

ГОСУДАРСТВЕННОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«РЕСПУБЛИКАНСКИЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЦЕНТР
ОНКОЛОГИИ И МЕДИЦИНСКОЙ РАДИОЛОГИИ
им. Н. Н. АЛЕКСАНДРОВА»

Объект авторского права
УДК 616.345-006.6-089-076.5

ОРЕХВА
Андрей Владимирович

**КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ VIRC5-ПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ
ЦИРКУЛИРУЮЩИХ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК
ПРИ КОЛОРЕКТАЛЬНОМ РАКЕ**

Автореферат диссертации
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук
по специальности 14.01.12 – онкология

Минск 2024

Научная работа выполнена в учреждении образования «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»

Научный руководитель **Шляхтунов Евгений Александрович**, доктор медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой онкологии с курсом ФПК и ПК учреждения образования «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»

Официальные оппоненты **Шмак Андрей Иванович**, доктор медицинских наук, доцент, заведующий лабораторией абдоминальной онкопатологии государственного учреждения «Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова»

Каравай Александр Владимирович, кандидат медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой онкологии учреждения образования «Гродненский государственный медицинский университет»

Оппонирующая организация Учреждение образования «Гомельский государственный медицинский университет»

Защита состоится 20 ноября 2024 г. в 14⁰⁰ ч. на заседании совета по защите диссертаций Д 03.12.01 при государственном учреждении «Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова» (223040, Минский р-н, агр. Лесной, E-mail: N.Artemova@omr.by, тел. +375 17 3899561).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке государственного учреждения «Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова».

Автореферат разослан «8» октября 2024 г.

Ученый секретарь
совета по защите диссертаций
доктор медицинских наук, профессор



Н.А. Артемова

ВВЕДЕНИЕ

По данным Международного агентства по изучению рака ежегодно в мире регистрируется более 1,9 миллиона новых случаев колоректального рака (КРР), он занимает 3-е место после рака молочной железы и рака легких, достигая 10% от общего количества обнаруживаемых в мире онкозаболеваний [Patel S. G. et al., 2022].

В настоящее время из всего числа вновь выявленных пациентов с колоректальным раком 50% уже находятся в III–IV стадиях [Федоров В. Э. и др., 2017]. Даже несмотря на своевременное радикальное лечение, прогрессирование заболевания наблюдается примерно у 40–50% пролеченных пациентов и приводит к возникновению отдаленных метастазов, а также локально-регионарных рецидивов [Солодкий В. А. и др., 2015]. К сожалению, результаты лечения пациентов с распространенным КРР остаются малоудовлетворительными: 5-летний рубеж при III стадии заболевания переживают 47% пациентов, а при IV стадии – не более 8% [Почуев Т. П. и др., 2021].

Важно применять новые, усовершенствованные методы определения минимальной остаточной болезни (МОБ) у пациентов после радикального лечения, что поможет выявить пациентов с ранним рецидивом заболевания и своевременно начать лекарственную терапию [Bettegowda S. et al., 2014; Tarazona N. et al., 2019].

Развитие отдаленных метастазов в значительной степени связано с циркулирующими опухолевыми клетками (ЦОК), которые в ходе эпителиально-мезенхимального перехода гематогенно распространяются по организму [Yang J. et al., 2008].

Определение агрессивного фенотипа ЦОК или функционального состояния ЦОК актуально по причине их низкой концентрации в периферической крови, откуда осуществляется взятие материала для исследования. Для решения этой задачи необходимо разработать и стандартизовать чувствительные и специфичные опухолевые маркеры, которые имеют доступные методы выявления, могут отражать МОБ и предсказывать клинический исход заболевания [Marcuello M. et al., 2019].

Наибольший потенциал «жидкостной биопсии» на основе ЦОК заключается в прямом молекулярном анализе, что позволяет исследовать ЦОК на наличие клинически значимых мутаций, опухолевой экспрессии или даже изучить целые геномы на уровне отдельных клеток. Одним из таких генов является антиапоптотический ген сурвивин (*BIRC5*).

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Связь работы с научными программами (проектами), темами

Работа выполнена на базе учреждения здравоохранения «Витебский областной клинический онкологический диспансер» и учреждения образования «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет» в рамках научной темы Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (БРФФИ) «Определение роли секретома, транскриптома и микровезикул тромбоцитов в пролиферации и метастазировании солидных злокачественных опухолей и разработка новых неинвазивных подходов к их диагностике и мониторингу эффективности противоопухолевой терапии» (2022–2025 гг.), номер госрегистрации 20230159 от 31 января 2023 г.

Диссертационное исследование соответствует приоритетным направлениям научно-технической деятельности в Республике Беларусь на 2016–2020 гг., утвержденным Указом Президента Республики Беларусь от 22.04.2015 г. № 166 (пункт 4. Медицина, фармацевтика, медицинская техника: технологии профилактики, диагностики и лечения заболеваний), а также приоритетным направлениям научно-технической и инновационной деятельности на 2021–2025 годы, утвержденным Указом Президента Республики Беларусь от 07.05.2020 г. № 156 (пункт 2. Биологические, медицинские, фармацевтические и химические технологии и производства: диагностика, медицинская профилактика и лечение инфекционных, включая вирусной этиологии, и неинфекционных заболеваний, экспертиза качества медицинской помощи).

Цель, задачи, объект и предмет исследования

Цель исследования: определить клиническое значение *BIRC5*-положительных циркулирующих опухолевых клеток у пациентов, страдающих колоректальным раком.

Задачи исследования:

1) изучить экспрессию мРНК сурвивина (*BIRC5*) в опухолевой ткани пациентов при колоректальном раке и аденомах толстой кишки на этапе хирургического лечения;

2) изучить экспрессию мРНК сурвивина (*BIRC5*) в циркулирующих опухолевых клетках у пациентов, страдающих КРР и аденомами толстой кишки на этапах противоопухолевого лечения и диспансерного наблюдения;

3) изучить 5-летнюю скорректированную и 5-летнюю безрецидивную выживаемость у пациентов, страдающих колоректальным раком, в зависимости

от уровней экспрессии мРНК сурвивина (*BIRC5*) в циркулирующих опухолевых клетках и определить их прогностическое значение;

4) определить факторы, оказывающие влияние на 5-летнюю скорректированную и 5-летнюю безрецидивную выживаемость данной категории пациентов, и разработать метод диагностики минимальной остаточной болезни при колоректальном раке.

Объект исследования: пациенты, которым в учреждении здравоохранения «Витебский областной клинический онкологический диспансер» с 2018 по 2023 год было проведено лечение по поводу колоректального рака и аденом толстой кишки.

Предмет исследования: непосредственные и отдаленные результаты лечения при колоректальном раке.

Научная новизна

Впервые изучена экспрессия мРНК сурвивина (*BIRC5*) в опухолевой ткани и циркулирующих опухолевых клетках при колоректальном раке и аденомах толстой кишки на этапах хирургического, специального противоопухолевого лечения и диспансерного наблюдения.

Впервые доказано прогностически неблагоприятное влияние *BIRC5*-положительных ЦОК через 9 месяцев после хирургического лечения: 5-летняя скорректированная и 5-летняя безрецидивная выживаемость у пациентов с наличием ЦОК – 66,3% и 57,5% соответственно. Уровень экспрессии мРНК сурвивина (*BIRC5*) в циркулирующих опухолевых клетках через 9 месяцев после хирургического лечения является важным прогностическим признаком: 5-летняя скорректированная и 5-летняя безрецидивная выживаемость пациентов с уровнем экспрессии ≥ 2 отн. ед. – 20,0% и 12,0% соответственно.

Впервые выявлены прогностические факторы у пациентов, страдающих колоректальным раком, с учетом наличия *BIRC5*-положительных ЦОК через 9 месяцев после хирургического лечения $OR=15,2$ (95% ДИ 2,09–111,42; $p=0,007$) и гиперэкспрессии мРНК сурвивина (*BIRC5*) в циркулирующих опухолевых клетках $OR=6,51$ (95% ДИ 3,18–13,34; $p<0,0001$).

Впервые обоснован, разработан и внедрен в клиническую практику метод диагностики МОБ у пациентов, страдающих колоректальным раком, заключающийся в определении уровня нормализованной экспрессии мРНК сурвивина (*BIRC5*) в ЦОК через 9 месяцев после хирургического лечения, позволивший выявить пациентов с ранним прогрессированием заболевания.

Положения, выносимые на защиту

1. *BIRC5*-положительные опухоли при колоректальном раке встречаются у большинства пациентов (85,3%) и частота их обнаружения зависит от

глубины опухолевой инвазии (T3–T4) ($p=0,013$) и размера опухоли > 50 мм ($p=0,04$). На уровень экспрессии мРНК сурвивина (*BIRC5*) в опухолевой ткани влияет глубина опухолевой инвазии (T3–T4) ($p=0,007$; $r=0,26$), наличие пораженных регионарных л/у ($p=0,045$; $r=0,19$), стадии заболевания (III–IV) ($p=0,001$; $r=0,31$) и размер опухоли > 50 мм ($p=0,014$; $r=0,22$). Уровень экспрессии мРНК сурвивина (*BIRC5*) в аденокарциноме статистически значимо выше по сравнению с аденомами ($p<0,0001$). На наличие *BIRC5*-положительных аденом влияет размер опухоли > 50 мм ($p=0,035$) и гистологический подтип (HGD) ($p=0,004$).

2. *BIRC5*-положительные ЦОК при колоректальном раке встречаются у большинства пациентов (76,2%) и на их наличие оказывают воздействие: стадия заболевания (III–IV) ($p=0,019$), пораженные регионарные л/у ($p=0,03$), а также *BIRC5*-положительные опухоли ($p=0,044$). На уровень экспрессии мРНК сурвивина (*BIRC5*) в ЦОК влияют наличие пораженных регионарных л/у ($p=0,002$; $r=0,27$), отдаленные метастазы ($p=0,005$; $r=0,26$), III–IV стадия заболевания ($p=0,004$; $r=0,27$), низкая степень дифференцировки опухоли (G3) ($p=0,001$; $r=0,29$), слизеобразующие опухоли ($p=0,02$; $r=0,21$), гиперэкспрессия мРНК сурвивина (*BIRC5*) в опухолевой ткани ($p=0,015$; $r=0,24$). Уровень экспрессии мРНК сурвивина (*BIRC5*) в ЦОК при раке толстой кишки достоверно выше по сравнению с аденомами ($p<0,0001$). Уровень экспрессии мРНК сурвивина (*BIRC5*) в ЦОК при аденомах толстой кишки зависит от морфологического подтипа опухоли (HGD) ($p=0,018$; $r=0,21$).

3. Наличие *BIRC5*-положительных ЦОК через 9 месяцев после хирургического лечения является неблагоприятным прогностическим фактором: 5-летняя скорректированная и 5-летняя безрецидивная выживаемость у пациентов с отсутствием ЦОК составляет 100% и 96,5%, с наличием ЦОК – 66,3% и 57,5% соответственно ($p=0,0006$ и $p=0,0003$). Уровень экспрессии мРНК сурвивина (*BIRC5*) в ЦОК через 9 месяцев после хирургического лечения является важным прогностическим фактором: 5-летняя скорректированная и 5-летняя безрецидивная выживаемость пациентов с уровнем экспрессии < 2 отн. ед. составляет 87,3% и 78,2%, в то время как аналогичная выживаемость пациентов с экспрессией ≥ 2 отн. ед. – 20,0% и 12,0% соответственно ($p<0,0001$ и $p<0,0001$). Независимыми прогностическими факторами возврата заболевания у пациентов, страдающих колоректальным раком выступают отдаленные метастазы (M1) ОР=6,5 ($p=0,001$), регионарные л/у (N+) ОР=2,6 ($p=0,005$) и уровень мРНК сурвивина (*BIRC5*) в ЦОК ≥ 2 отн. ед. через 9 месяцев после хирургического лечения ОР=5,7 ($p<0,001$).

4. Разработанный метод определения минимальной остаточной болезни у пациентов, страдающих колоректальным раком, на основе оценки экспрессии мРНК сурвивина (*BIRC5*) в ЦОК через 9 месяцев после хирургического лечения

является статистически высокосignificantным ($AUC=0,875$, $p<0,0001$) наряду с исследованием онкомаркеров РЭА ($AUC=0,748$; $p<0,001$) и СА 19-9 ($AUC=0,701$; $p=0,002$).

Личный вклад соискателя ученой степени

Автором обоснована тема исследования, обработана медицинская документация (истории болезни, амбулаторные карты) и создана электронная база данных с характеристикой 130 пациентов, включенных в исследование. Автор лично курировал пациентов, получавших лечение в УЗ «ВОКОД» с 2018 по 2023 год, осуществлял контроль и диспансерное наблюдение. Автором произведено 80% операций у пациентов, включенных в исследование. Подготовка аналитического обзора литературы, публикаций по теме диссертации, доклады на научных конференциях, съездах, симпозиумах выполнены автором совместно с научным руководителем.

Диссертантом в соавторстве разработана инструкция по применению: «Метод определения минимальной остаточной болезни у пациентов, страдающих колоректальным раком, на основе оценки экспрессии мРНК сурвивина (*BIRC5*) в циркулирующих опухолевых клетках» [14].

Работа специалистов, которые участвовали в исследовании, отражена в совместных публикациях [1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13].

Апробация диссертации и информация об использовании ее результатов

Основные результаты исследования доложены и обсуждены на следующих конференциях:

1. Республиканская научно-практическая конференция с международным участием «Актуальные проблемы лечения и диагностики колоректального рака», 13 декабря 2019 г., г. Минск, Республика Беларусь.
2. 75-я научная сессия ВГМУ, посвященная Достижениям фундаментальной, клинической медицины и фармации, 29 января 2020 г., г. Витебск, Республика Беларусь.
3. Республиканская научно-практическая конференция с международным участием «Лапароскопическая и малоинвазивная хирургия заболеваний толстой кишки», 3 июня 2022 г., г. Витебск, Республика Беларусь.
4. XIII Международная конференция «Российская школа колоректальной хирургии 2023», 17 сентября 2023 г., г. Москва, Российская Федерация.
5. Научно-практическая конференция «Российский конгресс по колоректальному раку 2023», 2 декабря 2023 г., г. Москва, Российская Федерация.

6. 79-я научная сессия ВГМУ, посвященная Достижениям фундаментальной, клинической медицины и фармации, 24 января 2024 г., г. Витебск, Республика Беларусь.

7. Научно-практическая конференция с международным участием «Вторая объединенная научно-практическая конференция с международным участием Ассоциации колопроктологов Республики Беларусь и Ассоциации колопроктологов России», 7 июня 2024 г., г. Витебск, Республика Беларусь.

Разработанный метод диагностики внедрен в практику в УЗ «Витебский областной клинический онкологический диспансер», УЗ «Витебский областной клинический специализированный центр», УЗ «Витебская городская клиническая больница скорой медицинской помощи», УЗ «Брестская областная клиническая больница». Материалы диссертационной работы включены в лекционный курс учебной программы кафедры онкологии с курсом ФПК и ПК и кафедры доказательной медицины и клинической диагностики ФПК и ПК УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет».

Опубликование результатов диссертации

По теме диссертации опубликовано 14 научных работ: 6 статей в рецензируемых журналах, 7 тезисов докладов научных конференций, 1 инструкция по применению, утвержденная Министерством здравоохранения Республики Беларусь. Всего имеется 6 публикаций по теме диссертации, соответствующих пункту 19 Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий. Общий объем опубликованных статей – 5,5 авторских листа, объем участия автора – 80%.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 122 страницах, состоит из введения, общей характеристики работы, аналитического обзора литературы, материала и методов исследования, результатов собственных исследований, заключения, списка использованных источников, включающего 113 литературных источников, 14 публикаций соискателя, приложений. Работа содержит 48 таблиц и иллюстрирована 34 рисунками.

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

Материал и методы исследования

Материалом исследования послужили данные о 130 пациентах с новообразованиями толстой кишки (109 пациентов с первичным резектабельным КРР и 21 пациент с аденомами толстой кишки), включенных в сплошное проспективное нерандомизированное исследование и получавших лечение в УЗ «Витебский областной клинический онкологический диспансер» с 2018 по 2023 год, а также биологические материалы – биоптаты опухоли, полученные в ходе оперативного лечения, и периферическая кровь пациентов на этапах их специального противоопухолевого лечения и диспансерного наблюдения. Исследование ЦОК при КРР проводили до хирургического лечения, через 3 месяца, через 6 месяцев и через 9 месяцев после лечения. При аденомах толстой кишки ЦОК исследованы до удаления аденомы и через 3 месяца после удаления.

В исследование включали пациентов в соответствии со следующими критериями: возраст старше 18 лет; первичное морфологическое подтверждение диагноза КРР; стадии I–IV, что соответствует pT1-4N0-3cM0-1c по TNM классификации; резектабельность опухоли в объеме стандартного хирургического вмешательства (радикальная операция или циторедуктивная операция с полной визуальной 100% редукцией опухоли); функциональная переносимость операции (статус по шкале ECOG от 0 до 2 баллов); отсутствие других синхронных и метасинхронных злокачественных опухолей, в том числе и в анамнезе; наличие информированного согласия пациента на участие в исследовании; способность пациента выполнять рекомендации врача и соблюдать схему исследования. Из исследования исключали пациентов в соответствии с такими критериями: желание пациента прекратить участие в исследовании; выявление второй злокачественной опухоли до начала или в процессе исследования; развившаяся за время исследования выраженная сопутствующая патология. Пациентов включали в исследование после морфологического подтверждения диагноза колоректального рака и выставления показаний к оперативному вмешательству. Выбор радикального оперативного пособия определялся не только степенью распространения опухоли, но и локализацией опухоли, возрастом пациентов и другими факторами, характеризующими их общее состояние. После окончания специального лечения пациентов наблюдали в течение первых 2-х лет каждые 3 месяца, на 3–4 год раз в 6 месяцев.

У всех пациентов на этапах лечения брали образец периферической крови из локтевой вены утром натощак в объеме 5 мл в стерильную вакуумную пробирку с K2ЭДТА для последующего обогащения и выделения ЦОК и

хранился при 4 °С до исследования. Образцы обрабатывались немедленно или не позднее чем через четыре часа после забора крови. Обогащение и выделение ЦОК проводилось с использованием технологии экспресс-выделения опухолевых клеток из цельной крови на основе ковалентно-связанных антител для CD326 на немагнитную полимерную матрицу крупных микросфер с последующей изоляцией ЦОК по размеру (S-pluriBead Maxi Reagent Kit and anti-human CD326 S-pluriBead, Германия).

Выделение мРНК из лизированных обогащенных клеток проводилось в соответствии с инструкциями производителя наборов для выделения РНК (ООО «СИВитал», Беларусь). Посредством технологии обратной транскрипции синтезировали кДНК, которую использовали в последующем для анализа экспрессии генов в режиме ОТ-ПЦР. Для анализа экспрессии гена *BIRC5* применяли оригинальные разработанные тест-системы для определения экспрессии Survivin сДНК транскрипции методом ОТ-ПЦР. В качестве референсного гена во всех случаях использовался ген «домашнего хозяйства» *c-ABL*. С учетом технологии обогащения и выделения ЦОК само уже определение экспрессии референсного гена *c-ABL* подтверждало наличие в образце клеток, экспрессирующих на своей поверхности ЕpСАМ (CD326). Качественная оценка и количественная характеристика нормализованной экспрессии гена *BIRC5* позволяли идентифицировать ЦОК и оценить их фенотип и функциональную активность.

Все этапы ПЦР исследования выполнялись на оборудовании «Bio Rad», США. Определение экспрессии антиапоптотического протеина сурвивина в ткани карциномы и аденомы толстой кишки было произведено при помощи ОТ-ПЦР. Исследована нормализованная экспрессия гена *BIRC5*, кодирующего белок сурвивин. Полученный в ходе биопсии или оперативного вмешательства образец опухоли в объеме до 5 мм³ замораживали, затем измельчали, лизировали. Выделение мРНК из лизированных клеток проводилось в соответствии с инструкциями производителя наборов для выделения РНК (ООО «СИВитал», Беларусь). Используя технологию обратной транскрипции, синтезировали кДНК, которую использовали в последующем для анализа экспрессии гена *BIRC5*. Положительная экспрессия мРНК сурвивина в ЦОК и опухолевой ткани считалась > 0 отн. ед.

Оценку информационной значимости предлагаемых пороговых величин при прогнозировании развития прогрессирования колоректального рака определяли при помощи ROC-анализа с построением характеристических кривых зависимости чувствительности значений величины от вероятности ложноположительных результатов. Во всех случаях различия рассматривались как статистически значимые при уровне $p < 0,05$.

Статистический анализ выполнен с использованием пакета прикладных программ Statistica 10.0 («StatSoft», США), MedCalc 7.4.4 («MedCalc Software», Бельгия).

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Клинико-биологические особенности пациентов, страдающих колоректальным раком и аденомами толстой кишки, в зависимости от уровня экспрессии мРНК сурвивина (*BIRC5*) в опухолевой ткани и циркулирующих опухолевых клетках

Из 109 пациентов группы исследования, страдающих колоректальным раком, положительная экспрессия мРНК сурвивина (*BIRC5*) в опухолевой ткани методом ОТ-ПЦР была выявлена у 93 (85,3%) пациентов со средним значением ($M \pm SD$) $1,97 \pm 2,55$ (95% ДИ 1,44–2,49). В результате проведенного анализа установлено, что на частоту экспрессии мРНК (*BIRC5*) в опухоли толстой кишки статистически значимо влияли категория Т ($p=0,013$) и размер опухоли > 50 мм ($p=0,04$). Другие выбранные для исследования клинико-морфологические параметры пациентов статистически значимо не влияли: половая принадлежность ($p=0,241$), возраст пациентов ($p=0,767$), локализация опухоли ($p=0,840$), категория N ($p=0,969$), категория M ($p=0,561$), стадия заболевания ($p=0,965$), категория G ($p=0,219$), лимфоваскулярная инвазия ($p=0,834$), морфологический тип опухоли ($p=0,517$), осложнения опухолевого процесса в виде ХКН ($p=0,501$) и ТАС ($p=0,835$).

Уровень экспрессии мРНК сурвивина (*BIRC5*) в опухоли зависит от глубины опухолевой инвазии (категория Т) ($p=0,007$; $r=0,26$), наличия пораженных регионарных лимфоузлов (категория N) ($p=0,045$; $r=0,19$), стадии заболевания ($p=0,001$; $r=0,31$), размера опухоли ($p=0,014$; $r=0,22$).

У пациентов с КРР положительная экспрессия мРНК сурвивина (*BIRC5*) в ЦОК, изолированных перед операцией, определялась у 83 (76,2%) со средним значением ($M \pm SD$) $1,18 \pm 1,33$ (95% ДИ 0,89–1,47). Через 3 месяца после операции ЦОК выявлены у 61 пациента (56,0%), через 6 месяцев у 62 (56,9%), через 9 месяцев – у 74 (67,9%). В результате проведенного анализа установлено, что на частоту экспрессии мРНК (*BIRC5*) в ЦОК до хирургического лечения статистически значимо влияли: стадия заболевания ($p=0,019$), наличие пораженных л/у ($p=0,03$), категория G ($p=0,03$), а также *BIRC5*-положительные опухоли ($p=0,044$). Статистически значимо не влияли следующие клинико-морфологические параметры пациентов: половая принадлежность ($p=0,974$), возраст пациентов ($p=0,499$), локализация опухоли ($p=0,554$), категория Т ($p=0,412$), категория M ($p=0,194$), лимфоваскулярная инвазия ($p=0,427$), морфологический тип опухоли ($p=0,901$), размер опухоли ($p=0,461$),

осложнения опухолевого процесса в виде ХКН ($p=0,959$) и ТАС ($p=0,831$), лучевое воздействие на опухоль ($p=0,104$), радикальность операции ($p=0,194$). Через 9 месяцев после хирургического лечения на экспрессию мРНК (*BIRC5*) в ЦОК значимо не влияли основные клиничко-морфологические параметры пациентов: локализация опухоли ($p=0,178$), категория Т ($p=0,336$), категория N ($p=0,959$), категория М ($p=0,094$), стадия заболевания ($p=0,931$), категория G ($p=0,981$), лимфоваскулярная инвазия ($p=0,738$), морфологический тип опухоли ($p=0,877$), размер опухоли ($p=0,605$), лучевое воздействие на опухоль ($p=0,986$), радикальность операции ($p=0,094$), проведенное химиотерапевтическое лечение ($p=0,546$), положительная экспрессия мРНК (*BIRC5*) в опухолевой ткани ($p=0,261$).

На уровень экспрессии мРНК сурвивина (*BIRC5*) в ЦОК до хирургического лечения значимо влияют: пораженные регионарные л/у ($p=0,002$; $r=0,27$), отдаленные метастазы ($p=0,005$; $r=0,26$), стадия заболевания ($p=0,004$; $r=0,27$), степень дифференцировки опухоли (категория G) ($p=0,001$; $r=0,29$), слизееобразующие опухоли ($p=0,02$; $r=0,21$), гиперэкспрессия мРНК сурвивина (*BIRC5*) в опухолевой ткани ($p=0,015$; $r=0,24$).

У 21 пациента с аденомами толстой кишки положительная экспрессия мРНК сурвивина (*BIRC5*) выявлена у 10 (47,6%) со средним значением ($M \pm SD$) $0,05 \pm 0,1$ (95% ДИ $0,02-0,12$). Установлен статистически значимо высокий уровень экспрессии мРНК сурвивина (*BIRC5*) в аденокарциноме толстой кишки ($p_{\text{Mann-Whitney}} < 0,0001$) по сравнению с аденомами. Частота выявления *BIRC5*-положительных аденом толстой кишки зависит от размера опухоли ($p=0,035$) и гистологического подтипа (HGD) ($p=0,004$). Уровень экспрессии мРНК сурвивина (*BIRC5*) в аденомах толстой кишки также коррелирует с опухолями размером > 50 мм ($p=0,001$; $r=0,30$) и HGD аденомами ($p=0,001$; $r=0,31$).

Экспрессия мРНК сурвивина (*BIRC5*) в ЦОК при аденомах толстой кишки встречается практически у третьей части пациентов (28,6%). Выявлен статистически значимо высокий уровень экспрессии мРНК сурвивина (*BIRC5*) в ЦОК при КРР по сравнению с аденомами ($p_{\text{Mann-Whitney}} < 0,0001$) как до хирургического лечения $M \pm SD$ ($1,18 \pm 1,33$ и $0,05 \pm 0,11$ соответственно), так и через 3 месяца ($p_{\text{Mann-Whitney}} < 0,001$) $M \pm SD$ ($1,02 \pm 0,93$ и $0,02 \pm 0,02$ соответственно). На уровень экспрессии мРНК сурвивина (*BIRC5*) в ЦОК влияет только гистологический подтип опухоли (HGD) ($p=0,018$; $r=0,21$).

Уровень РЭА у пациентов с КРР и аденомами толстой кишки до хирургического лечения статистически значимо отличался ($p < 0,0001$). Через 3 месяца после операции уровень РЭА значимо снизился в обеих группах ($p=0,015$). На уровень РЭА оказывали влияние: наличие у пациентов ТАС ($p=0,02$), локализация опухоли в правых отделах ободочной кишки ($p=0,02$), категория Т ($p=0,03$), отдаленные метастазы ($p=0,01$), ЛВИ+ ($p=0,02$), размеры

первичной опухоли > 50 мм ($p=0,01$). Уровень РЭА прямо коррелировал с уровнями мРНК (*BIRC5*) в опухоли ($p=0,003$; $r=0,30$) и уровнями мРНК (*BIRC5*) в ЦОК через 9 месяцев после хирургического лечения ($p=0,002$; $r=0,35$).

На уровень СА 19-9 статистически значимое влияние оказывали наличие у пациентов ТАС ($p=0,005$), ХКН ($p=0,04$), локализация опухоли в правых отделах ободочной кишки ($p=0,003$), проведение курсов химиотерапии ($p=0,0002$), категория Т ($p=0,006$), пораженные регионарные л/у (категория N) ($p=0,03$), отдаленные метастазы ($p=0,001$), размеры первичной опухоли > 50 мм ($p=0,007$). Уровень СА 19-9 коррелировал с уровнями мРНК (*BIRC5*) в ЦОК через 9 месяцев после хирургического лечения ($p=0,046$; $r=0,23$).

Безрецидивная и скорректированная выживаемость пациентов, страдающих колоректальным раком, в зависимости от экспрессии мРНК сурвивина (*BIRC5*) в циркулирующих опухолевых клетках

В течение 5 лет наблюдения у 35 пациентов (32,1%) группы исследования было выявлено прогрессирование заболевания, от которого умерло 27 пациентов (24,8%). Безрецидивная 5-летняя выживаемость (БРВ) всех 109 пациентов, включенных в исследование, составила 67,9% (95% ДИ 58,9–76,8), медиана 5-летней БРВ – $47,1 \pm 1,9$ месяца (95% ДИ 43,2–50,9). Скорректированная 5-летняя выживаемость (СВ) достигла 75,2% (95% ДИ 66,9–83,5), медиана 5-летней СВ – $52,6 \pm 1,5$ месяца (95% ДИ 49,7–55,5).

У пациентов с наличием ЦОК до хирургического лечения 5-летняя БРВ пациентов составила 67,5% (95% ДИ 62,4–72,6), в то время как аналогичная выживаемость пациентов с отсутствием ЦОК – 72,2 (95% ДИ 63,1–81,3). Полученные результаты статистически незначимы ($p=0,726$), использовать ЦОК до операции, как предиктора возврата заболевания – не представляется возможным.

Безрецидивная 5-летняя выживаемость пациентов с наличием ЦОК через 9 месяцев после хирургического лечения составила 57,5% (95% ДИ 46,4–68,6), в то время как аналогичная выживаемость пациентов с их отсутствием – 96,5% (95% ДИ 89,5–103,6; $p=0,0003$). Относительный риск (ОР) прогрессирования у пациентов с наличием ЦОК оказался в 12,3 раза выше, чем у пациентов, у которых их не было $ОР=12,3$ (95% ДИ 1,77–85,98; $p=0,011$). Данные представлены на рисунке 1.

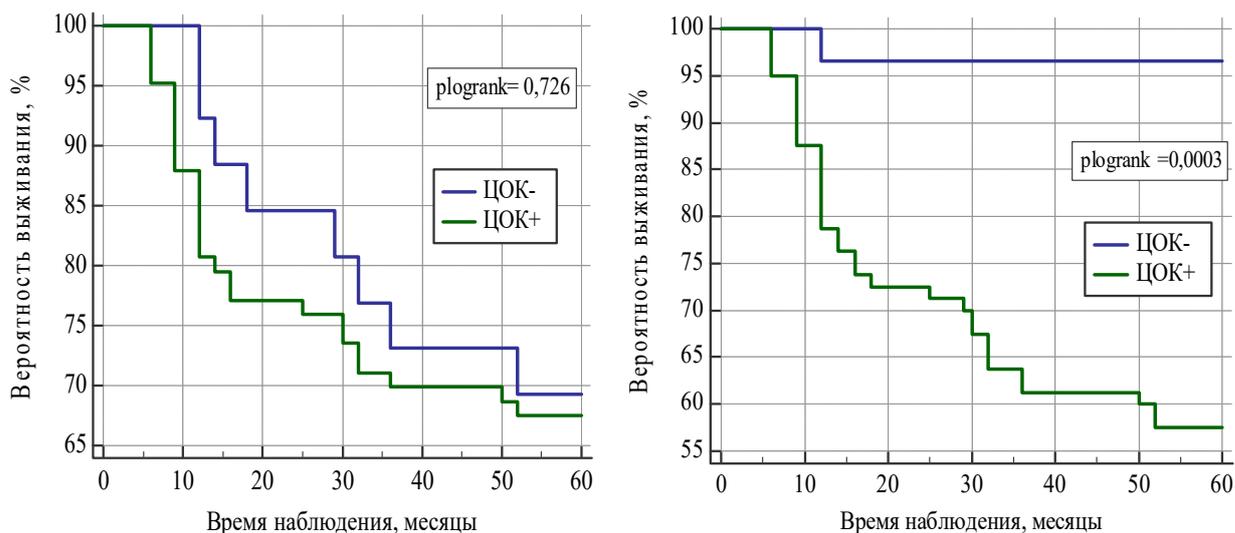


Рисунок 1 – 5-летняя БРВ пациентов в зависимости от наличия ЦОК до хирургического лечения (слева) и через 9 месяцев после лечения (справа)

5-летняя СВ пациентов с наличием ЦОК до хирургического лечения составила 73,5 (95% ДИ 68,7–78,3), в то время как аналогичная выживаемость пациентов с их отсутствием – 80,8 (95% ДИ 73,1–88,5). Однако полученные результаты статистически незначимы ($p=0,416$). 5-летняя СВ пациентов с наличием ЦОК через 9 месяцев после хирургического лечения составила 66,3% (95% ДИ 55,7–76,8), в то время как аналогичная выживаемость с отсутствием ЦОК – 100% ($p=0,0006$). ОР смерти у пациентов с наличием ЦОК оказался в 20,4 раза выше, чем у пациентов, у которых ЦОК не были выявлены $OR=20,4$ (95% ДИ 1,28–323,6; $p=0,033$). Данные представлены на рисунке 2.

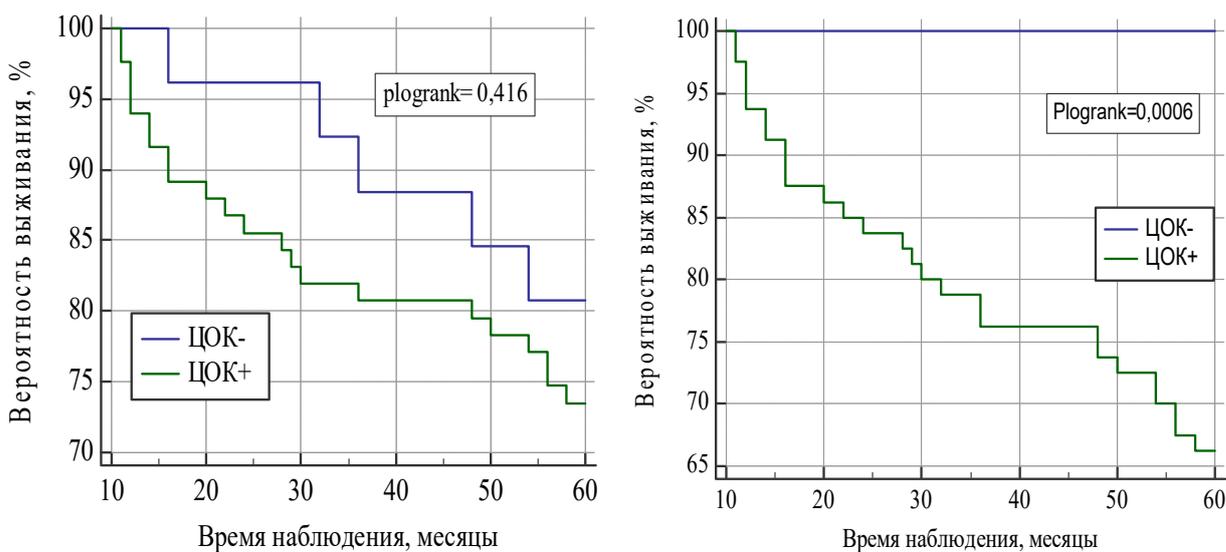


Рисунок 2 – Скорректированная 5-летняя выживаемость пациентов в зависимости от наличия ЦОК до хирургического лечения (слева) и через 9 месяцев после лечения (справа)

Безрецидивная 5-летняя выживаемость пациентов с экспрессией мРНК сурвивина (*BIRC5*) в ЦОК через 9 месяцев после хирургического лечения < 2 относительных единиц (отн. ед.) составила 78,2% (95% ДИ 66,9–89,5), в то время как аналогичная выживаемость пациентов с экспрессией ≥ 2 отн. ед. – 12,0% (95% ДИ 1,6–25,7; $p < 0,0001$). ОР прогрессирования у пациентов с уровнем экспрессии мРНК сурвивина (*BIRC5*) в ЦОК ≥ 2 отн. ед. был в 4,1 раза выше, чем у пациентов с уровнем экспрессии < 2 отн. ед. ОР=4,1 (95% ДИ 2,40–6,79; $p < 0,0001$).

Скорректированная 5-летняя выживаемость пациентов с экспрессией мРНК сурвивина (*BIRC5*) в ЦОК через 9 месяцев после хирургического лечения < 2 отн. ед. составила 87,3% (95% ДИ 78,2–96,4), в то время как аналогичная выживаемость пациентов с экспрессией ≥ 2 отн. ед. – 20,0% (95% ДИ 3,1–36,9; $p < 0,0001$). ОР смерти у пациентов с уровнем экспрессии ≥ 2 отн. ед. был в 6,3 раза выше, чем у пациентов с уровнем экспрессии < 2 отн. ед. ОР=6,3 (95% ДИ 3,06–12,9; $p < 0,0001$). Результаты даны на рисунке 3.

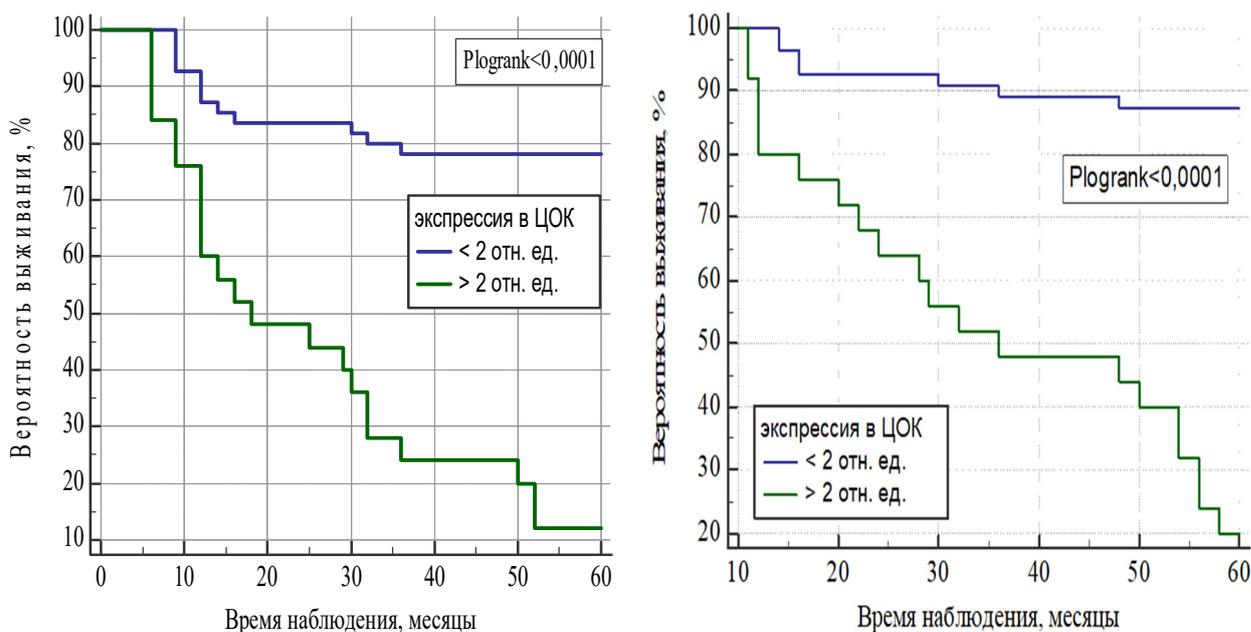


Рисунок 3 – 5-летняя БВ (слева) и 5-летняя СВ (справа) пациентов в зависимости от уровня экспрессии мРНК (*BIRC5*) в ЦОК через 9 месяцев после хирургического лечения

На 5-летнюю безрецидивную выживаемость и 5-летнюю скорректированную выживаемость согласно стадии заболевания статистически значимо влияет гиперэкспрессия мРНК сурвивина (*BIRC5*) в ЦОК.

Прогностические факторы у пациентов, страдающих колоректальным раком, в зависимости от экспрессии мРНК сурвивина (*BIRC5*) в опухолевой ткани и циркулирующих опухолевых клетках

У пациентов, страдающих колоректальным раком, неблагоприятными прогностическими факторами являются: отдаленные метастазы ОР=6,5 (95% ДИ 2,12–19,75; $p=0,001$), пораженные регионарные л/у ОР=2,6 (95% ДИ 1,23–5,65; $p=0,005$), уровень мРНК сурвивина (*BIRC5*) в ЦОК ≥ 2 отн. ед. через 9 месяцев после хирургического лечения ОР=5,7 (95% ДИ 2,64–12,16; $p<0,001$).

У пациентов с метастатическим КРР и экспрессией мРНК сурвивина (*BIRC5*) в ЦОК ≥ 2 отн. ед. условная вероятность прогрессирования заболевания в 37,1 раза выше, чем у пациентов, у которых эти факторы отсутствуют. Для пациентов с III стадией заболевания и экспрессией мРНК сурвивина (*BIRC5*) в ЦОК ≥ 2 отн. ед. условная вероятность прогрессирования заболевания в 14,8 раза выше, чем у пациентов, у которых подобные факторы не наблюдаются.

Проведен ROC-анализ диагностического потенциала экспрессии мРНК сурвивина (*BIRC5*) в ЦОК, онкомаркеров РЭА и СА 19-9 через 9 месяцев после хирургического лечения в зависимости от прогрессирования заболевания у пациентов исследуемой группы. Данные представлены на рисунке 4.

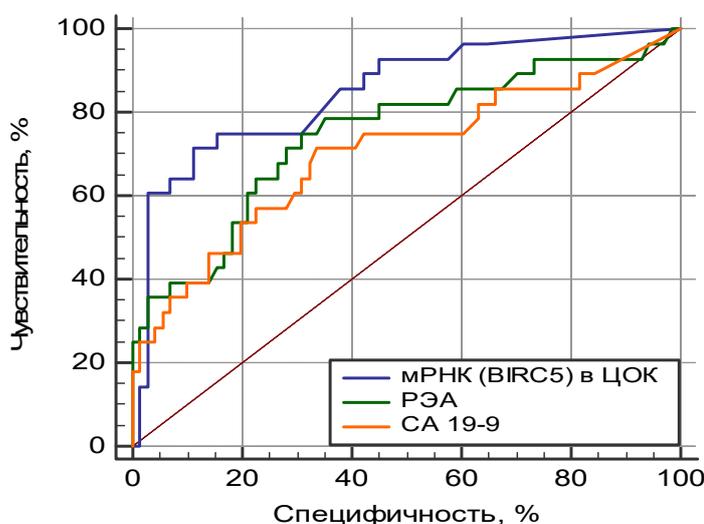


Рисунок 4 – Сравнение ROC-кривых

Исходя из полученных результатов, наряду с часто используемыми онкомаркерами РЭА ($AUC=0,748$; $p<0,001$) и СА 19-9 ($AUC=0,701$; $p=0,002$) уровень нормализованной экспрессии мРНК сурвивина (*BIRC5*) в ЦОК $\geq 2,0$ отн. ед. ($AUC=0,875$; $p<0,0001$) может использоваться для выявления минимальной остаточной болезни при колоректальном раке.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основные научные результаты диссертации

1. *BIRC5*-положительные опухоли при колоректальном раке встречаются у большинства пациентов (85,3%) вне зависимости от стадии заболевания, наличия пораженных регионарных л/у, лимфоваскулярной инвазии, степени дифференцировки опухолевой ткани и морфологического подтипа опухоли. На наличие *BIRC5*-положительной опухоли толстой кишки влияет глубина опухолевой инвазии ($p=0,013$) и размер опухоли ($p=0,04$). Количественная выраженность мРНК сурвивина (*BIRC5*) в опухолевой ткани зависит от глубины опухолевой инвазии ($p=0,007$; $r=0,26$), наличия пораженных регионарных лимфоузлов ($p=0,045$; $r=0,19$), стадии заболевания ($p=0,001$; $r=0,31$) и размера опухоли > 50 мм ($p=0,014$; $r=0,22$) [2, 3, 4, 7, 12, 13].

2. *BIRC5*-положительные ЦОК при колоректальном раке встречаются у большинства пациентов (76,2%) на любом этапе лечения и в любой период наблюдения. На наличие *BIRC5*-положительных ЦОК до хирургического лечения влияют: стадия заболевания ($p=0,019$), наличие пораженных регионарных л/у ($p=0,03$), низкая степень дифференцировки опухолевой ткани ($p=0,03$) и *BIRC5*-положительные опухоли ($p=0,044$). Количественная выраженность мРНК сурвивина (*BIRC5*) в ЦОК до хирургического лечения зависит от наличия пораженных регионарных л/у ($p=0,002$; $r=0,27$), отдаленных метастазов ($p=0,005$; $r=0,26$), стадии заболевания ($p=0,004$; $r=0,27$), низкой степени дифференцировки опухоли ($p=0,001$; $r=0,29$), наличия слизееобразующей опухоли ($p=0,02$; $r=0,21$), гиперэкспрессии мРНК сурвивина (*BIRC5*) в опухолевой ткани ($p=0,015$; $r=0,24$) [2, 4, 5, 6, 7, 8, 9].

3. *BIRC5*-положительные аденомы толстой кишки встречаются практически у половины пациентов (47,6%) и на их наличие влияет размер опухоли > 50 мм ($p=0,035$) и гистологический подтип (HGD) ($p=0,004$). Уровень экспрессии мРНК сурвивина (*BIRC5*) в аденомах толстой кишки также зависит от размера опухоли ($p=0,001$; $r=0,30$) и гистологического подтипа (HGD) ($p=0,001$; $r=0,31$). *BIRC5*-положительные ЦОК встречаются практически у третьей части пациентов (28,6%). На уровень экспрессии мРНК сурвивина (*BIRC5*) в ЦОК влияет морфологический подтип опухоли (HGD) ($p=0,018$; $r=0,21$). Уровень экспрессии мРНК сурвивина (*BIRC5*) в опухолевой ткани и ЦОК при раке толстой статистически значимо выше по сравнению с аденомами ($p<0,0001$ и $p<0,0001$ соответственно) [2, 3, 12].

4. Наличие *BIRC5*-положительных ЦОК через 9 месяцев после хирургического лечения является важным прогностическим признаком: 5-летняя скорректированная и 5-летняя безрецидивная выживаемость у пациентов с отсутствием ЦОК составляет 100% и 96,5%, с наличием ЦОК –

66,3% и 57,5% соответственно ($p=0,0006$; $p=0,0003$). ОР для 5-летней скорректированной и 5-летней безрецидивной выживаемости составил 20,4 ($p=0,033$) и 12,3 ($p=0,011$) соответственно [4, 5, 6, 9, 10, 11].

5. Уровень экспрессии мРНК сурвивина (*BIRC5*) в ЦОК через 9 месяцев после хирургического лечения является важным прогностическим признаком: 5-летняя скорректированная и 5-летняя безрецидивная выживаемость пациентов с уровнем экспрессии < 2 отн. ед. составляет 87,3% и 78,2%, в то время как аналогичная выживаемость пациентов с экспрессией ≥ 2 отн. ед. – 20,0% и 12,0% соответственно ($p<0,0001$; $p<0,0001$). ОР для 5-летней скорректированной и 5-летней безрецидивной выживаемости составил 6,3 ($p<0,0001$) и 4,1 ($p<0,0001$) соответственно [4, 5, 6, 9, 10, 11].

6. У пациентов, страдающих КРР, прогностическими факторами являются: отдаленные метастазы ОР=6,5 ($p=0,001$), наличие пораженных регионарных л/у ОР=2,6 ($p=0,005$) и уровень мРНК сурвивина (*BIRC5*) в ЦОК < 2 и ≥ 2 отн. ед. ОР=5,7 ($p<0,001$). У пациентов с метастатическим КРР и экспрессией мРНК сурвивина (*BIRC5*) в ЦОК ≥ 2 отн. ед. условная вероятность прогрессирования заболевания в 37,1 раза выше, чем у пациентов, у которых эти факторы отсутствуют. Для пациентов с III стадией заболевания и экспрессией мРНК сурвивина (*BIRC5*) в ЦОК ≥ 2 отн. ед. условная вероятность прогрессирования заболевания в 14,8 раза выше, чем у пациентов, у которых эти факторы отсутствуют [4, 5, 6, 9, 10, 11].

7. Наряду с часто используемыми онкомаркерами РЭА и СА 19-9 уровень нормализованной экспрессии мРНК сурвивина (*BIRC5*) в ЦОК $\geq 2,0$ отн. ед. может использоваться для выявления минимальной остаточной болезни при колоректальном раке ($AUC=0,875$; $p<0,0001$) [4, 5, 6, 11, 14].

Рекомендации по практическому использованию результатов

После завершения специального противоопухолевого лечения пациентов проводится мониторинг экспрессии мРНК сурвивина (*BIRC5*) в циркулирующих опухолевых клетках, если через 9 месяцев после хирургического лечения отмечается уровень нормализованной экспрессии мРНК сурвивина (*BIRC5*) в циркулирующих опухолевых клетках $\geq 2,0$ относительных единиц, данный результат свидетельствует о наличии у пациента минимальной остаточной болезни, что требует дообследования и дальнейшей системной химиотерапии. Разработанный метод определения минимальной остаточной болезни может использоваться в онкологических учреждениях, а также стационарах, оказывающих медицинскую помощь пациентам, страдающим колоректальным раком [14].

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ СОИСКАТЕЛЯ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ

Статьи в журналах, включенных в перечень ВАК

1. Орехва, А. В. Клиническое значение экспрессии антиапоптотического белка сурвивина при колоректальном раке / А. В. Орехва, Е. А. Шляхтунов, В. М. Семенов // Новости хирургии. – 2019. – Т. 27, № 1. – С. 72–80.
2. Первый опыт использования ЦОК, экспрессирующих *BIRC5* сурвивин, в качестве молекулярно-генетического маркера при колоректальном раке / А. В. Орехва, Е. А. Шляхтунов, В. М. Семенов, Г. М. Шаппо, А. В. Ерушевич // Евраз. онколог. журн. – 2020. – Т. 8, № 2. – С. 146–158.
3. Клиническое значение экспрессии сурвивина в опухолевой ткани при колоректальном раке / А. В. Орехва, Е. А. Шляхтунов, И. В. Жильцов, Г. М. Шаппо // Евраз. онколог. журн. – 2023. – Т. 11, № 2. – С. 118–127.
4. Клиническое значение экспрессии мРНК сурвивина (*BIRC5*) при колоректальном раке / Андрей В. Орехва, Е. А. Шляхтунов, В. М. Семенов, И. В. Жильцов, А. В. Ерушевич, Г. М. Шаппо, Я. Н. Лях, Алина В. Орехва // Хирургия и онкология. – 2023. – Т. 13, № 4. – С. 17–37.
5. Прогностическое значение экспрессии мРНК сурвивина (*BIRC5*) в ЦОК при колоректальном раке / Андрей В. Орехва, Е. А. Шляхтунов, В. М. Семенов, И. В. Жильцов, Е. В. Карчмит, Г. М. Шаппо, Я. Н. Лях, Алина В. Орехва // Евраз. онколог. журн. – 2023. – Т. 11, № 4. – С. 311–321.
6. Мониторинг минимальной остаточной болезни при колоректальном раке на основе оценки экспрессии мРНК сурвивина (*BIRC5*) в циркулирующих опухолевых клетках / Андрей В. Орехва, Е. А. Шляхтунов, В. М. Семенов, И. В. Жильцов, Е. В. Карчмит, Г. М. Шаппо, Я. Н. Лях, Алина В. Орехва // Новости хирургии. – 2023. – Т. 31, № 4. – С. 322–331.

Материалы конференций и тезисы докладов

7. Экспрессия *BIRC5* в ЦОК при опухолях толстой кишки / А. В. Орехва, Е. А. Шляхтунов, В. М. Семенов, Г. М. Шаппо, А. В. Ерушевич // Достижения фундаментальной, клинической медицины и фармации : материалы 75-й науч. сессии ВГМУ, Витебск, 29–30 янв. 2020 г. / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Витеб. гос. мед. ун-т ; под ред. А. Т. Щастного. – Витебск, 2020. – С. 41–43.
8. Экспрессия гена *BIRC5* в циркулирующих опухолевых клетках при заболеваниях толстой кишки / А. В. Орехва, Е. А. Шляхтунов, В. М. Семенов, Г. М. Шаппо, А. В. Ерушевич // Тезисы XI Съезда онкологов и радиологов стран СНГ и Евразии, Казань, 23–25 апр. 2020 г. – [Опубл. в журн.] Евраз. онкол. журн. – 2020. – Т. 8, № 2, прил. – С. 112.

9. Сурвивин *BIRC5* позитивные ЦОК – перспективный прогностический маркер у пациентов, страдающих колоректальным раком / А. В. Орехва, Е. А. Шляхтунов, Г. М. Шаппо, А. В. Ерушевич, А. А. Коротин, П. А. Васильев, В. В. Дизик, Д. А. Денисюк, А. А. Солдатенко, О. С. Жовницкий // Актуальные вопросы диагностики и лечения злокачественных новообразований : материалы респ. науч.-практ. конф., посвящ. 75-летию онкол. службы Витеб. обл. / под ред. Н. Г. Луда. – Витебск, 2022. – С. 66–67.

10. Клиническое значение определения экспрессии мРНК сурвивин (*BIRC5*) в ЦОК у пациентов, страдающих колоректальным раком / А. В. Орехва, Е. А. Шляхтунов, Г. М. Шаппо, А. М. Сезеневский, И. П. Денисюк, А. В. Лесничая, А. М. Ткачева, Н. Н. Лобацевич // Российская школа колоректальной хирургии : сборник тезисов XIII Междунар. конф., Москва, 15–17 сент. 2023 г. / под ред. П. В. Царькова. – М., 2023. – С. 148–149.

11. Прогностическое значение экспрессии мРНК сурвивина (*BIRC5*) в ЦОК у пациентов I–III стадии колоректального рака / А. В. Орехва, Е. А. Шляхтунов, А. В. Томчина, С. Р. Засько, В. А. Третьяков, А. В. Касьянов, М. В. Дятко // Достижения фундаментальной, клинической медицины и фармации : материалы 79-й науч. сессии ВГМУ, Витебск, 24–25 янв. 2024 г. / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Витеб. гос. мед. ун-т ; под ред. А. Н. Чуканова. – Витебск, 2024. – С. 39–40.

12. Экспрессия мРНК сурвивина (*BIRC5*) в дифференциальной диагностике аденомы и аденокарциномы толстой кишки / А. В. Орехва, Е. А. Шляхтунов, Ю. К. Леоненко, В. И. Колков, А. А. Косьяненко, Ю. А. Антонов, А. В. Нестерович // Достижения фундаментальной, клинической медицины и фармации : материалы 79-й науч. сессии ВГМУ, Витебск, 24–25 янв. 2024 г. / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Витеб. гос. мед. ун-т ; под ред. А. Н. Чуканова. – Витебск, 2024. – С. 41–42.

13. Экспрессия мРНК сурвивина (*BIRC5*) в опухоли у пациентов, страдающих раком прямой кишки, после химиолучевой терапии / А. В. Орехва, Е. А. Шляхтунов, С. И. Прудникова, М. Б. Севко, Н. О. Юранова, Н. А. Сапежинский, Д. А. Хлусенков // Достижения фундаментальной, клинической медицины и фармации : материалы 79-й науч. сессии ВГМУ, Витебск, 24–25 янв. 2024 г. / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Витеб. гос. мед. ун-т ; под ред. А. Н. Чуканова. – Витебск, 2024. – С. 42–43.

Инструкция по применению

14. Метод определения минимальной остаточной болезни у пациентов, страдающих колоректальным раком, на основе оценки экспрессии мРНК сурвивина (*BIRC5*) в циркулирующих опухолевых клетках : инструкция по применению №132-1223 : утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 26.03.2024 / Витеб. гос. мед. ун-т, Витеб. обл. клин. онколог. диспансер ; сост.: Андрей В. Орехва, Е. А. Шляхтунов, В. М. Семенов, И. В. Жильцов, Г. М. Шаппо, Е. В. Карчмит, Я. Н. Лях, Алина В. Орехва. – Минск, 2023. – 6 с.

РЭЗІЮМЭ

Арэхва Андрэй Уладзіміравіч

Клінічнае значэнне *BIRC5*-станоўчых цыркулюючых пухлінных клетак пры каларэктальным раку

Ключавыя словы: каларэктальны рак (КРР), цыркулюючыя пухлінныя клеткі (ЦПК), сурвівін (*BIRC5*), мінімальная астатковая хвароба (МАХ).

Мэта даследавання: вызначыць клінічнае значэнне *BIRC5*-станоўчых цыркулюючых пухлінных клетак у пацыентаў, якія пакутуюць ад каларэктальнага раку.

Матэрыялы і метады: у суцэльным праспектыўным даследаванні праведзены аналіз экспрэсіі мРНК сурвівіна (*BIRC5*) у пухліннай тканцы і ЦПК у 130 пацыентаў (109 пацыентаў, якія пакутуюць ад КРР, і 21 пацыент з адэномамі тоўстай кішкі) і вивучаны аддаленыя вынікі лячэння. Для аналізу экспрэсіі гена выкарыстоўвалі метада АТ-ПЛР.

Атрыманыя вынікі і іх навізна: зроблены доказ важнага прагнозна неспрыяльнага значэння экспрэсіі мРНК сурвівіна (*BIRC5*) у ЦПК праз 9 месяцаў пасля хірургічнага лячэння: 5-гадовая скарэктываваная і 5-гадовая безрэцыдыўная выжывальнасць у пацыентаў з наяўнасцю ЦПК – 66,3% і 57,5% адпаведна. Узровень экспрэсіі мРНК сурвівіна (*BIRC5*) у ЦПК праз 9 месяцаў пасля хірургічнага лячэння з’ўляецца неспрыяльнай прагнастычнай прыметай: 5-гадовая скарэктываваная і 5-гадовая безрэцыдыўная выжывальнасць пацыентаў з узроўнем экспрэсіі ≥ 2 адн. ед. – 20,0% і 12,0% адпаведна. Выяўлены прагнастычныя фактары ў пацыентаў, якіх непакоіць КРР, з улікам гіперэкспрэсіі мРНК сурвівіна (*BIRC5*) у ЦПК $AP=6,51$ ($p<0,0001$) і пухліннай тканцы $AP=6,14$ ($p=0,01$). Абгрунтаваны, распрацаваны і ўкаранены ў клінічную практыку метада дыягностыкі МАХ у пацыентаў, што пакутуюць ад КРР. Ён заключаецца ў вызначэнні ўзроўню нармалізаванай экспрэсіі мРНК сурвівіна (*BIRC5*) у ЦПК праз 9 месяцаў пасля хірургічнага лячэння, які дазволіць выявіць хворых з МАХ.

Рэкамендацыі па выкарастанні: вынікі работы ўкаранены ў практыку УАЗ “Віцебскі абласны клінічны анкалагічны дыспансер”, УАЗ “Віцебскі абласны клінічны спецыялізаваны цэнтр”, УАЗ “Віцебская гарадская клінічная бальніца хуткай медыцынскай дапамогі”; УАЗ “Брэсцкая абласная клінічная бальніца”; вынікі работы ўкаранены ў вучэбны працэс кафедры анкалогіі і кафедры доказнай медыцыны УА “Віцебскі дзяржаўны медыцынскі ўніверсітэт”.

Галіна прымянення: анкалогія.

РЕЗЮМЕ

Орехва Андрей Владимирович

Клиническое значение *BIRC5*-положительных циркулирующих опухолевых клеток при колоректальном раке

Ключевые слова: колоректальный рак (КРР), циркулирующие опухолевые клетки (ЦОК), сурвивин (*BIRC5*), минимальная остаточная болезнь (МОБ).

Цель исследования: определить клиническое значение *BIRC5*-положительных циркулирующих опухолевых клеток у пациентов, страдающих колоректальным раком.

Материалы и методы: в сплошном проспективном исследовании проведен анализ экспрессии мРНК сурвивина (*BIRC5*) в опухолевой ткани и ЦОК у 130 пациентов (109 пациентов, страдающих КРР и 21 пациент с аденомами толстой кишки) и изучены отдаленные результаты лечения. Для анализа экспрессии гена *BIRC5* использовали метод ОТ-ПЦР.

Полученные результаты и их новизна: доказано важное прогностически неблагоприятное значение экспрессии мРНК сурвивина (*BIRC5*) в ЦОК через 9 месяцев после хирургического лечения: 5-летняя скорректированная и 5-летняя безрецидивная выживаемость у пациентов с наличием ЦОК – 66,3% и 57,5% соответственно. Уровень экспрессии мРНК сурвивина (*BIRC5*) в ЦОК через 9 месяцев после хирургического лечения является неблагоприятным прогностическим признаком: 5-летняя скорректированная и 5-летняя безрецидивная выживаемость пациентов с уровнем экспрессии ≥ 2 отн. ед. – 20,0% и 12,0% соответственно. Выявлены прогностические факторы у пациентов, страдающих КРР, с учетом гиперэкспрессии мРНК сурвивина (*BIRC5*) в ЦОК ОР=6,51 ($p < 0,0001$) и опухолевой ткани ОР=6,14 ($p = 0,01$). Обоснован, разработан и внедрен в клиническую практику метод диагностики МОБ у пациентов, страдающих КРР, заключающийся в определении уровня нормализованной экспрессии мРНК сурвивина (*BIRC5*) в ЦОК через 9 месяцев после хирургического лечения, позволивший выявить пациентов с МОБ.

Рекомендации по использованию: результаты работы внедрены в практику в УЗ «Витебский областной клинический онкологический диспансер», УЗ «Витебский областной клинический специализированный центр», УЗ «Витебская городская клиническая больница скорой медицинской помощи», УЗ «Брестская областная клиническая больница»; результаты работы внедрены в учебный процесс кафедры онкологии и кафедры доказательной медицины УО «Витебский государственный медицинский университет».

Область применения: онкология.

SUMMARY

Orekhva Andrey Vladimirovich

Clinical significance of *BIRC5*-positive circulating tumor cells in colorectal cancer

Key words: colorectal cancer (CRC), circulating tumor cells (CTCs), survivin (*BIRC5*), minimal residual disease (MRD).

Purpose of the study: determine the clinical significance of *BIRC5*-positive circulating tumor cells in patients suffering from colorectal cancer.

Materials and methods: in a continuous prospective study, survivin (*BIRC5*) mRNA expression was analyzed in tumor tissue and CTCs in 130 patients (109 patients with CRC and 21 patients with colon adenomas) and the long-term treatment results were studied. RT-PCR was used to analyze the expression of the *BIRC5* gene.

The results obtained and their novelty: the prognostically unfavorable effect of survivin (*BIRC5*) mRNA expression in CTCs 9 months after surgical treatment was proven: 5-year adjusted survival and 5-year relapse-free survival in patients with CTCs was 66.3% and 57.5%, respectively. The level of survivin (*BIRC5*) mRNA expression in CTCs 9 months after surgical treatment is an unfavorable prognostic sign: 5-year adjusted survival and 5-year relapse-free survival of patients with an expression level of ≥ 2 relative units is 20.0% and 12.0% respectively. Prognostic factors in patients with CRC were identified taking into account the hyperexpression of survivin (*BIRC5*) mRNA in CTC OR=6.51 ($p < 0.0001$) and tumor tissue OR=6.14 ($p = 0.01$). A method for diagnosing MRD in patients with CRC was substantiated, developed and introduced into clinical practice. It consists in determining the level of normalized expression of survivin (*BIRC5*) mRNA in CTC 9 months after surgical treatment, which made it possible to identify patients with MRD.

Recommendations for use: the results of the work were introduced into practice at the Vitebsk Regional Clinical Oncology Dispensary, the Vitebsk Regional Clinical Specialized Center, the Vitebsk City Clinical Emergency Hospital, the Brest Regional Clinical Hospital; the results of the work were introduced into the educational process of the Department of Oncology and the Department of Evidence-Based Medicine of the Vitebsk State Medical University.

Area of application: oncology.