук **ЛУКАШЕНКО Андрій Володимирович**, заступник директора з організаційно-методичної роботи, завідувач відділення пухлин органів черевної порожнини та заочеревинного простору Національного інституту раку МОЗ України.

Захист відбудеться 24 березня 2021 р. о 13 год. 30 хвилин на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.155.01 в Інституті експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р. Є. Кавецького НАН України (03022, м. Київ, вул. Васильківська, 45).

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці ІЕПОР ім. Р. Є. Кавецького НАН України.

Автореферат розісланий « » березня 2021р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради
кандидат біологічних наук



Л.М.Шлапацька

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність роботи. На сьогодні в Україні, як і у всьому світі, спостерігається ріст захворюваності на рак прямої кишки (РПК), чому сприяє стрімка урбанізація та глобалізація технократичного суспільства. Висока смертність серед даної категорії хворих обумовлена, в першу чергу, відсутністю ефективних скринінгових програм раннього виявлення пухлин, специфікою клінічного перебігу, синхронним метастазуванням. Згідно даних Національного канцерреєстру в 2018 році зареєстрований показник загальної кількості захворювання на РПК склав 19,2 випадки на 100 тисяч населення, що відповідає європейським і світовим тенденціям [[http: // www.ncru.inf.ua/publications/ BULL_20/ PDF/30-31-pka.pdf](http://www.ncru.inf.ua/publications/BULL_20/PDF/30-31-pka.pdf)].

За останні роки внаслідок значного прогресу в галузі фундаментальної онкології ідентифіковані та охарактеризовані ключові механізми канцерогенезу, досліджено експресію окремих маркерів злоякісно трансформованих клітин, що функціонально пов'язані з їх біологічними властивостями та чутливістю до протипухлинних впливів. При цьому стало зрозумілим, що РПК є гетерогенним захворюванням як за агресивністю перебігу пухлинного процесу, так і за відповіддю на хіміотерапевтичні агенти.

Не дивлячись на те, що впродовж останнього десятиріччя спостерігається стрімке збільшення арсеналу хіміопрепаратів та їх включення в схеми лікування, медіана виживаності хворих складає близько 18 - 24 міс (P. Rawla et al., 2019; F.Bray et al., 2018; M. Arnold et al., 2018). При цьому виживаність хворих була і залишається провідним показником якості їх лікування. Вибір медикаментозного лікування хворих на РПК ґрунтується, як правило, на клінічних рекомендаціях, розроблених доказовою медициною, основним недоліком яких є відсутність урахування індивідуальних особливостей як організму, так і пухлини, що супроводжується зниженням очікуваної ефективності лікування поряд із збільшенням токсичних проявів.

Оскільки сьогодні відсутні абсолютні ознаки чутливості та резистентності пухлини до терапевтичних препаратів, без урахування яких ймовірність помилки при виборі терапії для конкретного хворого достатньо висока, то не викликає сумніву необхідність переходу до персоналізованої медицини із оцінкою молекулярно-генетичних прогностичних та предиктивних маркерів. Такий підхід дозволить вірно використовувати арсенал цитостатичної терапії та раціонально підійти до лікування кожної окремої людини (В.Ф.Чехун 2012; M. Duffy 2015; D. Graham et al., 2016).

Існує велика кількість потенційних маркерів перебігу пухлинного процесу: антигени проліферації, маркери пухлинної супресії, синтезу і пошкодження ДНК, фактори росту і їх рецептори, білки, що асоційовані з інвазією, міграцією та метастазуванням злоякісних клітин (F. Sinicrope et al., 2016; M.Sideris et al. 2014). Втім, лишаються питання про найбільш

інформативні прогностичні молекулярно-біологічні маркери, що відображають ефективність лікування хворих. Відбір панелі саме таких маркерів дав би можливість створення адекватного алгоритму протипухлинної терапії хворих.

Особливістю солідної пухлини є її біологічна неоднорідність або гетерогенність (Z.Zhai et al., 2017; A. Albini et al., 2015): перебіг пухлинного процесу може розвиватись по різному навіть у межах однорідної групи пацієнтів, при цьому молекулярний профіль, що є унікальною характеристикою пухлини конкретного хворого, може змінюватися протягом розвитку захворювання. Такі зміни обумовлюють появу нових фенотипових особливостей пухлини, а інформація про молекулярно-біологічну характеристику пухлини стає необхідним компонентом при виборі оптимальної терапії нарівні з основними методами обстеження. Враховуючи вищевказані проблеми, ми вважали за доцільне зосередити свою увагу на пошуку прогностичних і предиктивних маркерів пухлинних клітин (ПК) для диференційного підходу при індивідуалізованому виборі схем лікування хворих на РПК.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Дисертаційна робота виконана в Інституті експериментальної патології, онкології і радіобіології ім.Р.Є.Кавецького НАН України у відповідності до плану науково-дослідних робіт Інституту за наступними темами: 2.2.5.225 «Клітинний банк ліній з тканин людини та тварин. Збереження та забезпечення належного функціонування клітинного банку як об'єкту НН. Характеристика нових клітинних моделей» (2009-2013 рр.); 2.2.5.365 «Роль мікрооточення пухлинних клітин у контролі організмом поведінки «прихованих» мікрометастазів» (2012-2016 рр.; державний реєстраційний номер 0112U002193); 2.2.5.385 «Пригнічення злоякісного фенотипу пухлинних клітин шляхом модифікації програми епітеліально-мезенхімального переходу біологічно активними чинниками» (2014-2016 рр.; державний реєстраційний номер 0113U008332) та на базі КНП «Обласне територіальне медичне об'єднання м.Краматорська» МОЗ України.

Мета. Підвищення ефективності лікування хворих на рак прямої кишки шляхом застосування індивідуалізованих схем поліхіміотерапії із урахуванням особливостей експресії маркерів, асоційованих із чутливістю/резистентністю до протипухлинних чинників та ступенем злоякісності пухлин.

Задачі дослідження:

1. Дослідити експресію білків, асоційованих із чутливістю/резистентністю до протипухлинних чинників - ERCC1, Торо Іа, та маркерів, що опосередковують адгезивні властивості клітин – Е-кадгерину, Twist, у пухлинних клітинах хворих на РПК з урахуванням клініко-морфологічної характеристики хворих, клінічним перебігом захворювання та 3-річною загальною виживаністю.

2. Проаналізувати експресію різних варіантів комбінацій наявності/відсутності експресії маркерів, що обумовлюють медикаментозну стійкість та адгезивні властивості пухлинних клітин, та визначити їх інформативність при прогнозуванні клінічного ефекту після проведеного комплексного лікування з використанням платиновмістної схеми поліхіміотерапії у хворих на РПК.

3. Визначити інформаційність порогових значень рівня експресії E-кадгерину, Торо II α та ERCC1 і сформулювати групи хворих із різним ступенем ризику виникнення прогресії захворювання після застосування платиновмістної схеми поліхіміотерапії.

4. Індивідуалізувати схеми медикаментозного лікування хворих на РПК після проведеного радикального хірургічного лікування, зважаючи на профіль експресії досліджуваних маркерів чутливості/резистентності до хіміопрепаратів та адгезії.

5. Порівняти ефективність лікування індивідуалізованої та стандартної поліхіміотерапії на основі препаратів платини у хворих на РПК після проведеного радикального хірургічного лікування.

Об'єкт дослідження – рак прямої кишки.

Предмет дослідження – зв'язок між профілем експресії маркерів, що визначають адгезивний потенціал пухлинних клітин, чутливість/резистентність до дії хіміопрепаратів, та клінічною ефективністю різних схем поліхіміотерапії у комплексному лікуванні хворих на РПК.

Методи дослідження: загальні клінічні дослідження проводили для характеристики хворих, формування груп порівняння та подальшої оцінки зв'язку експресії маркерів із клінічними характеристиками хворих (вік, стадія, стать та ін.). Стадію захворювання та характер поширення пухлинного процесу оцінювали шляхом проведення КТ органів грудної клітки, органів черевної порожнини, органів малого тазу до початку лікування, МРТ органів малого тазу, ультразвукового дослідження органів черевної порожнини, а також трансректального дослідження структури прямої кишки. Дослідження експресії E-кадгерину, Торо II α , ERCC1, Twist проводили на парафінових зрізах біопсійного та операційного матеріалу імуногістохімічним методом. Статистичні методи аналізу використовували для оцінки достовірності відмінностей показників експресії досліджених маркерів та клініко-морфологічних параметрів.

Наукова новизна отриманих результатів.

Набули подальшого розвитку питання щодо персоніфікованого лікування хворих на РПК, які базуються на впровадженні індивідуалізованих схем поліхіміотерапії (ПХТ) із урахуванням експресії маркерів чутливості/резистентності до дії хіміопрепаратів та адгезії.

Доповнено наукові дані щодо можливості прогнозування перебігу захворювання у хворих на РПК за допомогою оцінки маркерів, що

співвідносять з інвазивним потенціалом злоякісних клітин - Е-кадгерином, та лікарською резистентністю - ERCC1 і Торо П α . Використовуючи ряд статистичних методів, встановлено достовірність позитивного прогнозу щодо характеру перебігу пухлинного процесу та виживаності пацієнтів за наявності лише Е-кадгерин-позитивних клітин у пухлині, тоді як наявність Торо П α та/або ERCC1 в ПК достовірно погіршує ці показники.

Доведено високу інформативність певних комбінацій фенотипових маркерів ПК, які свідчать про покращення (Е-кадгерин⁺/ERCC1⁻, Е-кадгерин⁺/Торо П α ⁻) або погіршення прогнозу (Е-кадгерин⁻/ERCC1⁺ та Е-кадгерин⁻/Торо П α ⁺) перебігу захворювання із, відповідно, збільшенням або зменшенням частоти і тривалості випадків безрецидивного періоду.

Вперше показано значимість комплексного врахування статусу експресії Е-кадгерину, Торо П α та ERCC1 при формуванні груп підвищеного ризику виникнення прогресії захворювання серед хворих на РПК. Вперше науково обґрунтовано доцільність застосування індивідуалізованих платиновмістних схем ПХТ після проведеного радикального хірургічного лікування хворих із Е-кадгерин⁺/ERCC1⁻/Торо П α ⁻ фенотипом ПК. В той же час наявність експресії хоч би одного із маркерів чутливості/резистентності до хіміопрепаратів значно підвищує ймовірність погіршення виживаності хворих.

Практичне значення отриманих результатів.

На основі даних дисертаційної роботи виділено найбільш інформативні прогностичні маркери, асоційовані з інвазивним потенціалом клітин та лікарською резистентністю, щодо перебігу пухлинного процесу та індивідуальної корекції стратегії лікування хворих на РПК. Отримані дані дозволяють цілеспрямовано скорегувати інтенсивність і обсяг планованого лікування пацієнта з РПК після оперативного втручання, отримавши максимально високу відповідь на проведену ПХТ. Результат використання алгоритму підбору схем хіміотерапевтичного лікування у хворих на РПК із урахуванням варіанта комбінації наявності/відсутності експресії найбільш інформативних імунофенотипових характеристик клітин, таких як Е-кадгерин, Торо П α та ERCC1, дозволив знизити ризик виникнення прогресії захворювання у пацієнтів. Згідно показників загальної 3-річної виживаності та характеру перебігу захворювання найбільш ефективним є застосування платиновмістних схем ПХТ у хворих на РПК із фенотипом ПК Е-кадгерин⁺/ERCC1⁻/Торо П α ⁻. Результати дослідження впроваджені у ряді закладів МОЗ України, зокрема Львівському клінічному регіональному онкологічному центрі, Прикарпатському клінічному онкологічному центрі, Рівненському обласному протипухлинному центрі, Краматорському онкологічному диспансері.

Особистий внесок здобувача. Автор брав участь у плануванні дисертаційної роботи, виконував наукові дослідження, проводив клінічні дослідження, хірургічне лікування хворих, розробляв варіанти ад'ювантної ПХТ. Дисертант самостійно проводив статистичну обробку отриманих даних;

брав участь в теоретичному узагальненні результатів та порівнював їх з даними літератури, здійснював підготовку матеріалів, що висвітлюють результати досліджень для їх публікацій, а також у підготовці матеріалу і формулюванні основних наукових положень та висновків дисертації.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертації були представлені та обговорені на: 7th International Scientific Interdisciplinary Conference for medical students and young scientists (Kharkiv, 2014), науково-практичній конференції “Внесок молодих вчених і спеціалістів у розвиток медичної науки і практики: нові перспективи” (Харків, 2015), Науково-практичній конференції “Мінімальна залишкова хвороба при солідних пухлинах (Київ, 2015); науково-практичній конференції “Індивідуалізація медикаментозного лікування хворих на солідні пухлини (Рівне, 2018).

Публікації. За темою дисертаційної роботи опубліковано 9 наукових робіт, зокрема 6 статей в наукових фахових виданнях, затверджених МОН України, серед яких 3 статті в журналах, що включені до міжнародних наукометричних баз, 3 тез матеріалів наукових конференцій та з’їздів.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота викладена на 168 сторінках машинописного тексту і складається із вступу, огляду літератури, розділу матеріалів і методів дослідження, 5 підрозділів результатів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів власних досліджень, висновків та списку літератури, який включає 194 посилань, у тому числі 168 зарубіжних. Дисертаційна робота ілюстрована 23 рисунками та 51 таблицею.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали та методи дослідження.

Клініко-морфологічна характеристика хворих. Дисертаційна робота ґрунтується на результатах обстеження та лікування 135 хворих на РПК, які проходили лікування в Краматорському міському онкологічному диспансері (з 2020 року КНП «Обласне територіальне медичне об’єднання м. Краматорська» МОЗ України) протягом 2009-2018 років.

Всі хворі були проінформовані про обстеження та надали письмову згоду на використання клінічного матеріалу в дослідницьких цілях. Програма досліджень була схвалена комісіями з біоетики Краматорського міського онкологічного диспансера МОЗ України та ІЕПОР ім.Р.Є.Кавецького НАН України.

Визначення стадії пухлинного захворювання і його поширеність проводили за міжнародною системою TNM (7-видання, 2009 рік). У дослідну групу були включені хворі на РПК зі стадією перебігу хвороби $T_{1-4}N_{0-2}M_0$. Середній вік пацієнтів склав 56 ± 24 років (від 32 до 80 років). Серед хворих була 61 жінка (45%) і 74 чоловіків (55%). Розподіл хворих проводили із врахуванням стадії захворювання, статусу експресії маркерів у гістологічному матеріалі і характеру перебігу хвороби. Верифікацію діагнозу проводили шляхом морфологічного дослідження біопсійного матеріалу прямої кишки до початку лікування, а також зразків, отриманих після

хірургічного втручання.

Стадію захворювання та характер поширення пухлинного процесу оцінювали шляхом проведення КТ органів грудної клітки, органів черевної порожнини, органів малого тазу до початку лікування, МРТ органів малого тазу, ультразвукового дослідження органів черевної порожнини, а також трансректального дослідження прямої кишки.

Характер променевого та хірургічного лікування

Всі хворі проходили лікування у відповідності до існуючих стандартів, затверджених наказом МОЗ України за № 554 від 17.09.2007 р.

За варіантом первинного лікування у 135 пацієнтів був проведений передопераційний дрібно фракційний курс телегаматерапії (ТГМ) (СВД 40-50 Грей). Клінічна відповідь оцінювалась не раніше ніж через 30 діб по завершенню променевої терапії. Оперативне лікування проводили через 30-60 діб після закінчення променевої терапії. Клінічну ефективність передопераційної променевої терапії визначали за допомогою проведення КТ органів черевної порожнини та органів малого тазу, а також МРТ органів малого тазу перед початком хірургічного лікування.

Характер хірургічного лікування залежав від локалізації пухлинного процесу, а також ступеня регресії на проведену променеву терапію. За об'ємом оперативних втручань були проведені: черезчеревна резекція прямої кишки – 37 (27,4%) хворим, низька передня резекція – 16 (11,6%) хворим, черевно-анальна резекція прямої кишки із низведенням ободової кишки на проміжність – 15 (11,1%) хворим, проктектомія із формуванням колоанального анастомозу в 8 (5,9%) випадках, екстирпація прямої кишки – 48(35,5%) хворим, обструктивна резекція прямої кишки – 11 (8,1%) хворим.

Характер медикаментозного лікування.

Післяопераційна ад'ювантна ПХТ проведена 135 хворим на РПК за схемами FOLFOX-6 (n=112) та/або FOLFIRI (n=23).

Для передбачення ефективності однієї зі стандартних ад'ювантних схем ПХТ FOLFOX-6 чи FOLFIRI шляхом визначення статусу експресії ряду маркерів ПК, було сформовано три групи хворих на РПК (рис.1):

1) ***ретроспективна група*** - 50 хворих, у яких було проведено дослідження рівня експресії маркерів, що опосередковують адгезивні властивості клітин, та маркерів медикаментозної резистентності в ПК і застосована ад'ювантна стандартна схема ПХТ **FOLFOX-6**;

2) ***проспективна група хворих*** - 53 хворих, у яких також були проведені дослідження експресії маркера адгезії Е-кадгерину та маркерів медикаментозної резистентності Торо ІІа і ERCC1 в ПК. В залежності від профілю експресії Е-кадгерину, Торо ІІа і ERCC1 у хворих даної групи застосовувались індивідуалізовані схеми ПХТ **FOLFOX-6** (30 хворих) або **FOLFIRI** (23 хворих);

3) ***контрольна група хворих*** - 32 хворих, у яких не проводилось дослідження експресії маркерів ПК, а післяопераційна ПХТ проведена за стандартною схемою FOLFOX-6.

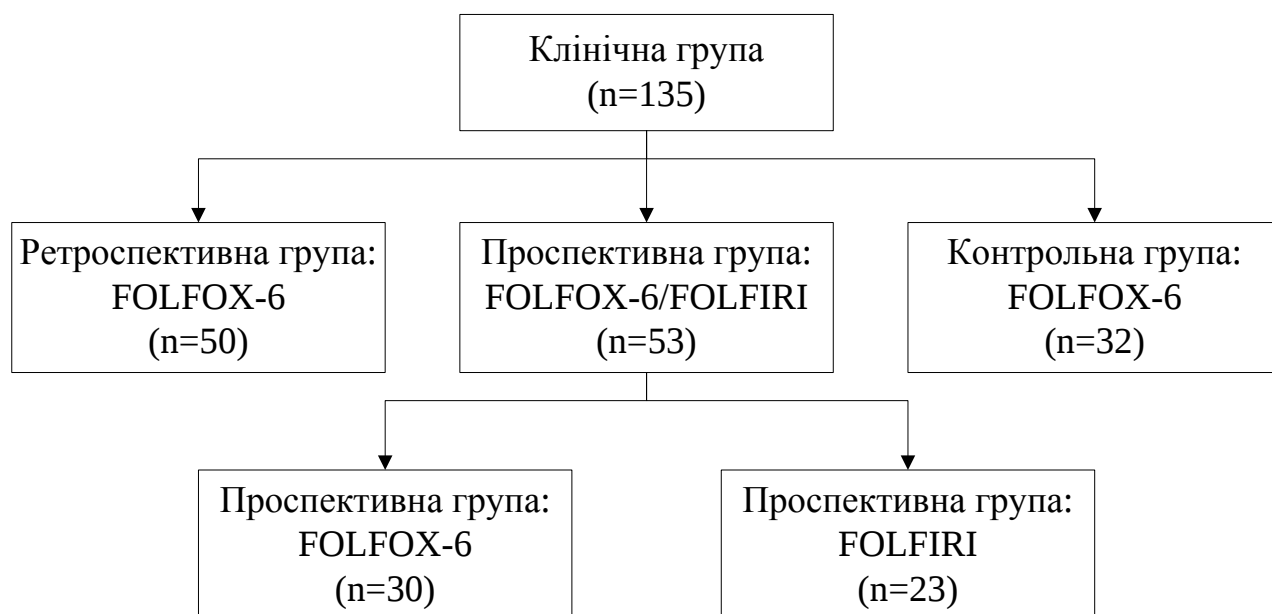


Рис. 1. Дизайн клінічного дослідження

Клініко-морфологічна характеристика хворих на РПК ретроспективної, проспективної та контрольної груп представлена в табл.1.

У 65 із 135 (48,1%) хворих протягом 36 місяців спостереження від початку лікування було встановлено прогресію захворювання. 43 із 65 хворим із метастатичним ураженням печінки була призначена паліативна ПХТ фторпіримідинами у поєднанні з лейковорином - схема **ROSWELL PARK** (5-фторурацил 600 мг/м², в/в протягом 1-2 хв через 1 год після інфузії лейковорина, 1 раз кожні 6 тижнів; 4 курси з інтервалами у 2 місяці), при цьому 26 із 43 хворих лікування було доповнене включенням у лікувальні схеми препарату Ербісол ультра-фарм. Хворі з місцевим рецидивом хвороби (7 із 65) отримали курс ТГТ через 18-36 місяців після комплексного лікування та курси ПХТ за схемою ROSWELL PARK. Серед 15 хворих ретроспективної групи була застосована паліативна ПХТ, яка передбачала конверсію стандартної схеми FOLFOX-6 на схему FOLFIRI.

Імуногістохімічні дослідження проведенні на парафінових зрізах біоптатів пухлин до початку лікування і фрагментах видалених пухлин хворих із використанням моноклональних антитіл до Е-кадгерину, Торо Іа, ERCC1 (Thermo Scientific, США), Twist (GenTex, США). Детекцію продукту імуногістохімічної реакції проводили із використанням системи візуалізації Poly Vue та хромогену 3,3'-діамінобензидин (ThermoScientific, ОПТЕК) відповідно до рекомендацій фірми-виробника.

Результат імуногістохімічної реакції оцінювали за допомогою методу H-Score (R. A. McClelland et al., 1991), показник якого варіює в межах від 0 (відсутність експресії) до 300 (високий рівень експресії в 100% клітин). Дані дослідження проведенні за участі співробітників ІЕПОР ім. Р.С. Кавецького НАН України.

Таблиця 1

**Клініко-патологічна характеристика хворих на РПК
ретроспективної, проспективної та контрольної груп дослідження**

Характеристики		Ретроспективна група n=50/100%	Проспективна група n=53/100%	Контрольна група n=32/100%
		<i>Кількість хворих, n/%</i>		
Стать	чоловіки	26 /52%	28 /53,0%	17 /54,0%
	жінки	24 /48%	25 /47,0%	15 /46,0%
Середній вік		57,2±11,7	56,2 ± 24,6	53,8 ± 18,4
		<i>Локалізація пухлинного процесу в прямій кишці</i>		
Верхньоампулярний відділ		27 /54%	29 /54,7%	17 /53,1%
Середньоампулярний відділ		15 /30%	5 /9,4%	7 /21,9%
Нижньоампулярний відділ		8 /16%	19 /35,9%	8 /25%
		<i>Ступінь диференціювання пухлини</i>		
Високий – G1		15 /30%	18 /34,0%	14 /43,7%
Середній – G2		22 /44%	25 /47,2%	12 /37,5%
Низький – G3		13 /26%	10 /18,8%	6 /18,8%
		<i>Стадія захворювання</i>		
I	T ₂ N ₀ M ₀	4 /8,0%	1 /1,9%	0 /0
II-A	T ₃ N ₀ M ₀	24 / 48,0%	28 /52,8%	16 /50%
II-B	T ₄ N ₀ M ₀	2 /4,0%	4 /7,5%	3 /9,4%
III-A	T ₁ N ₁ M ₀	3 /6,0%	4 /7,5%	1 /3,1%
	T ₂ N ₁ M ₀	7 /14,0%	6 /11,3%	4 /12,5%
	T ₂ N ₂ M ₀	3 /5,0%	2 /3,8%	1 /3,1%
III-B	T ₃ N ₁ M ₀	5 /10,0%	6 /11,3%	6 /18,8%
	T ₃ N ₂ M ₀	2 /4,0%	2 /3,8%	1 /3,1%
	T ₄ N ₁ M ₀	0 /0%	0	0
	T ₄ N ₂ M ₀	0 /0%	0	0

Статистична обробка результатів. Для оцінки достовірності відмінностей показників експресії досліджених маркерів та клініко-морфологічних параметрів використовували t-критерій Стьюдента. Кореляційний аналіз проводили шляхом визначення коефіцієнта кореляції Спірмена (r), критерія χ^2 Пірсона. Вибір коефіцієнта відбувався після перевірки типу розподілу даних за допомогою статистичного критерію Колмогорова-Смірнова. Виживаність хворих та перебіг пухлинного процесу оцінювали за методом Каплана-Майєра, достовірність відмінностей між кривими – за log-rank test. Для визначення рівня експресії маркерів пухлинних пухлин, які є граничними для віднесення пацієнтів до групи підвищеного ризику, застосовано ROC-аналіз. Для прогнозування перебігу

пухлинного процесу в залежності від фенотипових характеристик клітин застосовано метод бінарної логістичної регресії, який дозволяє розраховувати ймовірність настання деякої події і можливість віднести хворого до групи низького або високого ризику Розрахунок проводили за формулою:

$$p = \frac{1}{1+e^{-y}},$$

де p – розрахована ймовірність настання деякої події (в нашому випадку настання прогресу або смерть хворого), e – основа натуральних логарифмів 2,713, y – стандартне рівняння регресії. Розрахована ймовірність приймає значення в межах від 0 до 1. При значеннях $p > 0,5$, припускається, що подія з високою ймовірністю настане, в протилежному випадку – що ні.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Аналіз перебігу захворювання у хворих на РПК в залежності від експресії маркерів, асоційованих із адгезивними властивостями клітин та медикаментозною резистентністю (ретроспективна група). Актуальність пошуку предиктивних маркерів чутливості клітин пухлини до компонентів схем медикаментозного лікування обумовлена розробкою ефективного алгоритму протипухлинної терапії хворих. Враховуючи зазначене, нами, перш за все, була досліджена експресія маркерів, що обумовлюють адгезивний потенціал клітин - E-кадгерину, Twist, а також маркерів, асоційованих із чутливістю до протипухлинних чинників - ERCC1 і Торо IIa (табл.2), у ПК 50 хворих на РПК (стадія T₁₋₄ N₀₋₂ M₀) ретроспективної групи та вивчено зв'язок між показниками експресії цих маркерів із клініко-морфологічними характеристиками хворих, клінічним статусом пацієнта (наявність або відсутність прогресії захворювання) та їх 3-річною загальною виживаністю. Аналіз результатів обстеження і лікування пацієнтів проводили шляхом вивчення документації історій хвороб та карт амбулаторного спостереження хворих.

Таблиця 2

Розподіл хворих ретроспективної групи за статусом експресії маркерів у пухлинних клітинах (n=50)

Маркер	Кількість випадків залежно від статусу експресії маркера			
	Позитивний статус		Негативний статус	
	n	%	n	%
E-кадгерин	22	44	28	56
Twist	12	24	38	76
ERCC1	13	26	37	74
Торо IIa	12	24	38	76

При аналізі експресії E-кадгерину, Twist, ERCC1 і Торо IIa у ПК хворих на РПК не виявлено статистично значимий зв'язок між даними показниками та віком пацієнта, стадією захворювання, розміром і поширенням пухлини (категорія T), ступенем поширеності пухлинного процесу за межі первинного

вогнища у регіонарні лімфатичні вузли (категорія N), локалізацією пухлинного процесу та ступенем диференціювання пухлини. Лише серед хворих із поширенням пухлинного процесу, яке відповідало категорії T₃, кількість пацієнтів із ERCC1-негативними пухлинами майже втричі перевищувала кількість таких із експресією даного маркера у ПК (75,7% проти 23,1%), а у 15,4% хворих із наявністю даного маркера у ПК виявлено категорію T₄.

Водночас, аналіз перебігу захворювання та загальної 3-річної виживаності у даної групи хворих показав високу інформативність показників експресії Е-кадгерину, ERCC1 та Торо П α і відсутність статистично достовірних результатів для Twist (табл. 3, 4). Дана закономірність була підтверджена при аналізі відповідних актуарних кривих виживаності та перебігу захворювання, отриманих за методом Каплана-Мейєра (log-rank test).

Встановлено, що наявність експресії Е-кадгерину та відсутність експресії Торо П α і ERCC1 у ПК хворих на РПК свідчить про позитивний прогноз щодо характеру перебігу пухлинного процесу та загальної 3-річної виживаності пацієнтів.

Таблиця 3

Розподіл хворих ретроспективної групи за клінічним перебігом захворювання з урахуванням показників експресії Е-кадгерину, Twist, ERCC1 і Торо П α ¹

Маркер	Ремісія (n=30)	Прогресія (n=20)	Знач., р.
Twist	0 (0; 20) [0; 80]	0 (0; 6,5) [0; 90]	0,512
Е-кадгерин	10 (0; 20) [0; 70]	0 (0; 0) [0; 50]	0,048 ²
ERCC1	0 (0; 3) [0; 70]	40 (0; 70) [0; 90]	0,045 ²
Торо П α	0 (0; 10) [0; 35]	10 (0; 25) [0; 90]	0,032 ²

Примітки: 1 – медіана (25%; 75%) [мінімум; максимум]; 2 - різниця між групами порівняння статистично значима.

Таблиця 4

Розподіл хворих з урахуванням загальної 3-річної виживаності та показників експресії Е-кадгерину, Twist, ERCC1 і Торо П α ¹

Маркер	Тривалість життя		Знач., р.
	3 роки і більше (n=30)	Менше 3 років (n=20)	
Twist	0 (0; 20) [0; 80]	0 (0; 8,25) [0; 90]	0,512
Е-кадгерин	13 (0; 14,5) [0; 70]	0 (0; 0) [0; 50]	0,047 ²
ERCC1	0 (0; 4,5) [0; 70]	25 (0; 70) [0; 90]	0,017 ²
Торо П α	0 (0; 8,75) [0; 35]	15 (0; 32,5) [0; 90]	0,012 ²

Примітки: 1 – медіана (25%; 75%) [мінімум; максимум]; 2 - різниця між групами порівняння статистично значима.

Аналіз показників експресії Е-кадгерину, ERCC1 та Торо ІІа свідчить, що кожен із даних маркерів окремо є високоінформативним щодо характеру перебігу пухлинного процесу і спонукає до подальшого аналізу ймовірних комбінацій цих маркерів та визначення їх прогностичної цінності. Крім того, за показниками загальної виживаності встановлено значимість визначення статусу експресії Е-кадгерину, ERCC1 та Торо ІІа для прогнозування ймовірної ефективності проведення хіміотерапії хворим на РПК.

Оцінка інформативності біологічних маркерів пухлинних клітин хворих на РПК для вибору схеми ПХТ. Враховуючи результати щодо прогностичного значення показників експресії Е-кадгерину, Торо ІІа та ERCC1 у хворих на РПК, ми вважали за доцільне з'ясувати, яка із комбінацій наявності/відсутності експресії цих маркерів є домінуючою при визначенні прогнозу перебігу пухлинного процесу та загальної виживаності пацієнтів.

Для визначення зв'язку між наявністю окремих комбінацій маркерів, зважаючи на статус їх експресії в ПК, та перебігом пухлинного процесу було використано метод оцінки ризиків шляхом розрахунку відношення шансів та довірчого інтервалу (табл.5), який дозволяє кількісно оцінити силу зв'язку між конкретними фенотиповими характеристиками та настанням несприятливої події. Кожен варіант фенотипу розглядався окремо, шляхом розділення генеральної сукупності хворих на дві підгрупи (хворі, у яких виявлено конкретний комплекс маркерів та хворі з іншими визначеними варіантами комплексів маркерів ПК). Використання даного методу виправдано через невелику кількість спостережень в окремих підгрупах, оскільки при розрахунку достовірності зв'язку визначається, в першу чергу, ймовірність настання події.

Таблиця 5

Оцінка прогнозу перебігу пухлинного процесу у хворих на РПК з урахуванням статусу експресії Е-кадгерину та білків, асоційованих із лікарською резистентністю ERCC1 і Торо ІІа, в пухлинних клітинах

Фенотип пухлинних клітин	Кількість хворих	ВШ (відношення шансів)	95% ДІ	Знач., p
Е-кадгерин ⁺ / ERCC1 ⁺	6	1,025	0,785 – 1,866	0,526
Е-кадгерин ⁻ / ERCC1 ⁺	15	1,802	1,586 – 3,258	0,001*
Е-кадгерин ⁺ / ERCC1 ⁻	8	0,757	0,356 – 0,958	0,012*
Е-кадгерин ⁻ / ERCC1 ⁻	21	1,232	1,002 – 2,357	0,001*
Е-кадгерин ⁺ / ТороІІ-α ⁺	4	0,801	0,589 – 1,258	0,336
Е-кадгерин ⁺ / ТороІІ-α ⁻	18	1,11	0,693 – 1,317	0,159
Е-кадгерин ⁻ / ТороІІ-α ⁺	8	1,789	1,168 – 2,871	0,001*
Е-кадгерин ⁻ / ТороІІ-α ⁻	20	1,235	0,873 – 1,328	0,321

Примітка. * - різниця статистично значима на рівні p<0,05

Згідно отриманих результатів, хворі на РПК із фенотипом ПК Е-кадгерин⁻/ERCC1⁺ (p=0,001) та Е-кадгерин⁻/Торо Па⁺ (p=0,001) мають найбільш несприятливий прогноз перебігу захворювання, тоді як за наявності ПК із фенотипом Е-кадгерин⁺/ERCC1⁻ (p=0,001) збільшується ймовірність сприятливого перебігу захворювання.

Результати аналізу частоти випадків серед хворих на РПК ретроспективної групи із прогресією та безрецидивним періодом захворювання також засвідчили найбільшу частку з несприятливим перебігом захворювання серед хворих із фенотипом ПК Е-кадгерин⁻/ERCC1⁺ (85,7%) та Е-кадгерин⁻/Торо Па⁺ (70,0%), а у разі таких варіантів фенотипу ПК як Е-кадгерин⁺/ERCC1⁻ і Е-кадгерин⁺/Торо Па⁻ - відмічено найвищу частку хворих із позитивним перебігом захворювання (100% та 66,7% відповідно).

Після отримання результатів щодо інформативності кожної комбінації маркерів ПК відносно прогнозу перебігу пухлинного процесу, було оцінено їх зв'язок із прогнозом загальної виживаності хворих на РПК.

Встановлено ймовірність високих показників виживаності серед хворих на РПК за умов експресії Е-кадгерину та відсутності експресії ERCC1 або Торо Па у ПК (p<0,05). Так, загальна 3-річна виживаність хворих із фенотипом ПК Е-кадгерин⁺/Торо Па⁻ склала 83,4%, а з фенотипом Е-кадгерин⁺/ERCC1⁻ - 100% (табл. 6, 7). За умов наявності ПК із фенотипом Е-кадгерин⁻/ERCC1⁺ прогноз виживаності хворих на РПК суттєво погіршується (p<0,05, табл.6) та прослідковується низька тривалість їх життя (18,3±4,2 міс).

Таблиця 6

Загальна 3-річна виживаності хворих на РПК з урахуванням статусу експресії Е-кадгерину та ERCC1 у пухлинних клітинах хворих ретроспективної групи (n=50)

Фенотип пухлинних клітин	Частка померлих за 3 роки		Тривалість життя, міс.
	п	%	
Е-кадгерин ⁺ /ERCC1 ⁺ , n=6	4	67,0	15±2,3
Е-кадгерин ⁺ /ERCC1 ⁻ , n=8	0	0	-
Е-кадгерин ⁻ /ERCC1 ⁺ , n=15	8	53,3	18,3±4,2
Е-кадгерин ⁻ /ERCC1 ⁻ , n=21	9	42,9	25±8,3

Примітка: $\chi^2=24,211$, p=0,001

Таблиця 7

Загальна 3-річна виживаність хворих на РПК з урахуванням статусу експресії Е-кадгерину та Торо Па у пухлинних клітинах хворих ретроспективної групи (n=50)

Фенотип пухлинних клітин	Частка померлих за 3 роки		Тривалість життя, міс.
	п	%	
Е-кадгерин ⁺ /Торо Па ⁺ , n=4	3	75,0	13,1±1,8
Е-кадгерин ⁺ /Торо Па ⁻ , n=18	3	16,6	18,1±3,1
Е-кадгерин ⁻ /Торо Па ⁺ , n=8	4	50,0	27,2±7,1
Е-кадгерин ⁻ /Торо Па ⁻ , n=20	9	45,0	22,3±4,9

Примітка: $\chi^2=21,099$, $p=0,011$

Підсумовуючи дані ретроспективного аналізу, можна зробити висновок, що для прогнозування ефективності застосування у хворих на РПК платиновмісних схем ПХТ необхідна оцінка фенотипу ПК як мінімум за трьома маркерами – Е-кадгерином, ERCC1 та Торо Па. Такий підхід дозволяє виділити групу хворих, у яких застосування стандартного підходу до лікування із використанням платиновмісних схем, не є ефективним, оскільки зменшує відсоток пацієнтів у безрецидивному періоді та погіршує їх загальну виживаність.

Формування груп підвищеного ризику виникнення прогресії захворювання серед хворих на РПК на основі визначення рівня експресії маркерів пухлинних клітин Е-кадгерину, ERCC1 та Торо Па. Для визначення рівня експресії Е-кадгерину, ERCC1 та Торо Па, які є граничними для віднесення пацієнтів до групи підвищеного ризику прогресії захворювання, був застосований ROC-аналіз (табл.8). Встановлено дискримінантну межу показників рівня експресії досліджуваних маркерів, що визначає прогноз ефективності платиновмісних схем ПХТ. Статистично значимі показники рівня експресії Е-кадгерину та ERCC1 становлять 10 та 12 балів, відповідно, при розрахунку за методом H-Score. Тобто, за умов відсутності експресії Е-кадгерину (Е-кадгерин⁻, рівень експресії ≤10 балів) та наявності експресії ERCC1 (ERCC1⁺, рівень експресії >12 балів) слід прогнозувати низьку ефективність платиновмісних схем ПХТ. Не зважаючи, що розрахована площа під ROC-кривою для Торо Па становить 0,632 (середня якість моделі), специфічність тесту склала 90,48%, що не відкидає можливість його використання у якості маркера прогнозу перебігу захворювання.

Таблиця 8

**Діагностична ефективність порогових значень рівня експресії
маркерів при визначенні підвищеного ризику виникнення прогресії
захворювання**

Маркер	Розрахований рівень експресії	Площа під ROC кривою (AUC)	Чутливість	Специфічність	Значимість, p
Е-кадгерин	≤ 10	0,853	80,00	86,67	0,001*
ERCC1	> 12	0,942	88,89	100,00	$< 0,001^*$
Торо IIa	> 10	0,632	44,44	90,48	0,190

Примітка. *статистично значимі маркери

Таким чином, дані ROC-аналізу підтвердили попередні результати, щодо прогностичної цінності маркерів Е-кадгерину та ERCC1 при прогнозуванні клінічного перебігу захворювання із використанням платиновмісних схем лікування.

У відповідності до визначеного порогового рівня експресії Е-кадгерину та ERCC1 було сформовано групи хворих із різним ступенем ризику виникнення прогресії захворювання. У групу низького ризику увійшли 15 із 50 (30%) хворих, у яких значення всіх показників не покидали меж, розрахованих за допомогою ROC-аналізу. До групи підвищеного ризику були включені 27 (54%) пацієнтів, у котрих рівень експресії одного з двох маркерів перевищував визначені межі (Е-кадгерин⁺/ERCC1⁺ та Е-кадгерин⁻/ERCC1⁻). Відповідно, до групи високого ризику віднесено 8 (16%) хворих, у яких рівень експресії маркерів покидав встановлені межі (табл.9). Діагностична ефективність даного розділення на групи оцінювалась за критерієм Фішера та актуарними кривими.

Таблиця 9

**Характер перебігу захворювання у хворих на РПК з різним
ступенем ризику виникнення прогресії захворювання**

Група хворих	Фенотип пухлинних клітин	Перебіг захворювання	
		Ремісія (n=30)	Прогресія (n=20)
Низького ризику	Е-кадгерин ⁺ / ERCC1 ⁻	15 (100%)	0 (0%)
Підвищеного ризику	Е-кадгерин ⁺ / ERCC1 ⁺	14 (51,8%)	13 (48,1%)
	Е-кадгерин ⁻ / ERCC1 ⁻		
Високого ризику	Е-кадгерин ⁻ / ERCC1 ⁺	1 (12,5%)	7 (87,5%)

Отриманні результати свідчать, що серед хворих із високим ризиком прогресії захворювання частота виникнення рецидивів статистично вища, ніж у хворих низького та підвищеного ризику ускладнення перебігу захворювання. Зазначене ще раз відображає високу інформативність показників експресії Е-кадгерину та ERCC1 при прогнозуванні прогресії пухлинного процесу.

Крім того, нами проведено розрахунок порогових значень рівня експресії Е-кадгерину, ERCC1 та Торо Па для прогнозування загальної виживаності при застосуванні платиновмісних схем ПХТ у хворих на РПК із використанням ROC-аналізу (табл.10).

Таблиця 10

Діагностична ефективність порогових значень рівня експресії маркерів при прогнозуванні загальної виживаності хворих на РПК

Маркер	Розрахований рівень експресії	Площа під ROC кривою (AUC)	Чутливість	Специфічність	Значимість, р
Е-кадгерин	≤10	0,833	76,67	85,71	0,002*
ERCC1	>12	0,750	100,00	74,29	0,026*
Торо Па	>10	0,720	75,56	95,24	0,028*

Примітка. *статистично значимі маркери

За результатами ROC-аналізу показники експресії Е-кадгерину, ERCC1 та Торо Па мають високу інформативність при прогнозуванні загальної виживаності даної категорії хворих: площа під ROC-кривою становить 0,833 (дуже добра якість моделі для Е-кадгерину) та 0,750 і 0,72 (гарна якість моделі для ERCC1 та Торо Па відповідно) поряд із високими значеннями показників чутливості і специфічності.

Отримані дані дали підставу для формування серед 50 хворих ретроспективної групи когорти пацієнтів низького (15/30%), підвищеного (24/48%) та високого (11/22%) ризику настання летального наслідку після застосування платиновмісних схем ПХТ, розділених за варіантом комбінації наявності/відсутності експресії відразу трьох маркерів - Е-кадгерину, ERCC1 та Торо Па у ПК (табл.11).

Таблиця 11

Характер перебігу захворювання у хворих на РПК з різним ступенем ризику виникнення прогресії захворювання

Група хворих	Фенотип пухлинних клітин	Перебіг захворювання	
		Ремісія (n=30)	Прогресія (n=20)
Низького ризику	Е-кадгерин ⁺ /ERCC1 ⁻ /Торо Па ⁻	13 (86,7%)	2 (13,3%)
Підвищеного ризику	Е-кадгерин ⁻ /ERCC1 ⁻ /Торо Па ⁻	14 (58,3%)	10 (41,7%)
	Е-кадгерин ⁻ /ERCC1 ⁻ /Торо Па ⁺		
Високого ризику	Е-кадгерин ⁺ /ERCC1 ⁺ /Торо Па ⁻	3 (27,3%)	8 (72,7%)
	Е-кадгерин ⁻ /ERCC1 ⁺ /Торо Па ⁺		
	Е-кадгерин ⁺ /ERCC1 ⁻ /Торо Па ⁺		
	Е-кадгерин ⁺ /ERCC1 ⁺ /Торо Па ⁺		

Результати аналізу свідчать про достовірну значимість показників експресії Е-кадгерину, ERCC1 і Торо ІІа: за умов комплексної відсутності експресії ERCC1, Торо ІІа та наявності експресії Е-кадгерину (Е-кадгерин⁺/ERCC1⁻/Торо ІІа⁻) відзначено найбільш сприятливий перебіг захворювання після проведення лікування хворих на РПК із використанням платиновмісних схем ПХТ, тоді як за наявності експресії хоч би одного із маркерів чутливості/резистентності до медикаментозних препаратів зростає ймовірність продовження хвороби.

Додатково, для отримання кількісної оцінки ризику виникнення прогресії захворювання та/або летального наслідку застосовано метод логістичного регресійного аналізу. Було підтверджено високу інформативність показників експресії Е-кадгерину та ERCC1 для визначення ймовірності настання прогресії захворювання (чутливість - 0,997, специфічність - 0,889, загальний процент правильно класифікованих значень – 96,7%), а також Е-кадгерину, ERCC1 і Торо ІІа при з'ясуванні ризику летального наслідку у хворих на РПК (чутливість - 0,953, специфічність - 0,833, загальний процент правильно класифікованих значень – 95,0%).

Надалі ми вважали за вкрай необхідне проведення **порівняльного аналізу ефективності індивідуалізованих (з урахуванням статусу експресії спектра маркерів пухлинних клітин) та стандартних схем ПХТ у хворих на РПК**. В дане дослідження було включено 53 пацієнта проспективної та 32 хворих контрольної групи з первинним РПК.

Всі хворі проспективної і контрольної групи отримували терапію відповідно до стандартів у період виявлення захворювання за схемою: в неoad'ювантному режимі - курс ТГТ, в ад'ювантному режимі - застосовували ПХТ за схемою FOLFOX-6 або FOLFIRI. Підґрунтям для вибору лікувальних схем FOLFOX-6 або FOLFIRI у хворих проспективної групи стало попереднє визначення експресії ERCC1, Торо ІІа та Е-кадгерину.

Згідно отриманих даних показників експресії досліджених маркерів, всі пацієнти були розділені на дві підгрупи: перша - 30 пацієнтів з прогнозовано високим відсотком позитивної відповіді при проведенні платиновмісної схеми ПХТ FOLFOX-6 з фенотипом ПК Е-кадгерин⁺/ERCC1⁻/Торо ІІа⁻; Е-кадгерин⁻/ERCC1⁻/Торо ІІа⁻; Е-кадгерин⁻/ERCC1⁺/Торо ІІа⁻; Е-кадгерин⁻/ERCC1⁻/Торо ІІа⁺; 2 підгрупа - 23 хворих з іншими варіантами фенотипу ПК, яких було віднесено до групи високого ризику прогресії, що обґрунтовувало проведення альтернативної рівноцінної схеми лікування FOLFIRI.

У контрольній групі пацієнтів не проводили фенотипування ПК і всі хворі отримали лікування за схемою FOLFOX-6.

Клінічний перебіг на етапі прогресії захворювання у хворих проспективної групи суттєво різнився і залежав від варіанта ад'ювантної ПХТ. Після проведеного лікування 30 хворих першої підгрупи за схемою FOLFOX-6 4 із 30 (13,3%) пацієнтів мали прогресію захворювання, 1 (3,3%) хворий помер, тоді як у другій підгрупі хворих, після отримання лікування за

схемою FOLFIRI, число пацієнтів із продовженням хвороби склало 60,9% (14 із 23), а летальні випадки зафіксовано у 21,7% (5 із 23) хворого. Співвідношення числа хворих з прогресією і ремісією захворювання у проспективній групі склало 33,9% проти 66,1%, тоді як у контрольній групі – 50% / 50%. Загальна виживаність хворих на РПК в проспективній та контрольній групах встановила 88,7% та 50% відповідно.

Отже, використання запропонованого алгоритму підбору індивідуалізованих схем ПХТ у хворих на РПК з урахуванням фенотипового профілю пухлин обумовило підвищення ефективності лікування даної когорти хворих, про що свідчить зниження виникнення прогресії захворювання, збільшення відсотка хворих без продовження хвороби та достовірно вища загальна виживаність у порівнянні із показниками хворих, де призначення схем медикаментозного лікування відбувалося без урахування фенотипових характеристик ПК.

Узагальнюючи результати роботи можна сказати, що в ході дослідження була обґрунтована індивідуалізація вибору схем медикаментозного лікування FOLFOX-6 та FOLFIRI у хворих на РПК. Ключовим фактором диференційного підходу їх використання стало комплексне визначення профілю експресії таких маркерів передбачуваної чутливості ПК до компонентів схем ПХТ як Торо $\Pi\alpha$ та ERCC1, а також маркера Е-кадгерин. Застосування платиновмісних терапевтичних схем лікування є найбільш ефективним у хворих на РПК за наявності Е-кадгерин⁺ /ERCC1⁻ /Торо $\Pi\alpha$ ⁻ фенотипу ПК та дещо меншим за умов експресії хоча б одного із маркерів - ERCC1 або Торо $\Pi\alpha$.

ВИСНОВКИ

Підвищення ефективності лікування хворих на РПК є нагальною проблемою сучасної онкології. Наразі основним підґрунтям при виборі терапевтичних схем лікування хворих на РПК часто є лише клінічна характеристика хворого. Проте такий підхід не є досить ефективним, про що свідчать низькі показники виживаності даної категорії хворих. З погляду на це перспективними є наукові дослідження, присвячені пошуку прогностичних та предиктивних маркерів, зокрема фенотипових маркерів пухлинних клітин, які дозволять цілеспрямовано скорегувати інтенсивність і обсяг планованого лікування хворих на РПК після оперативного втручання, і, відповідно, отримати максимально високу відповідь на проведену хіміотерапію.

1. Проаналізовано профіль експресії Е-кадгерину, Twist, ERCC1 і Торо $\Pi\alpha$ у пухлинних клітинах хворих на РПК та не встановлено достовірного зв'язку між даними показниками та віком пацієнта, стадією захворювання, розміром пухлини, ступенем поширеності пухлинного процесу у регіонарні лімфатичні вузли, ступенем диференціювання пухлини та локалізацією пухлинного процесу ($p > 0,05$).

2. Виявлено зв'язок між характером перебігу захворювання, загальною 3-річною виживаністю хворих на РПК та показниками експресії Е-кадгерину, ERCC1 і Торо Па: наявність Е-кадгерин⁺ клітин у пухлині свідчить про позитивний прогноз щодо перебігу пухлинного процесу та виживаності пацієнтів ($p=0,048$ і $p=0,047$ відповідно), тоді як експресія в ПК Торо Па ($p=0,045$ і $p=0,012$) та ERCC1 ($p=0,032$ і $p=0,017$) достовірно погіршує його.

3. Визначено, що достовірно інформативними показниками позитивного прогнозу тривалості безрецидивного періоду та загальної 3-річної виживаності хворих після проведеного комплексного лікування з використанням платиновмісної схеми ПХТ є наявність фенотипової комбінації маркерів Е-кадгерин⁺/ERCC1⁻ ($p=0,012$ і $p=0,011$ відповідно) та Е-кадгерин⁺/Торо Па⁻ ($p=0,159$ і $p=0,002$ відповідно). В свою чергу, виявлення в пухлинах Е-кадгерин⁻/ERCC1⁺ ($p=0,001$ і $p=0,038$ відповідно) та Е-кадгерин⁻/Торо Па⁺ ($p=0,001$ і $p=0,11$) клітин асоційовано з погіршенням прогнозу перебігу захворювання та зниженням загальної 3-річної виживаності хворих.

4. Встановлено необхідність комплексного визначення профілю експресії Е-кадгерину, ERCC1 та Торо Па при прогнозуванні перебігу пухлинного процесу у хворих на РПК. Виявлено високу інформативність порогових значень рівня експресії Е-кадгерину, ERCC1 та Торо Па при прогнозуванні перебігу захворювання ($p=0,001$, $p=0,001$ і $p=0,190$ відповідно) та загальної виживаності ($p=0,002$, $p=0,026$ і $p=0,028$ відповідно) у хворих на РПК після застосування платиновмісних схем ПХТ. За варіантом комбінації наявності/відсутності експресії відразу трьох маркерів - Е-кадгерину, ERCC1 та Торо Па, у ПК сформовано групи пацієнтів із низьким - Е-кадгерин⁺/ERCC1⁻/Торо Па⁻; підвищеним - Е-кадгерин⁻/ERCC1⁻/Торо Па⁻; Е-кадгерин⁻/ERCC1⁻/Торо Па⁺ та високим - Е-кадгерин⁺/ERCC1⁺/Торо Па⁻; Е-кадгерин⁻/ERCC1⁺/Торо Па⁺; Е-кадгерин⁺/ERCC1⁻/Торо Па⁺; Е-кадгерин⁺/ERCC1⁺/Торо Па⁺ ризиком продовження хвороби та зниження загальної виживаності після застосування платиновмісних схем ПХТ.

5. Доведено ефективність використання платиновмісних схем ПХТ у комплексному лікуванні хворих на РПК із фенотипом ПК Е-кадгерин⁺/ERCC1⁻/Торо Па⁻ та за умов експресії лише одного із маркерів, асоційованих із медикаментозною стійкістю. Використання у комплексному лікуванні пацієнтів із негативним прогнозом перебігу захворювання (за показниками експресії досліджених маркерів) схеми FOLFIRI залишається обґрунтовано ефективним.

6. Застосування запропонованого алгоритму підбору індивідуалізованих схем ПХТ у хворих на РПК після проведеного радикального хірургічного лікування дозволило підвищити ефективність лікування хворих на РПК шляхом покращення як загальної, так і безрецидивної 3-річної виживаності, зниження виникнення прогресії захворювання в 1,47 разу, збільшення відсотка хворих без подовження хвороби у 1,32 разу у порівнянні із хворими, у яких використовували схеми

ПХТ без попереднього визначення профілю експресії Е-кадгерину, ERCC1 і Торо Па.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Н. О. Безденежних, В. Є. Жильчук, М. В. Глянько, І. М. Адаменко, Ю. Й. Кудрявець. Експресія в пухлинних клітинах маркерів епітеліально-мезенхімального переходу та білків лікарської стійкості в якості прогностичного показника у хворих на колоректальний рак // Онкологія. – 2016; 18, (1): 48-54 (*Особистий внесок здобувача: аналіз літературних джерел за темою дослідження, підготовка зразків для імуногістохімічного дослідження, участь у оформленні статті*).
2. Ю.Й. Кудрявець, Н.О. Безденежних, Н.І. Семесюк, А.В. Жильчук, О.О. Лихова, О.А. Ковальова, А.Л. Воронцова, В.Є. Жильчук, М.В. Глянько, Ю.В. Жильчук, Р.А. Кочерга. Мікрооточення пухлинних клітин як джерело модифікаторів епітеліально-мезенхімального переходу та мішень для персоніфікованої терапії / Онкологія 2016; 18 (4): 269-276. (*Особистий внесок здобувача: аналіз вітчизняної та зарубіжної літератури за темою дослідження, узагальнення наведених в них даних, участь у написанні статті*).
3. Максимьяк Г.И., Жильчук В.Е., Жильчук А.В., Чишкевич Ю.В., Кудрявец Ю.Й., Воронцова А.Й., Безденежных Н.А., Глянько М.В., Николаенко А.Н., Дземан М.И. Эффективность препарата Эрбисол Ультрафарм в комплексном лечении пациентов с метастатическими поражениями печени. «Eurasian Journal of Oncology», 2016, volume 4, № 3: 696 – 709. (*Особистий внесок здобувача: аналіз вітчизняної та зарубіжної літератури за темою дослідження, клінічні спостереження, опрацювання клінічних результатів, участь у написанні статті*).
4. Глянько М.В., Безденежных Н.А., Кудрявец Ю.И., Максимьяк Г.И., Жильчук А.В., Жильчук В.Е. Оценка наиболее информативных маркеров у больных колоректальным раком путем моделирования прогностической модели для определения вероятности прогрессирования заболевания / "Онкологический журнал общественного объединения "Белорусское общество онкологов"" - 2017 - 1 (11): 13-20 (*Особистий внесок здобувача: обробка даних з клінічного матеріалу хворих, робота із літературними джерелами, участь в оформленні статті*).
5. М.В. Глянько, А.В. Жильчук, В.Е. Жильчук, Ю.И. Кудрявець, Г.И. Максимьяк. Выбор схемы терапевтического лечения с использованием маркеров чувствительности у больных колоректальным раком – Онкология 2017 – 19 (2): 141 – 144. (*Особистий внесок здобувача: аналіз літературних джерел за темою дослідження, підготовка зразків для імуногістохімічного дослідження, аналіз та узагальнення статистичних даних, участь у оформленні статті*).

6. Glyanko Mikhail, Bezdieniezhnykh Natalia, Kudryavets Yuri, Lykhova Alexandra, Zhylchuk Victor, and ather. Assessment of prognostic significance of E-cadherin and ERCC1 expression in colorectal cancer. JPPRI . July 2017 Vol.:9, Issue:9. P 31-38. (*Особистий внесок здобувача: аналіз літературних джерел за темою дослідження, клінічні спостереження, підготовка зразків для імуногістохімічного дослідження, аналіз та узагальнення статистичних даних, участь у оформленні статті*).
7. Glyanko M., Bezdieniezhnykh N., Zhylchuk V., Kudryavets Yu. Markers of epithelial-mesenchymal transition and drug resistance in tumors of patient with colorectal cancer. 7 th International Scientific Interdisciplinary Conference for medical students and young scientists, Kharkiv, Ukrain. - May 15-16, 2014.
8. Глянько М.В., Безденежных Н.А., Жильчук В.Е., Кудрявец Ю.И., Адаменко И.Н. Информативность маркеров лекарственной устойчивости с белками адгезии клеток как потенциального прогностического комплекса течения опухолевого процесса у больных колоректальным раком. "Внесок молодих вчених і спеціалістів у розвиток медичної науки і практики: нові перспективи", 15.05.15, Харків: С.30.
9. М.В. Глянько, В.Е. Жильчук, Ю.И. Кудрявец. Роль окремих маркерів лікарської стійкості в прогнозуванні ефективності лікування хворих на колоректальний рак платиновмісними хіміопрепаратами – Онкологія 2015 – 17 (3): 206.

АНОТАЦІЯ

Глянько М.В. Індивідуалізація комбінованого лікування хворих на рак прямої кишки: молекулярно-біологічні аспекти. – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук зі спеціальності 14.01.07 – онкологія. - Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України, Київ – 2021.

Дисертаційна робота присвячена оцінці підвищення ефективності лікування хворих на рак прямої кишки шляхом застосування індивідуалізованих схем поліхіміотерапії із урахуванням особливостей експресії маркерів, асоційованих із резистентністю до протипухлинних препаратів та ступенем злоякісності пухлин.

В роботі показана можливість прогнозування перебігу захворювання у хворих на рак прямої кишки за допомогою оцінки маркерів, що співвідносять з інвазивним потенціалом злоякісно трансформованих клітин - Е-кадгерином, та лікарською резистентністю - ERCC1 і ТороII-α. Встановлено достовірність позитивного прогнозу щодо характеру перебігу пухлинного процесу та виживаності пацієнтів за наявності лише Е-кадгерин-позитивних клітин у пухлині, тоді як експресія у ПК Торо IIα та ERCC1 достовірно погіршує ці показники.

В роботі показано високу інформативність певних комбінацій

фенотипових маркерів пухлинних клітин, які свідчать про покращення ($E\text{-кадгерин}^+/ERCC1^-$, $E\text{-кадгерин}^+/ToroII-\alpha^-$) або погіршення прогнозу ($E\text{-кадгерин}^-/ERCC1^+$ та $E\text{-кадгерин}^-/ToroII-\alpha^+$) перебігу захворювання.

Встановлено значимість комплексного врахування статусу експресії $E\text{-кадгерину}$, $Toro\ II\alpha$ та $ERCC1$ при формуванні груп підвищеного ризику виникнення прогресії захворювання серед хворих на рак прямої кишки. Крім того, показана доцільність застосування індивідуалізованих платиновмісних схем ПХТ після проведеного радикального хірургічного лікування у хворих на рак прямої кишки із $E\text{-кадгерин}^+/ERCC1^-/Toro\ II\alpha^-$ фенотипом пухлинних клітин, тоді як за наявності експресії хоч би одного із маркерів медикаментозної резистентності до хіміопрепаратів зростає ймовірність погіршення виживаності хворих.

Ключові слова: рак прямої кишки, індивідуалізація лікування, хіміотерапія, $E\text{-кадгерин}$, $Toro\ II\alpha$, $ERCC1$, медикаментозна резистентність.

АННОТАЦИЯ

Глянько М.В. Индивидуализация комбинированного лечения больных раком прямой кишки: молекулярно-биологические аспекты. - Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.07 - онкология. - Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины, Киев - 2021.

Диссертационная работа посвящена оценке повышения эффективности лечения больных раком прямой кишки путем применения индивидуализированных схем полихимиотерапии с учетом особенностей экспрессии маркеров, ассоциированных с резистентностью к противоопухолевым препаратам и степенью злокачественности опухолей.

В работе проанализированы профиль экспрессии $E\text{-кадгерина}$, $Twist$, $ERCC1$ и $Toro\ II\alpha$ в опухолевых клетках больных раком прямой кишки и не установлено достоверной связи между данными показателями и возрастом пациента, стадией заболевания, размером опухоли, степени распространенности опухолевого процесса в регионарные лимфатические узлы, степенью дифференцировки опухоли и локализации опухолевого процесса ($p > 0,05$). Выявлена связь между характером течения заболевания, общей 3-летней выживаемостью больных раком прямой кишки и показателями экспрессии $E\text{-кадгерина}$, $ERCC1$ и $Toro\ II\alpha$: наличие $E\text{-кадгерин}^+$ клеток в опухолевых клетках свидетельствует о положительном прогнозе течения опухолевого процесса и выживаемости пациентов, тогда как экспрессия $Toro\ II\alpha$ и $ERCC1$ достоверно ухудшает его.

Показана возможность прогнозирования течения заболевания у больных раком прямой кишки с помощью оценки маркеров, ассоциированных с инвазивным потенциалом злокачественно

трансформированных клеток - Е-кадгерином и медикаментозной резистентностью - ERCC1 и Торо II- α .

Установлено, что достоверно информативными показателями положительного прогноза продолжительности безрецидивного периода и общей 3-летней выживаемости больных после проведенного комплексного лечения с использованием платиносодержащих схем химиотерапии является наличие фенотипической комбинации маркеров Е-кадгерин⁺ / ERCC1⁻ ($p = 0,012$ и $p = 0,011$ соответственно) и Е-кадгерин⁺ / ТороII- α ⁻ ($p = 0,159$ и $p = 0,002$). В свою очередь, выявление в опухолях Е-кадгерин⁻ / ERCC1⁺ ($p = 0,001$ и $p = 0,038$ соответственно) и Е-кадгерин⁻ / Торо II α ⁺ ($p = 0,001$ и $p = 0,11$) клеток ассоциировано с ухудшением прогноза течения заболевания и снижением общей 3-летней выживаемости больных.

Установлена значимость комплексного учета статуса экспрессии Е-кадгерина, Торо II α и ERCC1 при формировании групп повышенного риска возникновения прогрессии заболевания среди больных раком прямой кишки. Кроме того показана целесообразность применения индивидуализированных платиносодержащих схем ПХТ после проведенного радикального хирургического лечения у больных раком прямой кишки с Е-кадгерин⁺ / ERCC1⁻ / Торо II α - фенотипом опухолевых клеток. При отсутствии экспрессии хотя бы одного из маркеров медикаментозной резистентности к химиопрепаратам возрастает вероятность ухудшения выживаемости больных.

Показано, что применение предложенного алгоритма подбора индивидуализированных схем ПХТ у больных РПК после проведенного радикального хирургического лечения позволило повысить эффективность лечения больных РПК путем улучшения как общей так и безрецидивной 3-летней выживаемости, снизить возникновения прогрессии заболевания, увеличить процент больных без удлинения болезни по сравнению с аналогичными показателями больных, у которых использовали схемы ПХТ без предварительного определения профиля экспрессии Е-кадгерина, ERCC1 и ТороII- α .

Ключевые слова: рак прямой кишки, индивидуализация лечения, химиотерапия, Е-кадгерин, Торо II α , ERCC1, медикаментозная резистентность.

SUMMARY

Glyanko M.V. Individualization of combined treatment of patients with rectal cancer: molecular biological aspects. - Manuscript.

The Thesis for the scientific degree of the candidate of medical sciences on speciality 14.01.07 - Oncology. – R.E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, 2021.

The dissertation is devoted to the assessment of improving the effectiveness of treatment of patients with rectal cancer using individualized regimens of

chemotherapy which account the expression of markers associated with chemoresistance and the degree of tumor malignancy.

The work has demonstrated the possibility of predicting the course of the disease in patients with rectal cancer by evaluating markers associated with the invasive potential of malignantly transformed cells (E-cadherin), and chemoresistance (ERCC1 and TopoII- α). The presence of only E-cadherin-positive cells in the tumor is associated with favorable prognosis by the means of the features of the disease course and patient's survival, while the expression of Topo II α and ERCC1 in the tumor cells significantly worsens these indices.

The study has revealed the high informativeness of certain combinations of phenotypic tumor cell markers, which indicate improvement (E-cadherin⁺/ERCC1⁻, E-cadherin⁺/TopoII- α ⁻) or worsening of the prognosis (E-cadherin⁻/ERCC1⁺ and E-cadherin⁻/Topo II α ⁺) of the disease course.

The importance of comprehensive assessment of the expression status of E-cadherin, Topo II α and ERCC1 for the assignment of patients with rectal cancer to the group with increased risk of disease progression has been established. In addition, the feasibility of using individualized platinum-containing PCT regimens after radical surgical treatment of patients with rectal cancer with E-cadherin⁺/ERCC1⁻/Topo II α ⁻ tumor cell phenotype was shown. The expression of at least one of the mentioned markers of chemoresistance increases the likelihood of deterioration in patient survival.

Key words: rectal cancer, individualization of treatment, chemotherapy, E-cadherin, Topo II α , ERCC1, drug resistance.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

РПК – рак прямої кишки

КТ – комп'ютерна томографія

МКАТ – моноклональні антитіла

ПК – пухлинні клітини

ПХТ – поліхіміотерапія

ТЕМ – трансанальна ендоскопічна мікрохірургія

ТГТ - телегаматерапія

УЗД – ультразвукове дослідження