

*Л.В. Спирина^{1,2}, А.С. Тарасова¹, А.Ю. Добродеев¹, Д.Н. Костромицкий¹,
А.В. Августинovich¹, С.Г. Афанасьев¹, А.И. Павлова², И.В. Кондакова¹*

Молекулярные маркеры развития колоректального рака, связь с объективным ответом опухоли на лечение

¹ НИИ онкологии Томского НИМЦ

² Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск

Колоректальный рак (КРР), одна из ведущих причин смертности от онкологических заболеваний в мире, входит в число самых распространенных форм онкологической патологии, характеризующихся продолжающимся неуклонным ростом заболеваемости, значительной частотой рецидивов и ранним метастазированием. Среди множества сигнальных каскадов, определяющих особенности биологического поведения опухоли, большое значение придается АКТ/mTOR сигнальному пути.

Цель исследования заключалась в изучении экспрессии компонентов АКТ/mTOR сигнального пути в опухоли у больных КРР в связи с клинико-морфологическими параметрами заболевания и объективным ответом опухоли на противоопухолевое лечение.

Материалы и методы. В исследование включено 26 больных КРР в возрасте 43–75 лет (средний возраст 54 года). В клиниках НИИ онкологии Томского НИМЦ больные получали комбинированное лечение, которое включало неоадьювантную химиотерапию по схеме FOLFOX либо XELOX с последующей радикальной операцией. Материалом исследования была нормальная и опухолевая ткань, полученная после хирургического лечения. Уровень мРНК изучаемых показателей определялся методом ПЦР в реальном времени.

Результаты и их обсуждение. Установлено волнообразное изменение экспрессии АКТ, GSK-3 β , 70S бкиназы, mTOR при увеличении размера первичной опухоли. Наличие лимфогенных метастазов и уровень поражения регионарных лимфоузлов (N₁₋₂) были связаны с изменениями уровня мРНК 70S бкиназы, PTEN, GSK-3 β и mTOR. В результате неоадьювантной химиотерапии отмечено увеличение уровня мРНК 4EBP1 в 2,6 раза по сравнению с таковым до лечения. При этом низкая эффективность лечения была ассоциирована с повышением экспрессии PDK1 и снижением экспрессии c-RAF.

Заключение. Выявлены молекулярные особенности развития КРР, связанные с изменением экспрессии компонентов АКТ/mTOR сигнального пути, в зависимости от локальной распространенности опухоли и эффективности противоопухолевой терапии, что отражается на прогнозе заболевания.

Ключевые слова: колоректальный рак, молекулярные маркеры, неоадьювантная химиотерапия

Введение

Колоректальный рак (КРР) одна из ведущих причин смертности от онкологических заболеваний в мире, является одним из самых распространенных форм злокачественных новообразований и характеризуется неуклонным ростом заболеваемости, значительной частотой развития рецидивов и ранним метастазированием [1, 2]. Доля КРР в общей структуре онкозаболеваемости достигла 9,6% у мужчин и 11,6% у женщин [3, 4].

Согласно современным данным больные даже с одинаковой стадией заболевания часто имеют различные прогностические перспективы, что, как считается, вероятнее всего связано как с молекулярно-генетическими различиями в процессе канцерогенеза, так и биологической гетерогенностью опухолей кишки [5]. К значимым гистологическим параметрам относят глубину инвазии опухоли, степень дифференцировки, выраженность инфильтрации иммунными клетками, наличие некроза опухоли, метастатическое поражение лимфатических узлов [6]. Кроме того, известно большое количество молекулярно-генетических маркеров, которые принимают участие в развитии КРР, предопределяя клиническую картину течения болезни.

Среди множества молекулярных маркеров, определяющих особенности биологического поведения опухоли, большое значение придается АКТ/mTOR сигнальному пути [7], представленному ферментами фосфоинозитид-3-киназа (PI3K), а также киназами АКТ и mTOR, которые

регулируют процессы пролиферации трансформированных клеток, уход от апоптоза и формируют инвазивный и метастатический потенциал опухоли [8]. Его компоненты рассматриваются в качестве потенциальных мишеней для противоопухолевой терапии [7]. Гиперэкспрессия данного сигнального каскада является значимым патогенетическим процессом в развитии КРР [9, 10]. Известно, что часто заболевание протекает на фоне функциональной неполноценности белка PTEN [9]. Следует отметить, что имеются данные о роли АКТ/мTOR сигнального пути в формировании объективного ответа опухоли на неоадьювантную терапию и развитие резистентности [11].

Цель исследования заключалась в изучении экспрессии компонентов АКТ/мTOR сигнального пути в опухоли у больных КРР в связи с клинико-морфологическими параметрами заболевания и объективным ответом опухоли на проводимое противоопухолевое лечение.

Материалы и методы

В исследование включено 26 больных КРР в возрасте от 43 до 75 лет (средний возраст составил 54±5,67 года). В клиниках НИИ онкологии Томского НИМЦ больные получали комбинированное лечение, которое включало неоадьювантную химиотерапию (НАХТ) по схеме FOLFOX либо XELOX с последующим радикальным хирургическим вмешательством. Распространенность опухолевого процесса по размеру первичной опухоли (индекс T): T2 — 5 пациентов, T3 — 8 и T4 — 13; по объему пораженных регионарных лимфоузлов (индекс N): N0 — 12, N1 — 11 и N2 — 3 больных.

Проведение работы одобрено этическим комитетом НИИ онкологии Томского НИМЦ. Все процедуры с вовлечением больных были проведены в соответствии с Протоколом Хельсинской декларации по правам человека (1964 г.) Все больные подписывали информированное согласие на участие в исследовании (табл. 1).

Таблица 1. Клинико-морфологическая характеристика больных КРР, абс. ч. (%)

Средний возраст больных, лет		54±5,67 (от 43 до 75 лет)
Пол	Мужчины	15 (57,7%)
	Женщины	11 (42,3%)
Аденокарцинома, степень дифференцировки	Высокая	6 (23,1%)
	Умеренная	15 (57,7%)
	Низкая	5 (19,2%)
Распространенность опухолевого процесса	T2	5 (19,2%)
	T3	8 (30,8%)
	T4	13 (50%)
	N0	12 (46,1%)
	N1	11 (42,3%)
	N2	3 (11,6%)
Объем хирургического лечения	Передняя резекция прямой кишки	19 (73,1%)
	Резекция сигмовидной кишки	7 (26,9%)

Материалом исследования были нормальная и опухолевая ткань, полученные после хирургического лечения, которые замораживались и хранились при температуре -80 °С.

Выделение РНК. РНК выделяли с помощью набора RNeasy mini Kit, содержащего ДНК-азу I (Qiagen, Германия). На спектрофотометре NanoDrop-2000 (Thermo Scientific, США) оценивали концентрацию и чистоту выделенной РНК. Концентрация РНК составила от 80 до 250 нг/мкл, A260/A280=1,95–2,05; A260/A230=1,90–2,31. Целостность РНК оценивалась при помощи капиллярного электрофореза на приборе TapeStation (Agilent Technologies, США) и набора R6K ScreenTape (Agilent Technologies, США). RIN составил 5,6–7,8.

Количественная ПЦР с обратной транскрипцией в режиме реального времени. Уровень экспрессии генов оценивали при помощи количественной обратно-транскриптазной ПЦР в режиме реального времени (RT-qPCR) с использованием красителя SYBR Green на амплификаторе iCycler (Bio-Rad, USA). Для получения кДНК на матрице РНК проводили реакцию обратной транскрипции с помощью набора ОТ m-MuLV-RH (Био-Лабмикс, Россия) со случайными гексануклеотидными праймерами в соответствии с инструкцией к набору. ПЦР ставили в трех репликах в объеме 25 мкл, содержащем 12,5 мкл БиоМастер HS-qPCR SYBR Blue (БиоЛабмикс, Россия), 300 нМ прямого и обратного праймеров и 50 нг кДНК.

PTEN: F 5¢-GGGAATGGAGGGAATGCT-3¢, R 5¢-CGCAAACAACAAGCAGTGA-3¢;
 4EBP1: F 5¢-CAGCCCTTTCTCCCTCACT-3¢, R 5¢-TTCCCAAGCACATCAACCT-3¢;
 AKT1: F 5¢-CGAGGACGCCAAGGAGA-3¢, R 5¢-GTCATCTTGGTCAGGTGGTGT-3¢;
 c-RAF: F 5¢-TGGTGTGTCCTGCTCCCT-3¢, R 5¢-ACTGCCTGCTACTTACTTCCCT-3¢;
 GSK3β: F 5¢-AGACAAGGACGGCAGCAA-3¢, R 5¢-CTGGAGTAGAAGAAATAACGCAAT-3¢; 70S
 kinase alpha: F 5¢-CAGCACAGCAATCCTCAGA-3¢, R 5¢-ACACATCTCCCTCTCCACCTT-3¢;
 mTOR: F 5¢-CCAAAGGCAACAAGCGAT-3¢, R 5¢-TTCACCAAACCGTCTCCAA-3¢; PDK1: F 5¢-TCACCAGGACAGCCAATACA-3¢, R 5¢-CTCCTCGGTCACTCATCTTCA-3¢; GAPDH: F 5¢-GGAAGTCAGGTGGAGCGA-3¢, R 5¢-GCAACAATATCCACTTTACCAGA-3¢.

Двухшаговая программа амплификации включала 1 цикл — 94 °С, 10 мин — предварительная денатурация; 40 циклов — 1 шаг 94 °С, 10 с и 2 шаг 20 с при температуре 60 °С. Праймеры были подобраны с использованием программы Vector NTI Advance 11.5 и базы данных NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucore>).

В качестве референсного гена использовали ген «домашнего хозяйства» фермента GAPDH (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase), уровень экспрессии каждого целевого гена нормализовали по отношению к экспрессии GAPDH. Количественный анализ экспрессии проводили по 2ΔΔCt по отношению к конститутивно-экспрессируемому гену-рефери фермента GAPDH.

Статистическую обработку результатов проводили с применением пакета программ Statistica 12.0. Проверку нормальности проводили с помощью критерия Колмогорова-Смирнова. Результаты определения экспрессии генов представлены как Me (Q1; Q3). Значимость различий независимых параметров оценивали по критерию Манна-Уитни, зависимых — с помощью критерия Вилкоксона. Сравнение нескольких независимых групп осуществляли с помощью непараметрического дисперсионного анализа. Различия считали значимыми при p<0,05.

Таблица 2. Экспрессия компонентов АКТ/mTOR сигнального пути у больных КРР в зависимости от размера первичной опухоли и поражения регионарных лимфоузлов

Параметр, усл. ед.	Размер опухоли			Вовлеченность регионарных лимфоузлов		
	T2N0–1M0	T3N1M0	T4N1–2M0	T2N0M0	T3N1M0	T4N2M0
4EBP1	4,86 (0,05; 5,64)	1,07 (0,39; 1,36)	1,48 (0,18; 20,68)	1,21 (0,18; 3,43)	1,48 (0,69; 20,68)	0,06 (0,00; 152,19)
	Kruskal-Wallis test: p>0,05			Kruskal-Wallis test: p>0,05		
	Median Test, Chi-Square: p>0,05			Median Test, Chi-Square: p>0,05		
AKT	3,30 (2,24; 3,30)	0,82 (0,32; 1,37)	1,58 (0,61; 2,94)	1,45 (0,61; 3,30)	1,37 (0,92; 2,94)	2,00 (0,110; 152,19)
	Kruskal-Wallis test: p<0,05			Kruskal-Wallis test: p>0,05		
	Median Test, Chi-Square: p<0,05			Median Test, Chi-Square: p>0,05		
c-RAF	1,78 (1,29; 2,69)	2,34 (0,10; 6,5)	0,87 (0,04; 2,51)	1,78 (0,87; 2,51)	1,74 (0,01; 22,16)	0,06 (0,00; 4,00)
	Kruskal-Wallis test: p>0,05			Kruskal-Wallis test: p>0,05		
	Median Test, Chi-Square: p>0,05			Median Test, Chi-Square: p>0,05		
GSK-3	0,61 (0,61; 0,83)	3,05 (0,48; 11,16)	0,82 (0,17; 2,52)	1,78 (0,87; 2,51)	1,74 (0,01; 22,16)	0,06 (0,00; 4,00)
	Kruskal-Wallis test: p<0,05			Kruskal-Wallis test: p>0,05		
	Median Test, Chi-Square: p<0,05			Median Test, Chi-Square: p>0,05		
70S 6 киназа	0,71 (0,71; 0,95)	3,07 (1,35; 15,42)	0,73 (0,16; 4,76)	1,36 (0,61; 2,52)	1,03 (0,22; 7,31)	0,01 (0,00; 0,17)
	Kruskal-Wallis test: p<0,05			Kruskal-Wallis test: p<0,05		
	Median Test, Chi-Square: p<0,05			Median Test, Chi-Square: p<0,05		
mTOR	0,36 (0,19; 0,36)	6,44 (0,47; 30,93)	0,54 (0,02; 3,49)	1,08 (0,71; 15,42)	1,91 (0,62; 5,37)	0,00 (0,00; 0,02)
	Kruskal-Wallis test: p<0,05			Kruskal-Wallis test: p<0,05		
	Median Test, Chi-Square: p<0,05			Median Test, Chi-Square: p<0,05		
PDK1	0,85 (0,31; 0,85)	0,41 (0,11; 5,28)	0,96 (0,18; 5,97)	0,85 (0,06; 5,97)	0,47 (0,18; 1,23)	4,00 (0,00; 67,18)
	Kruskal-Wallis test: p>0,05			Kruskal-Wallis test: p>0,05		
	Median Test, Chi-Square: p>0,05			Median Test, Chi-Square: p>0,05		
PTEN	0,98 (0,98; 3,06)	1,89 (0,58; 4,5)	1,47 (0,19; 11,56)	1,47 (0,98; 8,46)	2,54 (0,29; 14,42)	0,01 (0,00; 2,00)
	Kruskal-Wallis test: p>0,05			Kruskal-Wallis test: p<0,05		
	Median Test, Chi-Square: p>0,05			Median Test, Chi-Square: p<0,05		

Результаты

Выявлено волнообразное изменение экспрессии АКТ, GSK-3β, 70S бкиназы, mTOR в ткани опухоли по мере увеличения индекса Т (табл. 2).

Выраженность метастатического поражения регионарных лимфоузлов (N1–2) была связана с изменениями уровня мРНК 70S бкиназы, PTEN, GSK-3β и mTOR в трансформированной ткани. Полученные данные свидетельствуют о значимости изучаемых молекулярных маркеров в развитии КРР.

При изучении изменения экспрессии компонентов АКТ/mTOR сигнального пути в опухолевой ткани у больных КРР до и после НАХТ выявлено увеличение уровня мРНК 4EBP1 в 2,6 раза по сравнению с таковым до лечения (табл. 3). При этом отмечался рост экспрессии PDK1 и снижение экспрессии c-RAF по мере уменьшения степени ответа опухоли на хими-

отерапию в ряду полной регрессии, частичной регрессии и стабилизации процесса (табл. 4). Следовательно, эффективность НАХТ тесным образом связана с биологическими особенностями опухоли.

Обсуждение

Выявлены особенности экспрессии компонентов АКТ/mTOR сигнального пути в опухолевой ткани у больных КРР в зависимости от клинично-морфологических параметров. Известно, что индукция данного сигнального каскада определяет биологическое поведение опухоли, формирование инвазивного и метастатического потенциала [5, 12, 13]. Сходные факты были показаны и в проведенном исследовании, где развитие и рост опухоли были связаны с увеличением экспрессии АКТ, GSK-3β, 70S бкиназы, mTOR.

Таблица 3. Динамика экспрессии компонентов АКТ/mTOR сигнального пути в ткани опухоли после НАХТ

Параметр, усл. ед.	До химиотерапии	После химиотерапии
4EBP1	1,21 (0,06; 4,86)	3,13 (0,21; 59,70)*
АКТ	1,79 (0,81; 4,00)	1,09 (0,29; 4,00)
c-RAF	1,51 (0,10; 6,50)	2,01 (0,05; 6,24)
GSK-3	1,07 (0,29; 7,31)	1,98 (0,25; 6,18)
70S 6 киназа	1,01 (0,32; 8,02)	1,57 (0,25; 4,26)
mTOR	0,45 (0,05; 5,74)	1,00 (0,17; 10,78)
PDK1	0,90 (0,18; 9,49)	0,54 (0,06; 1,42)
PTEN	1,23 (0,25; 11,56)	1,39 (0,12; 2,80)

* Значимость различий $p < 0,05$ по сравнению с уровнем показателя до лечения.

Таблица 4. Изменение экспрессии компонентов АКТ/mTOR сигнального пути в зависимости от эффективности НАХТ

Параметр, усл. ед.	Полная регрессия	Частичная регрессия	Стабилизация
4EBP1	0,71 (0,71; 0,71)	1,44 (0,21; 4,86)	1,48 (0,00; 92,37)
	Kruskal-Wallis test: $p > 0,05$		
	Median Test, Chi-Square: $p > 0,05$		
АКТ	10,93 (10,93; 10,93)	1,51 (0,32; 4,53)	0,54 (0,11; 6,04)
	Kruskal-Wallis test: $p > 0,05$		
	Median Test, Chi-Square: $p > 0,05$		
c-RAF	2,35 (2,35; 2,35)	1,90 (0,09; 6,5)	0,71 (0,06; 0,87)
	Kruskal-Wallis test: $p < 0,05$		
	Median Test, Chi-Square: $p < 0,05$		
GSK-3	3,05 (3,05; 3,05)	0,71 (0,25; 2,52)	0,53 (0,17; 55,57)
	Kruskal-Wallis test: $p > 0,05$		
	Median Test, Chi-Square: $p > 0,05$		
70S 6 киназа	5,30 (5,30; 5,30)	1,81 (0,71; 25,46)	0,73 (0,00; 4,76)
	Kruskal-Wallis test: $p > 0,05$		
	Median Test, Chi-Square: $p > 0,05$		
mTOR	0,77 (0,77; 0,77)	1,89 (0,36; 7,57)	0,84 (0,00; 36,0)
	Kruskal-Wallis test: $p > 0,05$		
	Median Test, Chi-Square: $p > 0,05$		
PDK1	0,11 (0,11; 0,11)	0,85 (0,30; 5,28)	27,42 (1,04; 67,18)
	Kruskal-Wallis test: $p < 0,05$		
	Median Test, Chi-Square: $p < 0,05$		
PTEN	4,50 (4,50; 4,50)	1,23 (0,58; 34,78)	0,19 (0,01; 11,56)
	Kruskal-Wallis test: $p > 0,05$		
	Median Test, Chi-Square: $p > 0,05$		

Поражение регионарных лимфоузлов и выраженность лимфогенного метастазирования (N1–2) были связаны с изменениями уровня мРНК 70S бкиназы, PTEN, GSK-3 β и mTOR.

В настоящее время имеются данные о модификации опухолевой прогрессии за счет влияния на компоненты АКТ/mTOR сигнального пути. Так, снижение опухолевого инвазивного и метастатического потенциала связано с блокированием киназы mTOR [14, 15]. Кроме того, в работе Rap и соавт. (2018) отмечено снижение

активности процесса метастазирования KPP за счет изменения содержания PTEN в культуре раковых клеток [16], что предполагает перспективность использования его в качестве мишени для таргетной терапии [17]. Известно, что мутации данного фактора являются одними из значимых и способны влиять на развитие опухоли [18].

Учитывая значимость изучаемого сигнального каскада в развитии заболевания, особенно интересен факт его роли в реализации объективного ответа опухоли на НАХТ [19].

В настоящее время компоненты сигнальных каскадов рассматриваются в качестве потенциальных мишеней противоопухолевой терапии. Вместе с тем, обоснована роль биологических особенностей опухоли и экспрессии молекулярных мишеней в оценке эффективности различных схем противоопухолевого лечения [20]. Отмечается факт потенцирования эффекта химиотерапии при применении таргетных агентов, способных изменять состояние АКТ/mTOR сигнального каскада [21]. Также выявлены потенциальные молекулярные механизмы, ассоциированные с эффектом НАХТ, в том числе за счет развития резистентности. Стоит отметить в этом процессе роль аутофагии и ее ключевых регуляторов киназ mTOR и AMPK [22, 23, 24].

Заключение

В результате проведенного исследования были выявлены особенности экспрессии компонентов АКТ/mTOR сигнального пути у больных КРР в зависимости от распространенности опухолевого процесса. Биологическое поведение опухоли, формирование инвазивного и метастатического потенциала, развитие ответа на НАХТ связано с особенностями экспрессии компонентов АКТ/mTOR сигнального пути.

ЛИТЕРАТУРА

- Kuipers EJ, Grady WM, Lieberman D et al. Colorectal cancer // *Nat Rev Dis Primers*. 2015;1:15065. doi:10.1038/nrdp.2015.65
- Hu S, Yin J, Yan S et al. Chaetochin J, an epipolythiodioxopiperazine alkaloid, induces apoptosis and autophagy in colorectal cancer via AMPK and PI3K/AKT/mTOR pathways // *Bioorg Chem*. 2021;109:104693. doi:10.1016/j.bioorg.2021.104693
- Злокачественные новообразования в России в 2019 году (заболеваемость и смертность) / Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, А.О. Шахзадовой. М.: МНИ-ОИ им. П.А. Герцена — филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2020. [Malignant neoplasms in Russia in 2019 (morbidity and mortality) / Edited by A.D. Kaprin, V.V. Starinsky, A.O. Shakhzadova. M.: P.A. Herzen Moscow State Medical Research Institute - Branch of the Federal State Budgetary Institution «NMIC of Radiology» of the Ministry of Health of Russia, 2020 (In Russ.)]
- Dekker E, Tanis PJ, Vleugels JLA et al. Colorectal cancer // *Lancet*. 2019;394(10207):1467–1480. doi:10.1016/S0140-6736(19)32319-0
- Aranda E, Aparicio J, Alonso V et al. SEOM clinical guidelines for diagnosis and treatment of metastatic colorectal cancer 2015 // *Clin Transl Oncol*. 2015;17(12):972–81. doi:10.1007/s12094-015-1434-4
- Mauri G, Sartore-Bianchi A, Russo AG et al. Early-onset colorectal cancer in young individuals // *Mol Oncol*. 2019;13(2):109–131. doi:10.1002/1878-0261.12417
- Narayanankutty A. PI3K/ Akt/ mTOR Pathway as a Therapeutic Target for Colorectal Cancer: A Review of Preclinical and Clinical Evidence // *Curr Drug Targets*. 2019;20(12):1217–1226. doi:10.2174/1389450120666190618123846
- Pandurangan AK. Potential targets for prevention of colorectal cancer: a focus on PI3K/Akt/mTOR and Wnt pathways // *Asian Pac J Cancer Prev*. 2013;14(4):2201–5. doi:10.7314/apjcp.2013.14.4.2201
- Wang XW, Zhang YJ. Targeting mTOR network in colorectal cancer therapy // *World J Gastroenterol*. 2014;20(15):4178–88. doi:10.3748/wjg.v20.i15.4178
- Wang H, Liu Y, Ding J et al. Targeting mTOR suppressed colon cancer growth through 4EBP1/eIF4E/PUMA pathway // *Cancer Gene Ther*. 2020;27(6):448–460. doi:10.1038/s41417-019-0117-7
- Liang Y, Zhu D, Zhu L et al. Dichloroacetate Overcomes Oxaliplatin Chemoresistance in Colorectal Cancer through the miR-543/PTEN/Akt/mTOR Pathway // *J Cancer*. 2019;10(24):6037–6047. doi:10.7150/jca.34650
- Gao H, Zhong F, Xie J et al. Erratum: PTTG promotes invasion in human breast cancer cell line by upregulating EMMPRIN via FAK/Akt/mTOR signaling // *Am J Cancer Res*. 2020;10(4):1274–1276 // Erratum for: *Am J Cancer Res*. 2016;6(2):425–39.
- Xue Y, Balci S, Aydin Mericoz C et al. Frequency and clinicopathologic associations of DNA mismatch repair protein deficiency in ampullary carcinoma: Routine testing is indicated // *Cancer*. 2020;126(21):4788–4799. doi:10.1002/cncr.33135
- Roper J, Richardson MP, Wang WW et al. The dual PI3K/mTOR inhibitor NVP-BEZ235 induces tumor regression in a genetically engineered mouse model of PIK3CA wild-type colorectal cancer // *PLoS One*. 2011;6(9):e25132. doi:10.1371/journal.pone.0025132
- Mao HY, Liu SP, Kong GM et al. FBLN3 inhibited the invasion and metastasis of colorectal cancer through the AKT/mTOR pathway // *Neoplasma*. 2019;66(3):336–342. doi:10.4149/neo_2018_180703N441. Epub 2019 Feb 14. PMID: 30784281
- Ran H, Zhu Y, Deng R et al. Stearoyl-CoA desaturase-1 promotes colorectal cancer metastasis in response to glucose by suppressing PTEN // *J Exp Clin Cancer Res*. 2018;37(1):54. doi:10.1186/s13046-018-0711-9
- Liu J, Zhang K, Cheng L et al. Progress in Understanding the Molecular Mechanisms Underlying the Antitumor Effects of Ivermectin // *Drug Des Devel Ther*. 2020;14:285–296. doi:10.2147/DDDT.S237393
- De Roock W, De Vriendt V, Normanno N et al. KRAS, BRAF, PIK3CA, and PTEN mutations: implications for targeted therapies in metastatic colorectal cancer // *Lancet Oncol*. 2011;12(6):594–603. doi:10.1016/S1470-2045(10)70209-6. Epub 2010 Dec 14. PMID: 21163703
- Martinelli E, Troiani T, D'Aiuto E et al. Antitumor activity of pimasertib, a selective MEK 1/2 inhibitor, in combination with PI3K/mTOR inhibitors or with multi-targeted kinase inhibitors in pimasertib-resistant human lung and colorectal cancer cells // *Int J Cancer*. 2013;133(9):2089–101. doi:10.1002/ijc.28236
- Micallef I, Baron B. The Mechanistic Roles of ncRNAs in Promoting and Supporting Chemoresistance of Colorectal Cancer // *Noncoding RNA*. 2021;7(2):24. doi:10.3390/ncrna7020024
- Inaba K, Oda K, Ikeda Y et al. Antitumor activity of a combination of dual PI3K/mTOR inhibitor SAR245409 and selective MEK1/2 inhibitor pimasertib in endometrial

- carcinomas // *Gynecol Oncol.* 2015;138(2):323–31. doi:10.1016/j.ygyno.2015.05.031
22. Hechtman JF, Sadowska J, Huse JT et al. AKT1 E17K in Colorectal Carcinoma Is Associated with BRAF V600E but Not MSI-H Status: A Clinicopathologic Comparison to PIK3CA Helical and Kinase Domain Mutants // *Mol Cancer Res.* 2015;13(6):1003–8. doi:10.1158/1541-7786.MCR-15-0062-T
23. Galbán S, Apfelbaum AA, Espinoza C et al. A Bifunctional MAPK/PI3K Antagonist for Inhibition of Tumor Growth and Metastasis // *Mol Cancer Ther.* 2017;16(11):2340–2350. doi:10.1158/1535-7163.MCT-17-0207
24. Spirina LV, Kondakova IV, Tarasenko NV et al. Targeting of the AKT/m-TOR Pathway: Biomarkers of Resistance to Cancer Therapy-- AKT/m-TOR Pathway and Resistance to Cancer Therapy // *Zhongguo Fei Ai Za Zhi.* 2018;21(1):63–66. doi:10.3779/j.issn.1009-3419.2018.01.09

Поступила в редакцию 07.07.2021 г.

*L.V. Spirina^{1,2}, A.S. Tarasova¹, A.Yu. Dobrodeev¹,
D.N. Kostromitskii¹, A.V. Avgustinovich¹,
S.G. Afanas'ev¹, A.I. Pavlova², I.V. Kondakova¹*

Molecular markers of colorectal cancer, association with objective tumor response to treatment

¹ Cancer Research Institute, TNRMC, Tomsk, Russia

² Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

Introduction. Colorectal cancer (CRC) is one of the leading causes of death from cancer in the world and is also one of the most common forms of oncological pathology, which is characterized by a continuing steady increase in morbidity, a significant incidence of relapses, and early metastasis. Among the many signaling cascades that determine the features of the biological behavior of a tumor, great importance is attached to the AKT / mTOR signaling pathway. The aim of the study was to study the expression of AKT / mTOR signaling pathway components in tumors in patients with colorectal cancer, in connection with the clinical and morphological parameters of the disease and the objective response of the tumor to antitumor treatment.

Materials and methods. The study included 26 patients with colorectal cancer aged 43 to 75 years (average age was 54

years). In the clinics of the Research Institute of Oncology of the Tomsk National Research Medical Center, patients received combined treatment, which included neoadjuvant chemotherapy according to the FOLFOX or XELOX scheme, followed by radical surgery. The study material was normal and tumor tissue obtained after surgical treatment. The mRNA level of the studied parameters was determined by real-time PCR.

Results and discussion. A wave-like change in the expression of AKT, GSK-3 β , the 70S 6 kinase, mTOR was found with an increase in the size of the primary tumor. The presence of lymphogenous metastases and the level of regional lymph node involvement (N1–2) were associated with changes in the mRNA level of the 70S 6 kinase, PTEN, GSK-3 β , and mTOR. As a result of neoadjuvant chemotherapy, the level of 4EBP1 mRNA increased by 2.6 times compared with that before treatment. At the same time, the low treatment efficacy was associated with an increase in PDK1 expression and a decrease in c-RAF expression.

Conclusion. Molecular features of the development of colorectal cancer associated with changes in the expression of the components of the AKT / mTOR signaling pathway, depending on the locoregional prevalence of the tumor and the effectiveness of antitumor therapy, have been identified, which affects the prognosis of the disease.

Key words: colorectal cancer, molecular markers, neoadjuvant chemotherapy