

В.В. Звірнич, Ю.Й. Михайлович  
Національний інститут раку, Київ

# Оптимізація комбінованого лікування місцево-поширеного дистального раку прямої кишки з урахуванням факторів прогнозу

Сучасна концепція передопераційного хіміопроменевого лікування як ключового методу в досягненні повної чи часткової клініко-радіологічної відповіді пухлини на терапію, дає можливість поліпшити безпосередні та віддалені результати лікування раку прямої кишки. **Мета** — визначення факторів прогнозу ефективності неoad'ювантної хіміопроменевої терапії (НХПТ) у досягненні клініко-радіологічного регресу пухлини на терапію у хворих на місцево-поширений дистальний рак прямої кишки (МПДРПК), а також факторів прогнозу безрецидивної виживаності із застосуванням молекулярного 8-оксо-2'-дезоксигуанозину (8-оксо-dG), імуногістохімічного (Ki-67) та молекулярно-генетичного (поліморфізм генів GSTP1, MTHFR) маркерів. **Об'єкт і методи дослідження.** У пухлинному матеріалі 110 хворих на МПДРПК проводили визначення поліморфізму генів GSTP1 та MTHFR методом алельспецифічної полімеразної ланцюгової реакції з детекцією результатів у режимі реального часу. Визначення рівня 8-оксо-dG в елюаті проводили спектрофотометричним методом. Імуногістохімічні дослідження маркерів Ki-67, MutS 2–6, CD44, CEA проводили за загальноприйнятими методиками. **Результати.** У хворих на МПДРПК обох груп відбулася суттєва патоморфологічна відповідь пухлини на НХПТ: у групі порівняння — 47,2%, в основній групі — 59,7% за шкалою mTRG і 49,1 та 64,9% відповідно за критеріями RECIST 1.1. Встановлено, що саме оксалиплатинвісна хіміотерапія сприяє статистично достовірному зниженню рівня 8-оксо-dG. Застосування капецитабіну в неoad'ювантному режимі у пацієнтів із МПДРПК за наявності водночас поліморфізмів A313G GSTP1 та C667T MTHFR не впливає на підвищення безрецидивної виживаності. При поєднаному визначенні факторів GSTP1, MTHFR та Ki67 відзначається прогнозна ймовірність виникнення рецидиву у вищезазначених хворих у межах 51–99%. **Висновок.** Застосування капецитабіну у НХПТ у хворих на МПДРПК ефективно лише за відсутності поліморфізмів A313G GSTP1 та C667T MTHFR, в інших випадках бажано використовувати як НХПТ схему CAPOX. Рівень зниження 8-оксо-dG є незалежним предиктором ефективності застосування НХПТ.

**Ключові слова:** місцево-поширений дистальний рак прямої кишки, неoad'ювантна хіміопроменева терапія, молекулярні та генетичні фактори прогнозу.

## Вступ

Колоректальний рак (КРР) залишається найпоширенішою нозологічною формою злоякісних новоутворень у світі, частота якої має тенденцію до швидкого зростання. Очікується, що глобальний тягар КРР до 2030 р. збільшиться на 60% і досягне 2,2 млн нових випадків та 1,1 млн смертей. За міжнародними даними щороку діагностують близько 1,4 млн нових випадків КРР, що становить 9% усіх вперше виявлених злоякісних новоутворень (Arnold M. et al., 2017).

Загалом у структурі злоякісних пухлин шлунково-кишкового тракту КРР знаходиться на 3-му місці за частотою захворюваності й становить 9,7% всіх видів раку, та на 2-му за рівнем смертності — 8,5% усіх смертей від раку (Wang H. et al., 2015). За проведеннями у 2012 р. оцінками Міжнародного агентства з дослідження раку (International Agency for Research on Cancer — IARC), у країнах Європи серед чоловіків та жінок захворюваність на КРР та смертність становлять 60,3 та 29,0 на 100 тис. населення відповідно. Ризик розвитку КРР в європейській популяції становить 4–5%. Це означає, що протягом життя 1 людина із двадцяти захворіє на рак зазначеної локалізації (Freisling H. et al., 2017).

В Україні, як і в усьому світі, КРР, зокрема рак прямої кишки (РПК), посідає одне з перших місць у структурі онкологічної захворюваності та смертності дорослого населення і є соціально значущим захворюванням. У той час як більше половини (54,7%) вперше виявлених хворих на момент встановлення діагнозу мають I–II стадію захворювання, 27,6% з них не проживають 1 року з моменту встановлення діагнозу, а 45% потребують комбінованого лікування (Fedorenko Z.P. et al., 2019). На сьогоднішні результати лікування РПК все ще залишаються незадовільними.

Незважаючи на широке використання візуальних методів оцінки пухлин товстого кишечника (магнітно-резонансна томографія (МРТ), комп'ютерна томографія, колоноскопія), захворюваність на КРР має тенденцію до щорічного збільшення. На сьогодні рівень ранньої діагностики зазначеної форми злоякісних новоутворень залишається вкрай незадовільним. Серед хворих із первинно виявленим РПК частка локалізованих форм становить близько 50%, місцево-поширених — 21–34%, первинно-нерезектабельних — 10%. З хірургічної точки зору це унеможливає у >30% хворих виконання сфінктерозберігаючого оперативного втручання, що беззаперечно знижує якість і тривалість життя пацієнтів (Fedorenko Z.P. et al., 2018).

Сучасна лікувальна тактика локалізованого РПК є стандартизованою та чітко регламентованою міжнародними керівними настановами (National Comprehensive Cancer Network, 2017). На відміну від локалізованих форм саме для місцево-поширеного РПК (МПРПК), для якого характерна значна ймовірність розвитку місцевого рецидиву і системного ураження внутрішніх органів, дотепер немає остаточно сформульованого лікувально-діагностичного стандарту, а донедавна — не було навіть і визначеного поняття (Luzietti E. et al., 2018).

Для досягнення належного рівня резектабельності єдиним рішенням, підтриманим 100% експертів, засвідченим у вигляді консенсусу, було твердження про необхідність проведення неoad'ювантної хіміопроменевої терапії (НХПТ), оскільки це в багатьох випадках дає можливість досягти «зниження стадії» — переходу місцево-поширеної форми у локалізовану, що достовірно покращує віддалені результати лікування і зменшує кількість локальних рецидивів. Ступінь регресу пухлини після НХПТ безпо-

середньо корелює з виживаністю і частотою місцевих рецидивів (Bhangu A. et al., 2013).

Реакція пухлини на хіміопроменеве лікування (ХПЛ) може варіювати від повного патологічного регресу (pathological complete regression — pCR), частота якого становить 3–54%, до абсолютної резистентності (Arnold M. et al., 2017). Незважаючи на загальновідому закономірність між «зниженням стадії» і покращенням загальної виживаності (ЗВ), ескалація дози променевої терапії (ПТ) і частотою повного клініко-радіологічного регресу, проблема вибору оптимального режиму та фракціонування неоад'ювантної ПТ, а також інтервалу між неоад'ювантним та оперативним лікуванням, залишається дотепер невіршеною.

Значимість неоад'ювантного лікування доведена у багатьох рандомізованих роботах, в яких оптимізовані послідовність застосування хімотерапевтичних препаратів, дози променевого впливу і методики хірургічних втручань. Цей процес розтягнувся більше ніж на три десятиліття.

Ступінь регресу пухлини після проведення НХПТ безпосередньо корелює з виживаністю та частотою місцевих рецидивів. На сьогодні, ґрунтуючись на даних рандомізованих клінічних досліджень, доведено, що передопераційний курс ПТ з додаванням як флуороурацилу, так і оксаліплатину, сприяє регресу пухлини і посилює його, створюючи можливість для проведення радикального органозберігаючого оперативного втручання та зниження у післяопераційний період частоти місцевих рецидивів. Саме неоад'ювантна ПТ є невід'ємною складовою частиною комбінованого лікування МПРПК, що може індукувати як часткову, значну, так і повну регресію первинної пухлини, забезпечуючи при цьому доволі тривалий безрецидивний період (Verseveld M. et al., 2015).

Одним із критеріїв ефективності передопераційної ПТ є ступінь патоморфозу — гістологічні зміни регресивного характеру, що спостерігають у тканинах пухлини. Важливим моментом його досягнення є питання фракціонування дози ПТ, яке досі є дискусійним. На сучасному етапі ПТ МПРПК застосовують два режими неоад'ювантної ПТ — короткий та пролонгований. Перший, запропонований шведською дослідною групою, широко застосовується в Європі: передопераційну ПТ здійснюють сумарною дозою 25 Гр (5х5 Гр) у 5 фракцій протягом 1 тиж, хворих оперують через 1 тиж після неоад'ювантної ПТ (Cedermark B. et al., 1997). Другий — пролонгований, запропонований групою німецьких дослідників, що включає 28 фракцій опромінення загальною дозою 50,4 Гр, доповнене інфузіями 5-фторурацилу на 1-му та 5-му тижнях лікування. Хірургічне втручання проводять після 6-тижневого періоду очікування (Sauer R. et al., 2004). У французькому дослідженні FFCD 9203 показано, що довготривала ПТ (45 Гр у 25 фракціях у комбінації з хімотерапією (ХТ)) сприяє досягненню значно кращого локального контролю і зниженню частоти локального рецидиву (Gerard J.P. et al., 2006). Однак у жодному із досліджень не здобуті вагомі результати за показниками зниження частоти локальних рецидивів та поліпшення безрецидивної виживаності (БВ), хоча короткий курс зручніший для пацієнтів та економічно вигідніший порівняно із пролонгованим ПТ.

Доведено, що pCR після НХПТ у хворих із МПРПК часто формується через тривалий період. Багатьма авторами продемонстровано позитивну кореляцію pCR з інтервалом між НХПТ та операцією (Probst C.P. et al., 2016; Yeo S.G., 2016; Du D. et al., 2018; Petrelli F. et al., 2019). Оскільки позитивна патоморфологічна відповідь пухлини на НХПТ вважається сприятливим прогностичним фактором, збільшення інтервалу між НХПТ та операцією теоретично має покращити терапевтичний ефект від операції.

Трансатманська радіаційна онкологічна група (Trans Tasman Radiation Oncology Group), досліджуючи ефективність короткого курсу НХПТ 5х5 Гр (5 фракцій) порівняно із тривалою НХПТ із загальною дозою 50,4 Гр (28 фракцій) на основі 5-фторурацилу та подальшим виконанням оперативного втручання, у першому випадку через 3–7 днів, у другому — через 4–6 тиж після завершення НХПТ не встановила суттєвої різниці щодо 3-річних показників місцевого рецидиву (7,5 та 4,4% відповідно;  $p=0,24$ ) та 5-річної частоти віддалених метастазів (27 та 30% відповідно;  $p=0,92$ ) між двома рандомізованими групами. Однак патологічне зниження стадії було значно вищим у групі з пролонгованим курсом НХПТ, ніж з коротким (45 та 28% відповідно;  $p=0,002$ ). На підставі отриманих результатів автори дійшли висновку, що тривалий курс

НХПТ при дистальних пухлинах РПК може бути ефективнішим, ніж короткий (Ngan S.Y. et al., 2012).

Нещодавній метааналіз, в якому порівнювали короткий та довгий курси передопераційної ПТ РПК, включав 8 досліджень із загальною кількістю хворих 1475 (коротке лікування —  $n=665$ , тривале —  $n=810$ ). У ньому також не виявлено суттєвої різниці щодо кожної з точок дослідження (5-річне ЗВ, частота локального рецидиву, віддалених метастазів, БВ, частота смерті) між коротким і тривалим передопераційним курсом ПТ. Водночас підгруповий аналіз показав, що частота віддалених метастазів значно вища при тривалій ПТ, порівняно з короткою (відношення шансів 2,65; 95% довірчий інтервал (ДІ) 1,05–6,68) (Chen K. et al., 2018).

В інших роботах підтримували тривалий інтервал очікування. У ретроспективних дослідженнях (Moore H.G. et al., 2004; Tulchinsky H. et al., 2008) встановлено, що при інтервалі очікування до 6–7 тиж показник pCR зростає з 12–17% до 19–35%, однак кількість сфінктерозберігаючих операцій при цьому не збільшується. M.F. Kalady та співавтори (2009) повідомили, що при подовженні інтервалу очікування до 8 тиж (від завершення НХПТ до початку операції) підвищується частота pCR (30,8%) і саме при цьому інтервал очікування виявився єдиним фактором, який прогнозував частоту pCR. Втім роботи окремих фахівців (Habr-Gama A. et al., 2008; de Campos-Lobato L.F. et al., 2011) показали, що регресія пухлини через тривалий інтервал ( $\geq 12$  тиж) не впливає на ЗВ та БВ. Ці результати підтверджують гіпотезу про те, що менші інтервали можуть перервати некроз пухлини, що триває. У деяких інших рандомізованих дослідженнях, включаючи Stockholm III, також не виявлені позитивні результати щодо локальних рецидивів, ЗВ та БВ, залежно від величини інтервалу від завершення НХПТ (Glimelius B., Martling A., 2017; Chang H. et al., 2018).

Таким чином, вищенаведений огляд застосування НХПТ свідчить про значну терапевтичну користь передопераційного опромінення при МПРПК, однак залишається незрозумілим, чи НХПТ забезпечує будь-які значущі довгострокові переваги з огляду на відсутність користі щодо зниження частоти віддалених метастазів та поліпшення ЗВ.

На сьогодні основним завданням передопераційної НХПТ МПРПК є зниження імовірності розвитку рецидиву в малому тазі за рахунок максимального зменшення розмірів первинної пухлини і зниження стадії пухлинного процесу. Саме тому для досягнення цієї мети більш перспективним напрямом потенційного поліпшення ефективності комбінованого лікування МПРПК є модифікація режиму неоад'ювантної ХТ (НХТ) — заміна монотерапії фторпіримідинами на поліхіміотерапію за схемами на основі оксаліплатину. Проблемним аспектом цього підходу залишається збільшення частоти переривання курсу НХПТ внаслідок підвищення токсичності, у той час як позитивний вплив на 10-річне ЗВ продемонстрований лише в одному багатоцентровому рандомізованому дослідженні із чотирьох, опублікованих на сьогодні (Gérard J.P. et al., 2012; Sauer R. et al., 2012; Schmoll H. et al., 2014). Однак в останніх наукових повідомленнях даних щодо переваг на користь того чи іншого хіміотерапевтичного засобу немає. Результати рандомізованих випробувань STAR-01, ACCORD 12/0405 PRODIGE 2, NSABP R-04, PETACC-6 не продемонстрували значного поліпшення повної патологічної локорегіональної відповіді та результатів виживаності, пов'язаних із додаванням оксаліплатину, крім того у групах оксаліплатину спостерігали підвищення токсичності 3–4-го ступеня (Aschele C. et al., 2011; Gérard J.P. et al., 2012; Schmoll H. et al., 2018).

На відміну від вищенаведених, німецьке дослідження CAO/ARO/AIO-04 — додавання оксаліплатину до фторпіримідин-ґрунтованої НХТ при РПК, показало вищу патологічну повну відповідь (pCR 17 та 13% відповідно;  $p=0,038$ ) і кращу 3-річну БВ (75,9 та 71,2% відповідно;  $p=0,03$ ) без підвищення загальної токсичності у групі оксаліплатину (Rödel C. et al., 2015).

Проте на сьогодні немає чітких даних про ефективність НХПТ з додаванням оксаліплатину до мультиmodalного лікування хворих на МПРПК. У цьому сенсі поліпшення результатів згідно з рекомендаціями Європейського товариства медичної онкології (European Society for Medical Oncology — ESMO) та Національного інституту охорони здоров'я та вдосконалення медичної допомоги Великої Британії (National Institute for Health and Clinical

Excellence — NICE) полягає в персоналізованому підході з урахуванням різних ризиків локального та віддаленого рецидиву. Питання вибору НХПТ, що базуються на клінічних, рентгенологічних, патоморфологічних даних та прогностичних маркерах, ще належить визначити.

Перспективним для комбінованого персоналізованого лікування МПДРПК є визначення і застосування індивідуалізованого інтервалу, який може бути визначений в основному шляхом прогнозування pCR та ризику розвитку віддалених метастазів із застосуванням факторів прогнозу.

Важливими, але досі недостатньо вивченими, є імуногістохімічні (CEA, Ki-67, CD44) та молекулярно-генетичні (мікросателітна нестабільність, поліморфізм генів *GSTP1*, *MTHFR*) особливості пухлини, як фактора прогнозу перебігу РПК.

У сучасних реаліях з метою планування тактики лікування та визначення прогнозу захворювання, що мають важливе значення, є визначення в матеріалі біопсійного та операційного матеріалу ряду морфологічних феноменів, а саме рівня диференціювання і мітотичної активності КРР, виявлення ознак мікросателітної нестабільності новоутворення, лімфосудинної та периневральної інвазії, екстранодальних пухлинних депозитів. Наявність останніх асоційована зі зниженням БВ та ЗВ (Amin M.B. et al., 2017). Зазначимо, що більшість робіт, присвячених вивченню предикторів ефективності ХПТ, стосуються прогнозу патогістологічних змін пухлини, а не віддалених результатів лікування.

Серед багатьох прогностичних клініко-патологічних факторів, що пов'язані з відповіддю на ХПТ при РПК, найважливішим є рівень раково-ембріонального антигену (carcinoembryonic antigen — CEA) у сироватці крові. Зважаючи на його надійність і економічну ефективність, CEA дотепер є найбільш широко застосовуваним пухлинним маркером при КРР (Park J.W. et al., 2009; Perez R.O. et al., 2009). Більшість досліджень рівнів CEA у пацієнтів із КРР зосереджені на прогностичному значенні цього показника стосовно раннього виявлення рецидивів після радикального оперативного лікування та оцінки клінічної відповіді пухлини на ХТ у хворих на РПК, а також у пацієнтів із метастатичним КРР (Sauer R. et al., 2004).

В інших роботах періопераційний моніторинг показав, що підвищені доопераційні та ранні післяопераційні концентрації рівнів CEA пов'язані з частішою системною недостатністю та гіршими показниками виживаності у хворих на РПК. C.W. Kim та співавторами (2011) досліджено цінність концентрацій CEA до та після ХПТ — як предикторів її ефективності. Так, у 333 хворих на МПРПК оцінили клінічне значення зниження відношення концентрації CEA до та післяопераційної ХПТ. Встановлено, що відношення відновлення концентрацій CEA із початковим значенням CEA >6 мкг/л може бути як предиктором відповіді пухлини на передопераційну ХПТ, так і незалежним прогностичним фактором БВ.

Загалом підвищений рівень CEA, визначений протягом та після комбінованого лікування, свідчив про прогресування захворювання, за винятком констатації підвищення рівня CEA відразу після того, як була призначена ХТ, що не є доказом прогресування хвороби, оскільки ХТ може тимчасово підвищити рівень CEA (Huh J.W. et al., 2013). Однак M.F. Kalady та співавтори (2009) показали, що концентрація CEA  $\leq 2,5$  нг/мл до НХПТ не корелює з БВ ( $p=0,21$ ). Інші дослідники (Park J.W. et al., 2009) встановили, що частота клінічної відповіді пухлини при НХПТ знижувалася зі збільшенням рівня CEA. Так, при рівнях CEA 3–6; 6–9 та >9 нг/мл вона становила 36,4; 15,6 та 7,8% відповідно. Закономірність низького рівня CEA перед НХПТ і тривалого інтервалу (>8 тиж) між НХПТ та хірургічним втручанням є негативним прогностичним фактором для повної патологічної ремісії у хворих на МПРПК, що продемонстровано J. Yang та співавторами (2019). Таким чином, визначення базового рівня CEA у хворих на РПК слід вважати перспективним як щодо клінічної відповіді пухлини на застосування НХПТ, так і БВ.

Оцінка ступеня зрілості ЗН залежить від рівнів прояву тканиного та клітинного атіпізму, а також мітотичної активності. Неконтрольований ріст є специфічною властивістю ЗН і безпосередньо пов'язаний із надмірною мітотичною активністю. Проте вихідні дані сьогодення про діагностичну та прогностичну цінність показників мітотичної активності колоректальних пухлин у фаховій літературі за останні 5 років є доволі суперечливими. Для оцінки

клітинної проліферації у пухлинах використовують низку маркерів, серед яких білок Ki-67, що є загальновиразним маркером клітинної проліферації. Експресія білка Ki-67 широко застосовується як маркер проліферації пухлинних клітин людини протягом останнього десятиліття. Він вперше ідентифікований як антиген у ядрах клітин лімфому Ходжкіна. Цей білок експресується у проліферуючих клітинах протягом фази G1 і не виявляється у клітинах, що знаходяться у фазі спокою G0 (Gerdes J. et al., 1984). Така особливість зробила Ki-67 клінічно важливим маркером проліферації та прогнозу для декількох типів раку (Luo Y. et al., 2015; Pezzilli R. et al., 2016; Richards-Taylor S. et al., 2016).

Так, у клінічних дослідженнях показано, що в аденомах товстої кишки рівень експресії ядерного антигену Ki-67 прямо корелює з тяжкістю диспластичних змін (Pap Z. et al., 2015). У свою чергу, N. Melling та співавтори (2016) показали, що високий рівень експресії Ki-67 пов'язаний саме з ранніми стадіями КРР і станом лімфатичних вузлів, але ні в якому разі зі ступенем диференціювання, гістологічним типом і локалізацією новоутворення, що також можна вважати незалежним чинником сприятливого прогнозу. Однак у дослідженнях H. Hayashi та співавторами (2015) зроблено протилежний висновок: високий рівень експресії Ki-67 пов'язаний з гіршою виживаністю та ймовірністю мікрометастазування. A. Sen та співавтори (2015), у свою чергу, встановили зв'язок між індексом експресії Ki-67, ступенем диференціювання і стадією раку товстої кишки. У декількох дослідженнях показано, що виражена експресія Ki-67 в основному пов'язана з гіршим ЗВ (Lin M.X. et al., 2008; Hayashi H. et al., 2015), тоді як в інших, навпаки, доведено, що висока експресія Ki-67 корелює з поліпшенням ЗВ та більш сприятливим онкологічним прогнозом (Salminen E. et al., 2005; Ivanecz A. et al., 2014). Низка дослідників, такі як Z.W. Luo та співавтори (2019), провели метааналіз 34 досліджень за участю 6180 хворих на КРР для визначення прогностичної цінності експресії Ki-67 щодо ЗВ та БВ у довготривалій період. Однофакторний аналіз показав, що висока експресія Ki-67 суттєво корелює з поганим прогнозом у хворих на КРР, об'єднаний показник відношення ризиків (hazard ratio — HR) становив 1,54 (95% довірчий інтервал (ДІ) 1,17–2,02;  $p=0,005$ ) для ЗВ та 1,43 (1,12–1,83;  $p=0,008$ ) для БВ. Після урахування інших прогностичних чинників при багатофакторному аналізі об'єднаний HR становив 1,50 (95% ДІ 1,02–2,22;  $p=0,03$ ) для ЗВ. Автори зауважили, що висновки цього метааналізу слід інтерпретувати з обережністю внаслідок неоднорідності даних в окремих дослідженнях стосовно характеристик онкологічного процесу, методик лікування, визначення статусу (точки відсічення) позитивної експресії Ki-67. Водночас вони вважають, що рівень експресії Ki-67 загалом може бути цінним прогностичним біомаркером для прогнозування погіршення виживаності хворих на КРР.

Невпинний прогрес у дослідженні біології КРР відкриває шлях до розуміння механізмів, які контролюють розподіл, ріст і диференціювання клітин. Саме розуміння механізмів і визначення критеріїв їх оцінки відкривають широкі перспективи стосовно прогнозування та ефективності боротьби з КРР. Сам процес інвазії — метастазування доволі складний та багатофакторний, опосередкований багатьма молекулярними чинниками. На сьогодні накопичення експериментальних доказів щодо біології пухлини підтвердило гіпотезу про існування субпопуляції ракових клітин, які отримали назву «ракові стовбурові клітини» (cancer stem cells — CSCs), які спричиняють ініціацію пухлин, рецидив та резистентність до ХПЛ (Pardal R. et al., 2003; Liu Y. et al., 2017). Хоча CSCs відіграють вирішальну роль у започаткуванні та прогресуванні раку, стандартного маркера CSCs не існує. Нещодавно повідомляли, що маркери CSCs, такі як CD133, CD44, EpCAM та ALDH1, є потенційними прогностичними маркерами для різних видів раку (Du L. et al., 2008). Серед них CD44 — найпоширеніший маркер CSCs при КРР (Dalerba P. et al., 2007).

CD44 є широко вираженим трансмембранним глікопротеїном класу I, розподіленим на багатьох нормальних клітинах та пухлинних клітинах. CD44 діє спочатку як фактор адгезії, який опосередковує взаємодію клітина — клітина та клітина-матриця. У найбільш відомій взаємодії CD44 діє як рецептор клітинної поверхні для гіалуронової кислоти, який тісно пов'язаний з інвазією та метастазами пухлинних клітин (Wu Q. et al., 2015). CD44 є важливим мембранним рецептором гіалуронової кислоти, що активує різ-



ні біологічні властивості пухлини, включаючи проліферацію, диференціювання, інвазію, рухливість та міграцію (Ponta H. et al., 2003). Оскільки CD44v3 є маркером CSCs, він забезпечує важливий фізичний зв'язок між матрицею гіалуронової кислоти та різними факторами транскрипції, які регулюють функції пухлинних клітин за допомогою різних сигнальних шляхів (Bourguignon L.Y. et al., 2014).

Альтернативний сплайсинг варіабельних екзонів у мРНК CD44 призводить до численних варіантів, включаючи CD44v2, CD44v3, CD44v5, CD44v6. CD44, оскільки його ізоформи відіграють значну роль у канцерогенезі KPP (Negi L.M. et al., 2012).

У попередніх наукових роботах повідомляли, що CD44 активує низку сигнальних шляхів, у тому числі MAPK, PI3K/Akt, Wnt. Активізація цих шляхів пов'язана з ростом пухлини, міграцією, епітеліально-мезенхімальною трансформацією (epithelial-mesenchymal transition — EMT). Феномен EMT пов'язується з механізмом індукції ракових стовбурових клітин, резистентністю до апоптозу і хіміо-резистентністю. Крім того, доведено, що CD44 локалізує активність матриксних металопротеїназ (ММП)-6 та -9 на поверхні клітини. Останні беруть участь як у неоангіогенезі, так і у відборі резистентних до апоптозу пухлинних клітин, а при деяких злоякісних пухлинах, наприклад KPP, індукують епітеліально-мезенхімальний перехід, у результаті чого підсилюється ріст пухлини, а самі ракові клітини набувають здатності до міграції та метастазування (Lugli A. et al., 2010; Hong I. et al., 2015). У метааналізі Z. Wang та співавтори (2019) підтвердили прогностичну цінність експресії CD44 при KPP як маркера пухлинної прогресії. Зокрема висока експресія CD44 значно корелює з гіршими показниками 3В. Крім того, надекспресія CD44 та всіх ізоформ CD44 пов'язана з низьким ступенем диференціації та високим ризиком виникнення метастазів у лімфатичних вузлах та віддалених метастазів, тобто є несприятливим прогностичним фактором для пацієнтів із KPP.

Протягом останніх десятиліть досягнуто значних успіхів у вивченні молекулярної біології KPP. Отримані дані є науковим підґрунтям для розроблення молекулярно-генетичної класифікації KPP, визначення біомаркерів пухлинної прогресії та створення нових підходів до терапії. Встановлено, що генетична нестабільність призводить до зміни експресії ряду молекул, функціонування яких визначає широкий спектр ефектів, а саме: агресивність інвазивного росту пухлини, її здатність до метастазування, чутливість до різних видів протипухлинного медикаментозного лікування.

Мікросателітна нестабільність (microsatellite instability — MSI), за даними авторів, це повторювані короткі (1–5 нуклеотидів) послідовності ДНК. MSI (втрата чи додавання такої послідовності алеля мікросателіту) виникає внаслідок відсутності гена корекційної репарації ДНК. Тестування на дефіцит відновлення невідповідності (mismatch repair deficiency — MMR-D) MMR-D/MSI рекомендується під час скринінгу на синдром Лінча, аутосомно-домінантного спадкового захворювання, яке характеризується зародковими мутаціями у генах MMR, що пов'язане з підвищеним ризиком розвитку декількох типів раку. Виявлення пухлин із MSI відіграє важливу роль у ранній діагностиці метакричних злоякісних пухлин. MSI є ключовим біомаркером при KPP із виражальним діагностичним, прогностичним та прогностичним наслідками. На сьогодні доведений взаємозв'язок мікросателітних змін у ДНК і реакції клітин на дію протипухлинних агентів. Наявність MSI для колоректальних карцином означає відносно непоганий прогноз і чутливість до терапії фторпіримідинами. Високий рівень MSI (MSI-H) пов'язаний із кращим прогнозом (тобто значно нижчим ризиком рецидиву) на ранній стадії KPP та відсутністю користі від ад'ювантного лікування 5-фторурацилом при II стадії захворювання. Однак зауважимо, що KPP з низьким рівнем MSI (MSI-L) нечутливі до 5-фторурацилу, хоча клінічне значення низького рівня MSI (MSI-L) дотепер залишається неясним. Нещодавно виявлено, що MSI є предиктором чутливості до методів лікування на основі імунотерапії. Новаторський успіх інгібіторів контрольних точок при MMR-D метастатичному KPP відкрив нові терапевтичні стратегії, включаючи імунотерапію для пацієнтів із цими пухлинами (Bartley A.N. et al., 2014; Dienstmann R. et al., 2017; Battaglin F. et al., 2018).

Упродовж останніх років у експериментальних дослідженнях доведено, що індивідуальні відмінності в ефективності НХТ та її токсичної дії на організм можуть бути генетично зумовлені-

ми. На сьогодні відомо, що генні поліморфізми беруть участь у патогенезі KPP і метаболізмі багатьох хіміотерапевтичних препаратів. На наш погляд, посилюється на досвід доказової медицини, індивідуальні відмінності у ферментативній активності глутатіон-S-трансфери P1 (GSTP1) та метилентетрагідрофолатредуктази (MTHFR), опосередковані поліморфізмом гена, можуть бути як предикторами перебігу РПК, так і предикторами формування резистентності до передопераційної ХТ (оксаліплатин, 5-фторурацил, іринотекан). Саме ідентифікація поліморфізмів генів *GSTP1* та *MTHFR* у хворих на РПК може бути ефективною для прогнозування клінічної відповіді пухлини на ХТ та виникнення токсичності, пов'язану із застосуванням НХТ (Libutti S.K. et al., 2011; Mohile S. et al., 2018; Polat N.D. et al., 2018).

MTHFR є ключовим ферментом у метаболізмі фолату й метіоніну та важливим фактором метилювання і синтезу дезоксирибонуклеїнової кислоти (ДНК). На сьогодні відомо близько 20 мутацій цього гена, які порушують функцію ферменту. Важливим є те, що MTHFR задіяний у метаболізмі антинеопластичних препаратів (метотрексат, 5-фторурацил). 5-фторурацил діє через фтордезоксидин монофосфат. Ця молекула інгібує тимідилатсинтазу (Chéradame S. et al., 1997). Зниження активності ферменту MTHFR призводить до підвищення внутрішньоклітинного 5,10-метилентетрагідрофолату і, таким чином, підвищує/посилює цитотоксичність 5-фторурацилу. *MTHFR*-ген локалізується у хромосомі 1p36.3 (Goyette P. et al., 1994). Виділяють два типи одонуклеотидних поліморфізмів (single nucleotide polymorphism), які часто виникають в екзонах цього ферменту: C677T (rs1801133) та A1298C (rs1801131) (Zhao M. et al., 2013). У результаті заміни аланіну валіном у положенні C677T утворюється більш термолабільний білок та знижується активність ферменту (Pereira A.C. et al., 2004).

Поліморфний варіант A1298C (Glu429Ala) також здатний знижувати ферментативну активність MTHFR, призводять до помилкової місенс-мутації (Castiglia P. et al., 2019). При гомозиготному (T/T) та гетерозиготному (C/T) генотипі поліморфізму C677T активність ферменту MTHFR знижується і рівень гомоцистеїну в крові підвищується (Crott J.W., Mason J.B., 2005). Також при гомозиготному (C/C) та гетерозиготному (A/C) генотипах поліморфізму A1298C спостерігають зниження ферментативної активності MTHFR, але термолабільний білок не утворюється (Weisberg I. et al., 1998). Знижена активність ферментів призводить до високого рівня 5,10-метилентетрагідрофолату і тимідину, що спричинює збільшення синтезу та відновлення ДНК. Таким чином, поліморфні варіанти ферменту MTHFR розглядають як захисні від канцерогенезу (Girelli D. et al., 1998). Поліморфізм гена *MTHFR* та ефективність терапії 5-фторурацилом оцінені в експериментальних та клінічних дослідженнях (Sharma R. et al., 2008).

Встановлено, що хімічні канцерогени, такі як поліциклічні ароматичні вуглеводні та гетероциклічні ароматичні аміни, пов'язані з раком товстої кишки. У результаті активізації метаболізму цих сполук виникають високореактивні мутагени, що взаємодіють з нуклеотидами ДНК (Shimada T. et al., 2013). Найважливішими ферментами метаболізму ксенобіотиків є сімейство глутатіонтрансфераз. Глутатіон-S-трансфери (GST) — це родина ферментів II фази детоксикації, які каталізують детоксикацію значної частини ксенобіотиків, інтермедіатів запальних процесів — простагландинів та відіграють важливу роль у забезпеченні резистентності клітин до пероксидного окиснення ліпідів (Chen Y.C. et al., 2010). Підродина п-GSTs включає один фермент — GSTP1, який бере участь у процесах детоксикації широкого спектра електрофільних сполук, включаючи мутагени та канцерогени навколишнього середовища. Він також задіяний у регулюванні клітинної проліферації та апоптозу. Ароматичні аміни та деякі цитостатики, такі як препарати платини, антрацикліни, стероїдні гормони, є субстратами GSTP1. Ці сполуки можуть трансформуватися до стабільних продуктів після детоксикації GSTP1 та уридин-5-дифосфат глюкуронилтрансферазою (Turesky R.J., 2004). У результаті заміни аденіну (A) на гуанін (G) у положенні 313 5-го екзону гена *GSTP1* відбувається зміна в положенні 104 амінокислоти ізолейцину валіном. Ця зміна поблизу гідрофобної ділянки зв'язування білка знижує його спорідненість до електрофільних сполук (Ali-Osman F. et al., 1997).

Однією з характерних особливостей ферментів глутатіон-трансфераз, зокрема GSTP1, є зумовлений генотипом полімор-

фізм, з яким пов'язані індивідуальні відмінності у швидкості детоксикації ксенобіотиків та ендогенних субстратів. Також один із поліморфних варіантів гена *GSTP1* зумовлює часткову або повну відсутність відповідних ферментів унаслідок делеції функціональної ділянки гена (близько 20) (Das P. et al., 2013).

Крім вищезазначеного, генетично зумовлені наявність мутантних алелів генів *GSTP1* та *MTHFR* є фактором ризику розвитку гастроінтестинальної та серцево-судинної токсичності й можуть бути асоційовані з ризиком формуванням резистентності до НХТ, а генотипування за поліморфізмом *MTHFR* C677T, можливо, дозволить персоналізувати призначення хіміотерапевтичних засобів. Проте, незважаючи на значну кількість опублікованих даних клініко-експериментальних досліджень, прогностичне значення вищенаведених генних поліморфізмів у контексті комбінованого лікування МПРПК залишається остаточно не визначеним.

У низці сучасних наукових досліджень багато уваги присвячено пухлинному мікрооточенню. Його визнають одним із ключових факторів пухлинної прогресії резистентності до хіміотерапевтичної медикаментозної терапії (Tsai M.J. et al., 2014). На сьогодні одним з обговорюваних факторів ризику розвитку КРР є ожиріння, частота якого зростає. Жирова тканина (ЖТ), в оточенні якої розвиваються солідні пухлини (особливо за наявності ожиріння), може бути одним із факторів мікрооточення з пропуклинними властивостями (Burlaka A.P. et al., 2018). У багатьох публікаціях продемонстровано прямий вплив ожиріння на епідеміологію КРР, прогресування хвороби та безпосередній вплив ЖТ на розвиток ЗН, а також «виживання» останніх (O'Rourke R.W., 2014; Berger N.A., 2018). Адипоцити (як основна структурна одиниця ЖТ) забезпечують значний ресурс ліпідів, цитокінів та адипокінів, причому наявність останніх забезпечує регуляцію сигнальних каскадів метаболізму та поширення злоякісних клітин, у тому числі клітин аденокарциноми КРР. Адипоцити можуть модифікувати пухлинне мікрооточення, що стимулює й прискорює пухлинний метаболізм і формує агресивний фенотип пухлини КРР шляхом паракринної секреції та наявності значних рівнів вільних жирних кислот (ВЖК). Стає зрозумілим, що клітини аденокарциноми здійснюють проліферацію, не виконуючи синтезу власної енергії, а використовують енергію мікрооточення, багатого на жирні кислоти (Chiavarina B. et al., 2012). ВЖК як готове джерело енергії стає ключовим елементом у формуванні агресивного фенотипу РПК. Крім того, ліпиди здатні підсилювати ефект Варбурга у клітинах пухлини (Manzi L. et al., 2015). Патологічне накопичення гіпертрофованих адипоцитів може бути несприятливим чинником формування хіміорезистентності пухлинних клітин і прогресування ЗН (Marsegia L. et al., 2015).

У доповнення до вищенаведеного перспективними є подальші дослідження впливу ММР-2 та -9, рівнів супероксидних радикалів та 8-оксогуаніну як промоторів прогресування РПК, які могли би бути маркерами пухлинного прогресування та прогностичними факторами впливу НХПТ на пухлинне мікрооточення у хворих на РПК (Kasai H., 1997; Said A.H. et al., 2014; Burlaka A.A. et al., 2019).

За останні 10 років розуміння механізмів впливу ЖТ на пухлинне прогресування значно розширилося, однак досі не розкриті механізми взаємодії адипоцитів із клітинами РПК за умов проведення НХПТ і потребують подальшого дослідження. Розуміння динаміки і введення у клінічну практику методів якісного та кількісного визначення елементів мікрооточення пухлини може дати можливість для здійснення відбору хворих для застосування нових видів персоналізованого лікування.

Хірургічне лікування МПРПК є основним етапом комбінованої терапії, оскільки дозволяє радикально видалити первинну пухлину з потенційними шляхами метастазування, надати виважену діагностичну інформацію про ефективність проведеної НХПТ, ступінь диференціювання пухлини, її поширеності, кількості залучених до процесу лімфатичних вузлів, наявності або відсутності лімфоваскулярної та периневральної інвазії, екстранодальних пухлинних депозитів.

Засновником радикального хірургічного лікування РПК вважають W.E. Miles, який у 1908 р. вказав на прогресування пухлини у трьох напрямках — дистальному, проксимальному і латеральному та сформулював принципи, згідно з якими резекція прямої кишки має охоплювати зазначені напрямки з видаленням не тільки самої кишки з анальним каналом та сфінктерами, але й усієї

параректальної клітковини, тканин промежини, леваторів, а також передбачав високу перев'язку ректальної артерії з лімфодисекцією вздовж нижньої брижової артерії. Втім тікні критерії сучасної техніки радикальних хірургічних втручань при РПК визначені тільки у 1982 р. R.J. Heald та співавторами. Автор виходив з того, що вся система кровоносних судин і лімфатичних колекторів прямої кишки наявна в мезоректумі та ізольована власною фасцією, а між власною фасцією прямої кишки і парієтальною фасцією є аваскулярна зона, сприятлива для хірургічної мобілізації. R.J. Heald, R.D. Ryall (1986) запровадили техніку тотальної мезоректумектомії (TME) і сформулювали основні принципи оперативної техніки, що стало значним проривом у хірургії РПК. За їх словами, послідовне, повноцінне та якісне виконання TME є запорукою ефективності хірургічного лікування РПК.

Проте дотепер суперечливим, дискусійним і відкритим для подальшого наукового пошуку залишається питання хірургічної тактики про доцільність застосування відкритого чи лапароскопічного оперативного доступу, особливо у пацієнтів із МРДРПК зі статусом CRM+ на момент встановлення діагнозу та яким проведена НХПТ.

Лапароскопічну хірургію з успіхом застосовують для лікування при РПК, починаючи з 1990-х рр. Порівняно з відкритим доступом виконання TME лапароскопічним способом надає пацієнтові низку істотних переваг. Рівень післяопераційної летальності та післяопераційних ускладнень, зокрема неспроможності колоректальної анастомози різного ступеня, відрізняються, хоча недостовірно, від показників у хворих, яким TME виконували відкритим доступом. На користь вищенаведених аргументів свідчать результати серії рандомізованих досліджень, зокрема MRC CLASSIC (Guillou P.J. et al., 2005), COLOR II (van der Pas M.H. et al., 2013) та COREAN (Jeong S.Y. et al., 2014). При достатній кваліфікації колоректального хірурга лапароскопічна TME жодним чином не компрометує періопераційні фактори, що впливають на онкологічний прогноз, а саме цілісність мезоректальної фасції, кількість вилучених лімфатичних вузлів у цілому й дисекцію апікальних лімфовузлів зокрема. Відзначимо, що техніка лапароскопічної TME, на відміну від аналогічної операції відкритим доступом, є стандартизованою саме під специфіку використання лапароскопічного інструментарію (Miskovic D. et al., 2015).

Однак існує низка когортних досліджень, результати яких свідчать на користь обмеження застосування лапароскопічного доступу у групі пацієнтів із МПРПК після НХПТ. Так, за даними С. Debove та співавторів (2015), рівень R1с резекцій за циркулярним краєм після лапароскопічних TME у 233 хворих становив 11%. Перевагу відкритому доступу, згідно з багатьма міжнародними рекомендаціями, традиційно віддають у разі МПРПК (зокрема зі ступенем поширеності T3, CRM+ та T4), оскільки за результатами багатоцентрових рандомізованих досліджень ACOSOGZ6051 (Fleshman J. et al., 2015) і AlCaRT (Stevenson A.R. et al., 2015) саме для цієї категорії хворих частота патогістологічно позитивного циркулярного краю резекції виявилася значно вищою у групі лапароскопічних TME.

Єдине завершене рандомізоване дослідження, в якому цілеспрямовано вивчали безпосередні та віддалені результати виконання лапароскопічних TME у хворих із МПРПК після НХПТ, — COREAN. За його результатами статистично достовірної різниці не отримано ні для якості TME (мезоректальний тип — 88% для відкритих і 92% — для лапароскопічних втручань), ні для патогістологічного CRM+ (4 та 3% відповідно), ні для кількості видалених лімфатичних вузлів. Показник ЗВ та 3-річної БВ становив 90,4 і 91,7%; 72,5 і 79,2% для відкритих і лапароскопічних втручань, частота локальних рецидивів — 4,9 і 2,6% відповідно. Однак, на наш погляд, обмеженням цього дослідження була відсутність аналізу ефективності НХПТ щодо статусу CRM+ і частка конверсій CRM+ в CRM- у результаті НХПТ (Jeong S.Y. et al., 2014).

Таким чином, вищенаведений огляд щодо питань оптимізації комбінованого лікування пацієнтів із МПРПК з урахуванням факторів прогнозу є актуальною темою сьогодення і потребує подальших наукових досліджень.

## Об'єкт і методи дослідження

Дослідження проведено на підставі ретроспективного аналізу результатів 110 хворих, яким у відділенні онкоколопроктології Національного інституту раку в період 2016–2019 рр. проведено комбіноване лікування з приводу МРДРПК.

Діагностичний алгоритм передбачав оцінку загального статусу пацієнта за шкалою оцінки загального стану онкологічного хворого, розробленою Східною кооперативною онкологічною групою (Eastern Cooperative Oncology Group — ECOG), фіброколоноскопію з біопсією і морфологічною верифікацією, МРТ органів грудної та черевної порожнини, малого таза із внутрішньовенним контрастуванням, лабораторні аналізи, електрокардіографію. Локальне стадіювання здійснювали за допомогою апарата МРТ «Philips Intera 1,5 T» відповідно до протоколу MERCURY (Taylor F.G. et al., 2014). У дослідження включали всіх хворих із МРТ-підтвердженням CRM+. Останній передбачав наявність інвазії пухлини, метастатично трансформованих лімфатичних вузлів або екстраканальних пухлинних депозитів, пухлинної інфільтрації мезоректальної клітковини на відстань < 1 мм від її краю. Точність оцінки топографічного розташування пухлини стосовно мезоректальної фасції мала визначальне значення у виборі плану лікування, а саме призначення НХПТ, а також була найважливішим орієнтиром для виконання тотальної ТМЕ. Ступінь регресії пухлини за даними МРТ здійснювали на підставі критеріїв mTRG і RECIST 1.1 (Response Evaluation Criteria in Solid Tumors).

Усі пацієнти із МРДРПК з урахуванням методики НХПТ рандомізовані у співвідношенні 1:1 за критерієм індексу cTNM-pTNM (T3–4 N0–2 M0, CRM+).

Хворі основної групи (ОГ) отримували ПТ сумарною вогнищевою дозою 50,4 Гр (1,8 Гр — 28 сеансів) і поліхіміотерапію за схемою CAPOX на основі оксаліплатину у неоад'ювантному режимі: капецитабін у дозі 2000 мг/м<sup>2</sup> поверхні тіла розподіляли на дві рівні дози — ранкову та вечірню, перорально через 30 хв після прийому їжі з 1-го по 14-й день, оксаліплатин — 130 мг/м<sup>2</sup> внутрішньовенно у 1-й день циклу. Інтервал між циклами — 21 день.

Група порівняння (ГП) отримувала ПТ сумарною осередковою дозою 50,4 Гр (1,8 Гр — 28 сеансів) і монохіміотерапію на основі фторпіримідинів у неоад'ювантному режимі: капецитабін, 2000 мг/м<sup>2</sup> перорально 2 рази на добу. Інтервал між циклами становив 5 днів. Загалом кожен хворий отримував два цикли ХТ.

Прояви токсичності НХПТ оцінювали за шкалою NCI CTC (National Cancer Institute Common Toxicity Criteria), версія 04.03.2010 р. Через 8 тиж після завершення курсу НХПТ усім хворим проводили оцінку її ефективності за допомогою МРТ за виснаведеним протоколом.

Через 8 тиж після завершення курсу НХПТ усім хворим виконали оперативні втручання в обсязі тотальної мезоректумектомії. Патогістологічне вивчення якості ТМЕ проводили відповідно до методики Р. Quirke та співавторів (1986). Періопераційні ускладнення оцінювали за класифікацією Clavien — Dindo — Strasberg в 1–30-денний період від моменту операції. Усі спостереження проводили відповідно до вимог етичного комітету.

З метою дослідження генотипу генів *GSTP1* та *MTHFR* геному ДНК виділяли з пухлинного матеріалу, фіксованого у парафіні, методом адсорбції нуклеїнових кислот на silica-мембрані за допомогою колонок «PureLink® Genomic DNA Kits» («Invitrogen», США). Вимірювання концентрації ДНК проводили методом спектрофотометрії на спектрофотометрі «NanoDrop 1000» («Thermo Scientific», США). Перед проведенням реакції ампліфікації концентрацію отриманої ДНК доводили до 2–8 нг/мкл.

Ампліфікацію поліморфних регіонів генів *GSTP1* та *MTHFR* проводили методом альельспецифічної полімеразної ланцюгової реакції з детекцією результатів у режимі реального часу на приладі «7300/7500 Real-Time PCR Systems» («Applied Biosystems», США). Для дослідження одонуклеотидного поліморфізму A313G гена *GSTP1* та C677T *MTHF* застосовано MGB-зонди TaqMan®. Послідовності праймерів та зондів TaqMan® підібрані з використанням програми «Primer Express™ Software v3.0» («Applied Biosystems», США) та синтезовані фірмою «Applied Biosystems» (США). Полімеразну ланцюгову реакцію проводили в таких умовах: цикл до зчитування — 2 хв при 50 °С, початок ампліфікації при 90 °С — 10 хв, накопичення ампліфікаційного продукту протягом 45 циклів — 30 с при 92 °С та 1 хв — при 60 °С, пост-цикл — 1 хв при 50 °С.

Для визначення механізмів впливу ЖТ на пухлинне прогресування за умов проведення НХПТ дослідження проводили за наступними методиками. Рівні супероксидних радикалів, генерованих мітохондріями адипоцитів ЖТ та рівні вмісту NO визначали

методом електронного парамагнітного резонансу із застосуванням технології Spin Traps. Стан міжклітинного матриксу оцінювали за активністю ММП-2 та -9, які реєстрували методом зимографії в поліакриамідному гелі. Оцінку протеолітичної активності проводили шляхом виміру площі зони лізису, використовуючи для порівняння стандартний набір ММП-2 та -9 («Sigma»). Рівні окиснення гуаніну ДНК — маркер 8-оксо-dG у ЖТ та рівень ВЖК у нейтрофілах крові досліджували спектрофотометрично.

Імуногістохімічні дослідження маркерів Ki-67, MutS-2–6, CD44, CEA проводили за загальноприйнятими методиками з використанням системи детекції «EnVision™ FLEX» («Дак», Данія). Для кількісної мікроскопічної оцінки ефективності НХПТ використовували класифікацію пухлинної відповіді за Miller — Payne (Ogston K.N. et al., 2003).

Статистичний аналіз передбачав виконання описової (дискриптивної) статистики (середні значення наведені як  $M \pm m$ , або медіана  $Me$ , найменше значення —  $min$ , найбільше —  $max$ ). Порівняння двох незалежних груп за однією ознакою проводили з використанням U-критерію Манна — Уїтні. Порівняльну оцінку груп за питомою вагою частин змінних, виражених у номінальній або ординарній шкалах, проводили за допомогою  $\chi^2$ -тесту Пірсона. Аналіз зв'язку двох змінних здійснювали за допомогою рангового кореляційного аналізу за Спірменом. Нульову гіпотезу рівності змінних відхиляли при  $p < 0,05$ . Аналіз даних проводили за допомогою статистичної програми «IBM SPSS Statistics 22.0».

## Результати та їх обговорення

У ОГ рандомізовані 57, ГП — 53 хворих на МРДРПК. Середній вік хворих в ОГ становив  $59,3 \pm 11,4$  року, ГП —  $62,5 \pm 10,2$  року. Статистично істотних міжгрупових відмінностей за статтю, віком та антропометричними даними (індекс маси тіла і площа поверхні тіла) не було. За даними гістопатологічного висновку усі пухлини були аденокарциномами різного ступеня диференціації. НХПТ проведена усім хворим у повному обсязі. Отже, групи дослідження були репрезентативними.

На підставі аналізу ступеня прояву токсичності у хворих обох груп, які отримали курс НХПТ, встановлено статистично достовірно вищу частоту виникнення гематологічної токсичності (у цілому за рахунок лейкопенії) у хворих ГП, ніж в ОГ (16 та 8 випадків відповідно;  $p < 0,05$ ). Нейротоксичність діагностовано у 18 (31,6%) осіб ОГ та 0% — у ГП ( $p < 0,001$ ). Статистично недостовірні різниці щодо випадків гастроінтестинальної токсичності виявлено у 15 (26,3%) осіб ОГ та 19 (35,9%) — ГП ( $p = 0,280$ ).

З метою персоналізувати призначення оксаліплатинвмісної НХТ усім хворим до та після НХПТ (за 1 добу до початку ХПТ та 1 добу до виконання оперативного втручання) виконували забір периферичної крові з метою визначення матриксних рівнів 8-оксо-dG у нейтрофілах крові та активності ММП-2 та -9. Статистичний аналіз залежно від впливу призначеної схеми НХПТ на рівень 8-оксо-dG виявив, що застосування оксаліплатинвмісної ХТ у схемах комплексного лікування хворих на МРДРПК може бути незалежним чинником зниження рівня досліджуваного маркера у крові хворих ( $R^2 0,465$ ; 95% ДІ 0,004–0,016;  $p < 0,0001$ ). Логістичний регресійний аналіз встановив, що пограничне значення концентрації 8-оксо-dG становить  $2,9 \text{ нмоль/мл} \cdot \text{хв}$ , а при рівні 8-оксо-dG  $\geq 2,9 \text{ нмоль/мл} \cdot \text{хв}$  у ДНК нейтрофілів крові до початку лікування показане застосування схеми CAPOX. Також виявлено зростання рівня ВЖК у групі ОГ до  $2,05 \pm 0,15 \text{ ммоль/л}$ , у ГП цей показник становив  $2,48 \pm 0,20 \text{ ммоль/л}$  при нормі  $0,57 \pm 0,11 \text{ ммоль/л}$ . Зазначимо, що в крові хворих, які отримували оксаліплатинвмісну ХТ, рівень ВЖК у 3,6 рази перевищував такий у ГП, тоді як застосування фторпіримідинів призводило до зростання цього показника у 4,4 рази ( $p < 0,05$ ). У результаті ушкоджувальний вплив на навколишні тканини, зокрема ПТ і препарату платини, менший порівняно зі схемою на основі ПТ із фторпіримідинами. Загалом дослідження активності ММП-2 та -9, а саме підвищений їх рівень, встановило, що ПТ та ХТ на основі фторпіримідинів формує гіпоксичне мікрооточення, яке є менш сприятливим для пухлини, а при застосуванні оксаліплатину у схемах ХТ у режимі CAPOX достовірно знижує ступінь ремоделювання міжклітинного матриксу.

Аналізуючи результати оцінки ступеня регресії пухлини після проведеної НХПТ за даними МРТ (шкали mTRG та RECIST 1.1), встановлено, що істотна відповідь пухлини на ХПЛ більше в ОГ — 34 (59,7%) і 37 (64,9%) хворих проти 25 (47,2%) і 26 (49,1%) у ГП



відповідно, проте різниця була недостовірною ( $p < 0,576$ ;  $p < 0,329$ ). Достовірною групова відмінність виявлена за ступенем конверсії CRM+ в CRM- в ОГ 39 (68,4%) і 24 (45,3%) ( $p < 0,05$ ). Оцінка морфометричних та топографо-анатомічних досліджень показників регресу пухлини залежно від схем НХПТ показала, що в ОГ достовірно більше збільшилася відстань від зубчастої лінії до нижнього краю пухлини на  $1,1 \pm 0,1$  см проти  $0,7 \pm 0,1$  см — у ГП ( $p < 0,005$ ) і зменшилася протяжність пухлини на  $28,1 \pm 2,1$  проти  $20,4 \pm 2,7$  ( $p = 0,024$ ). Отже, у такий доказовий спосіб доведений позитивний вплив застосування НХПТ саме за схемою CAPOX на ступінь лікувального патоморфозу пухлини, а також на якість виконання ТМЕ.

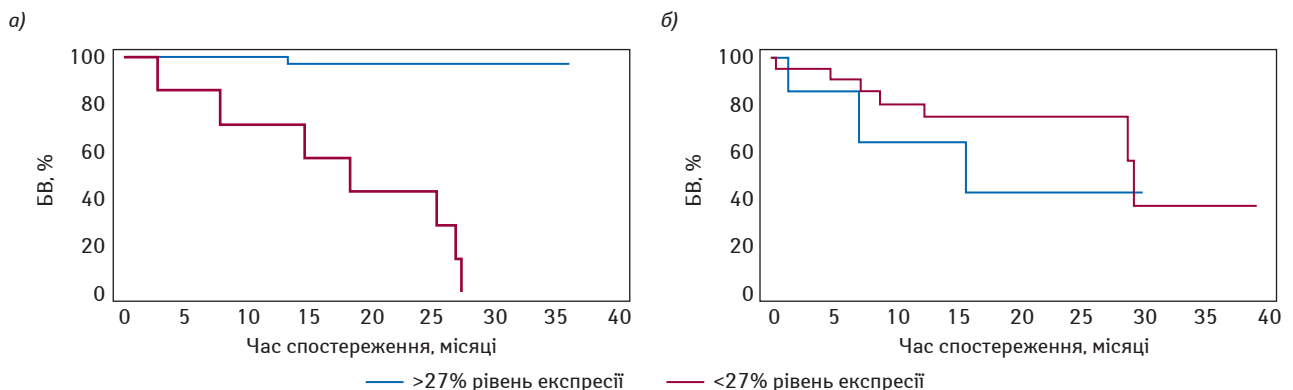
Усім хворим обох груп через 8 тиж після закінчення НХПТ проведено оперативні втручання. Обсяг операції визначено залежно від локалізації та ступеня поширеності первинної пухлини і передбачав виконання ТМЕ. Усі оперативні втручання виконані в обсязі R0-резекції. Лапароскопічні оперативні втручання виконані в ОГ у 37 (65%), у ГП у 26 (47%) хворих. Групи статистично не відрізнялися за структурою хірургічних втручань ( $p = 0,196$ ). Візуальна оцінка якості виконання ТМЕ в обох групах була задовільною. При оцінці якості мезоректумектомії за Р. Quirke та співавторами (1986) встановлено достовірну пряму кореляцію ( $p < 0,05$ ) з позиційним рівнем розміщення пухлини від ануса ( $r = 0,431$  в ОГ і  $r = 0,417$  в ГП) та дистальною границею резекції прямої кишки ( $r = 0,510$  і  $r = 0,532$  відповідно) та обернену кореляцію зі стадією ЗН (Т) після НХПТ ( $r = -0,390$  і  $r = -0,370$ ) та із залученням циркулярного краю резекції (CRM+) ( $r = -0,514$  і  $r = -0,522$ ). Однак достовірної різниці у групах залежно від методу оперативного втручання не встановлено.

Для доказового обґрунтування переваги того чи іншого застосовуваного оперативного доступу здійснений аналіз структури післяопераційних ускладнень у хворих досліджуваних груп. За структурою післяопераційних ускладнень відповідно до класифікації Clavien — Dindo — Strasberg між відкритим і лапаротомним доступами істотних відмінностей не виявлено ( $p = 0,361$ ). Зазначимо, що у хворих ОГ виконання лапароскопічних операцій супроводжувалося меншою кількістю ускладнень — 3 (8,1%) порівняно

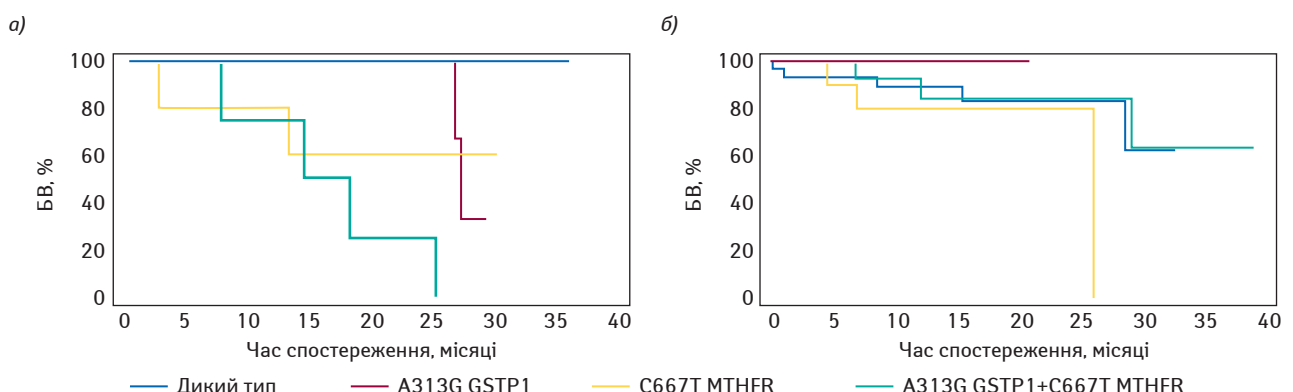
з відкритими — 6 (30%) ( $p = 0,031$ ). У ГП спостерігали аналогічну тенденцію, але вона не досягала статистичної значущості ( $p = 0,215$ ).

У післяопераційний період проводили морфологічне дослідження операційного матеріалу. За окремими параметрами морфометрії (частка паренхіми пухлини, частка фіброзу, некрозу та фіброзу) визначали рівень лікувального патоморфозу залежно від застосовуваної НХПТ (за схемою CAPOX та на основі капецитабіну). Рівень лікувального патоморфозу в ОГ становив  $42,0$ ;  $58,0$ ;  $31,2$  та  $51,6$ , у ГП  $56,9$ ;  $43,1$ ;  $34,3$  та  $39,2\%$  відповідно. У призначених режимах ХТ не підтвердила вищої ефективності тієї чи іншої схеми стосовно більшої патологічної відповіді, зокрема — поліхіміотерапія за схемою CAPOX проти монохіміотерапії капецитабіном. Підтвердженням цього є відсутність статистичної різниці кумулятивної частоти БВ між ОГ та ГП —  $73,5 \pm 8,5$  та  $70,2 \pm 2,5\%$  відповідно ( $p = 0,522$ ), а також співвідносно ЗВ —  $87 \pm 7,0$  та  $96 \pm 2,7\%$  відповідно. Втім, за даними морфометрії встановлено статистично достовірну різницю локорегіональної відповіді, а саме — зменшення об'єму паренхіми та стромы —  $56,9$  і  $43,1\%$  у ГП, як результат застосування НХТ за схемою CAPOX, порівняно з ОГ —  $42$  і  $58\%$  відповідно ( $p < 0,001$ ). У цьому висновку простежується консенсусне рішення щодо відсутності переваг на користь того чи іншого хіміотерапевтичного засобу, що також підтверджене низкою вищенаведених міжнародних рандомізованих досліджень.

Водночас з метою визначення прогностичних факторів перебігу РПК здійснювали оцінку рівнів експресії білків Ki-67, MutS 2–6, CD44, CEA. Статистичної різниці рівнів MutS 2–6, CD44, CEA між групами не виявлено. Втім, відповідно до однофакторного логістичного регресійного аналізу, ймовірність рецидиву пухлини підвищується саме зі зменшенням експресії білка Ki-67. Критичне значення білка Ki-67 становить  $< 27$ , за якого ймовірність рецидиву  $> 50\%$ . За даними доказової літератури, рівень експресії Ki-67 є прогностичним біомаркером для прогнозування погіршення виживаності хворих на КРР. При зіставленні показників рівня експресії білка Ki-67 щодо БВ встановлено, що у пацієнтів із ГП, що мають експресію білка Ki-67  $> 27\%$ , статистично значимо відрізняється БВ, а ризик виникнення рецидиву у  $27,5$  рази вищий, ніж



**Рис. 1.** БВ хворих залежно від рівня експресії білка Ki-67  
а – ГП, б – ОГ



**Рис. 2.** Вплив поліморфізмів A313G гена *GSTP1* та C667T гена *MTHFR* на 3-річну БВ у хворих на МПДРПК, які отримували НХПТ  
а – група пацієнтів, які отримували капецитабін в неoad'ювантному режимі; б – група пацієнтів, які отримували НХПТ за схемою CAPOX

у хворих із експресією білка Ki-67 <27%. У групі ОГ не виявлено статистично значимої різниці у БВ щодо рівня експресії білка Ki-67 (рис. 1).

Основним інноваційним напрямком дослідження було визначення поліморфізмів генів *GSTP1*, *MTHFR* у хворих на МПРПК. Застосування капецитабіну в неоад'ювантному режимі у пацієнтів із МПДРПК за наявності водночас поліморфізмів A313G *GSTP1* та C667T *MTHFR* не впливало на підвищення БВ. У цій групі статистично значимо знижувалася 3-річна БВ за наявності поліморфізмів A313G *GSTP1* та/чи C667T *MTHFR* порівняно з пацієнтами без мутацій у цих генах ( $p < 0,001$ ). 3-річна БВ при поліморфізмі A313G *GSTP1* становила  $33,3 \pm 2,7\%$ , C667T *MTHFR* —  $60,0 \pm 2,2\%$  та за наявності водночас двох поліморфізмів генів *GSTP1* та *MTHFR* 3-річної БВ не досягнуто. Однак у пацієнтів, які отримували НПХТ за схемою CAPOX, не виявлено статистично значимої різниці у БВ за наявності поліморфізмів A313G *GSTP1* та C667T *MTHFR* ( $p = 0,55$ ). У пацієнтів із диким типом (C/C) гена *MTHFR* 3-річна БВ становила  $63,8 \pm 16,9\%$  порівняно з  $49,4 \pm 18,7\%$  у групі, де виявлено поліморфізм C667T гена *MTHFR* (рис. 2).

З отриманих даних випливає, що застосування капецитабіну в НХПТ у хворих на МПДРПК ефективно лише за відсутності поліморфізмів A313G *GSTP1* та C667T *MTHFR*, в інших випадках бажано використовувати як НХПТ схему CAPOX.

## Висновок

Результати проведеного аналізу сучасних фахових публікацій стверджують, що діагностика та лікування МПДРПК є надзвичайно складною проблемою клінічної онкології сьогодення. На основі власного досвіду шляхом практичного вирішення питань оптимізації комбінованого лікування МПДРПК з урахуванням факторів прогнозу вдалося досягти клінічного розуміння персоналізованого застосування схем НХПТ. За наявності та поєднання поліморфізму генів *GSTP1* та *MTHFR* як прогностично значущих факторів рекомендовано застосовувати НХПТ за схемою CAPOX. Причому застосування капецитабіну у НХПТ хворих на МПДРПК ефективно лише за відсутності поліморфізмів A313G *GSTP1* та C667T *MTHFR*, в інших випадках бажано використовувати як НХПТ схему CAPOX. У разі відсутності поліморфізму вищенаведених генів для призначення CAPOX слід враховувати рівень Ki-67 та 8-оксо-dG.

## Список використаної літератури

- Ali-Osman F., Akande O., Antoun G. et al. (1997) Molecular cloning, characterization, and expression in *Escherichia coli* of full-length cDNAs of three human glutathione S-transferase Pi gene variants. Evidence for differential catalytic activity of the encoded proteins. *J. Biol. Chem.*, 272(15): 10004–10012.
- Amin M.B., Greene F.L., Edge S.B. et al. (2017) The eighth edition AJCC Cancer Staging Manual: continuing to build a bridge from a population-based to a more «personalized» approach to cancer staging. *CA Cancer J. Clin.*, 67: 93–99.
- Arnold M., Sierra M.S., Laversanne M. et al. (2017) Global patterns and trends in colorectal cancer incidence and mortality. *Gut*, 66(4): 683–691.
- Aschele C., Cionini L., Lonardi S. et al. (2011) Primary tumor response to preoperative chemoradiation with or without oxaliplatin in locally advanced rectal cancer: pathologic results of the STAR-01 randomized phase III trial. *J. Clin. Oncol.*, 29: 2773–2780.
- Bartley A.N., Hamilton S.R., Alsabeh R. et al. (2014) Template for reporting results of biomarker testing of specimens from patients with carcinoma of the colon and rectum. *Arch. Pathol. Lab. Med.*, 138(2): 166–170.
- Battaglin F., Naseem M., Lenz H.J. et al. (2018) Microsatellite Instability in Colorectal Cancer: Overview of Its Clinical Significance and Novel Perspectives. *Clin. Adv. Hematol. Oncol.*, 16(11): 735–747.
- Berger N.A. (2018) Young Adult Cancer: Influence of the Obesity Pandemic. *Obesity*, 26(4): 641–652.
- Bhangu A., Beynon J., Brown G. et al. (2013) Consensus statement on the multidisciplinary management of patients with recurrent and primary rectal cancer beyond total mesorectal excision planes. *Br. J. Surg.*, 100(8): 1009–1014.
- Bourguignon L.Y., Shiina M., Li J.J. (2014) Hyaluronan-CD44 Interaction Promotes Oncogenic Signaling, microRNA Functions, Chemoresistance, and Radiation Resistance in Cancer Stem Cells Leading to Tumor Progression. *Adv. Cancer Res.*, 123: 255–275.
- Burlaka A.A., Vovk A.V., Zvirych V.V. et al. (2019) Role of the adipose tissue in the rectal cancer microenvironment. *Klin. Onkol.*, 9(1): 30–33.
- Burlaka A.P., Vovk A.V., Burlaka A.A. et al. (2018) Metabolism of adjacent adipose tissue and body mass of the patients with stage III–IV colorectal cancer. *Oncology*, 20(3): 206–211.
- Castiglia P., Sanna V., Azara A. (2019) Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T and A1298C polymorphisms in breast cancer: a Sardinian preliminary case-control study. *Int. J. Med. Sci.*, 16: 1089–1095.
- Cedermark B., Dahlberg M., Glimelius B. et al. (1997) Improved survival with preoperative radiotherapy in resectable rectal cancer. *N. Engl. J. Med.*, 336: 980–987.
- Chang H., Jiang W., Ye W.J. et al. (2018) Is long interval from neoadjuvant chemoradiotherapy to surgery optimal for rectal cancer in the era of intensity-modulated radiotherapy: a prospective observational study. *Onco Targets Ther.*, 11: 6129–6138.
- Chen K., Xie G., Zhang Q. et al. (2018) Comparison of short-course with long-course preoperative neoadjuvant therapy for rectal cancer: a meta-analysis. *J. Cancer Res. Ther.*, 14: 224–231.
- Chen Y.C., Tzeng C.H., Chen P.M. et al. (2010) Influence of GSTP1 I105V polymorphism on cumulative neuropathy and outcome of FOLFOX-4 treatment in Asian patients with colorectal carcinoma. *Cancer Sci.*, 101: 530–535.
- Cheradame S., Etienne M.C., Chazal M. et al. (1997) Relevance of tumoral folylpolyglutamate synthetase and reduced folates for optimal 5-fluorouracil efficacy: experimental data. *Eur. J. Cancer*, 33: 950–959.
- Chiavarina B., Martinez-Outschoorn U.E., Whitaker-Menezes D. et al. (2012) Metabolic reprogramming and two-compartment tumor metabolism: opposing role (s) of HIF1a and HIF2a in tumor-associated fibroblasts and human breast cancer cells. *Cell Cycle*, 11: 3280–3289.
- Crott J.W., Mason J.B. (2005) MTHFR Polymorphisms and colorectal neoplasia. In: P.M. Ueland, R. Rozen (Eds.) MTHFR polymorphisms and disease. Texas, Landes Bioscience, p. 178–196.
- Dalerba P., Dylla S.J., Park I.K. et al. (2007) Phenotypic characterization of human colorectal cancer stem cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 104(24): 10158–10163.
- Das P., Shaik A.P., Bammidi V.K. (2013) Meta-analysis study of glutathione-S-transferases (GSTT1, GSTM1) gene polymorphisms and risk of acute myeloid leukemia. *Leuk. Lymphoma*, 50(8): 1345–1351.
- de Campos-Lobato L.F., Geisler D.P., da Luz Moreira A. et al. (2011) Neoadjuvant therapy for rectal cancer: the impact of longer interval between chemoradiation and surgery. *J. Gastrointest. Surg.*, 15(3): 444–450.
- Debove C., Maggiori L., Chau A. et al. (2015) Risk factors for circumferential R1 resection after neoadjuvant radiochemotherapy and laparoscopic total mesorectal excision: a study in 233 consecutive patients with mid or low rectal cancer. *Int. J. Colorectal. Dis.*, 30(2): 197–203.
- Dienstmann R., Mason M.J., Sinicrope F.A. et al. (2017) Prediction of overall survival in stage II and III colon cancer beyond TNM system: a retrospective, pooled biomarker study. *Ann. Oncol.*, 28(5): 1023–1031.
- Du D., Su Z., Wang D. et al. (2018) Optimal interval to surgery after neoadjuvant chemoradiotherapy in rectal cancer: a systematic review and meta-analysis. *Clin. Colorectal. Cancer*, 17: 13–24.
- Du L., Wang H., He L. et al. (2008) CD44 is of functional importance for colorectal cancer stem cells. *Clin. Cancer Res.*, 14: 6751–6760.
- Fedorenko Z.P., Mihailovich Y.I., Gulak L.O. et al. (2018) Cancer in Ukraine, 2016–2017. Incidence, mortality, activities of oncological service. Bulletin of National cancer registry of Ukraine. Kyiv, 136 p.
- Fedorenko Z.P., Mihailovich Y.I., Gulak L.O. et al. (2019) Cancer in Ukraine, 2017–2018. Incidence, mortality, activities of oncological service. Bulletin of National cancer registry of Ukraine. Kyiv, 101 p.
- Fleshman J., Branda M., Sargent D.J. et al. (2015) Effect of Laparoscopic-Assisted Resection vs Open Resection of Stage II or III Rectal Cancer on Pathologic Outcomes: The ACOSOG Z6051 Randomized Clinical Trial. *JAMA*, 314(13): 1346–1355.
- Freisling H., Arnold M., Soerjomataram I. et al. (2017) Comparison of general obesity and measures of body fat distribution in older adults in relation to cancer risk: meta-analysis of individual participant data of seven prospective cohorts in Europe. *Br. J. Cancer*, 116(11): 1486–1497.
- Gérard J.P., Azria D., Gourgou-Bourgade S. et al. (2012) Clinical outcome of the ACCORD 12/0405 PRODIGE 2 randomized trial in rectal cancer. *J. Clin. Oncol.*, 36: 4558–4565.
- Gerard J.P., Conroy T., Bonnetain F. et al. (2006) Preoperative radiotherapy with or without concurrent fluorouracil and leucovorin in T3–4 rectal cancers: results of FFCD 9203. *J. Clin. Oncol.*, 24: 4620–4625.
- Gerdas J., Lemke H., Baisch H. et al. (1984) Cell cycle analysis of a cell proliferation-associated human nuclear antigen defined by the monoclonal antibody Ki-67. *J. Immunol.*, 133(4): 1710–1715.
- Girelli D., Friso S., Trabetti E. et al. (1998) Methylenetetrahydrofolate reductase C677T mutation, plasmahomocysteine, and folate in subjects from northern Italy with or without angiographically documented severe coronary atherosclerotic disease: evidence for an important genetic-environmental interaction. *Blood*, 91(11): 4158–4163.
- Glimelius B., Martling A. (2017) What conclusions can be drawn from the Stockholm III rectal cancer trial in the era of watch and wait? *Acta Oncol.*, 56(9): 1139–1142.



- Goyette P., Sumner J.S., Milos R. et al.** (1994) Human methylenetetrahydrofolate reductase: isolation of cDNA, mapping and mutation identification. *Nat. Genet.*, 7: 195–200.
- Guillou P.J., Quirke P., Thorpe H. et al.** (2005) MRC CLASICC trial group. Short-term endpoints of conventional versus laparoscopic-assisted surgery in patients with colorectal cancer (MRC CLASICC trial): multicentre, randomised controlled trial. *Lancet*, 365(9472): 1718–1726.
- Habr-Gama A., Perez R.O., Proscurshim I. et al.** (2008) Interval between surgery and neoadjuvant chemoradiation therapy for distal rectal cancer: does delayed surgery have an impact on outcome? *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 71: 1181–1188.
- Hayashi H., Beppu T., Sakamoto Y. et al.** (2015) Prognostic value of Ki-67 expression in conversion therapy for colorectal liver-limited metastases. *Am. J. Cancer Res.*, 5(3): 1225–1233.
- Heald R.J., Husband E.M., Ryall R.D.** (1982) The mesorectum in rectal cancer surgery – the clue to pelvic recurrence? *Br. J. Surg.*, 69(10): 613–616.
- Heald R.J., Ryall R.D.** (1986) Recurrence and survival after total mesorectal excision for rectal cancer. *Lancet*, 1(8496): 1479–1482.
- Hong I., Hong S.W., Chang Y.G. et al.** (2015) Expression of the cancer stem cell markers CD44 and CD133 in colorectal cancer: an immunohistochemical staining analysis. *Ann. Coloproctol.*, 31: 84–91.
- Huh J.W., Kim H.R., Kim Y.J.** (2013) Clinical prediction of pathological complete response after preoperative chemoradiotherapy for rectal cancer. *Dis. Colon. Rectum*, 56: 698–703.
- Ivanecz A., Kavalari R., Palfy M. et al.** (2014) Can we improve the clinical risk score? The prognostic value of p53, Ki-67 and thymidylate synthase in patients undergoing radical resection of colorectal liver metastases. *HPB (Oxford)*, 16(3): 235–242.
- Jeong S.Y., Park J.W., Nam B.H. et al.** (2014) Open versus laparoscopic surgery for mid-rectal or low-rectal cancer after neoadjuvant chemoradiotherapy (COREAN trial): survival outcomes of an open-label, non-inferiority, randomised controlled trial. *Lancet Oncol.*, 15(7): 767–774.
- Kalady M.F., de Campos-Lobato L.F., Stocchi L. et al.** (2009) Predictive factors of pathologic complete response after neoadjuvant chemoradiation for rectal cancer. *Ann. Surg.*, 250: 582–589.
- Kasai H.** (1997) Analysis of a form of oxidative DNA damage, 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, as a marker of cellular oxidative stress during carcinogenesis. *Mutation Research*, 387: 147–163.
- Kim C.W., Yu C.S., Yang S.S. et al.** (2011) Clinical significance of pre- to post-chemoradiotherapy s-CEA reduction ratio in rectal cancer patients treated with preoperative chemoradiotherapy and curative resection. *Ann. Surg. Oncol.*, 18: 3271–3277.
- Libutti S.K., Saltz L.B., Tepper J.E.** (2011) Cancer of the Colon. In: V.T. DeVita, T.S. Lawrence, S.A. Rosenberg et al. *Cancer: Principles & Practice of Oncology*. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, p. 1084–1153.
- Lin M.X., Wen Z.F., Feng Z.Y., He D.** (2008) Expression and significance of Bmi-1 and Ki67 in colorectal carcinoma tissues. *Al. Zhong.*, 27(12): 1321–1332.
- Liu Y., Burness M.L., Martin-Trevino R. et al.** (2017) RAD51 mediates resistance of cancer stem cells to PARP inhibition in triple-negative breast cancer. *Clin. Cancer Res.*, 23(2): 514–522.
- Lugli A., Iezzi G., Hostettler I. et al.** (2010) Prognostic impact of the expression of putative cancer stem cell markers CD133, CD166, CD44s, EpCAM, and ALDH1 in colorectal cancer. *Br. J. Cancer*, 103(3): 382–390.
- Luo Y., Ren F., Liu Y. et al.** (2015) Clinicopathological and prognostic significance of high Ki-67 labeling index in hepatocellular carcinoma patients: a meta-analysis. *Int. J. Clin. Exp. Med.*, 8(7): 10235–10247.
- Luo Z.W., Zhu M.G., Zhang Z.Q. et al.** (2019) Increased expression of Ki-67 is a poor prognostic marker for colorectal cancer patients: a meta-analysis. *BMC Cancer*, 19(1): 123.
- Luzietti E., Pellino G., Nikolaou S. et al.** (2018) Comparison of guidelines for the management of rectal cancer. *BJS Open*, 2(6): 433–451.
- Manzi L., Costantini L., Molinari R. et al.** (2015) Effect of dietary omega-3 polyunsaturated fatty acid DHA on glycolytic enzymes and Warburg phenotype in cancer. *Biomed. Res. Int.*, 2015: 1–7.
- Marseglia L., Manti S., D'Angelo G. et al.** (2015) Oxidative stress in obesity: a critical component in human diseases. *Int. J. Mol. Sci.*, 16(1): 378–400.
- Melling N., Kowitz C.M., Simon R. et al.** (2016) High Ki67 expression is an independent good prognostic marker in colorectal cancer. *J. Clin. Pathol.*, 69(3): 209–214.
- Miles W.E.** (1908) A method of performing abdomino-perineal excision for carcinoma of the rectum and of the terminal portion of the pelvic colon. *Lancet*, II: 1812–1813.
- Miskovic D., Foster J., Agha A. et al.** (2015) Standardization of laparoscopic total mesorectal excision for rectal cancer: a structured international expert consensus. *Ann. Surg.*, 261(4): 716–722.
- Mohile S., Dale W., Somerfield M. et al.** (2018) Practical Assessment and Management of Vulnerabilities in Older Patients Receiving Chemotherapy: ASCO Guideline for Geriatric Oncology. *J. Oncol. Pract.*, 14(7): 442–446.
- Moore H.G., Gittleman A.E., Minsky B.D. et al.** (2004) Rate of pathologic complete response with increased interval between preoperative combined modality therapy and rectal cancer resection. *Dis. Colon. Rectum.*, 47(3): 279–286.
- National Comprehensive Cancer Network** (2017) NCCN Guidelines for Rectal Cancer Version 3 (<https://www.nccn.org/about/news/ebulletin/ebulletindetail.aspx?bulletinid=1319>).
- Negi L.M., Talegaonkar S., Jaggi M. et al.** (2012) Role of CD44 in tumour progression and strategies for targeting. *J. Drug Target.*, 20: 561–573.
- Ngan S.Y., Burmeister B., Fisher R.J. et al.** (2012) Randomized trial of short-course radiotherapy versus long-course chemoradiation comparing rates of local recurrence in patients with T3 rectal cancer: Trans-Tasman Radiation Oncology Group trial. *J. Clin. Oncol.*, 30: 3827–3833.
- O'Rourke R.W.** (2014) Obesity and cancer: at the crossroads of cell-lular metabolism and proliferation. *Surg. Obes. Relat. Dis.*, 10(6): 1208–1219.
- Ogston K.N., Miller I.D., Payne S. et al.** (2003) A new histological grading system to assess response of breast cancers to primary chemotherapy: prognostic significance and survival. *Breast*, 12(5): 320–327.
- Pap Z., Ilyes I.A., Mocan S.L. et al.** (2015) Changes in immunoexpression of p53, Ki-67, Ets-1, APAF-1 and PTEN in serrated and conventional colon adenomas. *Rom. J. Morphol. Embryol.*, 56(4): 1389–1396.
- Pardal R., Clarke M.F., Morrison S.J.** (2003) Morrison: applying the principles of stem-cell biology to cancer. *Nat. Rev. Cancer*, 3(12): 895–902.
- Park J.W., Lim S.B., Kim D.Y. et al.** (2009) Carcinoembryonic antigen as a predictor of pathological response and prognostic factor in locally advanced rectal cancer patients treated with preoperative chemoradiotherapy and surgery. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 74: 810–817.
- Pereira A.C., Schetter I.T., Morandini Filho A.A. et al.** (2004) Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) c677T gene variant modulates the homocysteine folate correlation in a mild folate deficient population. *Clin. Chim. Acta*, 340: 99–105.
- Perez R.O., São Julião G.P., Habr-Gama A. et al.** (2009) The role of carcinoembryonic antigen in predicting response and survival to neoadjuvant chemoradiotherapy for distal rectal cancer. *Dis. Colon. Rectum.*, 52: 1137–1143.
- Petrelli F., Sgroi G., Sarti E. et al.** (2016) Increasing the interval between neoadjuvant chemoradiotherapy and surgery in rectal cancer: a meta-analysis of published studies. *Ann. Surg.*, 263: 458–464.
- Pezzilli R., Partelli S., Cannizzaro R. et al.** (2016) Ki-67 prognostic and therapeutic decision driven marker for pancreatic neuroendocrine neoplasms (PNEs): A systematic review. *Adv. Med. Sci.*, 61(1): 147–153.
- Polat N.D., Degirmencioglu S., Yaren A. et al.** (2018) GSTP1, TSER, MTHFR C677T and MTHFR A1298C gene single nucleotide polymorphisms associated with toxicity and survival in patients with colorectal cancer treated with 5-fluorouracil-based chemotherapy. *Cancer Rep. Rev.*, 2(2): 1–7.
- Ponta H., Sherman L., Herrlich P.A.** (2003) CD44: from adhesion molecules to signalling regulators. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 4: 33–45.
- Probst C.P., Becerra A.Z., Aquina C.T. et al.** (2016) Watch and Wait? Elevated pretreatment CEA is associated with decreased pathological complete response in rectal cancer. *J. Gastrointest. Surg.*, 20: 43–52.
- Quirke P., Durdey P., Dixon M.F., Williams N.S.** (1986) Local recurrence of rectal adenocarcinoma due to inadequate surgical resection. Histopathological study of lateral tumour spread and surgical excision. *Lancet*, 2(8514): 996–999.
- Richards-Taylor S., Ewings S.M., Jaynes E. et al.** (2016) Review the assessment of Ki-67 as a prognostic marker in neuroendocrine tumours: a systematic review and meta-analysis. *J. Clin. Pathol.*, 69(7): 612–618.
- Rödel C., Graeven U., Fietkau R. et al.** (2015) Oxaliplatin added to fluorouracil-based preoperative chemoradiotherapy and postoperative chemotherapy of locally advanced rectal cancer (the German CAO/ARO/AIO-04 study): final results of the multicentre, open-label, randomised, phase 3 trial. *Lancet Oncol.*, 16: 979–989.
- Said A.H., Raufman J.P., Xie G.** (2014) The role of matrix metalloproteinases in colorectal cancer. *Cancers Basel*, 6(1): 366–375.
- Salminen E., Palmu S., Vahlberg T. et al.** (2005) Increased proliferation activity measured by immunoreactive Ki67 is associated with survival improvement in rectal/recto sigmoid cancer. *World J. Gastroenterol.*, 11(21): 3245–3245.
- Sauer R., Becker H., Hohenberger W. et al.** (2004) Preoperative versus postoperative chemoradiotherapy for locally advanced rectal cancer: results of the German CAO/ARO/AIO-94 randomized phase III trial after a median follow-up of 11 years. *N. Engl. J. Med.*, 351(17): 1731–1740.
- Sauer R., Liersch T., Merkel S. et al.** (2012) Preoperative versus postoperative chemoradiotherapy for locally advanced rectal cancer: results of the German CAO/ARO/AIO-94 randomized phase III trial after a median follow-up of 11 years. *J. Clin. Oncol.*, 30: 1926–1933.
- Schmoll H., Haustermans K., Price T.J. et al.** (2014) Preoperative chemoradiotherapy and postoperative chemotherapy with capecitabine and oxaliplatin versus capecitabine alone in locally advanced rectal cancer: Disease-free survival results at interim analysis. *J. Clin. Oncol.*, 32(15): 3501–3501.

**Schmoll H., Haustermans K., Price T.J. et al.** (2018) Preoperative chemoradiotherapy and postoperative chemotherapy with capecitabine +/- oxaliplatin in locally advanced rectal cancer: Final results of PETACC-6. *J. Clin. Oncol.*, 36(15): 3500.

**Sen A., Mitra S., Das R.N. et al.** (2015) Expression of CDX-2 and Ki-67 in different grades of colorectal adenocarcinomas. *Indian J. Pathol. Microbiol.*, 58(2): 158–162.

**Sharma R., Hoskins J.M., Rivory L.P. et al.** (2008) Thymidylate Synthase and Methylene-tetrahydrofolate Reductase Gene Polymorphisms and Toxicity to Capecitabine in Advanced Colorectal Cancer Patients. *Clin. Cancer Res.*, 14(3): 817–825.

**Shimada T., Murayama N., Yamazaki H. et al.** (2013) Metabolic Activation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Aryl and Heterocyclic Amines by Human Cytochromes P450 2A13 and 2A6. *Chem. Res. Toxicol.*, 26(4): 529–537.

**Stevenson A.R., Solomon M.J., Lumley J.W. et al.** (2015) ALaCaRT Investigators. Effect of Laparoscopic-Assisted Resection vs Open Resection on Pathological Outcomes in Rectal Cancer: The ALaCaRT Randomized Clinical Trial. *JAMA*, 314(13): 1356–1363.

**Taylor F.G., Quirke P., Heald R.J. et al.** (2014) Magnetic Resonance Imaging in Rectal Cancer European Equivalence Study Study Group. Preoperative magnetic resonance imaging assessment of circumferential resection margin predicts disease-free survival and local recurrence: 5-year follow-up results of the MERCURY study. *J. Clin. Oncol.*, 32(1): 34–43.

**Tsai M.J., Chang W.A., Huang M.S., Kuo P.L.** (2014) Tumor microenvironment: A new treatment target for cancer. *ISRN Biochemistry*, 2014: 351959.

**Tulchinsky H., Shmueli E., Figer A. et al.** (2008) An interval >7 weeks between neoadjuvant therapy and surgery improves pathologic complete response and disease-free survival in patients with locally advanced rectal cancer. *Ann. Surg. Oncol.*, 15: 2661–2667.

**Turesky R.J.** (2004) The role of genetic polymorphisms in metabolism of carcinogenic heterocyclic aromatic amines. *Curr. Drug Metab.*, 5: 169–180.

**van der Pas M.H., Haglund E., Cuesta M.A. et al.** (2013) Colorectal cancer Laparoscopic or Open Resection II (COLOR II) Study Group. Laparoscopic versus open surgery for rectal cancer (COLOR II): short-term outcomes of a randomised, phase 3 trial. *Lancet Oncol.*, 14(3): 210–218.

**Verseveld M., de Graaf E.J., Verhoef C. et al.** (2015) CARTS Study Group. Chemoradiation therapy for rectal cancer in the distal rectum followed by organ-sparing transanal endoscopic microsurgery (CARTS study). *Br. J. Surg.*, 102(7): 853–860.

**Wang H., Naghavi M., Allen C. et al.** (2015) Global, regional and national life expectancy, all-cause mortality, and cause-specific mortality for 249 causes of death, 1980–2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study. *Lancet*, 388(10053): 1459–1544.

**Wang Z., Tang Y., Xie L. et al.** (2019) The Prognostic and Clinical Value of CD44 in Colorectal Cancer: A Meta-Analysis. *Front. Oncol.*, 9: 309.

**Weisberg I., Tran P., Christensen B. et al.** (1998) A second genetic polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase (*MTHFR*) associated with decreased enzyme activity. *Mol. Genet. Metab.*, 64: 169–172.

**Wu Q., Yang Y., Wu S. et al.** (2015) Evaluation of the correlation of KAI1/CD82, CD44, MMP7 and  $\beta$ -catenin in the prediction of prognosis and metastasis in colorectal carcinoma. *Diagn. Pathol.*, 10(1): 176–185.

**Yang J., Ling X., Tang W. et al.** (2019) Analyses of predictive factors for pathological complete remission in neoadjuvant therapy for locally advanced rectal cancer. *J. BUON*, 24(1): 77–83.

**Yeo S.G.** (2016) Association of pretreatment serum carcinoembryonic antigen levels with chemoradiation-induced downstaging and downsizing of rectal cancer. *Mol. Clin. Oncol.*, 4: 631–635.

**Zhao M., Li X., Xing C. et al.** (2013) Association of methylenetetrahydrofolate reductase C677T and A1298C polymorphisms with colorectal cancer risk: a meta-analysis. *Biomed. Rep.*, 1: 781–791.

## Оптимізація комбінованого лікування місцево-розповсюдженого дистального раку прямої кишки з урахування факторів прогноза

**В.В. Звиріч, Ю.І. Михайлович**

**Резюме.** Сучасна концепція передопераційного проведення хіміолучевого лікування як ключового методу в досягненні повного або частинного клініко-радіологічного відгуку на терапію дає можливість покращити неопосередковані та віддалені результати лікування раку прямої кишки. **Цель** — визначення факторів прогнозу ефективності неад'ювантної хіміолучевої терапії (НХЛТ) в досягненні клініко-радіологічної регресії пухлики на терапію у хворих місцево-розповсюдженим дистальним раком прямої кишки (МРДРПК), а також факторів прогнозу безрецидивної виживаємості з застосуванням молекулярного

8-оксо-2'-дезоксигуанозина (8-оксо-dG), імуногістохімічного (Ki-67) і молекулярно-генетичного (поліморфізм генів *GSTP1*, *MTHFR*) маркерів. **Об'єкт і методи дослідження.** В онкологічному матеріалі 110 хворих МРДРПК проводили визначення поліморфізму генів *GSTP1* і *MTHFR* методом алельспецифічної полімеразної ланцюгової реакції з детекцією результатів в режимі реальної часу. Визначення рівня 8-оксо-dG в елюаті проводили спектрофотометричним методом. Імуногістохімічні дослідження маркерів Ki-67, MutS 2–6, CD44, CEA проводили за загальноприйнятими методиками. **Результати.** У хворих МРДРПК обох груп дослідження відбувся суттєвий патоморфологічний відгук пухлики на НХЛТ, який склав у групі порівняння 47,2%, в основній групі — 59,7% за шкалою mTRG і 49,1 і 64,9% — за критеріями RECIST 1.1 відповідно. Встановлено, що саме оксалиплатинсодержаща хіміотерапія здатна статистично достовірно знизити рівень 8-оксо-dG. Застосування капецитабіну в неад'ювантному режимі у пацієнтів з МРДРПК при наявності одночасно поліморфізмів A313G *GSTP1* і C667T *MTHFR* не впливає на збільшення безрецидивної виживаємості. При одночасному визначенні факторів *GSTP1*, *MTHFR* і Ki67 виявляється прогнозна ймовірність виникнення рецидиву у вищезгаданих хворих в межах 51–99%. **Висновок.** Застосування капецитабіну в НХЛТ у хворих МРДРПК ефективно тільки при відсутності поліморфізмів A313G *GSTP1* і C667T *MTHFR*, в інших випадках бажано використовувати в якості НХЛТ схему CAPOX. Рівень зниження 8-оксо-dG є незалежним фактором ефективності застосування НХЛТ.

**Ключові слова:** місцево-розповсюджений дистальний рак прямої кишки, неад'ювантна хіміолучева терапія, молекулярні та генетичні фактори прогнозу.

## Optimization of combined treatment for locally advanced distal rectal cancer with regard to prognosis factors

**V.V. Zvirych, Y.I. Michailovich**

**Summary.** The current concept of neoadjuvant chemoradiotherapy (NCRT), as a key method in achieving complete or partial tumor's radiological response to therapy enables to improve the immediate and long-term results of rectal cancer treatment. **The purpose of this study** was to define prognostic factors for the effectiveness of NCRT in achieving a tumor-radiological response on therapy in patients with locally advanced distal rectal cancer (LADRC), as well as factors to prognosis free survival using molecular 8-oxo-2'-deoxyguanosine (8-oxo-dG), immunohistochemical (Ki67) and molecular genetics (*GSTP1* and *MTHFR* genes polymorphism) markers. **Materials and methods.** *GSTP1* and *MTHFR* gene polymorphisms were determined in real-time on tumor material obtained from 110 patients with LADRC by real-time allele-specific polymerase chain reaction. Level of the 8-oxo-dG in the eluate was performed with spectrophotometric method. Immunohistochemical studies of the Ki-67, MutS 2–6, CD44, and CEA markers were carried out according to standard methods. **Results.** In patients with LADRC from both study groups, there were significant pathological responses of the tumor to NCRT: in the comparison group it was 47.2%, in the main group — 59.7% suitably to the mTRG scale and 49.1% and 64.9% with RECIST 1.1 criteria, respectively. It was found that oxaliplatin-containing chemotherapy promotes statistically significant decrease in 8-oxo-dG's level. The use of single capecitabine in neoadjuvant regimen for patients with LADRC in presence as A313G *GSTP1* and C667T *MTHFR* polymorphisms does not affect increase on relapse-free survival. When combined *GSTP1*, *MTHFR* and Ki67 factors they are determined predicted probability of recurrence in this patients within 51–99%. **Conclusion.** The use of capecitabine in NCRT for patients with LADRC is effective only in absence of polymorphisms A313G *GSTP1* and C667T *MTHFR*, in other cases it is desirable to use as NCRT scheme CAPOX. 8-oxo-dG reduction level can serve as independent prognostic factor of NCRT efficacy.

**Key words:** distal locally-advanced rectal cancer, chemoradiotherapy, molecular and genetic marker, prognostic factor.

### Адреса для листування:

Михайлович Юрій Йосипович

03022, Київ, вул. Ломоносова, 33/43

Національний інститут раку, відділ організації протираків боротьби

E-mail: michailovichyi@gmail.com

Одержано 31.03.2020