

О. В. Стрельцова¹, А. В. Прохоров², А. С. Портянко³, Е. И. Субоч³,
К. Н. Батура³, Е. В. Баранов¹

ФАКТОРЫ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К МЕТРОНОМНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ У ПАЦИЕНТОВ С ДИССЕМИНИРОВАННЫМ КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ

УЗ «Минский городской клинический онкологический диспансер»¹,
УО «Белорусский государственный медицинский университет»²,
ГУ «Республиканский научно-практический центр онкологии
и медицинской радиологии им. Н. Н. Александрова»³

Лечение диссеминированного колоректального рака является одной из актуальных проблем современной онкологии в связи с высокой заболеваемостью в Республике Беларусь и в мире при относительно невысокой эффективности лечения метастатических форм заболевания. Так как основным методом лечения распространённых форм опухоли является лекарственный, сохраняется необходимость разработки и внедрения в клиническую практику новых эффективных методов химиотерапии колоректального рака. В данной статье представлен промежуточный анализ лечения пациентов с диссеминированным колоректальным раком, проходивших лечение в УЗ «МГКОД» в 2016–2019 гг., с использованием метрономной поддерживающей химиотерапии ($n = 60$). Метрономный режим включал в себя приём капецитабина 500 мг 3 раза в день и циклофосфана 50 мг ежедневно. Медиана времени наблюдения за пациентами составила 18,5 мес. Медиана времени, свободного от прогрессирования, составила 9,0 и 7,4 мес. в исследуемой и контрольной группах соответственно. Медиана общей выживаемости, рассчитанная от момента начала индукционной химиотерапии, в настоящий момент составляет 22,9 мес. в группе поддерживающей химиотерапии и 14,7 мес. в группе контроля. Контрольная группа состояла из пациентов с диссеминированным колоректальным раком, получавших такую же индукционную химиотерапию (FolFox или Xelox), без поддерживающего лечения в период с 2011-ого по 2015-ый год ($n = 70$). Факторами прогноза чувствительности к метрономной химиотерапии у пациентов с колоректальным раком являются низкие уровни экспрессии генов TS, DPD и VEGFR1, высокий уровень экспрессии гена TP, низкий уровень маркеров РЭА, СА 19-9. На основании этих данных может быть выделена группа пациентов, которым рекомендовано применение данного метода лечения.

Ключевые слова: метрономная химиотерапия, колоректальный рак, факторы чувствительности, опухолевые маркеры, полиморфизм генов.

O. V. Streltsova, A. V. Prokhorov, A. S. Portyanko, E. I. Suboch, K. N. Batura, Y. V. Baranau

FACTORS OF SENSITIVITY TO METRONOMIC CHEMOTHERAPY IN PATIENTS WITH DISSEMINATED COLORECTAL CANCER

The treatment of colorectal cancer is one of the most challenging problems of modern oncology due to the high incidence both in the Republic of Belarus and in the whole world. Since chemotherapy remains the main method of treatment of metastatic disease, there remains a need to develop and introduce into clinical practice new effective methods of chemotherapy for colorectal cancer. This article presents the interim results of treatment of colorectal cancer patients in Minsk City Clinical Oncologic Dispensary with the use of maintenance metronomic chemotherapy, who were enrolled from 2016 till 2019 ($n = 60$). Metronomic regimen consisted of oral capecitabine 500 mg 3 times a day and oral cyclophosphane 50 mg daily. The control arm consisted of mCRC patients who received the same induction chemotherapy without maintenance from 2011 till 2015 ($n = 70$). Median follow-up time was 18,5 months. Median progression-free survival (PFS) was 9.0 and 7.4 months in the maintenance and control arms respectively. Median overall survival (OS), counted from the beginning of induction chemotherapy, is currently 22.9 months in the maintenance arm, and 14.7 months in control. Low expression levels of genes, encoding enzymes TS (thymidylate synthetase), DPD (dihydropyrimidine dehydrogenase) and receptor VEGFR1, high expression level of gene TP (thymidylate phosphorylase), as well as low levels of tumor markers CEA and CA 19-9 are the prognostic factors of sensitivity to metronomic chemotherapy given to colorectal cancer patients. Based on these data, we identified a group of patients who are recommended to use this method of treatment.

Key words: metronomic chemotherapy, colorectal cancer, factors of sensitivity, tumor markers, gene polymorphism.

Лечение диссеминированного колоректального рака является одной из актуальных проблем современной онкологии в связи с высокой заболеваемостью в Республике Беларусь и в мире при относительно невысокой эффективности лечения метастатических форм заболевания [1, 6]. Так как основным методом лечения распространённых форм опухоли является лекарственный, сохраняется необходимость разработки и внедрения в клиническую практику новых эффективных методов химиотерапии колоректального рака. Особенно актуальным является вопрос о длительности проводимого лечения и необходимости поддерживающей химиотерапии до прогрессирования опухолевого процесса [4]. Одним из перспективных методов поддерживающего лечения опухолей различных локализаций является метрономная терапия [11]. Она представляет собой назначение цитостатиков в относительно низких, минимально токсичных дозах без длительных промежутков между введениями [2, 7]. При этом реализуется прежде всего не цитотоксический, а антиангиогенный эффект препаратов, их способность воздействовать на микроокружение опухолевой клетки, оказывать иммуномодулирующее действие [5, 8].

Особую актуальность в настоящее время приобретает проблема определения факторов прогноза колоректального рака и поиск маркёров, определяющих чувствительность к химиотерапии. Знания о молекулярно-генетических характеристиках опухолей дают возможность рационально планировать химиотерапевтическое лечение, индивидуализировать лекарственные схемы, а также снижать экономические затраты на дорогостоящие химиопрепараты.

В настоящем исследовании изучалось применение комбинации капецитабина с циклофосфаном в метрономном режиме у пациентов, получивших первую линию лечения по поводу метастатического колоректального рака. Мы также изучили влияние различных клинических и молекулярно-генетических факторов на эффективность метрономной химиотерапии по данной схеме.

По литературным данным, наиболее изученными маркёрами чувствительности к фторпиримидинам являются TS (тимидилатсинтетаза), TP (тимидилатфосфорилаза) и DPD (дигидропиримидин-дегидрогеназа), которые влияют на метаболизм капецитабина [10, 12]. Также одним из потенциальных маркеров чувствительности к метрономной химиотерапии является фактор роста эндотелия сосудов VEGF [8]. По данным нескольких исследований на небольших группах было установлено, что пациенты с низким уровнем VEGF и те, у кого наблюдалось его снижение на фоне лечения, имели более высокие показатели выживаемости [3, 9]. Таким образом, уровень VEGF в сыворотке крови, а также экспрессия его рецепторов VEGFR1(Flt-1) и VEGFR2(KDR) в опухолевой ткани

могут быть потенциальными биомаркерами чувствительности к метрономным режимам химиотерапии, требующими дальнейшего изучения в исследованиях на больших группах пациентов.

Целью исследования являлась оценка эффективности метрономной поддерживающей химиотерапии у пациентов с диссеминированным колоректальным раком, а также изучение влияния различных клиническо-лабораторных и молекулярно-генетических факторов на чувствительность пациентов к данному методу лечения.

Материалы и методы

В исследование включались пациенты в возрасте от 18 до 75 лет с морфологически верифицированной аденокарциномой толстой кишки, общеклиническим статусом по шкале ECOG (Eastern Cooperative Oncology Group) 0-1. В основную группу включено 60 пациентов с впервые выявленным метастатическим колоректальным раком, проходивших лечение в Минском городском клиническом онкологическом диспансере с 2016 по 2019 год. Пациентам проводилась первая линия химиотерапии по схемам FOLFOX или CAPEOX в соответствии национальными стандартами. Тем из них, у кого наблюдался частичный эффект либо стабилизация заболевания, назначалась метрономная поддерживающая химиотерапия по схеме: капецитабин 500 мг 3 раза в сутки внутрь и циклофосфан 50 мг 1 раз в сутки внутрь. Лечение назначалось до прогрессирования опухолевого процесса или признаков непереносимой токсичности.

Контрольную группу составили 70 пациентов с диссеминированным колоректальным раком, получившие такое же индукционное лечение без поддерживающей химиотерапии с 2011 по 2015 годы.

Для определения влияния молекулярно-генетических факторов на эффективность метрономной химиотерапии были определены уровни белка VEGF в сыворотке крови и изучена экспрессия генов VEGFR1, VEGFR2, DPD, TP и TS в опухолевой ткани. Биологическим материалом для проведения молекулярно-генетических исследований являлась свежемороженая (нативная) и парафинизированная опухолевая ткань метастазов колоректального рака, полученная путем трепан-биопсии печени. Забор биологического материала происходил до начала метрономной химиотерапии. Для определения экспрессии профиля генов использовался метод ПЦР в режиме реального времени.

Оценка эффективности разрабатываемого метода проводилась путем сравнения в основной и контрольной группах частоты ответа опухоли на лечение по критериям RECIST 1.1 (Response Evaluation Criteria In Solid Tumors). За начало наблюдения принималась дата начала химиотерапии первой линии. Контрольное обследование пациентов проводилось

каждые 3 месяца с момента начала метрономной химиотерапии до прогрессирования опухолевого процесса. Обязательный объем обследования включал: объективный осмотр пациента, лабораторные исследования (общий анализ крови, биохимический анализ крови, определение маркеров РЭА, СА 19-9), компьютерную томографию целевых очагов. Общая и безрецидивная выживаемость определялась методом Каплан-Майера. Для оценки влияния клинических, лабораторных и молекулярно-генетических факторов на эффективность метрономной терапии посредством оценки выживаемости пациентов выполнен регрессионный анализ Кокса (унивариантный и мультивариантный).

Результаты и обсуждение

Непосредственная эффективность лечения к настоящему времени оценивалась у 60 пациентов. У 10 из них (16,7%) в качестве лучшего ответа на лечение был зарегистрирован частичный эффект, у 29 (48,3%) – стабилизация опухолевого процесса в течение 3-х и более месяцев без признаков непереносимой токсичности. Всего положительный эффект отмечен в 39 случаях (65%).

Прогрессирование опухолевого процесса имело место у 48 человек, время от начала химиотерапии до прогрессирования заболевания составляло от 5,6 до 17,6 мес. Поддерживающую химиотерапию в метрономном режиме пациенты получали от 2,3 до 12,0 мес. Медиана времени, свободного от прогрессирования, составила 9,0 и 7,4 мес. в исследуемой и контрольной группах соответственно. Медиана общей выживаемости, рассчитанная от начала индукционной химиотерапии, в настоящий момент составляет 22,9 мес. в группе поддерживающей химиотерапии и 14,7 мес. в группе контроля.

В качестве возможных клинко-лабораторных факторов чувствительности к метрономной химиотерапии были отобраны пол и возраст пациентов (до 60 лет и старше), уровни опухолевых маркеров СЕА и СА 19-9 (таблица 1).

Таблица 1. Данные регрессионного анализа клинко-лабораторных факторов

Исследуемый параметр	Регрессионный коэффициент	Значимость различий, p
Возраст	0,87	0,38
РЭА	1,67	0,09
СА 19-9	1,83	0,07
Пол	-0,26	0,8

Не было выявлено корреляций между полом, а также возрастом (до 60 лет и старше), и показателями выживаемости пациентов. Было установлено, что уровень РЭА более 10 нг/мл и уровень СА 19-9 более 70 нг/мл достоверно ассоциированы с более

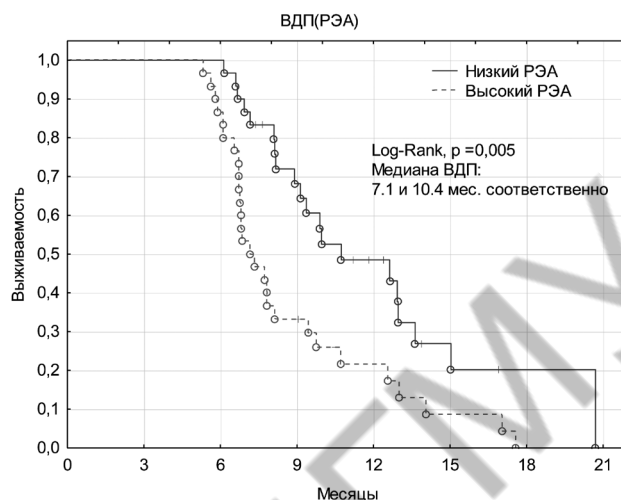


Рис. 1. Время до прогрессирования пациентов основной группы в зависимости от уровня РЭА

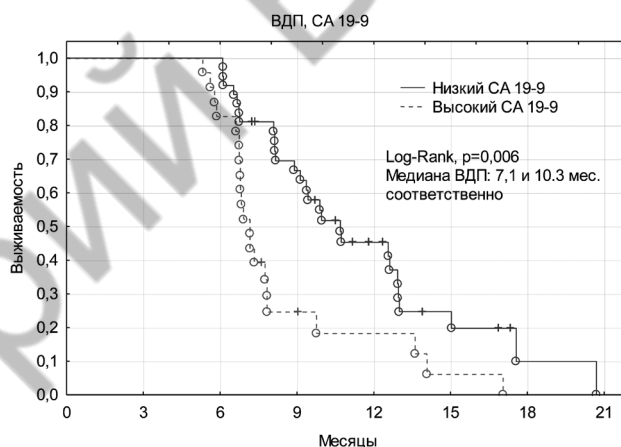


Рис. 2. Время до прогрессирования пациентов основной группы в зависимости от уровня СА 19-9

высокой вероятностью неблагоприятного исхода ($p = 0,006$ и $p = 0,005$ соответственно) (рисунок 1, 2). У пациентов с относительно низкими уровнями маркеров показатели безпрогрессивной выживаемости превысили 10 месяцев, в то время как у пациентов с высокими уровнями РЭА и СА 19-9 этот показатель составил 7,1 мес.

Для определения фактора роста сосудистого эндотелия (VEGF) протестировано 40 образцов сыворотки крови, при этом в ряде случаев исследование было выполнено в динамике на фоне проводимого лечения с интервалом в 2 мес., 4 мес. и 6 мес. Для каждого сывороточного маркера (VEGF-A, VEGF-C, VEGF-D) были рассчитаны значения снижения их концентрации в динамике на фоне проведения метрономной терапии за период первых двух месяцев от начала лечения и сравнение полученной разницы в группах пациентов с положительным эффектом (частичный эффект + стабилизация) и прогрессированием заболевания.

Было установлено, что снижение концентрации ростовых факторов в динамике происходит медленнее в группе пациентов с прогрессированием заболевания и может являться косвенным маркером эффективности метрономной терапии, однако различия не являются достоверными ($p = 0,3$, $p = 0,68$ и $p = 0,082$ для VEGF-A, VEGF-Си VEGF-D соответственно). Данное обстоятельство может быть обусловлено немногочисленностью исследуемой выборки и будет уточнено в ходе дальнейшего исследования.

Экспрессия генов VEGFR1, VEGFR2, DPD, TP и TS изучена в 40 образцах опухолевой ткани. Полученные при проведении регрессионного анализа данные свидетельствуют о том, что увеличение относительного уровня экспрессии гена TP достоверно ассоциировано с меньшей вероятностью неблагоприятного исхода (прогрессирования заболевания) ($p = 0,0015$), а увеличение относительных уровней экспрессии генов TS, DPD и VEGFR1, наоборот, с более высокой вероятностью дальнейшего прогрессирования опухолевого процесса ($p = 0,0201$, $p = 0,0200$ и $p = 0,0264$ соответственно) у пациентов с колоректальным раком на фоне проводимой метрономной терапии. Для относительного уровня экспрессии гена VEGFR2 значимого влияния на исход заболевания не выявлено (таблица 2).

Таблица 2. Данные регрессионного анализа молекулярно-генетических факторов

Исследуемый ген	Регрессионный коэффициент, абс.	Значимость различий, p
TP	- 2,80355	0,0015
TS	0,82726	0,0201
DPD	1,12234	0,0200
VEGFR1	1,76194	0,0264
VEGFR2	- 1,19180	0,2057

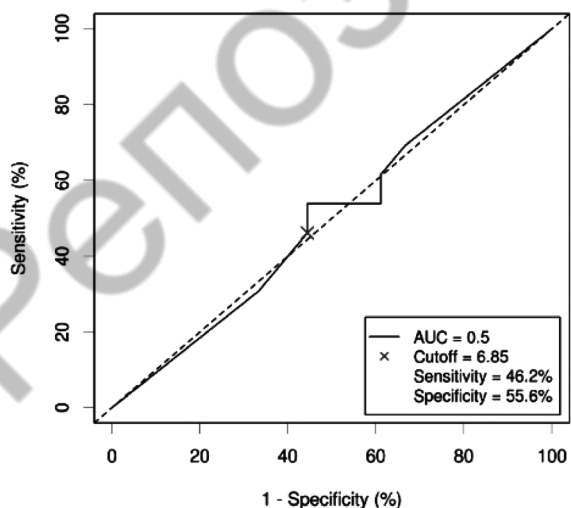


Рис. 3. ROC-кривая результатов оценки экспрессии гена TP

Для определения наиболее оптимальных пороговых значений маркерных генов оценки экспрессии использован ROC-анализ, выполненный в программе MedCalc. ROC-кривые результатов представлены на рисунках 3–6.

По результатам ROC-анализа в качестве оптимальных критериев чувствительности к метрономной терапии определены:

- относительный уровень экспрессии гена TP > 6,85 отн. ед.;
- относительный уровень экспрессии гена TS ≤ 6,64 отн. ед.;
- относительный уровень экспрессии гена DPD ≤ 6,06 отн. ед.;
- относительный уровень экспрессии гена VEGFR1 ≤ 5,46 отн. ед.

Полученные к настоящему моменту результаты исследования свидетельствуют об относительной эффективности метрономной химиотерапии и позволяют выделить группу пациентов, которым может быть предложен данный метод лечения. Выявленные нами факторы чувствительности позволят индивидуально подходить к выбору тактики лечения данной категории пациентов. Учитывая ограниченное число литературных данных об использовании метрономной химиотерапии в лечении пациентов с колоректальным раком, а также отсутствие чётких критериев для её назначения, дальнейшее изучение этой проблемы представляется актуальным и перспективным.

Выводы

1. Метрономная поддерживающая химиотерапия позволяет повысить общую выживаемость пациентов с метастатическим колоректальным раком с 14,7 до 22,9 мес., время до прогрессирования от начала химиотерапии с 7,4 до 9,0 мес.

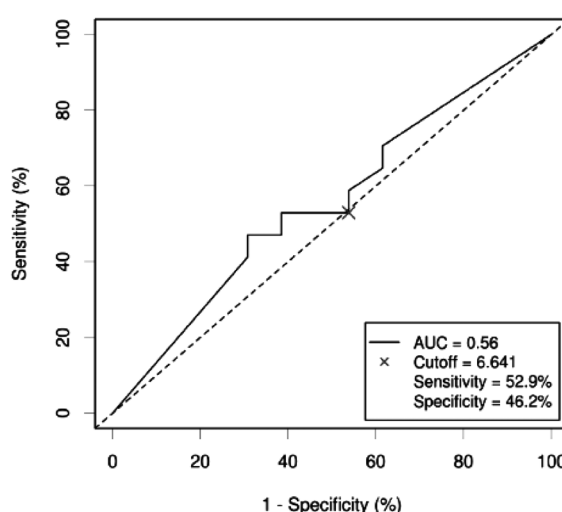


Рис. 4. ROC-кривая результатов оценки экспрессии гена TS

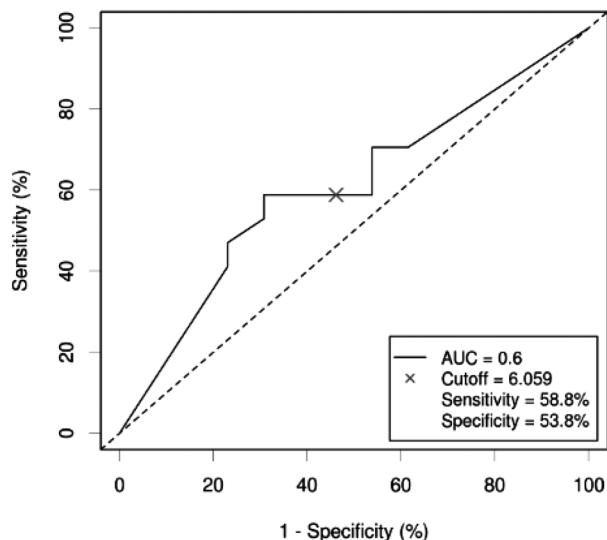


Рис. 5. ROC-кривая результатов оценки экспрессии гена DPD

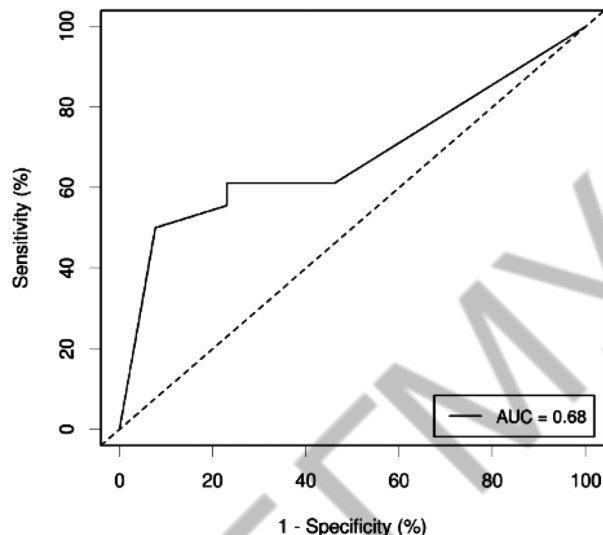


Рис. 6. ROC-кривая результатов оценки экспрессии гена VEGFR1

2. Клинико-лабораторными факторами чувствительности к метронуемой химиотерапии у пациентов с колоректальным раком являются низкие уровни маркеров РЭА и СА 19-9 ($p = 0,006$ и $p = 0,005$ соответственно).

3. Молекулярно-генетическими факторами факторами чувствительности к метронуемой химиотерапии являются низкие уровни экспрессии генов TS, DPD и VEGFR1 ($p = 0,0201$, $p = 0,0200$ и $p = 0,0264$ соответственно), высокий уровень экспрессии гена TP ($p = 0,0015$).

Литература

1. Океанов, А. Е. Статистика онкологических заболеваний в Республике Беларусь (2004-2013) / А. Е. Океанов, П. И. Моисеев, Л. Ф. Левин; под ред. О. Г. Сукошко. – Минск: РНПЦ ОМР им. Н. Н. Александрова, 2015. – С. 136-141.
2. Чубенко, В. А. Метронуемая терапия злокачественных опухолей / В. А. Чубенко, В. М. Моисеенко // Материалы XII Российского онкологического конгресса. – Москва; издательская группа ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН: 2008. – С. 103-106.
3. Browder T., Butterfield C. E., Kraling B. M. et al. Antiangiogenic scheduling of chemotherapy improves efficacy against experimental drug-resistant cancer. *Cancer Res* 2000; 60(7):1878-1886.
4. Chibaudel, B., Maindrault-Goebel, F., Lledo, G., Mineur, L., André, T., Bennatoun, M., & de Gramont, A. (2009). Can

chemotherapy be discontinued in unresectable metastatic colorectal cancer? The GERCOR OPTIMO2 Study. *Journal of Clinical Oncology*, 27(34), 5727-5733. doi: 10.1200/JCO.2009.23.4344.

5. Dreys J., Fakler J., Eisele S. et al. Antiangiogenic potency of various chemotherapeutic drugs for metronomic chemotherapy. *Anticancer Res* 2004; 24: 1759-1763.

6. Ferlay J, Steliarova-Foucher E, Lortet-Tieulent J et al. Cancer incidence and mortality patterns in Europe: estimates for 40 countries in 2012. *Eur J Cancer* 2013; 49: 1374-1403.

7. Gnoni A., Silvestris N., Licchetta A. et al. Metronomic chemotherapy from rationale to clinical studies: a dream or reality? 2015; 95(1):46-61.

8. Kerbel R. S. Inhibition of tumor angiogenesis as a strategy to circumvent acquired resistance to anti-cancer therapeutic agents. *Bioessays* 1991;13(1):31-6.

9. Lien K., Georgsdottir S., Sivanathan L., Chan K., Emmenegger U. Low-dose metronomic chemotherapy: a systematic literature analysis. *Eur. J. Cancer* 2013; 49(16):3387-3395.

10. Louvet C, Coudray AM, Tournigand C, et al. Synergistic antitumoral activity of combined UFT, folinic acid and oxaliplatin against human colorectal HT29 cell xenografts in athymic nude mice. *Anticancer Drugs* 2000; 11:579-82.

11. Pasquier E., Kavallaris M., André N. Metronomic chemotherapy: new rationale for new directions. *Nat. Rev. Clin. Oncol* 2010; 7(8): 455-465.

12. Stöhlmacher J. Pharmacogenetics in gastrointestinal tumors. *Onkologie*. 2005;28: 435-440.

Поступила 06.02.2020 г.