

Влияние предоперационной лекарственной терапии на экспрессию маркеров ангиогенеза в метастазах колоректального рака в печени

А.В. ВАРЛАМОВ^{1,2}, Е.М. ПАЛЬЦЕВА¹, М.И. СЕКАЧЕВА¹, О.Г. СКИПЕНКО¹, Д.Н. ФЕДОРОВ¹

¹ФГБНУ «Российский научный центр хирургии им. акад. Б.В. Петровского», Москва, Россия; ²ФГБНУ «Научно-исследовательский институт морфологии человека», Москва, Россия

Цель исследования — изучить изменение экспрессии маркеров ангио- и васкулогенеза в метастазах колоректальных аденокарцином в печени под влиянием сочетанной цитотоксической и таргетной анти-VEGF-терапии по сравнению с воздействием только цитотоксических препаратов. **Материал и методы.** Иммуногистохимическое исследование проведено на операционном материале 96 пациентов с метастазами колоректальных аденокарцином в печени. В исследование вошли пациенты, получавшие предоперационную комбинированную цитотоксическую FOLFOX6 и таргетную анти-VEGF-терапию бевацизумабом либо терапию лишь FOLFOX6, а также пациенты, не получавшие предоперационную лекарственную противоопухолевую терапию. В указанных группах проводили сравнение экспрессии SDF1 α , CXCR4, CXCR7, VEGF-A. Статистическая значимость принималась при $p < 0,05$. **Результаты.** Экспрессию CXCR4 в эндотелиоцитах сосудов достоверно реже определяли в группе пациентов, получавших сочетанную цитотоксическую и таргетную анти-VEGF-терапию, чем в группе не получавших лекарственную терапию. Аналогичные результаты получены у женщин при сопоставлении группы пациентов, леченных цитотоксическими препаратами, и группы пациентов, не подвергшихся противоопухолевой терапии. Экспрессию CXCR7 достоверно чаще выявляли у мужчин в опухолевых клетках и в клетках стромы метастатических очагов в группе пациентов, леченных цитотоксическими препаратами по схеме FOLFOX6. Экспрессию SDF1 α в опухолевых клетках достоверно чаще наблюдали среди мужчин в группе пациентов, получавших сочетанную цитотоксическую и таргетную анти-VEGF-терапию, чем в группе пациентов, получавших лекарственную терапию. Экспрессию VEGF в клетках стромы достоверно реже наблюдали у пациентов, получавших сочетанную терапию. **Заключение.** В метастазах колоректальных аденокарцином в печени сочетанная цитотоксическая и таргетная анти-VEGF-терапия приводит к некоторому подавлению альтернативного пути образования новых сосудов за счет снижения экспрессии CXCR4 в эндотелиоцитах сосудов и экспрессии VEGF в клетках стромы метастатических очагов. У мужчин такая терапия приводит одновременно к повышению экспрессии SDF1 α в опухолевых клетках и CXCR4 в строме. Предоперационная терапия FOLFOX6 приводит к достоверному повышению экспрессии CXCR7 в опухолевых и стромальных клетках у мужчин, что, возможно, свидетельствует об активации данного пути формирования сосудов.

Ключевые слова: колоректальный рак, CXCR4, CXCR7, SDF1 α , VEGF, бевацизумаб.

Impact of preoperative drug therapy on the expression of angiogenesis markers in colorectal liver metastases

A.V. VARLAMOV^{1,2}, E.M. PALTSEVA¹, M.I. SEKACHEVA¹, O.G. SKIPENKO¹, D.N. FEDOROV¹

¹B.V. Petrovsky Russian Surgery Research Center, Moscow, Russia; ²Research Institute of Human Morphology, Moscow, Russia

Objective: to study changes in the expression of angiogenesis and vasculogenesis markers in colorectal adenocarcinoma metastases to the liver during combined cytotoxic and targeted anti-VEGF therapy versus cytotoxic monotherapy. **Subjects and methods.** Intraoperative samples from 96 patients with colorectal adenocarcinomas metastases to the liver were immunohistochemically examined. The investigation enrolled patients who had preoperatively received either combined FOLFOX6 cytotoxic therapy and targeted anti-VEGF therapy with bevacizumab or only FOLFOX6 therapy, as well as patients who had not received preoperative anti-tumor drug treatment. The expression of SDF1 α , CXCR4, CXCR7, and VEGF-A was compared in these groups. Statistical significance was accepted at $p < 0.05$. **Results.** The expression of CXCR4 in the vessel endothelial cells was significantly less frequently detected in the patients who had received combined cytotoxic therapy and targeted anti-VEGF therapy as compared to those had not drug therapy. Comparing the patients treated with cytotoxic drugs with those who had not received anti-tumor therapy revealed similar results in the women. CXCR7 expression in the tumor cells and stromal cells from the metastatic foci was significantly more common in the group of male patients treated with cytotoxic drugs according to the FOLFOX6 regimen. The expression of SDF1 α in the tumor cells was significantly more often observed in the male patients who had received combined cytotoxic therapy and targeted anti-VEGF therapy than in those who had not drug therapy. VEGF expression in the stromal cells was significantly less frequently seen in the patients who had received the combined therapy. **Conclusion.** Combined cytotoxic therapy and targeted anti-VEGF therapy for colorectal adenocarcinoma metastases to the liver leads to some suppression of the alternative pathway in the formation of new vessels, by reducing the expression of CXCR4 in the vessel endothelial cells and that of VEGF in the stromal cells from the metastatic foci. In men, this therapy simultaneously causes an increase in the expression of SDF1 α in the tumor cells and in that of CXCR4 in the stroma. Preoperative FOLFOX6 therapy significantly increases the expression of CXCR7 in the tumor cells and stromal cells in the male patients, which may suggest that this pathway in vessel formation can be activated.

Keywords: colorectal cancer, CXCR4, CXCR7, SDF1 α , VEGF, bevacizumab.

Формирование сосудов является важной составной частью развития большинства тканей, в том числе опухолевых. Однако в сравнении с нормальными тканями сосуды опухолей имеют ряд особенностей. В частности, в них нарушено соотношение артериол, вен и капилляров, между эндотелиоцитами формируются широкие щели, через которые возможно протекание плазмы в ткань опухоли с повышением внутритканевого давления. Перicyты в сосудах опухоли очень слабо связаны с эндотелиоцитами и базальной мембраной. Кроме того, имеет место сдавление сосудов опухолевой тканью. Все эти факторы приводят к нарушению кровоснабжения опухоли с развитием тканевой гипоксии и ацидоза [1]. В метастазах колоректального рака (КРР) в печени, как и в ткани первичных опухолей, имеются участки, находящиеся в состоянии гипоксии, в ответ на которую происходит синтез соответствующих факторов, в частности индуцируемого гипоксией фактора 1 α (HIF1 α). Показано, что экспрессия HIF1 α значительно выражена в метастазах колоректальных карцином в печени. Под влиянием данного белка происходит каскад событий, в том числе индукция транскрипции VEGF-A — важного фактора ангиогенеза и опухолевой прогрессии [2]. Ангиогенез представляет собой способ формирования сосудов, при котором происходит ветвление существующих сосудов по мере развития ткани [3]. Известно, что секретируемый эндотелиальными клетками VEGF-A поддерживает сосудистый гомеостаз [4], в то время как синтезируемый опухолевыми или стромальными клетками VEGF-A играет роль в формировании аномально разветвленных опухолевых сосудов [5]. Экспрессия VEGF-A определяется в нормальной ткани толстой кишки и значительно усиливается в толстокишечных аденомах и еще более — в аденокарциномах. Также обнаружена прямая зависимость степени экспрессии данного фактора со степенью дифференцировки опухоли и ее прогрессии [6].

В предоперационной терапии метастазов КРР в печени применяют различные химиотерапевтические схемы, одной из наиболее широко применяемых является FOLFOX, в состав которой входят 5-фторурацил, лейковорин и оксалиплатин. Для повышения эффективности в комбинации со стандартной цитотоксической химиотерапией применяются таргетные препараты, направленно воздействующие на молекулы, участвующие в канцерогенезе. Одним из таких препаратов, используемых при КРР, является бевацизумаб, представляющий собой моноклональное антитело к VEGF-A. При применении бевацизумаба уменьшается плотность сосудов, повышается доля покрытых перicyтами сосудов, что приводит к уменьшению интерстициального давления жидкости. В целом, согласно современным представлениям, воздействие бевацизумаба приводит к временной «нормализации» сосудистого русла опухоли, сопровождающейся общим улучшением ее кровоснабжения, снижением гипоксии и повышением чувствительности к химио- и лучевой терапии [7].

В то же время при проведении анти-VEGF-терапии может возникнуть дефицит сосудов в ткани опухоли с повторным возникновением гипоксии и активацией иных механизмов формирования сосудов. Один из таких механизмов может быть активирован белком SDF1 α (CXCL12) [8]. Данный белок представляет собой хемокин, активация экспрессии которого, как и VEGF, происходит под влиянием HIF1 α [9]. Роль данного белка в формировании

сосудов определяется тем, что SDF1 α участвует в мобилизации CD45-положительных клеток-модуляторов неоваскулогенеза моноцитарного ряда. Также функцией данного белка является обеспечение последующего «удерживания» данных клеток в ткани опухоли [10].

Рецепторами SDF1 α являются трансмембранные белки CXCR4 и CXCR7 [11]. Показано, что экспрессия CXCR4 и SDF-1 α в норме определяется в некоторых тканях, в том числе в эпителиоцитах толстой кишки [12]. В тканях многих злокачественных опухолей, в том числе КРР, также определяется экспрессия CXCR4. Система SDF1 α /CXCR4 задействована в метастазировании клеток КРР в печень [13], а повышенная экспрессия CXCR4 и VEGF является предиктором раннего появления отдаленных метастазов при II и III стадиях заболевания. Формирование сосудов по пути SDF1 α /CXCR4 происходит по механизму коопции и васкулогенеза [14]. Коопция — механизм, при котором, строго говоря, не происходит формирования новых сосудов, опухоль поглощает уже имеющиеся в ткани сосуды, используя их в дальнейшем для собственного развития. При васкулогенезе происходит дифференцировка костномозговых эндотелиальных клеток-предшественников с формированием впоследствии сосудистой сети [3].

Рецептор CXCR7 имеет родство к SDF1 α в 10 раз большее, чем CXCR4 [11]. Известно, что экспрессия данного рецептора в клетках многих злокачественных опухолей, в том числе КРР, существенно выше, чем в нормальных клетках. Кроме того, обнаружена связь между степенью экспрессии CXCR7 при КРР и развитием регионарных и отдаленных метастазов [15]. Показано также, что CXCR7 может быть обнаружен в эндотелиоцитах при неоваскуляризации, при этом вне данного процесса экспрессия CXCR7 в эндотелиоцитах не наблюдается [16]. Однако остается неизученной роль системы SDF1/CXCR4/CXCR7 в индукции альтернативного пути формирования сосудов при лечении метастатического КРР анти-VEGF-препаратами.

Цель данной работы — исследование экспрессии маркеров ангио- и васкулогенеза в метастазах колоректальных аденокарцином в печени под влиянием сочетанной цитотоксической и таргетной анти-VEGF-терапии в сравнении с воздействием только цитотоксических препаратов.

Материал и методы

Исследование проведено на операционном материале метастазов колоректальных аденокарцином в печени, полученном от 96 пациентов. В 1-ю группу вошли 16 пациентов (мужчин — 9, женщин — 7; возраст от 47 до 73 лет, медиана возраста 58 лет), получавшие комбинированную предоперационную терапию FOLFOX6 (оксалиплатин, лейковорин, 5-фторурацил) и бевацизумабом. 2-ю группу составил 41 пациент (мужчин — 18, женщин — 23; возраст от 27 до 78 лет, медиана возраста 59 лет), получавший предоперационную химиотерапию в качестве первой линии в режиме FOLFOX6. Группу сравнения составили 39 пациентов с метастазами в печени (мужчин — 17, женщин — 22; возраст от 39 до 76 лет, медиана возраста 60 лет), которым химиотерапию не проводили.

Материал фиксировали в 10% нейтральном забуференном формалине (рН 7,4), осуществляли проводку на гистопроцессоре и заливали в парафин. Для гистологиче-

Таблица 1. Экспрессия CXCR4 в метастазах колоректального рака в печени

Показатель	FOLFOX6 + бевацизумаб (n=16, 1-я группа)			FOLFOX6 (n=41, 2-я группа)			Группа без предоперационной лекарственной терапии (n=39, группа сравнения)		
	муж	жен	итого	муж	жен	итого	муж	жен	итого
Клетки опухоли									
отсутствие экспрессии (–)	2	2	4	7	11	18	6	13	19
наличие экспрессии:	7	5	12	11	12	23	11	9	20
+	5	5	10	9	11	20	10	6	16
++	2	0	2	2	1	3	1	3	4
Клетки стромы									
отсутствие экспрессии (–)	0	0	0	1	6	7	2	2	4
наличие экспрессии:	9	7	16	17	17	34	15	20	35
+	2	3	5	12	9	21	8	8	16
++	7*	4	11	5	8	13	7	12	19
Сосуды									
отсутствие экспрессии (–)	5**	3**	8**	3	5**	8	1	0	1
наличие экспрессии:	4	4	8	15	18	33	16	22	38
+	0	1	1	3	6	9	4	5	9
++	1	1	2	7	6	13	1	3	4
+++	3	2	5	5	6	11	11	14	25

Примечание. Здесь и в табл. 2: «+» — слабая экспрессия, «++» — умеренная, «+++» — выраженная; * — $p < 0,05$ при сопоставлении со 2-й группой; ** — $p < 0,05$ — с группой сравнения.

ского и ИГХ-исследования изготавливали срезы толщиной 3–4 мкм. Депарафинирование и ИГХ-окрашивание проводили по стандартному протоколу в автоматическом режиме в иммуногистостейнере Bond-Max («Leica») с первичными антителами к CXCR4 («GeneTex», кроличьи, клон UMB2; разведение 1:400), CXCR7 («GeneTex», кроличьи, поликлональные; разведение 1:200), VEGF-A («GeneTex», кроличьи, клон EP1176Y; разведение 1:50), SDF-1 («Santa Cruz Biotechnology», кроличьи, поликлональные; разведение 1:200).

Препараты исследовали с помощью световой микроскопии. Экспрессию SDF1 α , VEGF-A определяли в цитоплазме опухолевых клеток, стромальных клеток и эндотелиоцитов кровеносных сосудов опухоли и оценивали полуколичественным методом как выраженную «+++», умеренную «++», слабую «+», отсутствие окрашивания «–». Экспрессию CXCR7 определяли в мембране данных клеток и оценивали аналогичным образом. Экспрессию CXCR4 в эндотелиоцитах сосудов также определяли в цитоплазме и оценивали по указанной градации. Однако в клетках опухоли и стромы экспрессию CXCR4 выявляли в ядрах и оценивали как выраженную «++» (при окраске более чем 50% ядер) либо как слабую «+» (при окраске 10–50% ядер). Окрашивание менее чем 10% клеток оценивали как отсутствие экспрессии «–». Экспрессию белков CXCR4, CXCR7, SDF1 α оценивали во всех группах пациентов. Экспрессию VEGF-A определяли в группе получавших сочетанную цитотоксическую и таргетную анти-VEGF-терапию. Для визуализации изображения использовали цифровую камеру («Leica»).

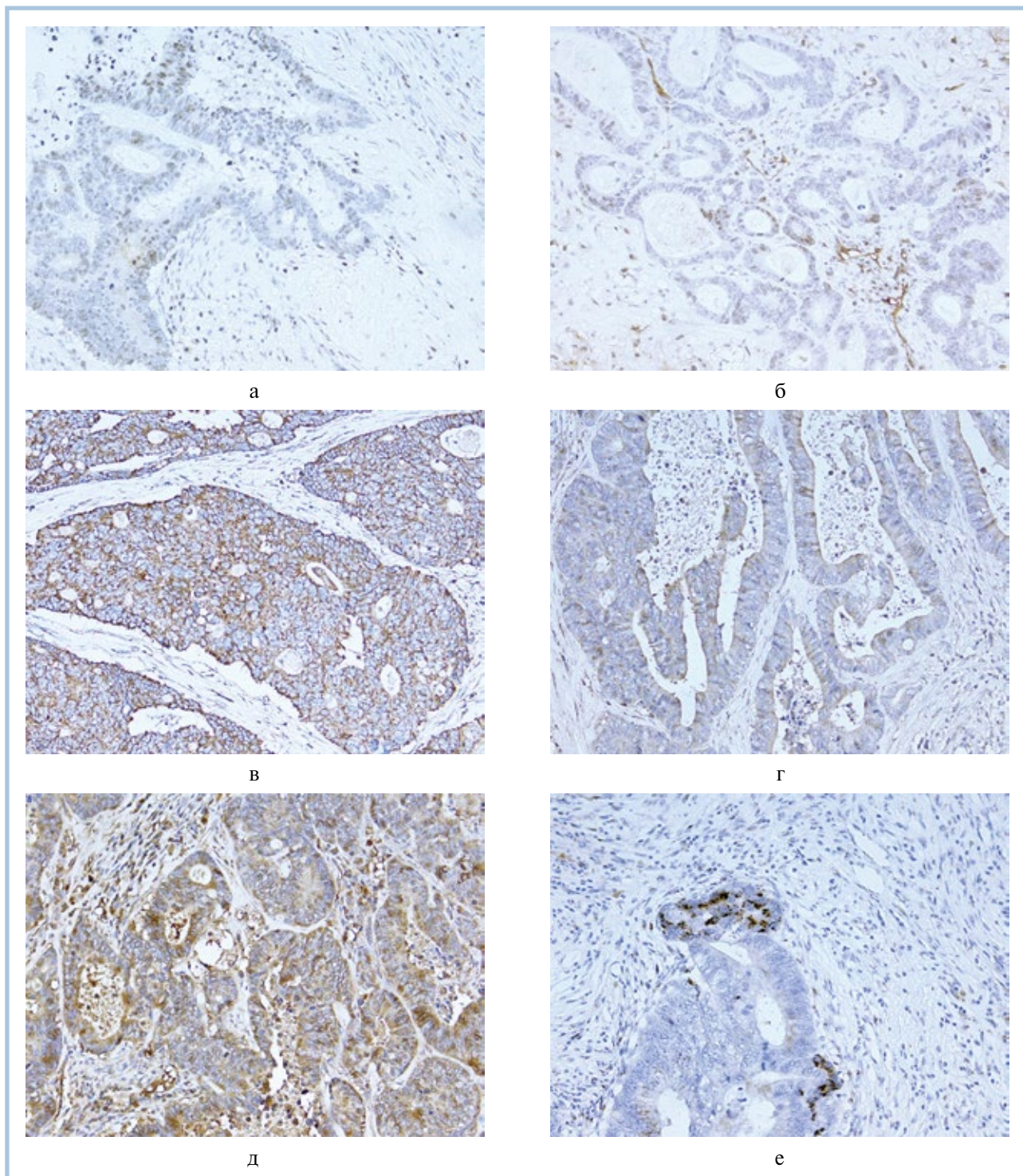
Результаты исследования проанализированы с использованием программы Statistica 8.0. Сравнительный анализ выполнен методом Пирсона χ^2 , точным методом Фишера. Статистическая значимость принималась при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

При анализе экспрессии белка CXCR4 в клетках опухоли не было выявлено достоверных различий между тремя группами ни среди мужчин, ни среди женщин.

При сравнении экспрессии CXCR4 в клетках стромы (рисунк, а, б) метастатических опухолей у мужчин обнаружено, то в группе пациентов, получавших сочетанную цитотоксическую и анти-VEGF-терапию, выраженную экспрессию наблюдали у 78% (7 из 9 человек), при этом у остальных 22% (2 человека) имелась слабая экспрессия. В группе пациентов, получавших только цитотоксическую терапию, у 5% (1 из 18 мужчин) экспрессия CXCR4 в клетках стромы отсутствовала, у 67% (12 человек) отмечали слабую экспрессию, у 28% (5 человек) — выраженную. В группе нелеченых пациентов в 12% (2 из 17 случаев) экспрессия отсутствовала, в 47% (8 случаев) была слабая экспрессия, в 41% (7 случаев) — выраженная экспрессия. Таким образом, выраженную экспрессию CXCR4 в клетках стромы достоверно более часто наблюдали у мужчин в группе пациентов, леченных цитотоксическими и анти-VEGF-препаратами, по сравнению с мужчинами из группы леченных только цитотоксическими препаратами ($p < 0,05$). Однако при сопоставлении данных групп с группой сравнения статистически значимых различий выявлено не было. Среди женщин статистически значимых различий в экспрессии CXCR4 в клетках стромы между группами тоже выявлено не было (табл. 1).

При анализе экспрессии рецептора CXCR4 в эндотелиоцитах сосудов опухоли (см. рисунок, б) получены противоречивые результаты. В 1-й группе среди мужчин экспрессию данного белка в сосудах определяли у 44% (4 из 9) пациентов, из них у 33% (3 случая) выраженную, у 11% (1 случай) умеренную, у остальных 56% (5 из 9) экспрессия отсутствовала. Среди женщин данной группы CXCR4 в



Экспрессия SDF1 α , CXCR4, CXCR7 и VEGF в метастазах колоректального рака в печени.

а — экспрессия CXCR4 в ядрах опухолевых клеток и единичных клетках стромы после цитотоксической терапии; б — экспрессия CXCR4 в сосудах и единичных клетках стромы опухоли и ядрах отдельных опухолевых клеток после цитотоксической терапии; в — мембранная экспрессия CXCR7 в опухолевых клетках у пациента, получавшего сочетанную терапию; г — слабая экспрессия SDF1 α в опухолевых клетках у пациента, получавшего сочетанную цитотоксическую и анти-VEGF-терапию; д — выраженная экспрессия SDF1 α в клетках опухоли и стромы у пациента, получавшего сочетанную терапию; е — умеренная экспрессия VEGF в опухолевых клетках и слабая — в единичных клетках стромы у пациента из группы сравнения; а–е — иммуногистохимическая окраска, $\times 200$.

эндотелиоцитах определяли у 57% (4 из 7 человек), из них у 14% (1 случай) отмечена слабая экспрессия, у 14% (1 случай) — умеренная и у 29% (2) — выраженная. Во 2-й группе экспрессию CXCR4 в эндотелиоцитах сосудов у мужчин выявляли у 83% (15 из 18) пациентов, из них у 17% (3 случая) слабая, у 38% (7 случаев) умеренная, у 28% (5 случаев) выраженная. Среди женщин данной группы экспрессию CXCR4 в эндотелиоцитах сосудов опухоли определяли в 78% (18 из 23) случаев, причем количество случаев с низким, умеренным и высоким содержанием данного рецептора составило по 6 для каждой степени. В группе сравнения у мужчин экспрессию CXCR4 в эндотелиоцитах сосудов определяли в 94% (16 из 17) случаев, из них в 24% (4 случая) выявлена слабая экспрессия, в 6% (1 случай) — умеренная, в 64% (11 случаев) — выраженная. Из 22 женщин данной группы CXCR4 в эндотелиоцитах сосудов опухоли определяли у 100% пациентов, из них в 23% (5 пациентов) слабая экспрессия, в 14% (3) умеренная, в 63% (14 пациентов) выраженная. Таким образом, экспрессию CXCR4 в эндотелиоцитах сосудов достоверно реже определяли в группе пациентов, у которых использовали сочетанную цитотоксическую и таргетную анти-VEGF-терапию, чем в группе пациентов, не получавших лекарственную терапию, как среди мужчин, так и женщин ($p < 0,05$). Аналогичные результаты получены при сопоставлении группы пациентов, леченных цитотоксическими препаратами и группы нелеченых пациентов среди женщин ($p < 0,05$), однако среди мужчин изменения были статистически незначимы ($p = 0,6$; см. табл. 1).

При исследовании экспрессии CXCR7 в опухолевых клетках (см. рисунок, в) было выявлено, что в группах пациентов, получавших предоперационную лекарственную терапию, среди мужчин наличие данного белка определяли в большинстве случаев: при сочетанной терапии в 89% (8 случаях из 9), при цитотоксической терапии в 100% случаев. В группе, не получавшей лекарственную терапию, у мужчин экспрессию наблюдали в 59% (10 из 17) случаев. Таким образом, достоверно чаще наличие экспрессии CXCR7 в опухолевых клетках у мужчин определяли в группе пациентов, леченных цитотоксическими препаратами по схеме FOLFOX6, по сравнению с группой пациентов, не получавших лекарственную терапию ($p < 0,05$). Других достоверных различий в экспрессии белка CXCR7 между группами выявлено не было.

Анализ экспрессии CXCR7 в клетках стромы метастатических очагов выявил различия экспрессии данного белка у мужчин. Так, среди мужчин в 1-й группе экспрессию CXCR7 в строме наблюдали у 89% (8 из 9) пациентов, во 2-й группе — у 89% (16 из 18 мужчин). Среди мужчин из группы сравнения экспрессию CXCR7 в клетках стромы наблюдали у 53% (9 из 17) пациентов. Согласно полученным данным, выявлено, что в группе пациентов, получавших цитотоксическую терапию, среди мужчин достоверно чаще встречается экспрессия CXCR7 в клетках стромы метастатических очагов по сравнению с группой не получавших предоперационную терапию ($p < 0,05$). При сравнении экспрессии у мужчин из группы пациентов, получавших сочетанную цитотоксическую и таргетную анти-VEGF-терапию, и группы нелеченых пациентов различия не достигли статистической значимости ($p = 0,1$; табл. 2).

Сопоставление экспрессии CXCR7 в эндотелиоцитах сосудов метастатических очагов достоверных различий между группами не показало. Близкие к достоверным различия выявлены лишь среди мужчин. В группах пациен-

тов, получавших предоперационную лекарственную терапию, среди мужчин экспрессию CXCR7 наблюдали чаще, чем в группе сравнения ($p = 0,08$ для группы пациентов, получавших цитотоксическую терапию; $p = 0,1$ для группы пациентов, получавших сочетанную цитотоксическую и таргетную анти-VEGF-терапию).

При оценке экспрессии SDF1 α в опухолевых клетках (см. рисунок, г, д) статистически значимые различия выявлены лишь между мужчинами из группы пациентов, получавших сочетанную цитотоксическую и таргетную анти-VEGF-терапию, и группы нелеченых пациентов: в 1-й группе достоверно чаще наблюдалась экспрессия SDF1 α ($p < 0,05$). Среди мужчин, получавших терапию бевацизумабом, экспрессию SDF1 α в опухолевых клетках наблюдали в 33% (3 из 9) случаев, в то время как в группе сравнения экспрессия данного белка не выявлена.

Экспрессия SDF1 α в эндотелиоцитах сосудов и в клетках стромы метастатических очагов не показала значимых различий между группами.

Полученные данные отчасти соответствуют результатам других похожих исследований. В нашей работе добавление к цитотоксической терапии таргетного анти-VEGF-препарата приводило к статистически значимому усилению экспрессии SDF1 α в опухолевых клетках и его рецептора CXCR4 в строме метастазов КРР у мужчин. Согласно одному из исследований (L. Xu и соавт., 2009), применение бевацизумаба в монотерапии КРР приводило к повышению экспрессии мРНК белка SDF1 α и мРНК рецептора CXCR4 в биоптатах КРР, взятых из первичных опухолей [17]. В другом исследовании (K. Tamás и соавт., 2015) получены данные об усилении экспрессии SDF1 α в первичных опухолях у пациентов, больных раком прямой кишки IV стадии, под воздействием сочетанной цитотоксической (капецитабин и оксалиплатин) и таргетной анти-VEGF-терапии [18]. В данных исследованиях не было отмечено различий в результатах между мужчинами и женщинами.

Кроме того, в нашем исследовании отмечено достоверно более частое наличие экспрессии CXCR7 в опухолевых клетках и строме метастазов КРР у мужчин, получавших цитотоксическую предоперационную терапию, по сравнению с нелечеными пациентами, что позволяет предполагать некоторую активацию данного пути образования сосудов и при использовании стандартных схем химиотерапии.

По нашим данным, экспрессия VEGF (см. рисунок, е) в строме метастатических очагов достоверно различалась у пациентов, леченных цитотоксическими препаратами в сочетании с бевацизумабом, и пациентов, не получавших лекарственную терапию. Экспрессия данного белка выявлена у 56% (9 из 16) пациентов, получавших терапию (5 из 9 мужчин и 4 из 7 женщин), а в группе сравнения — у всех пациентов, т.е. экспрессия VEGF в клетках стромы достоверно реже наблюдалась у пациентов, получавших сочетанную терапию, чем у пациентов, не получавших лекарственную терапию, как среди мужчин, так и среди женщин ($p < 0,05$). При этом не отмечено влияния бевацизумаба на экспрессию VEGF в опухолевых клетках и в эндотелиоцитах сосудов (табл. 2).

Найдено несколько исследований, в которых отражено воздействие бевацизумаба на экспрессию VEGF. Например, в одной из работ показано снижение экспрессии VEGF в клетках костного мозга у больных острым миелолейкозом под влиянием терапии бевацизумабом после

Таблица 2. Экспрессия VEGF-A в метастазах колоректального рака в печени

Показатель	FOLFOX6 + бевацизумаб (n=16, 1-я группа)			Группа без предоперационной лекарственной терапии (n=39, группа сравнения)		
	муж	жен	итого	муж	жен	итого
Клетки опухоли						
отсутствие экспрессии (-)	7	6	13	14	20	34
наличие экспрессии:						
+	0	1	1	2	2	4
++	2	0	2	1	0	1
+++	0	0	0	0	0	0
Клетки стромы						
отсутствие экспрессии (-)	4**	3**	7**	0	0	0
наличие экспрессии:						
+	2	2	4	16	16	32
++	3	2	5	1	6	7
+++	0	0	0	0	0	0
Сосуды						
отсутствие экспрессии (-)	7	5	12	11	14	25
наличие экспрессии:						
+	1	2	3	6	7	13
++	1	0	1	0	1	1
+++	0	0	0	0	0	0

предшествующей химиотерапии [19]. При этом в исследовании S. Wedam и соавт. (2006) получены данные, что добавление бевацизумаба к предоперационной терапии рака молочной железы не влияет на экспрессию VEGF в клетках опухоли [20]. В работе С. Willett и соавт. (2009) показано, что добавление бевацизумаба к комбинированной химиолучевой терапии приводит к повышению концентрации VEGF в плазме крови при раке прямой кишки [21], а в работе J. Вааг и соавт. (2009) сообщается о повышении концентрации VEGF в плазме крови у больных раком молочной железы пациентов при добавлении бевацизумаба к предоперационной цитотоксической терапии [22]. По нашим данным, экспрессия VEGF достоверно чаще отсутствовала в строме метастатических опухолей КРР после проведенной сочетанной терапии цитотоксическими и таргетным анти-VEGF-препаратом. По данным, полученным Н. Vaba и соавт. (2015), экспрессия мРНК VEGF-A в опухолевых клетках метастазов КРР в печени, напротив, выше в группе пациентов, получавших цитотоксическую терапию в сочетании с бевацизумабом, по сравнению с группой пациентов, не получавших предоперационной противоопухолевой терапии [23]. В целом количество подобных исследований невелико, они различаются как по материалам, так и по методам исследования, а их результаты остаются противоречивыми.

Заключение

Согласно полученным данным, у пациентов с метастазами колоректальных аденокарцином в печени приме-

нение в предоперационной терапии не только схемы FOLFOX6 в сочетании с бевацизумабом, но и изолированно цитотоксических схем достоверно влияет на экспрессию маркеров ангиогенеза. Так, сочетанная цитотоксическая и таргетная анти-VEGF-терапия приводит к некоторому подавлению образования новых сосудов по альтернативному пути SDF1/CXCR4/CXCR7 за счет снижения экспрессии CXCR4 в эндотелиоцитах сосудов и экспрессии VEGF в клетках стромы метастатических очагов. У мужчин такая терапия приводит одновременно к повышению экспрессии SDF1 α в опухолевых клетках и CXCR4 в строме. При этом данная терапия не влияет на экспрессию CXCR7 в метастатических очагах. Предоперационная терапия FOLFOX6 приводит к достоверному повышению экспрессии CXCR7 в опухолевых и стромальных клетках у мужчин, что, возможно, свидетельствует об активации данного пути формирования сосудов. Таким образом, изменение экспрессии маркеров ангиогенеза в метастазах КРР под действием лекарственной терапии нуждается в дальнейшем изучении.

Участие авторов:

Концепция и дизайн исследования: О.Г.С., А.В.В.

Сбор и обработка материала: А.В.В., Е.М.П., М.И.С., Д.Н.Ф., О.Г.С.

Статистическая обработка материала: А.В.В.

Написание текста статьи: А.В.В., Е.М.П., М.И.С.

Редактирование: Е.М.П.

Конфликт интересов отсутствует.

ЛИТЕРАТУРА

1. Sun W. Angiogenesis in metastatic colorectal cancer and the benefits of targeted therapy. *J Hematol Oncol.* 2012;5:63. doi:10.1186/1756-8722-5-63
2. Siriwardana PN, Luong TV, Watkins J, Turley H, Ghazaley M, Gatter K, et al. Biological and prognostic significance of the morphological types and vascular patterns in colorectal liver metastasis.

- ses (CRLM): looking beyond the tumor margin. *Medicine (Baltimore)*. 2016;95(8):e2924.
doi:10.1097/MD.0000000000002924
3. Carmeliet P, Jain RK. Molecular mechanisms and clinical applications of angiogenesis. *Nature*. 2011;473(7347):298-307.
doi:10.1038/nature10144
 4. Lee S, Chen TT, Barber CL, Jordan MC, Murdock J, Desai S, et al. Autocrine VEGF signaling is required for vascular homeostasis. *Cell*. 2007;130(4):691-703.
doi:10.1016/j.cell.2007.06.054
 5. Stockmann C, Doedens A, Weidemann A, Zhang N, Takeda N, Greenberg JI, et al. Deletion of vascular endothelial growth factor in myeloid cells accelerates tumorigenesis. *Nature*. 2008;456(7223):814-818.
doi:10.1038/nature07445
 6. Hanrahan V, Currie MJ, Gunningham SP, Morrin HR, Scott PA, Robinson BA, Fox SB. The angiogenic switch for vascular endothelial growth factor (VEGF)-A, VEGF-B, VEGF-C, and VEGF-D in the adenoma-carcinoma sequence during colorectal cancer progression. *J Pathol*. 2003;200(2):183-194.
doi:10.1002/path.1339
 7. Willett CG, Boucher Y, di Tomaso E, Duda DG, Munn LL, Tong RT, et al. Direct evidence that the VEGF-specific antibody bevacizumab has antivascular effects in human rectal cancer. *Nat Med*. 2004;10(2):145-147.
doi:10.1038/nm988
 8. Jain RK. Antiangiogenesis strategies revisited: from starving tumors to alleviating hypoxia. *Cancer Cell*. 2014;26(5):605-622.
doi:10.1016/j.ccell.2014.10.006
 9. Ceradini DJ, Kulkarni AR, Callaghan MJ, Tepper OM, Bastidas N, Kleinman ME, et al. Progenitor cell trafficking is regulated by hypoxic gradients through HIF-1 induction of SDF-1. *Nat Med*. 2004;10(8):858-864.
doi:10.1038/nm1075
 10. Du R, Lu KV, Petritsch C, Liu P, Ganss R, Passequé E, et al. HIF1alpha induces the recruitment of bone marrow-derived vascular modulatory cells to regulate tumor angiogenesis and invasion. *Cancer Cell*. 2008;13(3):206-220.
doi:10.1016/j.ccr.2008.01.034
 11. Romain B, Hachet-Haas M, Rohr S, Brigand C, Galzi JL, Gaub MP, et al. Hypoxia differentially regulated CXCR4 and CXCR7 signaling in colon cancer. *Mol Cancer*. 2014;13:58.
doi:10.1186/1476-4598-13-58
 12. Jordan NJ, Kolios G, Abbot SE, Sinai MA, Thompson DA, Petraki K, Westwick J. Expression of functional CXCR4 chemokine receptors on human colonic epithelial cells. *J Clin Invest*. 1999;104(8):1061-1069.
 13. Matsusue R, Kubo H, Hisamori S, Okoshi K, Takagi H, Hida K, et al. Hepatic stellate cells promote liver metastasis of colon cancer cells by the action of SDF-1/CXCR4 axis. *Ann Surg Oncol*. 2009;16(9):2645-2653.
doi:10.1245/s10434-009-0599-x
 14. Ottaiano A, Franco R, Aiello Talamanca A, Liguori G, Tatangelo F, Delrio Pet al. Overexpression of both CXCR4 chemokine receptor 4 and vascular endothelial growth factor proteins predicts early distant relapse in stage II-III colorectal cancer patients. *Clin Cancer Res*. 2006;12(9):2795-2803.
doi:10.1158/1078-0432.CCR-05-2142
 15. Yang D, Dai T, Xue L, Liu X, Wu B, Geng J, et al. Expression of chemokine receptor CXCR7 in colorectal carcinoma and its prognostic significance. *Int J Clin Exp Pathol*. 2015;8(10):13051-13058. Accessed July 27, 2016. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4680445/>
 16. Burns JM, Summers BC, Wang Y, Melikian A, Berahovich R, Miao Z, et al. A novel chemokine receptor for SDF-1 and I-TAC involved in cell survival, cell adhesion, and tumor development. *J Exp Med*. 2006;203(9):2201-2213.
doi:10.1084/jem.20052144
 17. Xu L, Duda DG, di Tomaso E, Ancukiewicz M, Chung DC, Lauwers GY, et al. Direct evidence that bevacizumab, an anti-VEGF antibody, up-regulates SDF1alpha, CXCR4, CXCL6, and neuropilin 1 in tumors from patients with rectal cancer. *Cancer Res*. 2009;69(20):7905-7910.
doi:10.1158/0008-5472.CAN-09-2099
 18. Tamas K, Domanska UM, van Dijk TH, Timmer-Bosscha H, Havenga K, Karrenbeld A, et al. CXCR4 and CXCL12 expression in rectal tumors of stage IV patients before and after local radiotherapy and systemic neoadjuvant treatment. *Curr Pharm Des*. 2015;21(17):2276-2283.
doi:10.2174/1381612821666150105155615
 19. Zahiragic L, Schliemann C, Bieker R, Thoennissen NH, Burrow K, Kramer C, et al. Bevacizumab reduces VEGF expression in patients with relapsed and refractory acute myeloid leukemia without clinical antileukemic activity. *Leukemia*. 2007;21(6):1310-1312.
doi:10.1038/sj.leu.2404632
 20. Wedam SB, Low JA, Yang SX, Chow CK, Choyke P, Danforth D, et al. Antiangiogenic and antitumor effects of bevacizumab in patients with inflammatory and locally advanced breast cancer. *J Clin Oncol*. 2006;24(5):769-777.
doi:10.1200/JCO.2005.03.4645
 21. Willett CG, Duda DG, di Tomaso E, Boucher Y, Ancukiewicz M, Sahani DV, et al. Efficacy, safety, and biomarkers of neoadjuvant bevacizumab, radiation therapy, and fluorouracil in rectal cancer: a multidisciplinary phase II study. *J Clin Oncol*. 2009;27(18):3020-3026.
doi:10.1200/JCO.2008.21.1771
 22. Baar J, Silverman P, Lyons J, Fu P, Abdul-Karim F, Ziats N, et al. A vasculature-targeting regimen of pre-operative docetaxel with or without bevacizumab for locally advanced breast cancer: impact on angiogenic biomarkers. *Clin Cancer Res*. 2009;15(10):3583-3590.
doi:10.1158/1078-0432.CCR-08-2917
 23. Baba H, Baba Y, Uemoto S, Yoshida K, Saiura A, Watanabe M, et al. Changes in expression levels of ERCC1, DPYD, and VEGFA mRNA after first-line chemotherapy of metastatic colorectal cancer: results of a multicenter study. *Oncotarget*. 2015;6(32):34004-34013.
doi:10.18632/oncotarget.5227

Поступила 22.08.2016