

Учредитель:
Федеральное государственное бюджетное научное
учреждение «Томский национальный исследовательский
медицинский центр Российской академии наук»

сайт: www.siboncoj.ru

Журнал издается при поддержке
Национального союза «Ассоциация онкологов России»

Издается с мая 2002 г.
Индекс по каталогу
«Роспечать» - 46827

Адрес редакции:

634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5
Томский национальный исследовательский медицинский
центр Российской академии наук, редакция «Сибирского
онкологического журнала»
тел.: (3822) 51-32-69, (3822) 28-26-78
факс: (3822) 28-26-86
E-mail: sjo@oncology.tomsk.ru,
AfanasievSG@oncology.tomsk.ru

Журнал зарегистрирован 20.03.2003 г.
в Министерстве Российской Федерации по делам печати,
телерадиовещания и средств массовых коммуникаций.
Свидетельство № 77-14937.

Журнал включен в Перечень ведущих рецензируемых
научных изданий, выпускаемых в Российской Федерации,
в которых должны быть опубликованы основные научные
результаты диссертаций на соискание ученой степени
доктора и кандидата наук.

Журнал включен в РЖ и БД ВИНТИ, международную
справочную систему «Ulrich's International Periodicals
Directory», Научную электронную библиотеку (elibrary.
ru), электронную библиотеку «Cyberleninka», онлайн-
платформу «Directory of Open Access Journals» (DOAJ).
Журнал индексируется в БД «Российский индекс научного
цитирования» (РИНЦ), БД «Scopus».

Редакторы:

В.С. Сумарокова, Е.В. Лукина

Верстка:



Подписано в печать 26.06.2019 г.

Формат 60x84^{1/8}.

Бумага офсетная №1. Печать офсетная.

Гарнитура Times New Roman Cyr

Печ. л. 14,25; усл. печ. л. 13,75; уч.-изд. л. 14,25.

Тираж 1000 экз. Заказ .

Учебная производственная типография ТГУ, 634050,
г. Томск, пр. Ленина, 66.

При перепечатке ссылка на
«Сибирский онкологический журнал» обязательна

© Томский национальный исследовательский
медицинский центр Российской академии наук

СИБИРСКИЙ ОНКОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

SIBERIAN JOURNAL OF ONCOLOGY

SIBIRSKIY ONCOLOGICHESKIY ZHURNAL

Двухмесячный научно-практический журнал

Том 18, № 3 2019

Главный редактор -

Е.Л. Чойнзонов, *д.м.н., академик РАН, профессор (г. Томск, Россия)*

Заместители главного редактора:

В.Е. Гольдберг, *д.м.н., профессор (г. Томск, Россия)*

Н.В. Чердынцева, *д.б.н., член-корр. РАН, профессор (г. Томск, Россия)*

В.И. Чернов, *д.м.н., профессор (г. Томск, Россия)*

Отв. секретари:

С.Г. Афанасьев, *д.м.н., профессор (г. Томск, Россия)*

И.В. Кондакова, *д.м.н., профессор (г. Томск, Россия)*

Члены редколлегии:

Л.А. Ашрафян, *академик РАН, д.м.н., профессор (г. Москва, Россия)*

Л.М. Берштейн, *д.м.н., профессор (г. Санкт-Петербург, Россия)*

М.И. Давыдов, *академик РАН, д.м.н., профессор (г. Москва, Россия)*

Д.Г. Заридзе, *д.м.н., член-корр. РАН, профессор (г. Москва, Россия)*

Е.Н. Имянитов, *д.м.н., член-корр. РАН,*

профессор (г. Санкт-Петербург, Россия)

А.Д. Каприн, *академик РАН, д.м.н., профессор (г. Москва, Россия)*

Л.А. Коломиец, *д.м.н., профессор (г. Томск, Россия)*

М.А. Красильников, *д.б.н., профессор (г. Москва, Россия)*

А.В. Лисица, *д.б.н., академик РАН, профессор (г. Москва, Россия)*

Н.В. Литвяков, *д.б.н. (г. Томск, Россия)*

Л.Н. Любченко, *д.м.н., профессор (г. Москва, Россия)*

В.М. Моисеенко, *д.м.н., профессор (г. Санкт-Петербург, Россия)*

С.А. Некрылов, *д.и.н., профессор (г. Томск, Россия)*

В.А. Новиков, *д.м.н. (г. Томск, Россия)*

И.Н. Одинцова, *д.м.н. (г. Томск, Россия)*

В.М. Перельмутер, *д.м.н., профессор (г. Томск, Россия)*

И.В. Решетов, *д.м.н., академик РАН, профессор (г. Москва, Россия)*

Е.М. Слонимская, *д.м.н., профессор (г. Томск, Россия)*

В.В. Старинский, *д.м.н., профессор (г. Москва, Россия)*

Ж.А. Старцева, *д.м.н., профессор (г. Томск, Россия)*

В.А. Ткачук, *академик РАН, д.б.н., профессор (г. Москва, Россия)*

С.А. Тузиков, *д.м.н., профессор (г. Томск, Россия)*

С.А. Тюлядин, *д.м.н., профессор (г. Москва, Россия)*

В.В. Удуг, *д.м.н., член-корр. РАН, профессор (г. Томск, Россия)*

И.Г. Фролова, *д.м.н., профессор (г. Томск, Россия)*

О.В. Черемисина, *д.м.н. (г. Томск, Россия)*

Е.Р. Черных, *д.м.н., член-корр. РАН, профессор (г. Новосибирск, Россия)*

С. Айер, *профессор (г. Кочи, Индия)*

М. Джугашвили, *MD, PhD (Испания)*

В. Кесик, *д.м.н., профессор (Хорватия)*

Ю. Кжышковска, *д.б.н., профессор (Германия)*

Т. Кондо, *профессор (Япония)*

Г. Марголин, *профессор (Швеция)*

Л. Унгар, *профессор (Венгрия)*

М. Фрейдин, *PhD (Великобритания)*

Т.-Х. Чунг, *профессор (г. Гонконг, Китай)*

Дж. Ша, *MS MD, F.A.C.S. (США)*

А. Шаха, *профессор (Нью Йорк, США)*

А.Ю, *профессор (Тайвань)*

Founder of the Journal

Federal State Budgetary Scientific Institution «Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences»

Web-site: www.siboncoj.ru

The Journal is published with the support of the Russian Oncology Association

The Journal was founded in 2002

Subscription index in the Rospechat Agency Catalogue is 46827

Address of the Editorial Office:

Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences,

Editorial Board of Siberian Journal of Oncology

5, Kooperativny Street., 634009, Tomsk, Russia

tel.: +7 (3822) 51-32-69, (3822) 28-26-78

fax: +7 (3822) 28-26-86

E-mail: sjo@oncology.tomsk.ru,

AfanasyevSG@oncology.tomsk.ru

The journal was registered by the Federal Service for Supervision of Communications, Information Technology and Mass Media. Registration certificate: PI № 77-14937.

The journal has been included in the list of Russian peer-reviewed scientific journals, which publish major scientific results of dissertations for PhD degree.

The journal has been included in the Abstract Journal and VINITI databases, Ulrich's International Periodicals Directory, Scientific Electronic Library (elibrary.ru), Cyberleninka electronic library, and Directory of Open Access Journals (DOAJ). The journal is indexed in Russian Science Citation Index (RSCI) and SCOPUS

Editors: Sumarokova V.S., Lukina E.V.
Maker-up:



Signed for publication: 26.06.2019
Format: 60x84 1/8. Litho

Printing: 1000 copies
Printed by TSU press
66 Lenina Str., 634050, Tomsk, Russia

© Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences

SIBERIAN JOURNAL OF ONCOLOGY

SIBIRSKIY ONCOLOGICHESKIY ZHURNAL

SCIENTIFIC PRACTICAL JOURNAL
ISSUED ONCE IN TWO MONTHS

Vol. 18, № 3 2019

Editor-in-Chief :

E.L. Chohnzonov, MD, PhD, Professor, Member of the Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia)

Associate Editors:

V.E. Goldberg, MD, PhD, Professor (Tomsk, Russia)

N.V. Cherdyntseva, PhD, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia)

Executive Editors:

S.G. Afanasyev, MD, PhD, Professor (Tomsk, Russia)

I.V. Kondakova, MD, PhD, Professor (Tomsk, Russia)

Editorial Board:

L.A. Ashrafyan, MD, PhD, Professor, Member of the Russian Academy of Sciences (Moscow, Russia)

L.M. Bershtein, MD, PhD, Professor (St. Petersburg, Russia)

M.I. Davydov, MD, PhD, Professor, Member of the Russian Academy of Sciences (Moscow, Russia)

D.G. Zaridze, MD, PhD, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences (Moscow, Russia)

E.N. Imyaninov, MD, PhD, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences (St. Petersburg, Russia)

A.D. Kaprin, MD, PhD, Professor, Member of the Russian Academy of Sciences (Moscow, Russia)

L.A. Kolomiets, MD, PhD, Professor (Tomsk, Russia)

M.A. Krasilnikov, PhD, Professor (Moscow, Russia)

A.V. Lisitsa, PhD, Professor, Member of the Russian Academy of Sciences (Moscow, Russia)

N.V. Litvyakov, PhD, DSc (Tomsk, Russia)

L.N. Lyubchenko, MD, PhD, Professor (Moscow, Russia)

V.M. Moiseenko, MD, PhD, Professor (St. Petersburg, Russia)

S.A. Nekrylov, PhD, Professor (Tomsk, Russia)

V.A. Novikov, MD, PhD, DSc (Tomsk, Russia)

I.N. Odintsova, PhD, DSc (Tomsk, Russia)

V.M. Perelmutter, MD, PhD, Professor (Tomsk, Russia)

I.V. Reshetov, MD, PhD, Professor, Member of the Russian Academy of Sciences (Moscow, Russia)

E.M. Slonimskaya, MD, PhD, Professor (Tomsk, Russia)

V.V. Starinsky, MD, PhD, Professor (Moscow, Russia)

Zh.A. Startseva, MD, PhD, Professor (Tomsk, Russia)

V.A. Tkachuk, PhD, Professor, Member of the Russian Academy of Sciences (Moscow, Russia)

S.A. Tuzikov, MD, PhD, Professor (Tomsk, Russia)

S.A. Tyulyandin, MD, PhD, Professor (Moscow, Russia)

V.V. Udut, MD, PhD, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia)

I.G. Frolova, MD, PhD, Professor (Tomsk, Russia)

O.V. Cheremisina, MD, PhD, Professor (Tomsk, Russia)

E.R. Chnykh, MD, PhD, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences (Novosibirsk, Russia)

S. Iyer, Professor (India)

M. Dzhugashvili, MD, PhD (Spain)

V. Kesik, MD, PhD, Professor (Croatia)

Yu. Kzhyshkovska, Professor (Germany)

T. Kondo, Professor (Japan)

G. Margolin, Professor (Sweden)

L. Ungar, Professor (Hungary)

M. Freidin, PhD (United Kingdom)

Tak-Hong Cheung, MBBS, MD, Professor (Hong-Kong, China)

J. Shah, MS MD, F.A.C.S. (USA)

Ashok Shaha, MD, PhD, F.A.C.S. (New York, USA)

A. Yu, Professor (Taiwan)

СОДЕРЖАНИЕ

КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Лежнев Д.А., Васильев А.Ю., Егорова Е.А., Смысленова М.В., Трутень В.П., Петровская В.В., Громов А.И., Косташ О.В., Кабин Ю.В., Капустин В.В. Исследование периферических лимфатических узлов при онкологических заболеваниях головы и шеи с использованием эластографии сдвиговой волной	5
Добродеев А.Ю., Завьялов А.А., Тузиков С.А., Добнер С.Ю. Отдаленные результаты интраоперационной лучевой терапии при немелкоклеточном раке легкого	14
Расулов Р.И., Земко М.В., Шелехов А.В., Зубринский К.Г., Сонголов Г.И. Осложнения на этапе неoadъювантной терапии рака головки поджелудочной железы	20
Дмитриева Н.В., Эйдельштейн М.В., Агинова В.В., Григорьевская З.В., Петухова И.Н., Терещенко И.В., Багирова Н.С., Дьякова С.А., Калинин Т.А., Дмитриева А.И., Шек Е.А., Склеенова Е.Ю. Инфекции, вызванные <i>Acinetobacter baumannii</i> , у онкологических больных.....	26

ЛАБОРАТОРНЫЕ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Мацко М.В., Мацко Д.Е., Волков Н.М., Улитин А.Ю., Моисеенко В.М., Имянитов Е.Н., Иевлева А.Г. Морфологические и молекулярно-генетические особенности первичных глиобластом у пациентов с необычно высокой продолжительностью жизни	34
Лаврентьев С.Н., Аксененко М.Б., Аверчук А.С., Комина А.В., Палкина Н.В., Рукша Т.Г. Повышение уровня экспрессии miR-204-5p в клетках меланомы под воздействием дакарбазина	45
Рябая О.О., Прокофьева А.А., Хоченков Д.А., Акасов Р.А., Буров С.В., Марквичева Е.А., Степанова Е.В. Роль эпителиально-мезенхимального перехода и аутофагии в противоопухолевом ответе клеточных линий меланомы на таргетное ингибирование MEK и mTOR киназ	54
Ложкомоев А.С., Бакина О.В., Фоменко А.Н., Августиневич А.В., Афанасьев С.Г., Добродеев А.Ю., Спирина Л.В., Тарасова А.С., Урмонов У.Б. Применение наноструктурных оксидов для направленного изменения pH микроокружения опухолевых клеток	64
Ганцев Ш.Х., Татунов М.А., Ганцев К.Ш., Кзыргалин Ш.Р., Мухамедьяров Р.Ш. Микрохирургические методы исследования патологии лимфатической системы ex vivo при раке молочной железы	71

ОПЫТ РАБОТЫ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ УЧРЕЖДЕНИЙ

Абдуллаев А.Г., Давыдов М.М., Козлов Н.А. Проблема выбора тактики лечения при продолженном росте псевдомиксомы брюшины	78
Кит О.И., Розенко Л.Я., Франциянц Е.М., Гусарева М.А., Кошелева Н.Г., Солнцева А.А., Крохмаль Ю.Н. Способ лечения анального рака с переходом на кожу	84

ОБЗОРЫ

Малинина Н.А., Мазурчик Н.В., Тарасова О.И., Огурцов П.П. Эрадикация HCV-инфекции на стадии цирроза печени: фактор канцеропревенции или канцерогенеза?	90
Олькина А.Ю., Петров А.С., Панайотти Л.Л., Ланков Т.С., Карачун А.М. Современный взгляд на оптимальные способы подготовки толстой кишки перед плановыми колоректальными операциями ..	97

СЛУЧАЙ ИЗ КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКИ

Цыганов М.М., Тарабановская Н.А., Дерюшева И.В., Ибрагимова М.К., Казанцева П.В., Певзнер А.М., Слонимская Е.М., Литвяков Н.В. Ответ на неoadъювантную химиотерапию с включением препаратов платины у больной раком молочной железы с делецией гена <i>BRCA1</i> в опухоли	103
Адлейба С.Т., Когония Л.М., Гуревич Л.Е., Сидоров А.В. Клинический опыт эффективного использования таргетной терапии у пациентки с диссеминированной формой гастроинтестинальной стромальной опухоли	109

CONTENTS

CLINICAL STUDIES

Lezhnev D.A., Vasilyev A.Yu., Egorova E.A., Smyslenova M.V., Truten V.P., Petrovskaya V.V., Gromov A.I., Kostash O.V., Kabin Yu.V., Kapustin V.V. Examination of peripheral lymph nodes using shear wave elastography in patients with head and neck cancer	5
Dobrodeev A.Yu., Zavyalov A.A., Tuzikov S.A., Dobner S.Yu. Long-term outcomes of intraoperative radiation therapy for non-small cell lung cancer	14
Rasulov R.I., Zemko M.V., Shelekhov A.V., Zubrinckiy K.G., Songolov G.I. Complications of neoadjuvant therapy for cancer of the head of the pancreas	20
Dmitrieva N.V., Eidelshtein M.V., Aginova V.V., Grigorievskaya Z.V., Petukhova I.N., Tereshchenko I.V., Bagirova N.S., Dyakova S.A., Kalinchuk T.A., Dmitrieva A.I., Shek E.A., Skleenova E.Yu. Infections caused by <i>Acinetobacter baumannii</i> in cancer patients	26

LABORATORY AND EXPERIMENTAL STUDIES

Matsko M.V., Matsko D.E., Volkov N.M., Ulitin A.Yu., Moiseenko V.M., Imyanitov E.N., Iyevleva A.G. Morphologic and molecular features of primary glioblastoma in patients surviving more than 3 years	34
Lavrentiev S.N., Aksenenko M.B., Averchuk A.S., Komina A.V., Palkina N.V., Ruksha T.G. Increased level of miR-204-5p expression in melanoma cells under the influence of dacarbazine	45
Ryabaya O.O., Prokofieva A.A., Khochenkov D.A., Akasov R.A., Burov S.V., Markvicheva E.A., Stepanova E.V. The role of epithelial-to-mesenchymal transition and autophagy in antitumoral response of melanoma cell lines to target inhibition of mek and mTOR kinases	54
Lozhkomoev A.S., Bakina O.V., Fomenko A.N., Avgustinovich A.V., Afanasyev S.G., Dobrodeev A.Yu., Spirina L.V., Tarasova A.S., Urmonov U.B. The use of nanostructured metal oxides for directional pH changes of tumor cells microenvironment	64
Gantsev S.K., Tatunov M.A., Gantsev K.S., Kzyrgalin S.R., Mukhamedyarov R.S. Microsurgical methods of ex vivo examination of the lymphatic system in breast cancer patients	71

PRACTICE OF ONCOLOGY

Abdullaev A.G., Davydov M.M., Kozlov N.A. Challenges in choice of the treatment strategy for patients with recurrent pseudomyxoma peritonei	78
Kit O.I., Rozenko L.Ya., Frantsiyants E.M., Gusareva M.A., Kosheleva N.G., Solntseva A.A., Krokhmal Yu.N. Method of treatment for anal cancer affecting the skin	84

REVIEWS

Malinina N.A., Mazurchik N.V., Tarasova O.I., Ogurtsov P.P. Eradication of HCV infection in patients with liver cirrhosis: factor of cancer prevention or carcinogenesis?	90
Olkina A.Yu., Petrov A.S., Panaiotti L.L., Lankov T.S., Karachun A.M. Modern view on different kinds of bowel preparation for elective colorectal surgery	97

CASE REPORTS

Tsyganov M.M., Tarabanovskaya N.A., Deryusheva I.V., Ibragimova M.K., Kazantseva P.V., Pevzner A.M., Slonimskaya E.M., Litviakov N.V. Response to neoadjuvant chemotherapy with platinum-based drugs in breast cancer patients with <i>BRCA1</i> deletion in tumor	103
Adlejba S.T., Kogonija L.M., Gurevich L.E., Sidorov A.V. Clinical experience in using targeted therapy for disseminated gastrointestinal stromal tumors	109

DOI: 10.21294/1814-4861-2019-18-3-5-13
УДК: 617.51/617.53-006-033.2:611-018.98]-073.48

Для цитирования: Лежнев Д.А., Васильев А.Ю., Егорова Е.А., Смысленова М.В., Трутень В.П., Петровская В.В., Громов А.И., Косташ О.В., Кабин Ю.В., Капустин В.В. Исследование периферических лимфатических узлов при онкологических заболеваниях головы и шеи с использованием эластографии сдвиговой волной. Сибирский онкологический журнал. 2019; 18(3): 5–13. – doi: 10.21294/1814-4861-2019-18-3-5-13.

For citation: Lezhnev D.A., Vasilyev A.Yu., Egorova E.A., Smyslenova M.V., Truten V.P., Petrovskaya V.V., Gromov A.I., Kostash O.V., Kabin Yu.V., Kapustin V.V. Examination of peripheral lymph nodes using shear wave elastography in patients with head and neck cancer. Siberian Journal of Oncology. 2019; 18(3): 5–13. – doi: 10.21294/1814-4861-2019-18-3-5-13.

ИССЛЕДОВАНИЕ ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛОВ ПРИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ГОЛОВЫ И ШЕИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЭЛАСТОГРАФИИ СДВИГОВОЙ ВОЛНОЙ

**Д.А. Лежнев¹, А.Ю. Васильев¹, Е.А. Егорова¹, М.В. Смысленова¹,
В.П. Трутень¹, В.В. Петровская¹, А.И. Громов¹, О.В. Косташ²,
Ю.В. Кабин², В.В. Капустин²**

Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова,
г. Москва, Россия¹

Россия, г. Москва, 127473, ул. Делегатская, 20/1¹

ГБУЗ города Москвы «Московская городская онкологическая больница № 62

Департамента здравоохранения города Москвы», г. Москва, Россия²

Россия, Московская область, Красногорский район, 143423, п/о Степановское, п. Истра, 27.

E-mail: kostash2012@yandex.ru²

Аннотация

С декабря по сентябрь 2018 г. проведены ультразвуковые исследования 123 пациентам с опухолями головы и шеи в возрасте 19–76 лет (медиана – 57 лет). У всех пациентов заподозрены метастатические изменения в лимфоузлах различной локализации. В каждом случае была выполнена тонкоигльная аспирационная биопсия до начала лечения. Исследования проводились на аппарате Aplio 500 (Toshiba, Япония) линейным датчиком 7–18 МГц. По данным цитологического исследования пункционного материала пациенты были разделены на две группы. Первую группу составили 58 человек с цитологически подтвержденным метастатическим поражением лимфатических узлов. Во вторую группу вошли 65 пациентов, у которых выявлена гиперплазия лимфоидно-ретикулярной ткани. Значения модуля Юнга для метастатически измененных лимфоузлов составили: медиана – 134,2 кПа, 2,5–97,5 процентиля – 7,3–181,7 кПа, для гиперплазированных лимфатических узлов: 20,1 кПа, 6,9–138,3 кПа соответственно. Таким образом, выявлены значимые различия в значениях модуля Юнга между метастатически измененными и гиперплазированными лимфатическими узлами у пациентов со злокачественными опухолями органов головы и шеи ($p < 0,001$). Наилучшие показатели диагностической информативности для выявления метастатического поражения исследуемых лимфоузлов при опухолях органов головы и шеи достигнуты при пороговом значении модуля Юнга 33,2 кПа (чувствительность – 89,7 %, специфичность – 84,6 %), AUC – 0,899. При этом показатели значений модуля Юнга в метастатических узлах не зависели от первичной опухоли и от локализации лимфатических узлов (подчелюстные, паратрахеальные, шейные, надключичные группы).

Ключевые слова: ультразвуковая эластография, эластография сдвиговой волной, лимфатические узлы, модуль Юнга, скорость сдвиговой волны, метастазы.

EXAMINATION OF PERIPHERAL LYMPH NODES USING SHEAR WAVE ELASTOGRAPHY IN PATIENTS WITH HEAD AND NECK CANCER

D.A. Lezhnev¹, A.Yu. Vasilyev¹, E.A. Egorova¹, M.V. Smyslenova¹, V.P. Truten¹, V.V. Petrovskaya¹, A.I. Gromov¹, O.V. Kostash², Yu.V. Kabin², V.V. Kapustin²

Moscow State University of Medicine and Dentistry named after Evdokimov, Moscow, Russia¹

20/1, Delegatskaya Street, 127473-Moscow, Russia¹

Moscow Municipal Cancer Hospital №62, Moscow, Russia²

27, Istra, 143423-Krasnogorsk district, Moscow region, Russia. E-mail: kostash2012@yandex.ru²

Abstract

Between December and September 2018 123 patients with head and neck tumors underwent ultrasound examination. The median age of the patients was 57 years (range 19–76 years). Metastatic lymph nodes were suspected in all patients. A fine needle aspiration biopsy was performed prior to treatment. Aplio 500 (Toshiba, Japan) ultrasound device was used. According to findings of cytological examination, all patients were divided into 2 groups. Group I consisted of 58 patients with cytologically confirmed metastatic lymph nodes. Group II comprised 65 patients with lymphoid reticular hyperplasia. The values of Young's modulus for metastatic lymph nodes were: median – 134.2 kPa, 2.5–97.5 percentiles – 7.3–181.7 kPa. The corresponding values for hyperplastic lymph nodes were: 20.1 kPa, 6.9–138.3 kPa. Thus, significant differences in the values of Young's modulus between metastatic and hyperplastic lymph nodes were detected in patients with head and neck cancer ($p < 0.001$). The best diagnostic values for detecting metastatic lymph nodes in patients with head and neck cancer were achieved with a threshold value of the Young's modulus of 33.2 kPa (sensitivity – 89.7 %, specificity – 84.6 %), AUC – 0.899. The values of the Young's modulus in the metastatic lymph nodes did not depend on the primary tumor and on the localization of the lymph nodes studied (submandibular, paratracheal, cervical, supraclavicular groups).

Key words: ultrasound elastography, shear wave elastography, lymph nodes, Young's modulus, shear wave velocity, metastases.

Введение

Роль ультразвукового исследования в диагностике поражения лимфатических узлов общеизвестна. Оно позволяет визуализировать минимальные изменения в лимфатическом узле при его метастатической трансформации. Для верификации метастатического поражения лимфатических узлов в основном используется тонкоигольная аспирационная пункционная биопсия (ТАПБ). Эластография – перспективная технология ультразвуковой диагностики, позволяющая с помощью цветовой карты эластичности тканей, которая накладывается на стандартное серошкальное изображение, визуализировать в режиме реального времени различные по своей жесткости объекты. Большинство злокачественных образований имеют более жесткую структуру, чем окружающие ткани [1]. Современная эластография представлена двумя основными методами: компрессионной эластографией и эластографией сдвиговой волной (ЭСВ), которая имеет следующие преимущества перед компрессионной эластографией: меньшая степень операторозависимости; возможность получения количественных показателей; повторяемость результатов; более высокая диагностическая эффективность.

В связи с этим ЭСВ получила широкое распространение как дополнительный способ

получения диагностической информации. В ее основе лежит генерация основным ультразвуковым лучом поперечных сдвиговых волн, что позволяет оценивать свойства тканей в абсолютных величинах: модуль Юнга (кПа) и скорость сдвиговых волн (м/с). Эластичность тканей оценивается с помощью различных показателей, в том числе с помощью коэффициента, который называется модулем упругости (модулем Юнга) [2]. Эластография сдвиговой волной базируется на втором уравнении модуля Юнга:

$$E \approx 3\rho c_s^2,$$

где E – модуль Юнга (кПа), c_s – скорость сдвиговой волны (м/с), ρ – плотность ткани ($\approx 1000 \text{ кг/м}^3$) [3].

В литературе встречаются работы, посвященные диагностике рака молочной железы [4–6], щитовидной железы [7–9], предстательной железы [10], яичка [11] с помощью методики ЭСВ. Кроме того, изучается возможность применения ЭСВ для распознавания метастатического поражения периферических лимфатических узлов (ЛУ) при опухолях различных локализаций. Наибольшее внимание уделено применению ЭСВ для диагностики изменений в регионарных ЛУ при раке щитовидной железы [12–17], а

также подмышечных ЛУ при раке молочной железы [18–21]. Все авторы отмечают значимое различие жесткости тканей при злокачественном и доброкачественном характере изменений в ЛУ.

При опухолях головы и шеи состояние шейных ЛУ имеет большое значение для прогноза заболевания, выбора вариантов лечения [22]. Ультразвуковое исследование используется как рутинный метод при всех метастазирующих опухолях органов головы и шеи. Оно позволяет визуализировать злокачественные новообразования (ЗНО) уже на первых этапах диагностики, в условиях поликлиники. Особую значимость УЗИ имеет в диагностике опухолевых образований в толще мягких тканей лица и на шее, что позволяет заподозрить метастатическое поражение даже в непальпируемых лимфатических узлах.

Применению эластографии сдвиговой волной для диагностики метастатического поражения лимфатических узлов при злокачественных опухолях головы и шеи посвящены немногочисленные работы зарубежных авторов [23–25]. В представленном исследовании ЭВС применялась при других, не менее распространенных онкологических заболеваниях головы и шеи, таких как рак полости рта, опухоли языка, рак небных миндалин, рак губы, рак гортани и злокачественные опухоли придаточных пазух носа. Всем этим опухолям свойственно довольно быстрое распространение в лимфоузлы зон регионарного лимфооттока.

Цель исследования – оценка диагностической эффективности эластографии сдвиговой волной в распознавании метастатического поражения лимфатических узлов при опухолях головы и шеи; выявление зависимости показателей жесткости лимфатических узлов от их локализации при различных опухолях головы и шеи; сравнительный

анализ показателей жесткости метастатически измененных лимфоузлов различных локализаций.

Материал и методы

Проведены ультразвуковые исследования 123 пациентам с опухолями головы и шеи в возрасте 19–76 лет (медиана возраста – 57 лет). У всех пациентов заподозрены метастатические изменения в лимфоузлах различной локализации. В каждом случае была выполнена тонкоигольная аспирационная биопсия до начала лечения.

Ультразвуковые исследования проводились на аппарате Aplio 500 (Toshiba, Япония) линейным датчиком 7–18 МГц. Комплексное УЗИ включало в себя 3 этапа: 1 – ультразвуковое исследование зон лимфооттока в В-режиме; 2 – эластография сдвиговой волной; 3 – прицельная пункция выбранного ЛУ под УЗ-наведением. В В-режиме выявляли наиболее подозрительный в отношении метастатического поражения лимфоузел: снижение эхогенности, преобладание округлой формы, неоднородная структура исследуемого ЛУ, область ворот либо не дифференцируется, либо резко сужена. В доплеровских режимах в пораженных ЛУ определялся нерегулярный (смешанный) тип кровотока с повышенной васкуляризацией как в центре, так и по его периферии.

На втором этапе в режиме реального времени выполнялось эластографическое картирование лимфатического узла и окружающих его тканей. Формирование изображения эластограммы состоит из двух этапов: эластографическое исследование – получение цветного изображения (эластографическое картирование); визуальный анализ эластограммы.

Для получения качественного изображения необходимо соблюдение следующих условий:

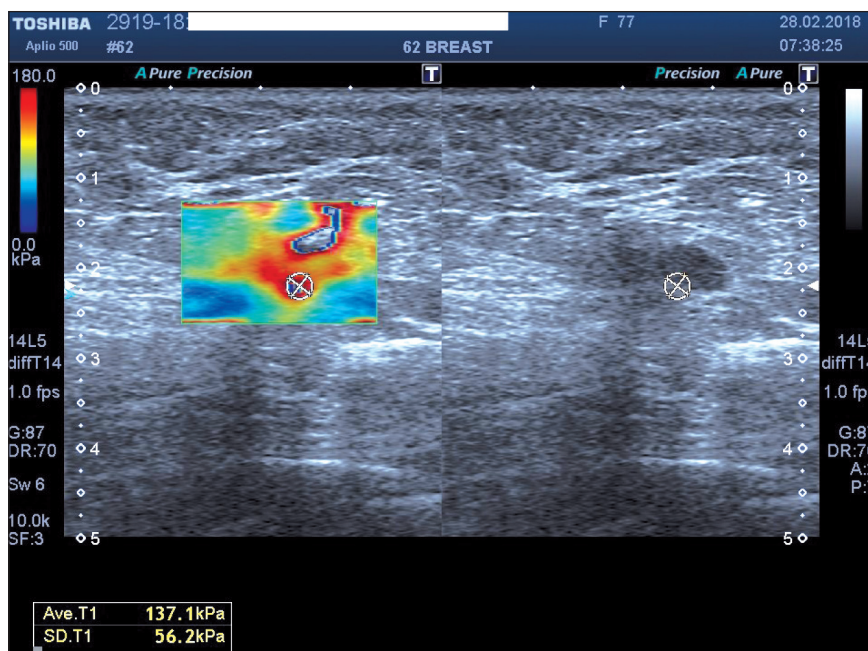


Рис. 1. Эхограмма шейного лимфоузла с метастатическим поражением при раке языка. При эластографии сдвиговой волной в тканях лимфатического узла определяется зона высокой жесткости (картируется оттенками красного цвета). Значение модуля Юнга – 137,1 кПа

уверенная фиксация неподвижного датчика над зоной интереса; минимальное давление на ткани датчиком; минимизация подвижности тканей в зоне проведения эластографического исследования (глотание, дыхание пациента во время проведения исследования). Размеры «зоны интереса» для получения качественного картирования не должны быть большими (рис. 1–3), необходимо добиться равномерного прокрашивания.

По выполнении данных условий эластографическое изображение фиксируется (“freeze”) для проведения количественного анализа. Визуальная оценка жесткости лимфатических узлов производилась в пределах области эластографического картирования «цветового окна». По цветовому

картированию изменения подразделяли на два типа. Первый тип характеризовался наличием в структуре лимфатического узла участков высокой жесткости, прокрашиваемых оранжевым, красным или бордовым цветами. При втором типе окрашивание ткани лимфатического узла не отличалось от окружающих тканей (оттенки синего цвета) или содержались небольшие участки незначительно повышенной жесткости, прокрашиваемые оттенками зеленого или желтого цветов.

Затем в лимфатических узлах проводили измерение модуля Юнга (кПа) в области с наибольшей жесткостью, которая выбиралась при визуальной оценке эластографической картины. Размер зоны интереса – 3–5 мм. Количественное значение

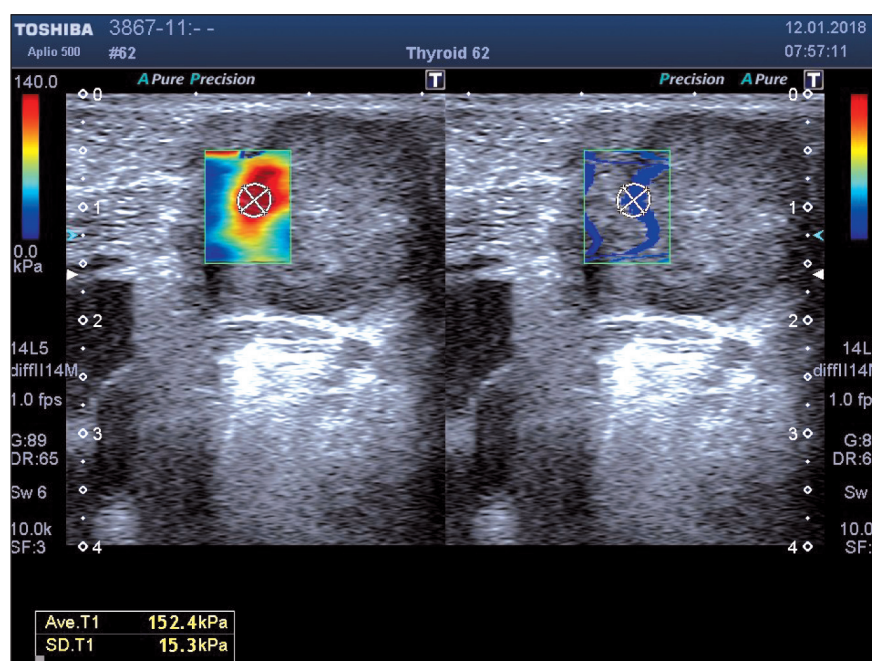


Рис. 2. Эхограмма шейного лимфатического узла с метастатическим поражением при раке гортани. При эластографии сдвиговой волной в тканях лимфатического узла определяется зона высокой жесткости (картируется оттенками красного цвета). Первый тип цветового картирования

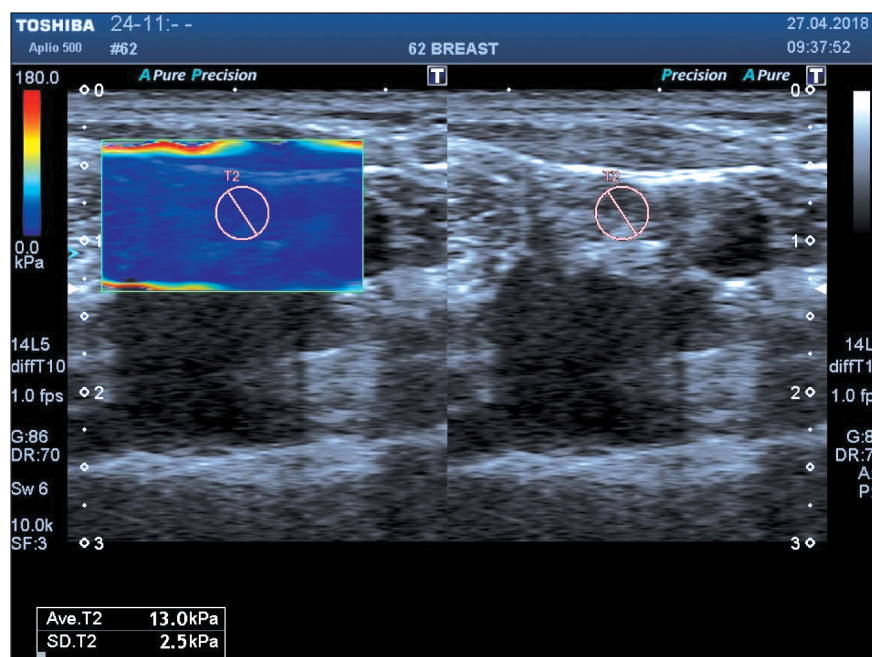


Рис. 3. Эхограмма шейного лимфатического узла с гиперплазией лимфоидно-ретикулярной ткани при цитологически верифицированном раке дна полости рта. При эластографии сдвиговой волной ткани лимфатического узла картируются синим цветом. Второй тип картирования

Таблица 1

Количество гиперплазированных и метастатически измененных лимфоузлов в сравниваемых группах

Результаты цитологического исследования	Первичный диагноз					
	Опухоли носа и носовых пазух	Рак миндалин	Рак гортани	Рак дна полости рта	Рак языка	Рак губы
Гиперплазия лимфоидно-ретикулярной ткани	2 (3 %)	14 (21,5 %)	19 (29,2 %)	13 (25 %)	1 (1,5 %)	16 (24,6 %)
Метастатические изменения ЛУ	15 (25,9 %)	-	-	10 (17,2 %)	12 (20,7 %)	21 (36,2 %)

Таблица 2

Качественная характеристика эластографических свойств лимфатических узлов в сравниваемых группах

Типы цветового картирования	Первая группа (метастатическое поражение лимфатических узлов, n=58)	Вторая группа (гиперплазия ЛУ, n=65)
	Первый тип	10 (15,4 %)
	Второй тип	55 (84,6 %)

Таблица 3

Статистические характеристики количественного показателя эластографических свойств лимфатических узлов в сравниваемых группах

Показатель	Первая группа (метастатическое поражение ЛУ, n=58)			Вторая группа (гиперплазия ЛУ, n=65)		
	Медиана	2,5–97,5-й процентиля	Минимальные-максимальные значения	Медиана	2,5–97,5-й процентиля	Минимальные-максимальные значения
Модуль Юнга, кПа	134,1	7,3–181,7	6,3–184,0	20,1	6,9–138,3	5,3–165,5

для выбранной зоны интереса автоматически отображалось на экране. Измерения проводились трехкратно, для статистического анализа использовалось максимальное значение модуля Юнга. На завершающем этапе исследования выполняли ТАПБ из максимально ригидного участка лимфатического узла под УЗ-контролем.

Больные были разделены на две группы: 58 пациентов с метастазами в регионарные лимфатические узлы и 65 – с гиперплазией лимфоидно-ретикулярной ткани. С учетом первичного диагноза были выделены 6 подгрупп пациентов (табл. 1).

Для проведения статистического анализа использовались стандартные методы (SPSS Statistics). Поскольку распределение количественных эластографических показателей в исследовании считали отличным от нормального, то для их описания применяли следующие непараметрические статистические характеристики (медиану, минимальное – максимальное значения, 2,5–97,5-й процентиля). Для сравнения двух групп использовали критерий Манна – Уитни. Различия между

группами сравнения считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Диагностическую эффективность количественных показателей оценивали при помощи ROC-анализа с определением площади под кривой (AUC).

Результаты и обсуждение

При анализе цветового эластографического картирования ткани лимфатических узлов (табл. 2) у 84,5 % пациентов первой группы с метастатическим поражением лимфатических узлов наблюдался первый тип окрашивания (рис. 2). У 84,6 % пациентов второй группы с гиперплазированными лимфатическими узлами наблюдался второй тип окрашивания (рис. 3). Различия между группами достоверны ($p < 0,001$). Количественная оценка жесткости лимфатических узлов отражена в табл. 3. Сравнение анализируемых групп показало значимые различия между ними по значениям модуля Юнга ($p < 0,001$).

ROC-анализ продемонстрировал высокую эффективность эластографии сдвиговой волной в выявлении патологических шейных лимфа-

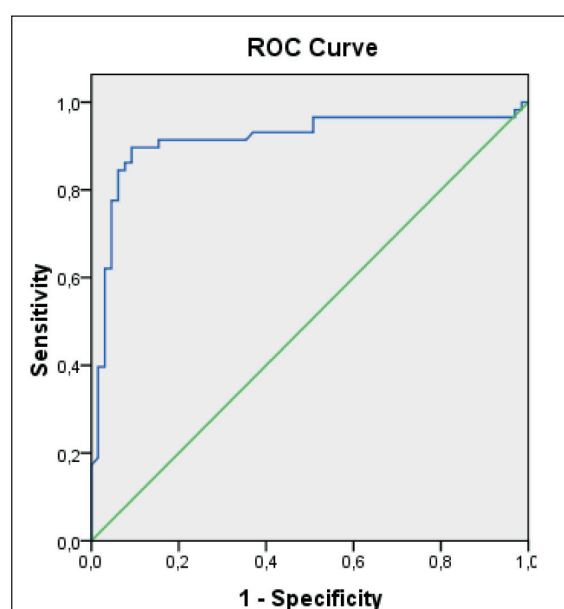


Рис. 4. ROC-кривая теста «модуль Юнга $\geq 33,2$ кПа – метастатическое поражение шейных лимфатических узлов»

тических узлов высоким показателем AUC для модуля Юнга (0,899) (рис. 4). При пороговом значении модуля Юнга тканей исследованных лимфатических узлов 33,2 кПа чувствительность составила 89,7 %, специфичность – 84,6 %.

При анализе данных зарубежной литературы по использованию эластографии сдвиговой волны

для выявления метастатически измененных лимфатических узлов различной локализации обращает на себя внимание заметный разброс значений модуля Юнга (табл. 4). Следует отметить, что сравнивались показатели модуля Юнга для лимфатических узлов различных локализаций, при различных первичных опухолях, исследования выполнялись на УЗ-сканерах различных фирм-производителей. В нашей работе все исследования проводились на одном аппарате с использованием единой методики, как уже упоминалось, исследования проводились трехкратно и сравнивались максимальные показатели модуля Юнга. В исследовании You et al. [13] сравнивали ригидность патологических и гиперплазированных лимфатических узлов шеи при заболеваниях щитовидной железы. Измерения проводились трехкратно и для сравнения использовались средние значения модуля Юнга. Azizi et al. [15] проводили сравнение жесткости метастатических и гиперплазированных ЛУ, но первичные диагнозы у пациентов были разные (лимфома, плоскоклеточный рак, лейкоциты и рак предстательной железы).

Мы провели сравнительную оценку количественных показателей жесткости (в кПа) гиперплазированных и метастатических лимфатических узлов по нозологиям (табл. 5). Однако из-за недостаточного количества исследований полученные результаты нельзя считать окончательными. При сравнении показателей модуля Юнга метастатически измененных лимфоузлов с

Таблица 4

Сравнительный анализ количественных показателей эластографии сдвиговой волной для лимфатических узлов различной локализации

Авторы	Локализация ЛУ	Вид ЭВС, ультразвуковой аппарат, производитель	Модуль Юнга (кПа) или скорость сдвиговых волн (м/с)		Чувствительность	Специфичность	AUC	Пороговое значение
			Доброкачественные изменения	Злокачественные изменения				
Kim et al. (2018) [17]	Шея	ЭВС, SuperSonic Imagine, Aix-en-Provence, France	11,8 кПа	37,1 кПа	83,3 %	96,8 %	0,933	37,5 кПа
Desmots et al. (2016) [21]	Шея	ЭВС, Aixplorer, SuperSonic Imagine, France	23 ± 25 кПа	72 ± 59 кПа	87 %	88 %	0,903	31 кПа
Choi et al. (2013) [23]	Шея	ЭВС, Aixplorer, SuperSonic Imagine, France	$14,22 \pm 4,19$ кПа	$41,06 \pm 36,3$ кПа	91 %	97 %	0,960	19,44 кПа
You et al. (2017) [13]	Шея	ЭВС, Aixplorer US, SuperSonic Imagine, France	$23,5 \pm 12,6$ кПа	$58,7 \pm 25,7$ кПа	80 %	93,4 %	0,918	40,2 кПа
Azizi et al. (2016) [15]	Шея	ЭВС, Siemens ACUSON S3000US)	$2,71 \pm 0,65$ м/с	$3,96 \pm 0,96$ м/с	92,59 %	75,46 %	0,88	2,93 м/с
Cheng et al. (2016) [16]	Шея	ЭВС	$2,71 \pm 0,85$ м/с	$4,46 \pm 1,46$ м/с	78,9 %	74,4 %	0,855	3,34 м/с

Таблица 5

Статистические характеристики количественного показателя эластографических свойств метастатически измененных лимфатических узлов в зависимости от первичного диагноза

Диагноз	Заболевания носа и носовых пазух (n=15)	Рак губы (n=21)	Рак дна полости рта (n=10)	Рак языка (n=12)
Модуль Юнга, кПа	22,2–177,6	35,8–168,0	42,8–167,8	62,0–184,0

Таблица 6

Сравнительный анализ количественных показателей эластографических свойств лимфатических узлов при опухолях головы и шеи, раке молочной железы и меланоме кожи

Показатель	Метастатическое поражение ЛУ при раке молочной железы (n=33)			Метастатическое поражение ЛУ при меланоме кожи (n=11)			Метастатическое поражение ЛУ при опухолях головы и шеи (n=58)		
	Медиана	2,5–97,5-й проценты	Мин.-максим. значения	Медиана	2,5–97,5-й проценты	Мин.-максим. значения	Медиана	2,5–97,5-й проценты	Мин.-максим. значения
Модуль Юнга, кПа	91,7	14,0–150,0	14,0–150,0	101,8	14,0–164,5	14,0–164,5	134,1	7,3–181,7	6,3–184,0

учетом первичного диагноза отмечается разброс показателей жесткости от 22,2 кПа до 184,0 кПа. Различия в значениях модуля Юнга обусловлены, вероятно, техническими погрешностями в измерениях эластичности ЛУ и окружающих их тканей (близкое расположение крупных сосудистых пучков, костных структур, различная выраженность подкожно-жировой клетчатки). Наиболее близкие к нашим результатам пороговые значения жесткости представлены в исследованиях Kim et al. [17] – 37,5 кПа и Desmots et al. [22] – 31,0 кПа. При этом показатели диагностической чувствительности и специфичности также оказались схожими: в нашем исследовании – 89,7 % и 84,6 %; у зарубежных авторов – 83,3 %, 96,8 % и 87 %, 88 % соответственно.

Анализ данных показателей жесткости, полученных нами при исследовании патологических ЛУ у больных опухолями головы и шеи, не выявил значимых различий ($p>0,05$), что позволяет использовать эластографию как дополнительный метод исследования, не ориентируясь на локализацию первичного очага (табл. 5). Кроме того, нами был проведен сравнительный анализ значений модуля Юнга у больных с ЗНО ЛОР-органов, с метастатическим поражением подмышечных ЛУ при раке молочной железы и метастазами в лимфоузлы у больных с меланомой кожи (табл. 6). Значимых различий показателей модуля Юнга метастатически измененных ЛУ при различных заболеваниях не выявлено ($p=0,05$).

Если сравнивать данные, ранее полученные нами при исследовании подмышечных лимфатических узлов при раке молочной железы [21], лимфоузлов различной локализации при мела-

номе кожи [26] и лимфоузлов при заболеваниях головы и шеи, можно выявить более высокие показатели чувствительности при исследовании шейных лимфоузлов – 89,7 %, для подмышечных лимфатических узлов при раке молочной железы этот показатель составил 85,0 %, для лимфатических узлов при меланоме кожи – 86 %. Несколько разнятся показатели специфичности: для шейных лимфоузлов этот показатель составил 84,6 %, для подмышечных лимфатических узлов – 82 %, для ЛУ при меланоме кожи – 77 %.

Выводы

Проведенное исследование выявило значимые различия ($p<0,001$) в значениях модуля Юнга метастатически измененных и гиперплазированных лимфатических узлов у пациентов с опухолями головы и шеи. При этом наилучшие показатели диагностической эффективности в выявлении метастатического поражения лимфоузлов были достигнуты при пороговом значении модуля Юнга 33,2 кПа (чувствительность – 89,7 %, специфичность – 84,6 %), площадь под кривой (AUC) составила 0,899. Показатели модуля Юнга метастатических лимфатических узлов не зависят от их локализации и первичного диагноза. Это позволяет использовать эластографию сдвиговой волны как дополнительную диагностическую технологию для выявления метастатического поражения периферических лимфоузлов. Зону повышенной жесткости в ткани исследуемого лимфатического узла следует рассматривать как мишень для прицельной тонкоигольной аспирационной биопсии под ультразвуковым наведением.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Denis M., Bayat M., Mehrmohammadi M., Gregory A., Song P., Whaley D.H., Pruthi S., Chen S., Fatemi M., Alizad A. Update on breast cancer detection using comb-push ultrasound shear elastography. *IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control*. 2015 Sep; 62(9): 1644–50.
2. Осинов Л.В. Технологии эластографии в ультразвуковой диагностике. Медицинский алфавит. 2013; 3–4(23): 2–21. [Osipov L.V. Elastography technologies in ultrasound diagnostics. *Medical alphabet*. 2013; 3 4(23): 2–21. (in Russian)].
3. Митьков В.В., Митькова М.Д. Ультразвуковая эластография сдвиговой волной. Ультразвуковая и функциональная диагностика. 2015; 2: 94–108. [Mitkov V.V., Mitkova M.D. Ultrasound Shear Wave Elastography. *Journal of Ultrasound and Functional Diagnostics*. 2015; 2: 94–108. (in Russian)].
4. Bayat M., Denis M., Gregory A., Mehrmohammadi M., Kumar V., Meixner D., Fazio R.T., Fatemi M., Alizad A. Diagnostic features of quantitative comb-push shear elastography for breast lesion differentiation. *PLoS One*. 2017 Mar 3; 12(3): e0172801. doi: 10.1371/journal.pone.0172801.
5. Kim J.Y., Shin J.K., Lee S.H. The Breast Tumor Strain Ratio Is a Predictive Parameter for Axillary Lymph Node Metastasis in Patients With Invasive Breast Cancer. *AJR*. 2015 Dec; 205(6): W630–8. doi: 10.2214/AJR.14.14269.
6. Youk J.H., Son E.J., Han K., Gweon H.M., Kim J.A. Performance of shear-wave elastography for breast masses using different region-of-interest (ROI) settings. *Acta Radiol*. 2018 Jul; 59(7): 789–797. doi: 10.1177/0284185117735562.
7. Wang F., Chang C., Chen M., Gao Y., Chen Y.L., Zhou S.C., Li J.W., Zhi W.X. Does Lesion Size Affect the Value of Shear Wave Elastography for Differentiating Between Benign and Malignant Thyroid Nodules? *J Ultrasound Med*. 2018 Mar; 37(3): 601–609. doi: 10.1002/jum.14367.
8. Tian W., Hao S., Gao B., Jiang Y., Zhang S., Guo L., Luo D. Comparison of Diagnostic Accuracy of Real-Time Elastography and Shear Wave Elastography in Differentiation Malignant From Benign Thyroid Nodules. *Medicine (Baltimore)*. 2015 Dec; 94(52): e2312. doi: 10.1097/MD.0000000000002312.
9. Chang N., Zhang X., Wan W., Zhang C., Zhang X. The Preciseness in Diagnosing Thyroid Malignant Nodules Using Shear-Wave Elastography. *Med Sci Monit*. 2018 Feb 2; 24: 671677.
10. Митьков В.В., Васильева А.К., Митькова М.Д. Ультразвуковая эластография сдвиговой волны у больных с подозрением на рак предстательной железы. Ультразвуковая и функциональная диагностика. 2012; 5: 18–29. [Mitkov V.V., Vasileva A.K., Mitkova M.D. Shear Wave Ultrasound Elastography in Prostate Cancer Diagnosis. *Journal of Ultrasound and Functional Diagnostics*. 2012; 5: 18–29. (in Russian)].
11. Митьков В.В., Гогаева И.М., Митькова М.Д., Колесников Г.П., Васильева А.К., Кадрев А.В., Рязанцев А.А. Ультразвуковая эластография сдвиговой волной в характеристике рака яичка. Ультразвуковая и функциональная диагностика. 2017; 5: 13–24. [Mitkov V.V., Gogaeva I.M., Mitkova M.D., Kolesnikov G.P., Vasileva A.K., Kadrev A.V., Ryazantsev A.A. Ultrasound shear wave elastography in testicular cancer characterization. *Journal of Ultrasound and Functional Diagnostics*. 2017; 5: 13–24. (in Russian)].
12. Park A.Y., Kim J.A., Son E.J., Youk J.H. Shear-wave elastography for papillary thyroid carcinoma can improve prediction of cervical lymph node metastasis. *Ann Surg Oncol*. 2016 Dec; 23(Suppl 5): 722–729. doi: 10.1245/s10434-016-5572-x.
13. You J., Chen J., Xiang F., Song Y., Khamis S., Lu C., Lv Q., Zhang Y., Xie M. The value of quantitative shear wave elastography in differentiating the cervical lymph nodes in patients with thyroid nodules. *J Med Ultrason* (2001). 2018 Apr; 45(2): 251–259. doi: 10.1007/s10396-017-0819-0.
14. Chen B.B., Li J., Guan Y., Xiao W.W., Zhao C., Lu T.X., Han F. The value of shear wave elastography in predicting for undiagnosed small cervical lymph node metastasis in nasopharyngeal carcinoma: A preliminary study. *Eur J Radiol*. 2018 Jun; 103: 19–24. doi: 10.1016/j.ejrad.2018.03.006.
15. Azizi G., Keller J.M., Mayo M.L., Piper K., Puett D., Earp K.M., Malchoff C.D. Shear wave elastography cervical lymph nodes: predicting malignancy. *Ultrasound Med Biol*. 2016 Jun; 42(6): 1273–81. doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2016.01.012.
16. Cheng K.L., Choi Y.J., Shim W.H., Lee J.H., Baek J.H. Virtual Touch Tissue Imaging Quantification Shear Wave Elastography: Prospective Assessment of Cervical Lymph Nodes. *Ultrasound Med Biol*. 2016 Feb; 42(2): 378–86. doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2015.10.003.
17. Kim H.J., Choi I.H., Jin S.Y., Park H.K., Byun D.W., Suh K., Yoo M.H. Efficacy of Shear-Wave Elastography for Detecting Postoperative Cervical Lymph Node Metastasis in Papillary Thyroid Carcinoma. *Int J Endocrinol*. 2018 Sep 4; 2018: 9382649. doi: 10.1155/2018/9382649.
18. Evans A., Rauchhaus P., Whelehan P., Thomson K., Purdie C.A., Jordan L.B., Michie C.O., Thompson A., Vinnicombe S. Does shear wave ultrasound independently predict axillary lymph node metastasis in women with invasive breast cancer? *Breast Cancer Res Treat*. 2014 Jan; 143(1): 153–7. doi: 10.1007/s10549-013-2747-z.
19. Seo M., Sohn Y.M. Differentiation of benign and metastatic axillary lymph nodes in breast cancer: different value of shear wave elastography to B-mode ultrasound. *Clin Imaging*. 2018 Jul/Aug; 50: 258263. doi: 10.1016/j.clinimag.2018.04.013.
20. Tamaki K., Tamaki N., Kamada Y., Uehara K., Miyashita M., Sm Chan M., Ishida T., Ohuchi N., Sasano H. Non-invasive evaluation of axillary lymph node status in breast cancer patients using shear wave elastography. *Tohoku J Exp Med*. 2013 Nov; 231(3): 211–6.
21. Косташ О.В., Кабин Ю.В., Сметов Н.А., Капустин В.В., Громов А.И. Эластография сдвиговой волной в распознавании метастатического поражения подмышечных лимфатических узлов при раке молочной железы. Ультразвуковая и функциональная диагностика. 2017; 3: 22–31. [Kostash O.V., Kabin Yu.V., Smetkhov N.A., Kapustin V.V., Gromov A.I. Shear wave elastography in recognition of metastatic axillary lymph nodes in women with breast cancer. *Journal of Ultrasound and Functional Diagnostics*. 2017; 3: 22–31. (in Russian)].
22. Desmots F., Fakhry N., Mancini J., Reyre A., Vidal V., Jacquier A., Santini L., Moulin G., Varoquaux A. Shear wave elastography in head and neck lymph node assessment: image quality and diagnostic impact compared with B-mode and Doppler ultrasonography. *Ultrasound Med Biol*. 2016 Feb; 42(2): 387–98. doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2015.10.019.
23. Choi Y.J., Lee J.H., Lim H.K., Kim S.Y., Han M.W., Cho K.J., Baek J.H. Quantitative shear wave elastography in the evaluation of metastatic cervical lymph nodes. *Ultrasound Med Biol*. 2013 Jun; 39(6): 935–40. doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2012.12.009.
24. Fujiwara T., Tomokuni J., Iwanaga K., Ooba S., Haji T. Acoustic radiation force impulse imaging for reactive and malignant/metastatic cervical lymph nodes. *Ultrasound Med Biol*. 2013 Jul; 39(7): 1178–83. doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2013.02.001.
25. Meng W., Xing P., Chen Q., Wu C. Initial experience of acoustic radiation force impulse ultrasound imaging of cervical lymph nodes. *Eur J Radiol*. 2013 Oct; 82(10): 1788–92. doi: 10.1016/j.ejrad.2013.05.039.
26. Косташ О.В., Кабин Ю.В., Сметов Н.А., Капустин В.В., Громов А.И. Метастатическое поражение периферических лимфатических узлов при злокачественной меланоме кожи: роль эластографии сдвиговой волной. Ультразвуковая и функциональная диагностика. 2017; 6: 25–35. [Kostash O.V., Kabin Yu.V., Smetkhov N.A., Kapustin V.V., Gromov A.I. Metastatic peripheral lymph nodes in cutaneous malignant melanoma: role of shear wave elastography. 2017; 6: 25–35. (in Russian)].

Поступила/Received 02.10.18
Принята в печать/Accepted 04.02.19

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Лежнев Дмитрий Анатольевич, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой лучевой диагностики, Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова (г. Москва, Россия). SPIN-код: 6648-9613. Researcher ID (WOS): B-6854-2018. Author ID (Scopus): 24468778600. ORCID: 0000-0002-7163-2553.

Васильев Александр Юрьевич, профессор, член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, кафедра лучевой диагностики, Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова (г. Москва, Россия). SPIN-код: 3519-0938. AuthorID (РИНЦ): 242494. Researcher ID (WOS): O-8862-2017. Author ID (Scopus): 7402046692. ORCID: 0000-0002-0635-4438.

Егорова Елена Алексеевна, доктор медицинских наук, профессор кафедры лучевой диагностики, Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова (г. Москва, Россия). SPIN-код: 3771-3676. Researcher ID (WOS): O-7304-2017. Author ID (Scopus): 57196761433. ORCID: 0000-0003-2580-5692.

Смысленова Маргарита Витальевна, доктор медицинских наук, профессор кафедры лучевой диагностики, Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова (г. Москва, Россия).

Трутен Виктор Павлович, доктор медицинских наук, профессор кафедры лучевой диагностики, Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова (г. Москва, Россия).

Петровская Виктория Васильевна, доктор медицинских наук, доцент кафедры лучевой диагностики, Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова (г. Москва, Россия). SPIN-код: 3086-5063. ORCID: 0000-0001-8298-9913.

Громов Александр Игоревич, доктор медицинских наук, профессор кафедры лучевой диагностики, Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова (г. Москва, Россия). SPIN-код: 6842-8684. ORCID: 0000-0002-9014-9022.

Косташ Ольга Владимировна, врач отделения ультразвуковой диагностики, Московская городская онкологическая больница № 62 (г. Москва, Россия). SPIN-код: 9188-4429.

Кабин Юрий Вячеславович, кандидат медицинских наук, врач отделения ультразвуковой диагностики, Московская городская онкологическая больница № 62 (г. Москва, Россия). SPIN-код: 5502-9412.

Капустин Владимир Викторович, доктор медицинских наук, заведующий отделением ультразвуковой диагностики, Московская городская онкологическая больница № 62, Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова (г. Москва, Россия). SPIN-код: 2056-1115. ORCID: 0000-0002-3771-1354.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы объявляют, что у них нет конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Dmitry A. Lezhnev, MD, DSc, Professor, Head of Diagnostic Imaging Department, Moscow State University of Medicine and Dentistry named after Evdokimov (Moscow, Russia). Researcher ID (WOS): B-6854-2018. Author ID (Scopus): 24468778600. ORCID: 0000-0002-7163-2553.

Aleksandr Yu. Vasilyev, MD, DSc, Professor, Corresponding Member RAS, Moscow State University of Medicine and Dentistry named after Evdokimov (Moscow, Russia). Researcher ID (WOS): O-8862-2017. Author ID (Scopus): 7402046692. ORCID: 0000-0002-0635-4438.

Elena A. Egorova, MD, DSc, Professor of the Diagnostic Imaging Department, Moscow State University of Medicine and Dentistry named after Evdokimov (Moscow, Russia). Researcher ID (WOS): O-7304-2017. Author ID (Scopus): 57196761433. ORCID: 0000-0003-2580-5692.

Margarita V. Smyslenova, MD, DSc, Professor of the Diagnostic Imaging Department, Moscow State University of Medicine and Dentistry named after Evdokimov (Moscow, Russia).

Viktor P. Truten, MD, DSc, Professor of the Diagnostic Imaging Department, Moscow State University of Medicine and Dentistry named after Evdokimov (Moscow, Russia).

Viktoriia V. Petrovskaya, MD, DSc, Professor of the Diagnostic Imaging Department, Moscow State University of Medicine and Dentistry named after Evdokimov (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0001-8298-9913.

Aleksandr I. Gromov, MD, DSc, Professor of the Diagnostic Imaging Department, Moscow State University of Medicine and Dentistry named after Evdokimov (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0002-9014-9022.

Olga V. Kostash, MD, Ultrasound Diagnostics Department, Moscow City Oncology Hospital No. 62 (Moscow, Russia).

Yury V. Kabin, MD, PhD, Ultrasound Diagnostics Department, Moscow City Oncology Hospital No. 62 (Moscow, Russia).

Vladimir V. Kapustin, MD, PhD, Head of Ultrasound Diagnostics Department, Moscow City Oncology Hospital No. 62 (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0002-3771-1354.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

Для цитирования: Добродеев А.Ю., Завьялов А.А., Тузиков С.А., Добнер С.Ю. Отдаленные результаты интраоперационной лучевой терапии при немелкоклеточном раке легкого. Сибирский онкологический журнал. 2019; 18(3): 14–19. – doi: 10.21294/1814-4861-2019-18-3-14-19.

For citation: Dobrodeev A.Yu., Zavyalov A.A., Tuzikov S.A., Dobner S.Yu. Long-term outcomes of intraoperative radiation therapy for non-small cell lung cancer. Siberian Journal of Oncology. 2019; 18(3): 14–19. – doi: 10.21294/1814-4861-2019-18-3-14-19.

ОТДАЛЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ИНТРАОПЕРАЦИОННОЙ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ ПРИ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОМ РАКЕ ЛЕГКОГО

А.Ю. Добродеев¹, А.А. Завьялов², С.А. Тузиков^{1,3}, С.Ю. Добнер¹

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия¹

Россия, г. Томск, 634009, пер. Кооперативный, 5. E-mail: dobrodeev76@gmail.com¹

ГБУ «Научно-практический центр клинических исследований и оценки медицинских технологий Департамента здравоохранения города Москвы», г. Москва, Россия²

Россия, г. Москва, 121096, ул. Минская, 12/2²

Сибирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Томск, Россия³

Россия, г. Томск, 634050, Московский тракт, 2³

Аннотация

Цель исследования – изучить отдаленные результаты использования интраоперационной лучевой терапии (ИОЛТ) у больных немелкоклеточным раком легкого (НМРЛ) III стадии. **Материал и методы.** В исследование были включены 103 больных НМРЛ III стадии, которые проходили лечение в торако-абдоминальном отделении НИИ онкологии Томского НИМЦ. Больные были распределены на две группы: I группа (основная) – радикальная операция и ИОЛТ 15 Гр (51 больной); II группа (контрольная) – радикальная операция (52 больных). Хирургическое лечение в основной и контрольных группах было проведено в объеме: пневмонэктомии – 34 (33 %), лоб-, билобэктомии – 39 (37,9 %), реконструктивно-пластические операции – 9 (8,7 %) и комбинированные операции – 21 (20,4 %). В I группе после выполнения основного этапа оперативного вмешательства проводилась ИОЛТ в однократной дозе 15 Гр на пути регионарного лимфооттока. Для ИОЛТ в НИИ онкологии Томского НИМЦ применяется малогабаритный импульсный бетатрон МИБ-6Э со средней энергией электронов 6 МэВ, расположенный непосредственно в операционном блоке. Кривые выживаемости строились по методу Каплана – Майера. Значимость различий в выживаемости между группами оценивали при помощи «Log rank test». **Результаты.** С учетом выбывших из-под наблюдения и умерших от сопутствующих неонкологических заболеваний исходы лечения были прослежены у 97 из 103 больных НМРЛ в течение 3, 5 и 10 лет. Результаты лечения по показателю 3-летней безрецидивной и общей выживаемости были значимо ($p < 0,05$) улучшены за счет использования высокой однократной дозы ИОЛТ, которая позволяет существенно снизить количество локорегионарных рецидивов – с 28,6 до 20,8 % и увеличить длительность безрецидивного периода с 12 до 17,1 мес. При комбинированном лечении с ИОЛТ безрецидивная 5- и 10-летняя выживаемость больных НМРЛ III стадии составила 18,7 и 12,5 %, в группе контроля – 14,3 и 6,1 % ($p < 0,05$), общая 5- и 10-летняя выживаемость – 29,2 и 18,7 % против 20,4 и 8,2 % соответственно ($p < 0,05$). **Заключение.** Комбинированное лечение, включающее радикальную операцию и ИОЛТ, обеспечивает надежный локальный контроль и позволяет значимо улучшить отдаленную выживаемость больных НМРЛ III стадии по сравнению с группой хирургического лечения.

Ключевые слова: немелкоклеточный рак легкого, хирургическое лечение, комбинированное лечение, интраоперационная лучевая терапия, выживаемость.

LONG-TERM OUTCOMES OF INTRAOPERATIVE RADIATION THERAPY FOR NON-SMALL CELL LUNG CANCER

A.Yu. Dobrodeev¹, A.A. Zavyalov², S.A. Tuzikov^{1,3}, S.Yu. Dobner¹

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center,
Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia¹

5, Kooperativny Street, 634009-Tomsk, Russia. E-mail: dobrodeev76@gmail.com¹

Scientific and Practical Center for Clinical Research and Medical Technology Assessments
of the Moscow Department of Healthcare, Moscow, Russia²

12/2, Minskaya Street, 121096-Moscow, Russia²

Siberian State Medical University, Tomsk, Russia³

2, Moskovsky trakt, 634050-Tomsk, Russia³

Abstract

The purpose of the study was to analyze long-term outcomes of intraoperative radiation therapy (IORT) in patients with stage III non-small cell lung cancer (NSCLC). **Material and Methods.** The study included 103 patients with stage III NSCLC treated at the Cancer Research Institute (Tomsk, Russia). All patients were divided into two groups. Group I consisted of 51 patients, who underwent radical surgery and IORT at a single dose of 15 Gy. Group II (control group) comprised 52 patients, who underwent radical surgery alone. There were 34 (33 %) pneumonectomies, 39 (37.9 %) lob-, bilobectomies, 9 (8.7 %) reconstructive surgeries and 21 (20.4 %) combined surgeries. A compact pulsed betatron MIB-6E with the average electron energy of 6 MeV, located directly in the operating unit, was used for performing IORT. The Kaplan-Meier method was used for survival analysis. The significance of differences in survival between groups was assessed using the log rank test. **Results.** Excluding the cases lost to follow-up and deaths from concomitant non-malignant diseases, treatment outcomes were followed up in 97 of 103 patients with NSCLC for 3, 5, and 10 years. The 3-year and disease-free survival rates were significantly higher in the IORT group than in the control group ($p < 0.05$). The IORT reduced the frequency of locoregional recurrence from 28.6 % to 20.8 % and increased recurrence-free survival from 12 to 17.1 months. In patients with stage III NSCLC, who received combined modality treatment including IORT, the 5- and 10-year disease-free survival rates were 18.7 % and 12.5 %, respectively. In the control group patients, the corresponding values were 14.3 % and 6.1 %, respectively ($p < 0.05$). The 5- and 10-year overall survival rates were 29.2 % and 18.7 % versus 20.4 % and 8.2 %, respectively ($p < 0.05$). **Conclusion.** In patients with stage III NSCLC, combined modality treatment, including radical surgery and IORT, results in a better local control and higher long-term survival rates compared to surgery alone.

Key words: non-small cell lung cancer, surgical treatment, combined modality treatment, intraoperative radiation therapy (IORT), survival.

Рак легкого в России у мужчин сохраняет лидирующие позиции в структуре онкологической заболеваемости (17,8 %) и смертности (26,5 %). Несмотря на то, что у женщин заболеваемость раком легкого ниже и соответствует лишь десятому месту (3,8 %), уровень смертности остается высоким, занимающая четвертое место (6,8 %) [1]. При этом в 85 % случаев опухоли легкого представлены немелкоклеточным раком легкого (НМРЛ), и у большинства больных заболевание диагностируется в далеко зашедшей стадии (у 30 % – III стадия, у 40 % – IV стадия).

Основным радикальным методом лечения больных НМРЛ остается хирургический. Однако результаты лечения напрямую зависят от распространенности опухолевого процесса. Так, если 5-летняя выживаемость после оперативного вмешательства при IA стадии НМРЛ составляет 73 %, то при IIIA стадии она снижается до 25 % [2]. Результаты хирургического лечения местнораспространенного НМРЛ нельзя при-

знать удовлетворительными, что обуславливает необходимость применения мультимодальной противоопухолевой терапии [3–5].

В настоящее время при комбинированном лечении НМРЛ достаточно широкое применение получила лучевая терапия [6, 7]. Следует отметить, что с помощью традиционных методик облучения, в частности дистанционной лучевой терапии в режиме стандартного фракционирования, в большинстве случаев нельзя добиться эрадикации болезни и прироста выживаемости больных НМРЛ [8, 9]. В связи с этим активно изучаются нестандартные режимы фракционирования дозы, учитывающие, клеточную кинетику.

С указанных позиций особого внимания заслуживает интраоперационная лучевая терапия (ИОЛТ), которая позволяет подвести большую однократную дозу облучения и тем самым обеспечить максимально эффективное повреждение возможных субклинических метастазов на путях регионарного лимфооттока; наиболее точно ло-

кализовать зону облучения и свести к минимуму повреждение нормальных тканей и критических органов за счет ретракции их за пределы поля облучения или экранирования, а также значительно сократить сроки лечения. Проведенные исследования в рамках клинической апробации показали, что комбинированное лечение с ИОЛТ уменьшает количество местных рецидивов и улучшает выживаемость больных НМРЛ [10–12], однако в мировой литературе до сих пор встречаются лишь единичные публикации [13–15], посвященные отдаленной эффективности интраоперационного облучения, что свидетельствует о необходимости новых изысканий в данном направлении.

Целью исследования было изучение отдаленных результатов использования интраоперационной лучевой терапии у больных немелкоклеточным раком легкого III стадии.

Материал и методы

В исследование были включены 103 больных НМРЛ III стадии, которые проходили лечение в торако-абдоминальном отделении НИИ онкологии Томского НИМЦ. Больные были распределены на две группы: I группа (основная) – радикальная операция и ИОЛТ 15 Гр (51 больной); II группа (контрольная) – радикальная операция (52 больных).

Большее число больных было в возрасте 50–69 лет – 86,2 %. Соотношение мужчин и женщин – 8:1. В обеих группах преобладала центральная форма рака легкого – 59 (57,3 %), периферическая выявлена в 44 (42,7 %) случаях. Окончательно стадия заболевания устанавливалась после операции в соответствии с международной классификацией TNM (7th Edition, 2009): IIIA стадия – 93 (90,3 %) больных, из них T2N2M0 – 19 (18,5 %), T3N1M0 – 48 (46,6 %), T3N2M0 – 26 (25,2 %); IIIB стадия (T4N2M0) – 10 (9,7 %) больных. По гистологической структуре преобладал плоскоклеточный рак – 62 (60,2 %), следующим по частоте наблюдений был железистый рак – 35 (34 %) и крупноклеточный рак – 6 (5,8 %). Хирургическое лечение в основной и контрольных группах было проведено в объеме: пневмонэктомии – в 34 (33 %), лоб-, билобэктомии – в 39 (37,9 %), реконструктивно-пластические операции – в 9 (8,7 %), комбинированные операции – в 21 (20,4 %) случае.

В I группе после выполнения основного этапа оперативного вмешательства проводилась ИОЛТ в однократной дозе 15 Гр. Для ИОЛТ в НИИ онкологии Томского НИМЦ применяется малогабаритный импульсный бетатрон МИБ-6Э со средней энергией электронов 6 МэВ, расположенный в операционном блоке. Формирование полей облучения проводилось при помощи съемных коллиматоров с прямыми или скошенными тубусами размером 4×7 см. При верхней лобэктомии в поле облучения включалась прикорневая часть оставшейся доли легкого с бронхопульмональными лимфоузлами,

при нижней лобэктомии – ретроперикардальная область, при пульмонэктомии – трахеобронхиальный угол, паратрахеальная, паравенозная и бифуркационная зоны. В случае выполнения комбинированных операций облучению подвергалось ложе удаленной опухоли.

Для статистического анализа применялись стандартные методы медико-биологической статистики с использованием пакета программ «STATISTICA for Windows» фирмы Stat Soft (версия 6.0). Кривые выживаемости строились по методу Каплана – Майера. Значимость различий в выживаемости между группами оценивали при помощи «Log rank test».

Результаты и обсуждение

Одним из основных критериев эффективности противоопухолевого лечения у онкологических больных являются частота и сроки появления рецидивов и метастазов. С учетом выбывших из-под наблюдения и умерших от сопутствующих неонкологических заболеваний исходы лечения были прослежены у 97 из 103 больных НМРЛ в течение 3, 5 и 10 лет.

При проведении радикальной операции с ИОЛТ из 48 больных НМРЛ через 3 года после окончания лечения без рецидивов и отдаленных метастазов живы 18 ($37,5 \pm 6,9$ %) человек. Прогрессирование опухолевого процесса отмечено у 30 ($62,5 \pm 7,0$ %) больных: местные рецидивы – у 10 ($20,8 \pm 5,8$ %), отдаленные метастазы – у 20 ($41,7 \pm 7,1$ %), из них 23 ($47,9 \pm 7,2$ %) больных умерли к концу третьего года. Длительность безрецидивного периода составила $17,1 \pm 1,4$ мес. В группе хирургического лечения из 49 больных через 3 года после оперативного вмешательства живы без рецидивов и отдаленных метастазов 15 ($30,6 \pm 6,5$ %) человек. Прогрессирование зафиксировано у 34 ($69,4 \pm 6,6$ %) пациентов: локорегионарные рецидивы – у 14 ($28,6 \pm 6,4$ %), гематогенные метастазы – у 20 ($40,8 \pm 7,0$ %), в связи с чем 29 ($59,2 \pm 7,0$ %) больных умерло от прогрессирования заболевания к исходу третьего года наблюдения. Длительность безрецидивного периода – $12 \pm 1,1$ мес.

Представляет особый интерес анализ причин развития местных рецидивов после комбинированного и хирургического лечения. В основной группе больных наименьшее количество рецидивов было выявлено в зоне интраоперационного облучения – в культе бронха (10 %) и зонах регионарного лимфогенного метастазирования (30 %), чаще рецидив развивался в области резецированной грудной стенки или диафрагмы (60,0 %). В группе контроля в большинстве случаев рецидив рака легкого был выявлен в зонах регионарного лимфогенного метастазирования (42,9 %) и культе бронха (21,4 %), реже встречалось поражение грудной стенки или диафрагмы (35,7 %). Следует отметить, что гематогенное метастазирование в обеих группах

Таблица

Показатели отдаленной выживаемости больных НМРЛ III стадии в сравниваемых группах

Показатели выживаемости		Основная группа (n=48)	Контрольная группа (n=49)
3-летняя	Безрецидивная	37,5 ± 6,9 %*	30,6 ± 6,5 %
	Общая	52,1 ± 7,2 %*	40,8 ± 7,0 %
5-летняя	Безрецидивная	18,7 ± 5,6 %*	14,3 ± 5,0 %
	Общая	29,2 ± 6,5 %*	20,4 ± 5,7 %
10-летняя	Безрецидивная	12,5 ± 4,7 %*	6,1 ± 3,4 %
	Общая	18,7 ± 5,6 %*	8,2 ± 3,9 %

Примечание* – различия статистически значимы по сравнению с контрольной (хирургическое лечение) группой ($p < 0,05$).

происходило практически одинаково: наиболее часто отдаленные метастазы встречались в печени (37,5 %), костях скелета (32,5 %), надпочечниках (12,5 %), головном мозге (10%), противоположном легком (5 %) и плевре (2,5 %).

Таким образом, результаты хирургического лечения по показателю 3-летней безрецидивной и общей выживаемости были статистически значимо улучшены ($p < 0,05$) за счет использования высокой однократной дозы ИОЛТ, которая позволяет существенно снизить количество локорегионарных рецидивов – с 28,6 % до 20,8 % и увеличить длительность безрецидивного периода с 12 до 17,1 мес ($p < 0,05$) (таблица).

Отдаленная выживаемость (рис. 1, 2) также была значимо выше в основной группе (операция + ИОЛТ) по сравнению с контрольной ($p < 0,05$). При комбинированном лечении безрецидивная 5- и 10-летняя выживаемость больных НМРЛ III стадии составила 18,7 и 12,5 %, в группе контроля – 14,3 и 6,1 % ($p < 0,05$), общая 5- и 10-летняя выживаемость – 29,2 и 18,7 % против 20,4 и 8,2 % соответственно ($p < 0,05$) (таблица).

Полученные нами результаты в целом согласуются с данными других исследований [15, 16], в которых установлено, что ИОЛТ обеспечивает надежный локальный контроль и повышает долгосрочную выживаемость. Так, по данным Montpellier Regional Cancer Centre [15], при НМРЛ I–IIA стадии показатель общей 5- и 10-летней выживаемости после радикальной операции с ИОЛТ 10–20 Гр и послеоперационной лучевой терапии в СОД 45 Гр составил 20 и 18 % соответственно. Представляет интерес обобщенный опыт University Clinic of Navarra [16] по проведению мультимодальной терапии у больных НМРЛ с использованием предоперационной химиотерапии (цисплатин, виндезин, митомицин), ИОЛТ 10–20 Гр и дистанционной лучевой терапии в СОД 46 Гр. При анализе отдаленных результатов было показано, что 5- и 10-летняя общая выживаемость при IIIB стадии составили 11 и 3 % соответственно.

По нашим данным, применение ИОЛТ значимо снижает количество местных рецидивов на 7,8 % у больных НМРЛ III стадии относительно группы хирургического лечения ($p < 0,05$). Однако интра-

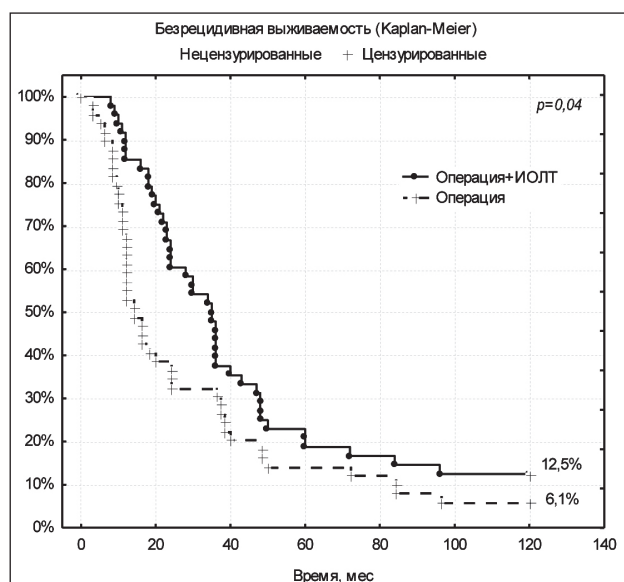


Рис. 1. Показатели безрецидивной 10-летней выживаемости в сравниваемых группах (по Каплан – Майеру)

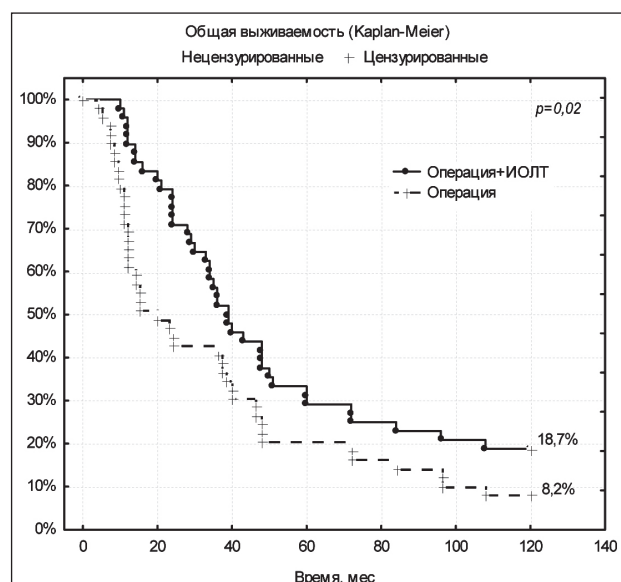


Рис. 2. Показатели общей 10-летней выживаемости в сравниваемых группах (по Каплан – Майеру)

операционное облучение является воздействием локорегионарным и не позволяет полностью решить проблему отдаленного метастазирования. Частота гематогенных метастазов при комбинированном лечении с ИОЛТ и в контрольной группе была сопоставимой – 41,7 и 40,8 % соответственно. В связи с этим одним из рациональных подходов в улучшении результатов лечения НМРЛ III стадии является применение современных цитостатиков.

Заключение

Комбинированное лечение, включающее радикальную операцию и ИОЛТ, обеспечивает на-

дежный локальный контроль и позволяет значительно улучшить отдаленную выживаемость больных НМРЛ III стадии по сравнению с хирургическим лечением в монорежиме. При этом снижение количества местных рецидивов и увеличение длительности безрецидивного периода мы связываем, прежде всего, с выраженным повреждающим действием ИОЛТ на возможные микрофокусы опухоли, располагающиеся в культе бронха, окружающих его тканях и путях лимфооттока. Перспективы развития комбинированного лечения НМРЛ III стадии связываются с широким внедрением новых вариантов химио- и химиолучевой терапии.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2015 году (заболеваемость и смертность). М., 2017. 250. [Kaprin A.D., Starinskii V.V., Petrova G.V. Malignant neoplasms in Russia in 2015 (morbidity and mortality). M., 2017. 250. (in Russian)].
2. Сакаева Д.Д. Современное состояние проблемы терапии немелкоклеточного рака легкого. Практическая онкология. 2013; 14(1): 59–67. [Sakaeva D.D. Practical Oncology. 2013; 14(1): 59–67. (in Russian)].
3. Виноградов В.М. Основные направления развития лучевой терапии злокачественных опухолей. Практическая онкология. 2013; 14(1): 33–42. [Vinogradov V.M. The main directions of development of radiation therapy of malignant tumors. Practical Oncology. 2013; 14(1): 33–42. (in Russian)].
4. Chen F., Okubo K., Sonobe M., Shibuya K., Matsuo Y., Kim Y.H., Yanagihara K., Bando T., Date H. Hyperfractionated Irradiation with 3 Cycles of Induction Chemotherapy in Stage IIIA-N2 Lung Cancer. World J Surg. 2012 Dec; 36(12): 2858–64. doi: 10.1007/s00268-012-1747-1.
5. Daly B.D., Cerfolio R.J., Krasna M.J. Role of surgery following induction therapy for stage III non-small cell lung cancer. Surg Oncol Clin N Am. 2011 Oct; 20(4): 721–32. doi: 10.1016/j.soc.2011.07.006.
6. Koshy M., Goloubeva O., Suntharalingam M. Impact of neoadjuvant radiation on survival in stage III non-small-cell lung cancer. Int J Radiat Oncol Biol Phys. 2011 Apr 1; 79(5): 1388–94. doi: 10.1016/j.ijrobp.2009.12.066.
7. Matsuguma H., Nakahara R., Ishikawa Y., Suzuki H., Inoue K., Katano S., Yokoi K. Postoperative radiotherapy for patients with completely resected pathological stage III A-N₂ non-small cell lung cancer: focusing on an effect of the number of mediastinal lymph node stations involved. Interact Cardiovasc Thorac Surg. 2008 Aug; 7(4): 573–7. doi: 10.1510/icsvts.2007.174342.
8. Ильин М.А., Сотников В.М., Паньшин Г.А., Котляров П.М., Харченко В.П., Солодкий В.А. Лучевая терапия средними фракциями периферического немелкоклеточного рака легкого с увеличением эквивалентной суммарной очаговой дозы. Вестник Российского научного центра рентгенорадиологии Минздрава России. 2011; 4(11): 25–38. [Ilin M.A., Sotnikov V.M., Panshin G.A., Kotliarov P.M., Kharchenko V.P., Solodki V.A. Hypofractionated radiation therapy of peripheral non-small cell lung cancer with the increase of the equivalent summary dose. Russian Scientific Center of Roentgenoradiology. 2011; 4(11): 25–38. (in Russian)].

9. Мардынский Ю.С., Гулидов И.А., Иванова И.Н., Курсова Л.В., Золотков А.Г., Кудрявцев Д.В., Рагулин Ю.А., Гоголин Д.В. Результаты применения режима ускоренного гиперфракционирования в лечении немелкоклеточного рака легкого. Сибирский онкологический журнал. 2010; 2: 11–14. [Mardynsky Yu.S., Gulidov I.A., Ivanova I.N., Kursova L.V., Zolotkov A.G., Kudryavtsev D.V., Ragulin Yu. A., Gogolin D.V. Results of continuous hyperfractionated radiotherapy in treatment of non-small cell lung cancer. Siberian Journal of Oncology. 2010; 2: 11–14. (in Russian)].
10. Calvo F.A., Sole C.V., Herranz R., Lopez-Bote M., Pascau J., Santos A., Muñoz-Calero A., Ferrer C., Garcia-Sabrido J.L. Intraoperative Radiotherapy in Lung Cancer: Methodology (Electrons or Brachytherapy), Clinical Experiences and Long-Term Institutional Results. Advances in Radiation Oncology in Lung Cancer. Springer, Heidelberg. 2011; 461–476.
11. Gunderson L.L., Willett C.G., Calvo F.A., Harrison L.B. Intraoperative Irradiation – Techniques and Results. Humana Press/Springer. 529.
12. Zhou G., Zeng T., Wang L., Ma L. Analysis of the Long-term Effect of Intraoperative Radiotherapy (IORT) for Non-Small Cell Lung Carcinoma (NSCLC). Chinese Journal of Clinical Oncology. 2007 Feb; 4(1): 65–70.
13. Завьялов А.А., Мусабаева Л.И., Лисин В.А., Чойнзонов Е.Л., Новиков В.А., Коломиец Л.А., Тузиков С.А., Афанасьев С.Г., Дубский С.В., Анисеня И.И., Тюкалов Ю.И., Миллер С.В., Добродеев А.Ю., Чивчиш Л.Н., Нечитайло М.Н., Жеравин А.А. Пятнадцатилетний опыт применения интраоперационной лучевой терапии. Сибирский онкологический журнал. 2004; 2–3 (10–11): 75–84. [Zav'yalov A.A., Musabaeva L.I., Lisin V.A., Choinzonov E.L., Novikov V.A., Kolomiets L.A., Tuzikov S.A., Afanas'ev S.G., Dubskii S.V., Anisanya I.I., Tyukalov Yu.I., Miller S.V., Dobrodeev A.Yu., Chivchish L.N., Nechitailo M.N., Zhervan A.A. Fifteen years of experience in the use of intraoperative radiotherapy. Siberian Journal of Oncology. 2004; 2–3(10–11): 75–84. (in Russian)].
14. Calvo F.A., Hoekstra H.J., Lehnert T. Intraoperative radiotherapy: 20 years of clinical experience, technological development and consolidation of results. Eur J Surg Oncol. 2000 Nov; 26 Suppl A: S1–4.
15. Carter Y.M., Jablons D.M., DuBois J.B., Thomas C.R.Jr. Intraoperative radiation therapy in the multimodality approach to upper aerodigestive tract cancer. Surg Oncol Clin N Am. 2003 Oct; 12(4): 1043–63.
16. Aristu J., Arbea L., Calvo F.A. Intraoperative Electron Beam Radiotherapy in Lung Cancer: Methodology, Clinical Experience, and Long-Term Institutional Results. Advances in Radiation Oncology in Lung Cancer. Springer, Heidelberg. 2005; 255–268.

Поступила/Received 15.10.18

Принята в печать/Accepted 28.02.18

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Добродеев Алексей Юрьевич, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник отделения абдоминальной онкологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 5510-4043. Researcher ID: B-5644-2017. Author ID (Scopus): 24832974200.

Завьялов Александр Александрович, доктор медицинских наук, ГБУ «Научно-практический центр клинических исследований и оценки медицинских технологий Департамента здравоохранения города Москвы» (г. Москва, Россия). SPIN-код: 5510-4043.

Тузиков Сергей Александрович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий торакальным отделением, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 5662-6431. Researcher ID (WOS): D-1176-2012. Author ID (Scopus): 6507842873.

Добнер Светлана Юрьевна, врач-терапевт, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). E-mail: dobnersv@gmail.com. SPIN-код: 9166-2078.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы объявляют, что у них нет конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Alexey Yu. Dobrodeev, MD, DSc, Senior Researcher, Abdominal Department, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). E-mail: clinica@oncology.tomsk.ru. Researcher ID (WOS): B-5644-2017. Author ID (Scopus): 24832974200.

Alexandr A. Zavyalov, MD, DSc, Scientific and Practical Center for Clinical Research and Medical Technology Assessments of the Moscow Department of Healthcare (Moscow, Russia). E-mail: ZavyalovAA@oncology.tomsk.ru.

Sergey A. Tuzikov, MD, Professor, Head of Thoracic Department, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): D-1176-2012. Author ID (Scopus): 6507842873.

Svetlana Yu. Dobner, MD, Physician, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). E-mail: dobnersv@gmail.com.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

Для цитирования: *Расулов Р.И., Земко М.В., Шелехов А.В., Зубринский К.Г., Сонголов Г.И.* Осложнения на этапе неoadьювантной терапии рака головки поджелудочной железы. Сибирский онкологический журнал. 2019; 18(3): 20–25. – doi: 10.21294/1814-4861-2019-18-3-20-25.

For citation: *Rasulov R.I., Zemko M.V., Shelekhov A.V., Zubrinckiy K.G., Songolov G.I.* Complications of neoadjuvant therapy for cancer of the head of the pancreas. Siberian Journal of Oncology. 2019; 18(3): 20–25. – doi: 10.21294/1814-4861-2019-18-3-20-25.

ОСЛОЖНЕНИЯ НА ЭТАПЕ НЕОАДЬЮВАНТНОЙ ТЕРАПИИ РАКА ГОЛОВКИ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

**Р.И. Расулов^{1,2}, М.В. Земко², А.В. Шелехов^{1,2,3}, К.Г. Зубринский²,
Г.И. Сонголов³**

Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования,
г. Иркутск, Россия¹

Россия, г. Иркутск, 664049, мкр. Юбилейный, 100. E-mail: gava2010@yandex.ru¹

Иркутский областной онкологический диспансер, г. Иркутск, Россия²

Россия, г. Иркутск, 664035, ул. Фрунзе, 32²

Иркутский государственный медицинский университет, г. Иркутск, Россия³

Россия, г. Иркутск, 664003, ул. Красного Восстания, 1³

Аннотация

Цель исследования – изучить частоту осложнений предоперационного этапа (химиоэмболизация желудочно-двенадцатиперстнокишечной артерии и дистанционная лучевая терапия) комбинированного лечения больных раком головки поджелудочной железы. **Материал и методы.** В предоперационном периоде 60 пациентам проведены химиоэмболизация желудочно-двенадцатиперстнокишечной артерии и дистанционная лучевая терапия. Для проведения ангиографии применяли чрезбедренную катетеризацию по Сельдингеру. Вводили химиоэмболизат – липиодол 5–7 мл и гемцитабин 400 мг/м². Лучевую терапию проводили на аппарате АГАТ-Р классическим фракционированием в РОД 2 Гр 5 раз в неделю до СОД 50 Гр на протяжении 5 нед. **Результаты.** При выполнении химиоэмболизации желудочно-двенадцатиперстнокишечной артерии в 18,3 % случаев возникли осложнения: в 3,3 % диагностирована боль в животе, в 3,3 % – боль и тошнота, в 6,7 % – боль, тошнота и повышение температуры тела, в 1,7 % – боль, тошнота и повышение амилазы крови, в 1,7 % – боль, тошнота и повышение температуры тела, амилазы крови, в 1,7 % – тошнота, повышение температуры тела и амилазы крови. При проведении дистанционной лучевой терапии в 23,3 % возникли лучевые повреждения: эритема I степени – в 18,3 % случаев, лейкопения I степени – в 1,7 %, лейкопения II степени – в 3,3 % наблюдений. **Заключение.** Осложнения неoadьювантной терапии больных раком головки поджелудочной железы по частоте и тяжести соответствуют литературным данным, купируются консервативными мероприятиями, не увеличивая продолжительности предоперационного периода комбинированного лечения.

Ключевые слова: рак головки поджелудочной железы, химиоэмболизация, лучевая терапия, осложнения.

COMPLICATIONS OF NEOADJUVANT THERAPY FOR CANCER OF THE HEAD OF THE PANCREAS

R.I. Rasulov^{1,2}, M.V. Zemko², A.V. Shelekhov^{1,2,3}, K.G. Zubrinckiy², G.I. Songolov³

Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education, Irkutsk, Russia¹

100, Yubileiny Street, 664049-Irkutsk, Russia. E-mail: gava2010@yandex.ru¹

Irkutsk Regional Oncology Center, Irkutsk, Russia²

32, Frunze Street, 664035-Irkutsk, Russia²

Irkutsk State Medical University, Irkutsk, Russia³

1, Krasnogo Vosstaniya Street, 664003-Irkutsk, Russia³

Abstract

Aim: to study complications of preoperative chemoembolization of the gastroduodenal artery and external beam radiation therapy in patients with pancreatic head cancer. **Material and Methods.** Sixty patients underwent chemoembolization of the gastroduodenal artery and external beam radiation therapy. Femoral artery angiography was performed using the Seldinger's technique. Lipiodol 5–7 ml and gemcitabine 400 mg/m² were used for transarterial chemoembolization. Radiation therapy was given at a total dose of 50 Gy (2 Gy/fraction, 5 times a week, over 5 weeks) using AGAT-R apparatus. **Results.** Complications after chemoembolization of the gastroduodenal artery were observed in 18.3 % of patients: abdominal pain in 3.3 % of patients; pain and nausea in 3.3 %; pain, nausea and fever in 6.7 %; pain, nausea and increased blood amylase in 1.7 %; pain, nausea and fever, blood amylase in 1.7 %; nausea, fever and blood amylase in 1.7 %. Radiation-induced injuries were observed in 23.3 % of patients: erythema in 18.3 %, grade 1 leukopenia in 1.7 % and grade 2 leukopenia in 3.3 %. **Conclusion.** Complications of neoadjuvant therapy in terms of frequency and severity were consistent with literature data, were manageable with conservative treatment, and did not increase the duration of the preoperative period.

Key words: pancreatic head cancer, chemoembolization, radiation therapy, complications.

Введение

Основным методом лечения рака головки поджелудочной железы (РГПЖ) является хирургический. Однако большинство операций при этом заболевании носят условно радикальный характер. В течение первого года после оперативного вмешательства до 80–96 % больных умирают от прогрессирования заболевания [1–3]. В одной трети наблюдений смерть больных РГПЖ обусловлена наличием местнораспространенного опухолевого процесса (до 75 % наблюдений) и метастазов в лимфатических узлах (60–80 %) [4–7]. Это важные прогностические факторы, определяющие высокую частоту локальных и отдаленных рецидивов РГПЖ [8], поэтому местный контроль болезни является необходимым условием в радикальной схеме лечения.

Неоадьювантные методы лечения резектабельного РГПЖ имеют ряд преимуществ. Во-первых, даже частичный ответ на лечение уменьшает объем опухоли, что потенциально увеличивает вероятность выполнения резекции R0. Во-вторых, данные морфологического анализа удаленной опухоли позволяют оценить эффективность выбранной терапии и целесообразность её продолжения. В-третьих, целостность тканей вокруг опухоли обеспечивает ее хорошее кровоснабжение, что усиливает эффект терапии. Неоадьювантная терапия позволяет более тщательно провести отбор пациентов для радикальной операции. Пациентам с агрессивной биологией опухоли и ранним выявлением отдаленных метастазов во время неоадьювантного лечения радикальная операция не показана. Наконец, мультимодальную терапию пациенты лучше переносят до, а не после радикальной операции [9]. Основными недостатками являются сравнительно низкая частота опухолевого ответа на мультимодальные методы лечения, радиочувствительность нескольких критических структур (включая печень, почки, желудок, тонкую

кишку, спинной мозг) и потенциально более высокая частота осложнений, что может привести к задержке радикальной операции.

Цель исследования – изучить осложнения на предоперационном этапе (химиоэмболизация желудочно-двенадцатиперсточнокишечной артерии и дистанционная лучевая терапия) комбинированного лечения больных раком головки поджелудочной железы.

Материал и методы

За период с 2006 по 2016 г. в Иркутском областном онкологическом диспансере находилось на лечении 216 пациентов с протоковым раком головки ПЖ. Из них 60 пациентам с предоперационной целью проведены химиоэмболизация желудочно-двенадцатиперсточнокишечной артерии (ХЭЖДА) и дистанционная лучевая терапия (ЛТ). В анализируемой группе было 30 (50,0 %) мужчин, и 30 (50,0 %) женщин; средний возраст составил $59,4 \pm 0,81$ года. Распределение пациентов по стадиям заболевания: IA стадия – у 4 (6,7 %), IB – у 3 (5,0 %), IIA – у 13 (21,7 %), IIB – у 9 (15,0 %), III – у 3 (5,0 %), IV стадия – у 28 (46,7 %) пациентов (таблица). В 44 (73,3 %) наблюдениях РГПЖ протекал с явлениями механической желтухи. На доспециализированном этапе этим больным выполнена билиарная декомпрессия.

Всем пациентам, включенным в исследование, в том числе и с механической желтухой (через 3–5 дней после декомпрессии билиарной гипертензии), выполнена ХЭЖДА. Внутрисосудистые манипуляции выполняли в условиях рентгеноперационной в горизонтальном положении больного на столе ангиографического комплекса «Angiostar» фирмы «Siemens». Для проведения ангиографии применяли чрезбедренную катетеризацию по Сельдингеру. Выполняли пункцию правой или левой общей бедренной артерии и устанавливали интродьюсер диаметром 5–6F. Затем проводили диагностиче-

Распределение пациентов по стадии опухолевого процесса

Стадия	TNM	Количество больных (n=60)
IA	T1N0M0	4 (6,7 %)
IB	T2N0M0	3 (5,0 %)
IIA	T3N0M0	13 (21,7 %)
IIВ	T2N1M0	2 (3,3 %)
	T3N1M0	7 (11,7 %)
III	T4N1M0	3 (5,0 %)
	T2N0M1	1 (1,7 %)
	T3N0M1	6 (10,0 %)
IV	T1N1M1	1 (1,7 %)
	T2N1M1	2 (3,3 %)
	T3N1M1	18 (30,0 %)

Примечание: M1 – метастазы в экстрарегионарную группу лимфоузлов.

скую ангиографию чревного ствола и верхней брыжеечной артерии с возвратной портографией. Для этого использовали диагностические катетеры типа Cobra или Shepherd Hook. Визуализировали артерии, непосредственно кровоснабжающие новообразование, и оценивали возможность их селективной катетеризации с последующим введением химиоэмболизата. Далее выполняли селективную катетеризацию желудочно-двенадцатиперстникокишечной артерии с помощью микрокатетера по предварительно заведенному проводнику диаметром 0,014–0,018 дюйма (0,36–0,46 мм). С целью эмболизации всех сосудов, питающих опухоль, а также для предотвращения нецелевой эмболизации использовали перераспределительную методику, которая заключалась в постановке 2–3 спиралей в правую желудочно-сальниковую артерию, дистальнее отхождения всех артерий, кровоснабжающих опухоль. После достижения редукции кровотока по правой желудочно-сальниковой артерии вводили химиоэмболизат (липиодол 5–7 мл и гемцитабин 400 мг/м²). Завершали процедуру ХЭЖДА последовательным удалением микрокатетера, катетера и интродьюсера. Выполняли мануальную компрессию места пункции в течение 20 мин. После полной остановки кровотечения на место пункции накладывали компрессионную повязку (бандаж) на 24 ч.

Через 3–4 нед после ХЭЖДА пациенты вновь были госпитализированы в стационар для проведения предоперационной дистанционной ЛТ. Топометрию проводили на мультиспиральном компьютерном томографе (МСКТ) с нанесением рентгенконтрастных меток. Для улучшения визуализации использовали введение рентгенконтрастного вещества. Компьютерные томограммы выполняли с интервалом 2,5–5 мм с уровнем сканирования от верхнего края печени ThX–XI до уровня LIII–IV. Затем осуществляли оконтурива-

ние полученных в результате топометрии сканов. В объем GTV (Gross Tumor Volume) включали область первичной опухоли ПЖ и пораженные лимфатические узлы размером более 1,5 см. CTV (Clinical Target Volume) – первичная опухоль, область опухолевой инфильтрации и зоны регионарного метастазирования. PTV (Planning Target Volume) = CTV + 3–5 мм во всех направлениях. Объем PTV задавали для контроля смещения и движения органов, опухоли и пациента во время укладки. Планирование и дозиметрический расчет выполняли на 3-мерной планирующей системе «Eclipse» (3D) с исключением из зоны облучения критических органов (почки, спинной мозг, печень, селезенка, тонкая кишка). Нагрузку на критические органы оценивали с помощью международных протоколов Quantec. Размеры полей облучения зависели от размеров первичной опухоли ПЖ и зоны опухолевой инфильтрации соседних структур. Лечение проводили на аппарате АГАТ-Р классическим фракционированием в РОД 2 Гр 5 раз в неделю до СОД 50 Гр на протяжении 5 нед.

Результаты

Осложнения после химиоэмболизации желудочно-двенадцатиперстникокишечной артерии (n=60) возникли в 11 (18,3 %) наблюдениях. Отметим, что осложнений, связанных с техническим выполнением процедуры ХЭЖДА, таких как пульсирующая гематома, острая окклюзия бедренной артерии, нагноение места пункции, не было.

Боль была ведущим клиническим проявлением ХЭЖДА, этот симптом наблюдался в 10 (16,7 %) случаях. В 5 наблюдениях боль локализовалась в эпигастрии, в 3 – она носила опоясывающий характер (с подъемом амилазы крови) и в 2 – в правом подреберье. Боль возникала сразу после введения химиоэмболизата, была постоянной, невыраженной, купировалась введением ненаркотических

анальгетиков. В 7 наблюдениях на 2-е сут самочувствие больных было удовлетворительным, боли не беспокоили. В 3 случаях (при опоясывающих болях) на 2-е сут боль значительно уменьшилась (приобрела новое качество – ощущение тяжести, дискомфорта), локализовалась в правом подреберье, полностью исчезла на 4-е сут после выполнения ХЭЖДА.

Тошнота наблюдалась в 9 (15,0 %) случаях, самостоятельно купировалась ко 2-м сут после выполнения ХЭЖДА. В 8 наблюдениях тошнота сопровождала боль, локализованную в эпигастрии и опоясывающую.

Повышение температуры тела до 37,5 °С отмечено в 6 (10,0 %) случаях. В 2 наблюдениях температура тела нормализовалась ко 2-м сут, в 2 – к 3-м, в 2 случаях – к 5-м сут после выполнения ХЭЖДА. Отметим, что во всех 60 наблюдениях проведена антибиотикопрофилактика, вводился амоксиклав 1,2 г внутривенно за 30 мин до начала ХЭЖДА. Больным с подъемом температуры тела продолжали вводить амоксиклав 1,2 г с интервалом 8 ч. Продолжительность антибактериальной терапии составила 5 дней. Жаропонижающие препараты не применяли.

Подъем амилазы крови диагностирован в 3 (5,0 %) наблюдениях; ее уровень в среднем составил $458,0 \pm 76,28$ (320–583) Е/л. Отметим, что во всех 60 наблюдениях с целью профилактики острого панкреатита за 30 мин до начала процедуры назначали октреотид 100 мкг подкожно и продолжали его введение в течение суток по 100 мкг каждые 8 ч. Больным с подъемом амилазы крови выше 110 Е/л продолжали вводить октреотид 100 мкг 3 раза в день в течение 5 дней. Кроме того, эти пациенты получали гордокс 500 000 КИЕ/сут. По мере снижения амилазы крови снижали дозу гордокса с отменой при нормальных показателях амилазы крови. К 4-м сут уровень амилазы крови приблизился к нормальному. Мы не исключаем, что отсутствие гиперферментемии в подавляющем большинстве наблюдений (95,0 %) в послеэмболизационном периоде может быть связано и с введением октреотида в профилактико-лечебной дозе, а также с противопанкреатическим действием гемцитабина, входящего в состав химиоэмболизата.

Таким образом, из 11 наблюдений с осложненным течением послеэмболизационного периода в 2 (3,3 %) наблюдениях постэмболизационный синдромом был представлен только болью, в 2 (3,3 %) – болью и тошнотой, в 4 (6,7 %) – болью, тошнотой и повышением температуры тела до 37,5 °С, в 1 (1,7 %) – болью, тошнотой и повышением амилазы крови, в 1 (1,7 %) – болью, тошнотой с повышением температуры тела до 37,5 °С и уровня амилазы крови, в 1 (1,7 %) – тошнотой, с повышением температуры тела до 37,5 °С и гиперاميлаземией.

Отметим, что осложнения, развившиеся после ХЭЖДА, рассматривали и как результат использования противоопухолевого препарата, в данном случае гемцитабина. Поэтому по шкале Common Terminology Criteria or Adverse Events (версия 4.03, 2010) определяли степень токсичности. С учетом характерных побочных эффектов для гемцитабина из таблицы «Общие критерии терминологии для нежелательных явлений» (Common Terminology Criteria or Adverse Events (СТСАЕ)) были изучены: гематологическая, гастроинтестинальная и печеночная токсичности, гриппоподобный синдром, метаболические и эндокринные нарушения.

Анализ клинического материала не выявил наличия гематологической токсичности, метаболических и эндокринных нарушений после ХЭЖДА. Кроме того, несмотря на высокие показатели щелочной фосфатазы и билирубина, которые используются при определении степени печеночной токсичности, в данной группе пациентов признаков печеночной токсичности не наблюдалось. Из 60 пациентов, которым выполнялась ХЭЖДА, 44 были госпитализированы с явлениями механической желтухи. На момент поступления уровень щелочной фосфатазы и билирубин в среднем составляли $941,2 \pm 40,32$ (380–1420) Ед/л и $252,8 \pm 23,00$ (42,3–501,5) мкмоль/л соответственно. После билиарной декомпрессии изучены показатели щелочной фосфатазы и билирубина до и через 1 сут после выполнения ХЭЖДА. Средний уровень щелочной фосфатазы перед проведением ХЭЖДА составил $673,4 \pm 38,11$ (212–1119) Ед/л, через сут после ХЭЖДА – $621,0 \pm 37,58$ (212–1052) Ед/л, средний уровень билирубина – $197,2 \pm 21,47$ (27,2–440,2) и $168,1 \pm 20,37$ (19,1–398,2) мкмоль/л соответственно. Таким образом, после билиарной декомпрессии наблюдается отчетливая тенденция к снижению показателей щелочной фосфатазы и билирубина, в том числе и на этапе выполнения ХЭЖДА.

16 пациентов поступили без механической желтухи, показатели щелочной фосфатазы и билирубина соответствовали границам лабораторной нормы: щелочная фосфатаза – до 260 Ед/л и билирубин – 8,49–20,58 мкмоль/л. После ХЭЖДА у этой группы пациентов увеличения показателей щелочной фосфатазы и билирубина также не отмечено.

Комбинация патологических симптомов в виде болей в животе, повышения температуры тела, тошноты предполагает обсуждение осложненного течения (в 11 наблюдениях) послеэмболизационного периода с позиции гастроинтестинальной токсичности и гриппоподобного синдрома. Сопоставляя данные клинического материала со шкалой токсичности (критерии СТСАЕ версия 4.03, 2010), установлено следующее: по показателю «боль в животе» токсичность 0 степени наблюдалась в 1, II степени – в 10 случаях. По показателю «тошнота» токсичность 0 степени наблюдалась в 2, I степени –

в 9 случаях. По показателю «лихорадка» токсичность 0 степени наблюдалась в 5, I степени – в 6 случаях. Таким образом, с учетом всех показателей в 1 случае наблюдалась токсичность I степени, в 10 – токсичность II степени по шкале CTC/AE версия 4.03, 2010.

На втором этапе комбинированного лечения, через 3–4 нед после ХЭЖДА проводилась предоперационная дистанционная ЛТ. Лучевые осложнения возникли в 14 (23,3 %) наблюдениях: эритема (местные ранние лучевые повреждения) – в 11 (18,3 %), лейкопения (общие лучевые повреждения) – в 3 (5,0 %) наблюдениях. Анализ полученных лучевых повреждений проводили с использованием критериев оценки острых лучевых повреждений RTOG (1995).

Во всех 11 наблюдениях местных ранних лучевых повреждений отмечена эритема I степени. Отметим, что в 2 случаях пациенты ранее перенесли постэмболизационный синдром на этапе проведения ХЭЖДА. В среднем эритема возникала на $20,9 \pm 1,84$ (14–32) день с начала дистанционной ЛТ. Этим больным в качестве профилактики механических повреждений скомпрометированной кожи рекомендовано ношение легкой хлопчатобумажной одежды без натирающих швов. Для снятия зуда и воспаления область лучевого повреждения обрабатывали мягкими стероидными кремами. Во всех наблюдениях эритема исчезала без пигментации кожи, в среднем через $6,8 \pm 0,61$ (4–10) дня с момента завершения дистанционной ЛТ.

В 3 случаях на этапе ЛТ развилась лейкопения, из них в одном наблюдении пациент ранее перенес постэмболизационный синдром на этапе проведения ХЭЖДА. С учетом критериев RTOG (1995) в 1 наблюдении диагностирована лейкопения I степени, в 2 – лейкопения II степени. Лейкопения I степени ($3,8 \times 10^9/\text{л}$) возникла во время первых сеансов облучения и сохранялась на протяжении всего курса ЛТ, в данном случае специальной коррекции лейкопении не потребовалось. Лейкопения II степени в одном случае возникла после 4-го сеанса ЛТ, со снижением уровня лейкоцитов до $2,3 \times 10^9/\text{л}$, во втором – после 12-го сеанса ЛТ, со снижением до $2,9 \times 10^9/\text{л}$. В обоих случаях для коррекции лейкопении выполнено однократное введение преднизолона в дозе 30 мг внутримышечно. Наблюдалось восстановление уровня лейкоцитов в границах лабораторной нормы перед выпиской (через сут после завершения лучевой терапии) – до $4,3 \times 10^9/\text{л}$ и $5,2 \times 10^9/\text{л}$ соответственно.

Обсуждение

Локо-регионарный рецидив и диссеминация процесса в результате миграции опухолевых эмболов являются существенной проблемой в лечении

РГПЖ. С целью улучшения местного контроля опухоли предложены методы ХЭЖДА и дистанционной ЛТ. Химеоэмболизация желудочно-двенадцатиперстнокишечной артерии позволяет создать достаточно высокую регионарную концентрацию цитостатика с длительной экспозицией в опухоли, что дает возможность снизить суммарную дозу вводимого препарата и минимизировать уровень токсичности. По данным А.В. Павловского [10], химеоэмболизат накапливается в опухоли, а также распределяется по лимфатическим коллекторам и воротной системе печени, что оказывает воздействие не только на первичный процесс, но и на опухолевые эмболы в капиллярах и лимфатических протоках.

Обращает на себя внимание, что работ по оценке безопасности ХЭЖДА очень мало. По мнению ряда авторов, постэмболизационный синдром возникает в 14,3–73,3 % случаев. По нашим данным, при выполнении ХЭЖДА осложнения возникли у 18,3 % больных. В литературе предлагаются различные варианты лечения данных осложнений. Тем не менее вопрос о создании клинических рекомендаций по предупреждению и лечению осложнений на этапе ХЭЖДА остается открытым.

Неoadьювантная ЛТ позволяет уменьшить объем основной опухоли, увеличить частоту отрицательного края резекции, помогает выявить пациентов, подверженных риску раннего прогрессирования заболевания. Однако возможность применения эффективных доз ЛТ у больных РГПЖ лимитирована наличием окружающих радиочувствительных органов (почки, кишечник, желудок, печень, спинной мозг). Согласно литературным данным, наиболее часто подвержены острым радиационным повреждениям верхние отделы желудочно-кишечного тракта и клеточный состав крови (преимущественно лейкоциты). Повреждения верхних отделов желудочно-кишечного тракта в основном проявляются эрозиями, язвами ДПК, осложненными кровотечением, что является веским аргументом к отказу от ЛТ. Риска дуоденальной токсичности можно избежать хирургическим удалением двенадцатиперстной кишки. В своей работе мы не встречали острых лучевых повреждений верхних отделов желудочно-кишечного тракта, так как выполняли панкреатодуоденальную резекцию через 4–6 нед после завершения ЛТ. Лейкопения I степени возникла в 1,7 %, лейкопения II степени – в 3,3 % наблюдений. Лучевые осложнения быстро купированы консервативно. Тем не менее вопрос о проведении ЛТ в неoadьювантном режиме при резектабельном РГПЖ остается открытым, согласно клиническим рекомендациям, он показан только в рамках клинических исследований.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Шалимов А.А. Хирургическое лечение больных раком поджелудочной железы и панкреатодуоденальной зоны. *Анналы хирургической гепатологии*. 1996; 1(1): 62–66. [Shalimov A.A. Surgical treatment of patients with pancreatic cancer and pancreatoduodenal zone. *Annals of HPB Surgery*. 1996; 1(1): 62–66. (in Russian)].
2. Conlon K.C., Klimstra D.S., Brennan M.F. Long-term survival after curative resection for pancreatic ductal adenocarcinoma. *Clinicopathologic analysis of 5-year survivors*. *Ann Surg*. 1996 Mar; 223(3): 273–279.
3. Cleary S.P., Gryfe R., Guindi M., Greig P., Smith L., Mackenzie R., Strasberg S., Hanna S., Taylor B., Langer B., Gallinger S. Prognostic factors in resected pancreatic adenocarcinoma: analysis of actual 5-year survivors. *J Am Coll Surg*. 2004 May; 198(5): 722–731. doi: 10.1016/j.jamcollsurg.2004.01.008.
4. Yoshida T., Matsumoto T., Sasaki A., Shibata K., Aramaki M., Kitano S. Outcome of paraaortic node-positive pancreatic head and bile duct adenocarcinoma. *Am J Surg*. 2004 Jun; 187(6): 736–740. doi: 10.1016/j.amjsurg.2003.07.031.
5. Hishinuma S., Ogata Y., Tomikawa M., Ozawa I., Hirabayashi K., Igarashi S. Patterns of recurrence after curative resection of pancreatic cancer, based on autopsy findings. *J Gastrointest Surg*. 2006 Apr; 10(4): 511–518. doi: 10.1016/j.gassur.2005.09.016.
6. Morganti A.G., Massacesi M., La Torre G., Caravatta L., Piscopo A., Tambaro R., Sofo L., Sallustio G., Ingrosso M., Macchia G., Deodato F., Picardi V., Ippolito E., Cellini N., Valentini V. A systematic review of resectability and survival after concurrent chemoradiation in primarily unresectable pancreatic cancer. *Ann Surg Oncol*. 2010 Jan; 17(1): 194–205. doi: 10.1245/s10434-009-0762-4.
7. Goodman K.A., Hajj C. Role of radiation therapy in the management of pancreatic cancer. *J Surg Oncol*. 2013 Jan; 107(1): 86–96. doi: 10.1002/jso.23137.
8. Asiyanbola B., Gleisner A., Herman J.M., Choti M.A., Wolfgang C.L., Swartz M., Edil B.H., Schulick R.D., Cameron J.L., Pawlik T.M. Determining pattern of recurrence following pancreaticoduodenectomy and adjuvant 5-fluorouracil-based chemoradiation therapy: effect of number of metastatic lymph nodes and lymph node ratio. *J Gastrointest Surg*. 2009 Apr; 13(4): 752–9. doi: 10.1007/s11605-008-0762-x.
9. Springett G.M., Hoffe S.E. Borderline resectable pancreatic cancer: on the edge of survival. *Cancer Control*. 2008 Oct; 15(4): 295–307. doi: 10.1177/107327480801500404.
10. Павловский А.В. Масляная химиоэмболизация артерий поджелудочной железы при местнораспространенном раке. *Практическая онкология*. 2004; 2: 108–114. [Pavlovsky A.V. Oily chemoembolization of pancreatic arteries in locally advanced cancer. *Prakticheskaya onkologiya*. 2004; 2: 108–114. (in Russian)].

Поступила/Received 24.08.18
Принята в печать/Accepted 12.02.19

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Расулов Родион Исмаилович, доктор медицинских наук, профессор кафедры онкологии, Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования (г. Иркутск, Россия). SPIN-код: 3520-6049. AuthorID (РИНЦ): 419107.

Земко Марина Васильевна, аспирантка кафедры онкологии, Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования (г. Иркутск, Россия).

Шелехов Алексей Владимирович, доктор медицинских наук, профессор кафедры онкологии, Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования (г. Иркутск, Россия). SPIN-код: 1429-3564.

Зубринский Константин Германович, ассистент кафедры онкологии, Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования (г. Иркутск, Россия).

Сонголов Геннадий Игнатьевич, кандидат медицинских наук, доцент кафедры топографической анатомии и оперативной хирургии, Иркутский государственный медицинский университет (г. Иркутск, Россия). SPIN-код: 4008-8488. AuthorID (РИНЦ): 627786.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы объявляют, что у них нет конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Rodion I. Rasulov, MD, DSc, Professor of the Department of Oncology, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education (Irkutsk, Russia).

Marina V. Zemko, Postgraduate, Department of Oncology, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education (Irkutsk, Russia).

Alexey V. Shelekhov, MD, DSc, Professor of the Department of Oncology, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education (Irkutsk, Russia).

Konstantin G. Zubrinsky, Assistant of the Department of Oncology of Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education (Irkutsk, Russia).

Gennady I. Songolov, MD, PhD, Associate Professor of the Department of Topographic Anatomy and Surgery, Irkutsk State Medical University (Irkutsk, Russia).

Funding

This study required no funding.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

Для цитирования: Дмитриева Н.В., Эйдельштейн М.В., Агинова В.В., Григорьевская З.В., Петухова И.Н., Терещенко И.В., Багирова Н.С., Дьякова С.А., Калинин Т.А., Дмитриева А.И., Шек Е.А., Склеенова Е.Ю. Инфекции, вызванные *Acinetobacter baumannii*, у онкологических больных. Сибирский онкологический журнал. 2019; 18(3): 26–33. – doi: 10.21294/1814-4861-2019-18-3-26-33.

For citation: Dmitrieva N.V., Eidelshstein M.V., Aginova V.V., Grigorievskaya Z.V., Petukhova I.N., Tereshchenko I.V., Bagirova N.S., Dyakova S.A., Kalinchuk T.A., Dmitrieva A.I., Shek E.A., Skleenova E.Yu. Infections caused by *Acinetobacter baumannii* in cancer patients. Siberian Journal of Oncology. 2019; 18(3): 26–33. – doi: 10.21294/1814-4861-2019-18-3-26-33.

ИНФЕКЦИИ, ВЫЗВАННЫЕ *ACINETOBACTER BAUMANNII*, У ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ

Н.В. Дмитриева¹, М.В. Эйдельштейн², В.В. Агинова³, З.В. Григорьевская¹,
И.Н. Петухова¹, И.В. Терещенко¹, Н.С. Багирова¹, С.А. Дьякова¹,
Т.А. Калинин¹, А.И. Дмитриева¹, Е.А. Шек², Е.Ю. Склеенова²

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» МЗ РФ, г. Москва, Россия¹
Россия, г. Москва, 115478, Каширское шоссе, 24.

E-mail: prof.ndmitrieva@mail.ru¹

НИИ антимикробной химиотерапии, ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Смоленск, Россия²

Россия, г. Смоленск, 214019, ул. Крупской, 28²

ГБПОУ МЗ «Медицинский колледж № 1», г. Москва, Россия³

Россия, г. Москва, 127206, Чуксин тупик, 6³

Аннотация

Цель исследования – оценить частоту выделения мультирезистентных *Acinetobacter baumannii* у онкологических больных и выявить механизмы резистентности к карбапенемам. **Материал и методы.** Проанализировано 942 штамма *A. baumannii*, выделенных из патологических материалов от онкологических больных в 2014–16 гг. Определен уровень резистентности к ампициллину-сульбактаму, пиперациллину-тазобактаму, цефтазидиму, цефепиму, имипенему, меропенему, цiproфлоксацину, амикацину и другим антибиотикам в динамике. Резистентные к карбапенемам (Car-R) штаммы исследовали на наличие карбапенемаз. **Результаты.** Число штаммов, резистентных к ампициллину-сульбактаму, в период с 2014 по 2016 г. составило 95,5–74,6 % ($p \leq 0,0001$), пиперациллину/тазобактаму – 64,3–98,1 % ($p < 0,01$), цефтазидиму – 66,1–44,3 % ($p \leq 0,0001$), цефепиму – 94,7–98,3 % ($p \leq 0,01$), цiproфлоксацину – 95,8–91,8 % ($p < 0,05$), амикацину – 77,7–91,0 % ($p \leq 0,0001$). В то же время наблюдалось увеличение числа Car-R (меронем-резистентных) штаммов с 77,2 % в 2014 г. до 84,1 % в 2015 г. ($p < 0,05$) и до 90,0 % в 2016 г. ($p < 0,05$). К имипенему резистентность составляла 100 %. Анализ 6 штаммов в отношении приобретенных карбапенемаз выявил продукцию сериновых карбапенемаз группы OXA-23 в 100 % случаев. **Заключение.** *A. baumannii* сохраняет высокую устойчивость к практически всем классам антибиотиков, причем устойчивость к карбапенемам обусловлена продукцией карбапенемаз OXA-23 и достоверно увеличилась в динамике с 2014 по 2016 г.

Ключевые слова: *Acinetobacter baumannii*, онкологические больные, карбапенемазы, OXA-23, Car-R, мультирезистентные микроорганизмы, карбапенемы, антибиотики.

INFECTIONS CAUSED BY *ACINETOBACTER BAUMANNII* IN CANCER PATIENTS

N.V. Dmitrieva¹, M.V. Eidelstein², V.V. Aginova³, Z.V. Grigorievskaya¹,
I.N. Petukhova¹, I.V. Tereshchenko¹, N.S. Bagirova¹, S.A. Dyakova¹,
T.A. Kalinchuk¹, A.I. Dmitrieva², E.A. Shek², E.Yu. Skleenova²

N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Moscow, Russia¹

24, Kashirskoe shosse, 115478-Moscow, Russia. E-mail: prof.ndmitrieva@mail.ru¹

Research Institute of Antimicrobial Chemotherapy, Smolensk State Medical University, Smolensk, Russia²

28, Krupskaya Street, 214019-Smolensk, Russia²

Medical college №1, Moscow, Russia³

6, Chuksin tupik, 127206-Moscow, Russia³

Abstract

The purpose of the study was to evaluate the frequency of isolation of multi-resistant *Acinetobacter baumannii* in cancer patients and identify the mechanisms of resistance to carbapenems. **Material and Methods.** We analyzed 942 strains of *A. baumannii* isolated from clinical samples of cancer patients in the period 2014–16. The level of resistance to ampicillin-sulbactam, piperacillin-tazobactam, ceftazidime, cefepime, imipenem, meropenem, ciprofloxacin, amikacin, and to other antibiotics was determined. Carbapenem-resistant (Car-R) strains were examined for the presence of carbapenemases. **Results.** Between 2014 and 2016, the number of strains resistant to: ampicillin-sulbactam was 95.5–74.6 % ($p \leq 0.0001$), piperacillin – tazobactam 64.3–98.1 % ($p < 0.01$), ceftazidime – 66.1–44.3 % ($p \leq 0.0001$), cefepime – 94.7–98.3 % ($p \leq 0.01$), ciprofloxacin – 95.8–91.8 % ($p < 0.05$), amikacin – 77.7–91.0 % ($p \leq 0.0001$). An increase in the number of Car-R strains from 77.2 % in 2014 to 84.1 % in 2015 ($p < 0.05$) and up to 90.0 % in 2016 ($p < 0.05$) was observed. The resistance to imipenem was 100 %. The analysis of 6 strains in relation to acquired carbapenemases revealed the production of serine carbapenemases of the OXA-23 group in 100 % of cases. **Conclusion.** *A. baumannii* remains to be highly resistant to almost all classes of antibiotics, and the resistance to carbapenems is caused by the production of carbapenemases OXA-23.

Key words: *Acinetobacter baumannii*, cancer patients, carbapenemases, OXA-23, Car-R, multi-drug resistant organisms, carbapenems, antibiotics.

Acinetobacter baumannii входит в число шести самых опасных бактериальных патогенов, относящихся к группе ESKAPE, включающей также резистентные *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecium* [1]. Его роль как возбудителя оппортунистических инфекций неуклонно растет, следовательно, повышается и его клиническая значимость. По многочисленным данным, наиболее негативным свойством *Acinetobacter baumannii* является множественная (MDR) и высокая антибиотикорезистентность [2–6]. Процент карбапенем-резистентных (CarR) и MDR штаммов, вызывающих внутрибольничные вспышки в самых разных регионах мира, растет в геометрической прогрессии [7–12].

Развитию устойчивости к противомикробным препаратам способствует ненадлежащее использование антибиотиков, а ее распространению – несоблюдение правил асептики и антисептики. По данным ежегодного отчета Центра по контролю и предотвращению заболеваний в Европе (ECDC), более половины изолятов *Acinetobacter spp.*, выделенных в 2016 г., обладали комбинированной устойчивостью к множеству антибиотиков. Наиболее распространенный фенотип резистентности

характеризуется устойчивостью к трем важнейшим группам антибактериальных препаратов: фторхинолонам, аминогликозидам и карбапенемам. По данным ECDC, отмечается постепенное ухудшение эпидемиологической ситуации в ряде стран Европы [13]. В таких странах, как Италия, Греция, Хорватия, Литва, Латвия, наблюдается эндемическая ситуация по Car-R *A. baumannii* (рис. 1).

Материал и методы

Была проанализирована таксономическая структура микроорганизмов, выделенных из 24 357 патологических биоматериалов (без учета грибковой микрофлоры) от онкологических больных, проходивших лечение в НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина МЗ РФ в 2014–16 гг., и 4104 выделенных за 3 года грамотрицательных микроорганизмов, включая *A. baumannii*. Культивирование микроорганизмов проводилось по стандартным микробиологическим методикам. Все изоляты были идентифицированы до вида колориметрическим методом на анализаторах «Microscan WalkAway – 40 SI» (производитель Siemens Healthcare Diagnostics, США) и «Vitek 2» (производитель BioMerieux, Франция), а также методом матрично-ассоциированной лазерной десорбции/

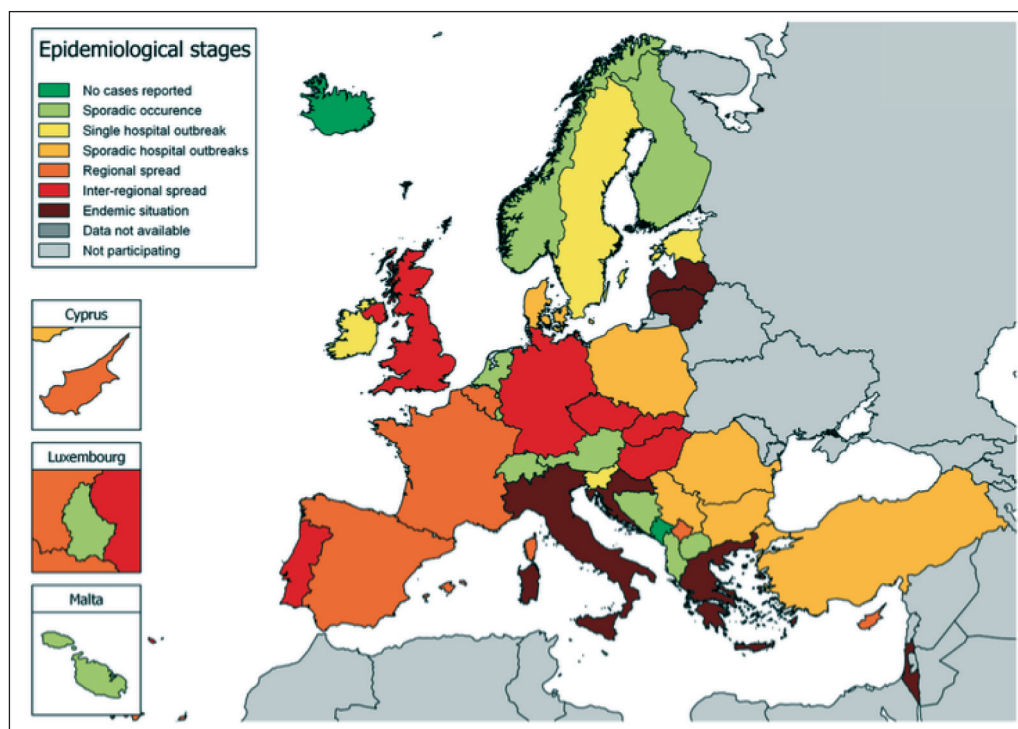


Рис. 1. Распространенность *Car-R A. baumannii* в странах Европы в 2013 г. [14]. Примечания: темно-зеленый цвет – случаев не отмечено, светло-зеленый – спорадические случаи, светло-желтый – единичные госпитальные вспышки, темно-желтый – спорадические госпитальные вспышки, оранжевый – региональное распространение, красный – межрегиональное распространение, вишневый – эндемическая ситуация, серый – данные недоступны

ионизации – времяпролетной масс-спектрометрии (MALDI-TOF) и программного обеспечения MALDI Biotyper v.3.0 (Bruker Daltonics, Германия). Определение лекарственной устойчивости к антибиотикам проводили турбидиметрическим методом при помощи анализаторов «Vitek 2» и методом флуоресцентной детекции на анализаторе «Microscan WalkAway – 40 SI».

Определение лекарственной устойчивости к антибиотикам при проведении молекулярно-генетических исследований проводилось методом разведений в бульоне Мюллера – Хинтон (Oxoid, Великобритания) в соответствии со стандартом ISO 20776 / ГОСТ Р ИСО 20776-1-2010. Категории чувствительности определяли на основании пограничных значений МПК, установленных Европейским комитетом по определению чувствительности к антимикробным препаратам – EUCAST v 6.0.

Определение минимальных ингибирующих концентраций к карбапенемам проводили эппиметрическим методом (Е-тест). Технология градиента Е-теста основана на сочетании концепций принципов разбавления и диффузии для тестирования чувствительности. Подавление роста микроорганизма вокруг полоски Е-теста определяли в зоне, где концентрация АБП, диффундирующего из носителя, была выше минимальной подавляющей концентрации (каплевидные зоны ингибиции).

Нечувствительные (умеренно-резистентные или резистентные) к карбапенемам штаммы ис-

следовали на наличие карбапенемаз. Гены приобретенных металло-β-лактамаз (VIM, IMP, NDM) и сериновых карбапенемаз OXA-типа (подгруппы OXA-23, OXA-40, OXA-58) определяли с помощью ПЦР в режиме реального времени. Выявление продукции карбапенемаз проводилось в лаборатории НИИ антимикробной химиотерапии ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России (заведующий лабораторией – к.б.н. М.В. Эйдельштейн).

Результаты

Среди 4104 выделенных за 3 года (2014–16 гг.) грамотрицательных микроорганизмов *A. baumannii* составил 22,4 %. Была проведена оценка динамики частоты выделения *A. baumannii* из биоматериалов от больных, полученных за вышеуказанный период времени (рис. 2). За этот период наблюдалось незначительное увеличение числа штаммов *A. baumannii* в патологических материалах от больных с 280 штаммов в 2014 г. до 333 и 329 штаммов в 2015 и 2016 гг. соответственно. Однако в процентном отношении количество исследуемых бактерий уменьшалось (рис. 3). В 2014 г. *A. baumannii* составил 32,4 % от выделенных штаммов, а в 2015 г. и в 2016 г. произошло достоверное уменьшение частоты обнаружения *A. baumannii* до 26,7 и 16,4 % соответственно. Чаще всего *A. baumannii* обнаруживался в отделяемом нижних дыхательных путей (40,9 %), что значимо выше

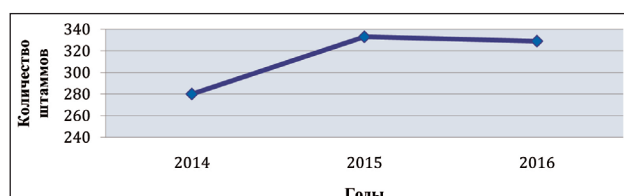


Рис. 2. Динамика частоты выделения *A. baumannii* в 2014–16 гг. в абсолютных значениях

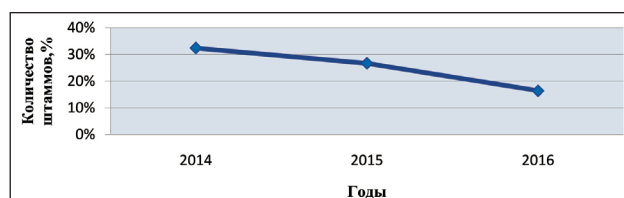


Рис. 3. Динамика частоты выделения *A. baumannii* в 2014–16 гг. в относительных значениях

($p < 0,001$), чем в раневом отделяемом, отделяемом из дренажей (21,9 %) и крови (15,9 %). Реже всего *A. baumannii* выделялся из мочевыводящих путей (6,7 %) (табл. 1).

При изучении лекарственной чувствительности *A. baumannii* была выявлена высокая устойчивость этих условно-патогенных бактерий к различным классам антибактериальных препаратов (табл. 2). При рассмотрении лекарственной устойчивости к β -лактамам выявлено, что устойчивость *A. baumannii* к пенициллинам в комбинации с бета-лактамами ингибиторами, в част-

ности к ампициллину/сульбактаму, в 2014–16 гг. имела тенденцию к снижению (с 95,5 % в 2014 г. до 74,6 % в 2016 г. ($p \leq 0,0001$)), а устойчивость к пиперациллину/тазобактаму достоверно увеличилась с 64,3 % в 2014 г. до 73,6 % в 2015 г. ($p < 0,01$) и до 98,1 % в 2016 г. ($p \leq 0,0001$).

По отношению к антибиотикам цефалоспоринового ряда выявлено, что в период 2014–16 гг. произошло достоверное ($p \leq 0,0001$) снижение устойчивости к препаратам III поколения – цефтазидиму и цефтриаксону. Так, если в 2014 г. число устойчивых штаммов к цефтазидиму составило 66,1 %, а к цефтриаксону – 93,9 %, то уже в 2016 г. было выявлено 44,3 % устойчивых штаммов к цефтазидиму и 73,8 % – к цефтриаксону, что, вероятно, обусловлено снижением назначения больным цефалоспоринов III поколения в пользу препаратов IV поколения. Число резистентных штаммов *A. baumannii* к препаратам IV поколения, в частности к цефепиму, в 2014–15 гг. было очень высоким – 94,7 и 93,4 %, в 2016 г. увеличилось до 98,3 % ($p \leq 0,01$).

Говоря о чувствительности *A. baumannii* к цефалоспорином следует иметь в виду, что не все полученные *in vitro* данные можно однозначно переносить в лечебную практику. В частности, это касается использования цефтриаксона. Более того, терапия мультирезистентных *A. baumannii*, как правило, осуществляется комбинацией препаратов.

Наиболее важным вопросом при изучении устойчивости *A. baumannii* является наличие или

Таблица 1

Частота выделения *A. baumannii* из различных патологических материалов (2014–16 гг.)

Виды патологических материалов	Частота выделения <i>A. baumannii</i>
Отделяемое из нижних дыхательных путей	386 (40,9 %)
Отделяемое из ран и дренажей	207 (21,9 %)
Моча	63 (6,7 %)
Кровь	150 (15,9 %)
Прочие биоматериалы	136 (14,4 %)
Всего	942 (100 %)

Таблица 2

Устойчивость *A. baumannii* к различным группам антибактериальных препаратов по годам (2014–16 гг.)

Антибиотики	Годы/количество штаммов <i>A. baumannii</i> , резистентных к различным антибиотикам		
	2014 (n=280)	2015 (n=333)	2016 (n=329)
Ампициллин/сульбактам	267 (95,5 %)	308 (92,5 %)	245 (74,6 %)
Пиперациллин/тазобактам	180 (64,3 %)	245 (73,6 %)	322 (98,1 %)
Цефтазидим	185 (66,1 %)	92 (27,5 %)	144 (44,3 %)
Цефтриаксон	263 (93,9 %)	306 (91,8 %)	243 (73,8 %)
Цефепим	265 (94,7 %)	311 (93,4 %)	323 (98,3 %)
Имипенем/циластатин	280 (100 %)	333 (100 %)	329 (100 %)
Меропенем	216 (77,2 %)	280 (84,1 %)	296 (90,0 %)
Ципрофлоксацин	268 (95,8 %)	301 (90,3 %)	302 (91,8 %)
Амикацин	217 (77,7 %)	183 (55,0 %)	299 (91,0 %)
Триметоприм/сульфаметоксазол	176 (62,8 %)	93 (27,9 %)	213 (64,7 %)

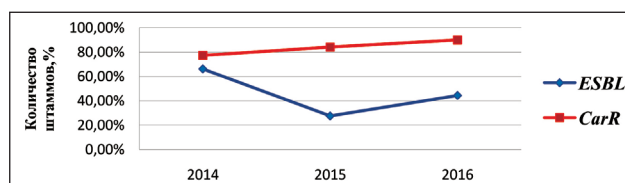


Рис. 4. Динамика выделения ESBL-продуцентов и CarR штаммов *A. baumannii* в 2014–2016 гг.

отсутствие устойчивости к препаратам класса карбапенемов. По нашим данным, количество устойчивых к меропенему штаммов *A. baumannii* увеличилось с 77,2 % в 2014 г. до 84,1 % в 2015 г. ($p < 0,05$) и до 90,0 % в 2016 г. ($p < 0,05$). Разница

между данными 2014 и 2016 гг. статистически значима ($p \leq 0,0001$). По отношению к имипенему сохраняется ситуация, характерная для 2008–12 гг. – штаммы *A. baumannii* были устойчивы к имипенему в 100 % случаев.

За период 2014–2016 гг. произошло нарастание числа устойчивых штаммов к аминогликозидам, в частности к амикацину, с 77,7 % до 91,0 % ($p \leq 0,0001$). Устойчивость *A. baumannii* к фторхинолонам (ципрофлоксацину) была крайне высокой, хотя за исследуемый период отмечено незначительное снижение относительного количества резистентных штаммов – с 95,8 % в 2014 г. до 91,8 % в 2016 г. ($p < 0,05$). Число устойчивых штаммов *A.*

Таблица 3

Минимальные подавляющие концентрации антибактериальных препаратов для *A. baumannii* (красным цветом обозначены МПК, соответствующие резистентности к антибиотику)

№	Патологический материал	Антибактериальные препараты/ Пограничные значения МПК (мг/л) ($\text{Ч} \leq \text{P}$) EUCAST								
		A/S 8/4–16/8	CAZ 8–16	CAX 16–32	CPE 8–16	IM 2–8	MER 2–8	CP 1–1	AK 8–16	T/S 2–4*
1	ОД	>16/8	>16	>32	>16		4	>2	>32	>2/38
2	ОД	>16/8	4	32	>16	>8	>8	>2	>32	<2/38
3	ОНДП	>16/8	>16	>32	>16	>8	>8	>2	>32	<2/38
4	РО	>16/8	>16	>32	>16	>8	>8	>2	>32	>2/38
5	ОНДП	>16/8	>16	>32	>16	>8	>8	>2	>32	>2/38
6	ОД	>16/8	>16	>32	>16		>8	>2	>32	>2/38
7	Кровь	>16/8	16	>32	>16		>8	>2	>32	>2/38
8	ОНДП	>16/8	>16	>32	>16	>8	>8	>2	>32	>2/38
9	ОНДП	>16/8	>16	>32	>16	>8	>8	>2	>32	>2/38
10	ОНДП	>16/8	>16	>16	>16		4	>2	>32	>2/38
11	ОНДП	>16/8	4	32	>16	>8	>8	>2	>32	<2/38
12	РО	$\leq 8/4$	≤ 1	>16	≤ 2		≤ 1	<0,5	<4	<2/38
13	ОД	>16/8	>16	>32	>16		>8	>2	>32	>2/38
14	ОД	>16/8	>16	>32	>16		4	>2	>32	>2/38
15	РО	>16/8	4	32	>16		>8	>2	>32	<2/38
16	ОНДП	>16/8	16	>32	>16	>8	>8	>2	>32	<2/38
17	ОНДП		>16	>32	>16	>8	>8	>2	>16	>2/38
18	Желчь	>16/8	8	32	>16	>8	>8	>2	>32	<2/38
19	ОНДП	>16/8	16	>32	>16	>8	>8	>2	>32	<2/38
20	ОД	>16/8	>16	>16	>16		8	>2	≤ 4	>2/38

Примечание: ОД – отделяемое из дренажей, ОНДП – отделяемое из нижних дыхательных путей, РО – раневое отделяемое, A/S – ампициллин/сульбактам, CAZ – цефтазидим, CAX – цефтриаксон, CPE – цефепим, IMP – имипенем, MER – меропенем, CP – ципрофлоксацин, AK – амикацин, T/S – триметоприм/сульфаметоксазол, * – пограничные значения представлены по триметоприму.

Таблица 4

Продукция карбапенемаз штаммами *A. baumannii*, циркулирующими в онкологической клинике

№	Патологический материал	Вид выделенного микроорганизма	Виды карбапенемаз					
			VIM	IMP	NDM	OXA-23	OXA-40	OXA-58
1	Моча	<i>A. baumannii</i>	–	–	–	+	–	–
2	ОНДП	<i>A. baumannii</i>	–	–	–	+	–	–
3	ОНДП	<i>A. baumannii</i>	–	–	–	+	–	–
4	ОД	<i>A. baumannii</i>	–	–	–	+	–	–
5	ОНДП	<i>A. baumannii</i>	–	–	–	+	–	–
6	ОНДП	<i>A. baumannii</i>	–	–	–	+	–	–

Примечание: ОНДП – отделяемое нижних дыхательных путей, ОД – отделяемое из дренажа.

baumannii к триметоприму/сульфаметоксазолу в 2014 г. составило 62,8 %, в 2015 г. снизилось до 27,9 % ($p \leq 0,0001$), а в 2016 г. снова увеличилось до 64,7 % ($p \leq 0,0001$). Достоверных причин подобной динамики не выявлено. Кроме того, достоверной разницы при сравнении показателей 2014 г. и 2016 г. не выявлено ($p > 0,05$).

Отдельно была проанализирована динамика выявления штаммов, резистентных к цефалоспорином и продуцирующих бета-лактамазы расширенного спектра действия (англ. – *ESBL*) и карбапенем-резистентных (*CarR*) штаммов *A. baumannii* (рис. 4). Произошло достоверное нарастание количества *CarR* штаммов *A. baumannii* с 77,2 % в 2014 г. до 90,0 % в 2016 г. ($p \leq 0,0001$) и снижение количества *ESBL*-продуцирующих *A. baumannii* с 66,1 % до 44,3 % ($p \leq 0,0001$).

Также мы определили значения минимальных подавляющих концентрации (МПК) антибактериальных препаратов для *A. baumannii*. Нами был проведен анализ простой случайной выборки (20 штаммов) *A. baumannii*, продуцирующих бета-лактамазы и карбапенемазы (табл. 3). Из простой случайной выборки двадцати результатов устойчивости *A. baumannii* к антибактериальным агентам почти все образцы имели максимальные значения, превышающие МПК, за исключением бисептола (триметоприм/сульфаметоксазола), к которому не были резистентны 35,0 % штаммов. Однако данные по бисептолу, полученные *in vitro*, нельзя однозначно интерпретировать как возможную клиническую эффективность данного препарата. В целом резистентность штаммов *A. baumannii* была отмечена в 89,4 % случаев, при этом значения МПК в среднем составляли 16–32 мг/л.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Чеботарь И.В., Лазарева А.В., Масалов Я.К., Михайлович В.М., Маянский Н.А. Acinetobacter: микробиологические, патогенетические и резистентные свойства. Вестник РАМН. 2014; 9–10: 39–50. [Chebotar I.V., Lazareva A.V., Masalov Ya.K., Mikhailovich V.M., Mayanskiy N.A. Acinetobacter: Microbiological, Pathogenetic and Resistant Properties. Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2014; 9–10: 39–50. (in Russian)].
2. Григорьевская З.В., Петухова И.Н., Дьякова С.А., Дмитриева Н.В. Эпидемиология внутрибольничных инфекций в онкологическом стационаре. Сибирский онкологический журнал. 2016; 15(3): 62–66. [Grigorievskaya Z.V., Petukhova I.N., Dyakova S.A., Dmitrieva N.V. Epidemiology of hospital-acquired infections caused by highly resistant strains in cancer patients. Siberian Journal of Oncology. 2016; 15(3): 62–66. (in Russian)]. doi: 10.21294/1814-4861-2016-15-3-62-66
3. Дмитриева Н.В., Петухова И.Н., Багирова Н.С. Резистентность микроорганизмов – возбудителей инфекций у онкологических больных. Сопроводительная терапия в онкологии. 2005; 1: 17. [Dmitrieva N.V., Petukhova I.N., Bagirova N.S. The resistance of microorganisms – pathogens in cancer patients. Accompanying Therapy in Oncology. 2005; 1: 17. (in Russian)].
4. Решедько Г.К., Рябкова Е.Л., Фарацук А.Н., Страчунский Л.С., Туркутоков В.Б., Нехаева Г.И., Розанова С.М., Боронина Л.Г., Агапова Е.Д., Марусина Н.Е., Мултых И.Г., Тарабан В.К., Здитовецкий Д.Э., Сарматова Н.И., Тихонов Ю.Г., Поликарпова С.В., Большаков Л.В., Богомолова Н.С., Дмитриева Н.В., Петухова И.Н., Галеева Е.В., Круглов А.Н., Вышецкая Н.Д., Александрова И.А., Белобородова Н.В., Вострикова Т.Ю., Ильина В.Н., Иванова С.Ф., Скальский С.В., Зубарева Н.А., Суборова Т.Н., Кречикова О.И., Щетинин Е.В., Николаева Т.А., Мартянова Н.М., Гудкова Л.В., Ортенберг Э.А., Ушакова М.А., Хасанова С.Г., Габбасова Л.А., Колесник Т.И., Торопова И.А., Палютин Ш.Х., Монахова С.И. Неферментирующие грамотрицательные

Для решения вопроса о назначении антибиотика с учетом МПК следует иметь в виду то, что назначение пациентам максимально разрешенных суточных доз антибиотиков возможно, если минимальная ингибирующая концентрация < 32 мг/л. Если же значение МПК ≥ 32 мг/л, клинического эффекта достигнуто не будет, и назначение такого антибиотика нецелесообразно. При изучении чувствительности *A. baumannii* к карбапенемам было выявлено, что в 95,0 % случаев МПК была выше пограничных значений (> 8 мг/л).

Нами было проведено молекулярно-генетическое определение вида карбапенемаз у циркулирующих в клинике штаммов *A. baumannii* (табл. 4). У всех 6 штаммов *A. baumannii*, исследованных на наличие приобретенных карбапенемаз, была выявлена продукция сериновых карбапенемаз группы ОХА-23.

Заключение

Установлено, что *A. baumannii* сохраняет высокую устойчивость к большому количеству антибактериальных препаратов практически всех классов. Несмотря на применение ампициллина/сульбактама в качестве одного из основных антибиотиков в клинике, произошло достоверное ($p \leq 0,0001$) снижение устойчивости к нему *A. baumannii*. Самая низкая устойчивость в 2016 г. была отмечена по отношению к цефтазидиму (44,3 %) ($p \leq 0,0001$). Однако в большинстве случаев устойчивость *A. baumannii* превышает 90 %. Выявлено достоверное нарастание количества *CarR* штаммов с 77,2 % в 2014 г. до 90,0 % в 2016 г. ($p \leq 0,0001$). А при изучении карбапенемаз установлено, что в клинике выявлены изоляты, продуцирующие карбапенемазы ОХА-23.

возбудители нозокомиальных инфекций в ОРИТ России: проблемы антибиотикорезистентности. Клиническая микробиология и антибактериальная химиотерапия. 2006; 8(3): 243–259. [Reshed'ko G.K., Ryabkova E.L., Farashchuk A.N., Strachunskii L.S., Turkutyukov V.B., Nekhaeva G.I., Rozanova S.M., Boronina L.G., Agapova E.D., Marusina N.E., Mulykh I.G., Taraban V.K., Zdzitovetskii D.E., Sarmatova N.I., Tikhonov Yu.G., Polikarpova S.V., Bol'shakov L.V., Bogomolova N.S., Dmitrieva N.V., Petukhova I.N., Galeeva E.V., Mart'yanova N.M., Kruglov A.N., Vyshelesskaya N.D., Aleksandrova I.A., Beloborodova N.V., Vostrikova T.Yu., Il'ina V.N., Ivanova S.F., Skalskii S.V., Zubareva N.A., Suborova T.N., Krechikova O.I., Shchetinin E.V., Nikolaeva T.A., Mart'yanova N.M., Gudkova L.V., Ortenberg E.A., Ushakova M.A., Khasanova S.G., Gabbasova L.A., Kolesnik T.I., Toropova I.A., Palyutin Sh.Kh., Monakhova S.I. Non-fermentative gram-negative pathogens of nosocomial infections in the ICU of Russia: Problems of antibiotic resistance. Clinical microbiology and antimicrobial chemotherapy. 2006; 8(3): 243–259. (in Russian)].

5. Zeana C., Larson E., Sahni J., Bayuga S.J., Wu F., Della-Latta P. The epidemiology of multidrug-resistant Acinetobacter baumannii: does the community represent a reservoir? Infect Control Hosp Epidemiol. 2003 Apr; 24(4): 275–9. doi: 10.1086/502209.

6. Григорьевская З.В., Петухова И.Н., Багирова Н.С., Шильникова И.И., Терещенко И.В., Григорьевский Е.Д., Дмитриева Н.В. Нозокомиальные инфекции у онкологических больных: проблема нарастающей резистентности грамотрицательных микроорганизмов. Сибирский онкологический журнал. 2017; 16(1): 91–97. [Grigorievskaya Z.V., Petukhova I.N., Bagirova N.S., Shilnikova I.I., Tereshchenko I.V., Grigorievsky E.D., Dmitrieva N.V. Nosocomial infections in cancer patients: problem of gram-negative bacterial resistance. Siberian Journal of Oncology. 2017; 16(1): 91–97. (in Russian)]. doi: 10.21294/1814-4861-2017-16-1-91-97

7. Решедько Г.К., Рябкова Е.Л., Фарацук А.Н., Страчунский Л.С., Туркутоков В.Б., Нехаева Г.И., Розанова С.М., Боронина Л.Г., Агапова

ва Е.Д., Марусина Н.Е., Мултых И.Г., Тарабан В.К., Зозитовецкий Д.Э., Сарматова Н.И., Тихонов Ю.Г., Поликарпова С.В., Большаков Л.В., Богомолова Н.С., Дмитриева Н.В., Петухова И.Н., Галеева Е.В., Круглов А.Н., Вышелевская Н.Д., Александрова И.А., Белобородова Н.В., Вострикова Т.Ю., Ильина В.Н., Иванова С.Ф., Скальский С.В., Зубарева Н.А., Суборова Т.Н., Кречикова О.И., Щетинин Е.В., Николаева Т.А., Мартыанова Н.М., Гудкова Л.В., Ортенберг Э.А., Ушакова М.А., Хасанова С.Г., Габбасова Л.А., Колесник Т.И., Торопова И.А., Палютин Ш.Х., Монахова С.И. Резистентность к антибиотикам грамотрицательных возбудителей нозокомиальных инфекций в ОРИТ многопрофильных стационаров в России. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2008; 10(2): 96–112. [Reshed'ko G.K., Ryabkova E.L., Farashchuk A.N., Strachunskii L.S., Turkutyukov V.B., Nekhaeva G.I., Rozanova S.M., Boronina L.G., Agapova E.D., Marusina N.E., Mulykh I.G., Taraban V.K., Zdzitovetskii D.E., Sarmatova N.I., Tikhonov Yu.G., Polikarpova S.V., Bol'shakov L.V., Bogomolova N.S., Dmitrieva N.V., Petukhova I.N., Galueva E.V., Kruglov A.N., Vyshelskaya N.D., Aleksandrova I.A., Beloborodova N.V., Vostrikova T.Yu., Il'ina V.N., Ivanova S.F., Skal'skii S.V., Zubareva N.A., Suborova T.N., Krechikova O.I., Shchetinin E.V., Nikolaeva T.A., Mart'yanova N.M., Gudkova L.V., Ortenberg E.A., Ushakova M.A., Khasanova S.G., Gabbasova L.A., Kolesnik T.I., Toropova I.A., Palyutin Sh.Kh., Monakhova S.I. Antimicrobial Resistance Patterns of Gram-negative Nosocomial Pathogens in Russian ICUs. Clinical microbiology and antimicrobial chemotherapy. 2008; 10(2): 96–112. (in Russian)].

8. Abbo A., Navon-Venezia S., Hammer-Muntz O., Krichali T., Siegan-Igra Y. Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii*. Emerg Infect Dis. 2005 Jan; 11(1): 22–9. doi: 10.3201/eid1101.040001.

9. Shete V.B., Ghadage D.P., Muley V.A., Bhore A.V. Multy-drug resistant *Acinetobacter* ventilator-associated pneumonia. Lung India. 2010 Oct; 27(4): 217–20. doi: 10.4103/0970-2113.71952.

10. Al-Anazi K.A., Abdalhamid B., Alshibani Z., Awad K., Alzayed A., Hassan H., Alsayieghet M. *Acinetobacter baumannii* Septicemia in a Recipient of an Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. Case Rep Transplant. 2012; 2012: 646195. doi: 10.1155/2012/646195.

11. Григорьевская З.В., Дмитриева Н.В., Петухова И.Н., Дьякова С.А. Особенности течения инфекционных осложнений, вызванных панрезистентными *Acinetobacter baumannii* у онкологических больных. Сибирский онкологический журнал. 2011; 6: 14–18. [Grigoryevskaya Z.V., Dmitrieva N.V., Petukhova I.N., Dyakova S.A. Infectious complications caused by pandrug resistant strain of *acinetobacter baumannii* in cancer patients. Siberian Journal of Oncology. 2011; 6: 14–18. (in Russian)].

12. Дмитриева Н.В., Григорьевская З.В., Дьякова С.А., Ключникова И.А., Петухова И.Н. Разработка стратегических подходов терапии инфекций, вызванных мультирезистентными *Acinetobacter baumannii*. Сибирский онкологический журнал. 2012; 4: 11–19. [Dmitrieva N.V., Grigoryevskaya Z.V., Dyakova S.A., Klyuchnikova I.A., Petukhova I.N. Development of strategic approaches to therapy of infections caused by multiresistant *acinetobacter baumannii*. Siberian Journal of Oncology. 2012; 4: 11–19. (in Russian)].

13. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2016. [Internet]. URL: <http://www.ecdc.europa.eu>. (cited 01.04.2019).

14. European Centre for Disease Prevention and Control. Carbapenemase-producing bacteria in Europe, 2013. Technical Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). Stockholm: ECDC. 2013. 51.

Поступила/Received 15.05.18
Принята в печать/Accepted 28.06.18

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Дмитриева Наталья Владимировна, доктор медицинских наук, профессор, руководитель лаборатории микробиологической диагностики и лечения инфекций в онкологии, ФГБУ «РОНЦ им. Блохина» (г. Москва, Россия). E-mail: prof.ndmitrieva@mail.ru. SPIN-код: 4727-2018. AuthorID (РИНЦ): 243733. Author ID (Scopus): 56338598600.

Эйдельштейн Михаил Владимирович, кандидат биологических наук, заведующий лабораторией антибиотикорезистентности, НИИ антимикробной химиотерапии, ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Смоленск, Россия).

Агинова Виктория Викторовна, преподаватель профессионального модуля «Проведение лабораторных микробиологических и иммунологических исследований» ГБПОУ ДЗ г. Москвы «Медицинский колледж № 1»; ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия).

Григорьевская Злата Валерьевна, доктор медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории микробиологической диагностики и лечения инфекций в онкологии, ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 4416-5191. AuthorID (РИНЦ): 710236. Author ID (Scopus): 57200538935.

Петухова Ирина Николаевна, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории микробиологической диагностики и лечения инфекций в онкологии, ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 1265-2875. AuthorID (РИНЦ): 710090. Author ID (Scopus): 6701329760.

Терещенко Инна Васильевна, научный сотрудник лаборатории микробиологической диагностики и лечения инфекций в онкологии, ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 3185-9586. AuthorID (РИНЦ): 929834. Author ID (Scopus): 57193277015.

Багирова Наталья Сергеевна, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории микробиологической диагностики и лечения инфекций в онкологии, ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 1991-2017. AuthorID (РИНЦ): 266234. Author ID (Scopus): 6603332319.

Дьякова Светлана Андреевна, врач-бактериолог лаборатории микробиологической диагностики и лечения инфекций в онкологии, ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия).

Калинчук Татьяна Алексеевна, врач-бактериолог лаборатории микробиологической диагностики и лечения инфекций в онкологии, ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия).

Дмитриева Анна Игоревна, статист лаборатории микробиологической диагностики и лечения инфекций в онкологии, ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия).

Шек Евгений Александрович, аспирант, Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского; младший научный сотрудник, НИИ антимикробной химиотерапии, ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Смоленск, Россия).

Склеенова Елена Юрьевна, научный сотрудник, НИИ антимикробной химиотерапии, ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Смоленск, Россия).

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы объявляют, что у них нет конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Natalia V. Dmitrieva, MD, DSc, Professor, Head of the Laboratory of Microbiological Diagnostics and Management of Infections in Cancer Patients, N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center (Moscow, Russia). E-mail: prof.ndmitrieva@mail.ru. Author ID (Scopus): 56338598600.

Mikhail V. Eidelstein, PhD, Head of Antibiotic Resistance Laboratory, Research Institute of Antimicrobial Chemotherapy, Smolensk State Medical University (Smolensk, Russia).

Viktoria V. Aginova, Lecturer, Medical college №1 (Moscow, Russia).

Zlata V. Grigorievskaya, MD, DSc, Senior Researcher, Laboratory of Microbiological Diagnostics and Management of Infections in Cancer Patients, N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center (Moscow, Russia). Author ID (Scopus): 57200538935.

Irina N. Petukhova, MD, DSc, Leading Researcher, Laboratory of Microbiological Diagnostics and Management of Infections in Cancer Patients, N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center (Moscow, Russia). Author ID (Scopus): 6701329760.

Inna V. Tereshchenko, Researcher, Laboratory of Microbiological Diagnostics and Management of Infections in Cancer Patients, N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center (Moscow, Russia). Author ID (Scopus): 57193277015.

Natalia S. Bagirova, MD, DSc, Leading Researcher, Laboratory of Microbiological Diagnostics and Management of Infections in Cancer Patients, N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center (Moscow, Russia). Author ID (Scopus): 6603332319.

Svetlana A. Dyakova, Bacteriologist, Laboratory of Microbiological Diagnosis and Treatment of Infections in Oncology, N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center (Moscow, Russia).

Tatiana A. Kalinchuk, Bacteriologist, Laboratory of Microbiological Diagnosis and Treatment of Infections in Oncology, N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center (Moscow, Russia).

Anna I. Dmitrieva, Statistician of the Laboratory of Microbiological Diagnosis and Treatment of Infections in Oncology, N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center (Moscow, Russia).

Evgeny A. Shek, Postgraduate, Research Institute of Antimicrobial Chemotherapy, Smolensk State Medical University (Smolensk, Russia).

Elena Yu. Skleenova, Researcher, Research Institute of Antimicrobial Chemotherapy, Smolensk State Medical University (Smolensk, Russia).

Funding

This study required no funding.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

DOI: 10.21294/1814-4861-2019-18-3-34-44

УДК: 616-006.484-091.8:577.21

Для цитирования: Мацко М.В., **Мацко Д.Е.**, Волков Н.М., Улитин А.Ю., Моисеенко В.М., Имянитов Е.Н., Иевлева А.Г. Морфологические и молекулярно-генетические особенности первичных глиобластом у пациентов с необычно высокой продолжительностью жизни. Сибирский онкологический журнал. 2019; 18(3): 34–44. – doi: 10.21294/1814-4861-2019-18-3-34-44.

For citation: Matsko M.V., **Matsko D.E.**, Volkov N.M., Ulitin A.Yu., Moiseenko V.M., Imyaninov E.N., Iyevleva A.G. Morphologic and molecular features of primary glioblastoma in patients surviving more than 3 years. Siberian Journal of Oncology. 2019; 18(3): 34–44. – doi: 10.21294/1814-4861-2019-18-3-34-44.

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПЕРВИЧНЫХ ГЛИОБЛАСТОМ У ПАЦИЕНТОВ С НЕОБЫЧНО ВЫСОКОЙ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬЮ ЖИЗНИ

М.В. Мацко^{1,2,3,4}, **Д.Е. Мацко^{1,2,3,4}**, Н.М. Волков^{2,4}, А.Ю. Улитин^{1,6}, В.М. Моисеенко^{2,4},
Е.Н. Имянитов^{3,5,6,7}, А.Г. Иевлева^{5,7}

«РНХИ им. проф. А.Л. Поленова» – филиал ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России,
г. Санкт-Петербург, Россия¹

Россия, г. Санкт-Петербург, 191014, ул. Маяковского, 12. E-mail: marinamatsko@mail.ru¹

ГБУЗ «Санкт-Петербургский клинический научно-практический центр специализированных
видов медицинской помощи (онкологический)», г. Санкт-Петербург, Россия²

Россия, г. Санкт-Петербург, 197758, пос. Песочный, ул. Ленинградская, 68а²

Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург, Россия³

Россия, г. Санкт-Петербург, 199034, Университетская набережная, 7/9³

ЧОУ ВПО «Санкт-Петербургский медико-социальный институт», г. Санкт-Петербург, Россия⁴

Россия, г. Санкт-Петербург, 195271, просп. Кондратьевский, 72а⁴

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, г. Санкт-Петербург, Россия⁵

Россия, г. Санкт-Петербург, 197758, пос. Песочный, ул. Ленинградская, 68⁵

ГБОУ ВПО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова»
Минздрава России, г. Санкт-Петербург, Россия⁶

Россия, г. Санкт-Петербург, 195067, пр. Пискаревский, 47⁶

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет»
Минздрава России, г. Санкт-Петербург, Россия⁷

Россия, г. Санкт-Петербург, 194100, ул. Александра Матросова, 22⁷

Аннотация

Первичная глиобластома (ГБ) – опухоль ЦНС, которая характеризуется быстрым течением и агрессивным поведением. Длительная продолжительность жизни пациентов с первичной ГБ является редким феноменом. По данным большинства исследователей, под «долгоживущими» пациентами с ГБ подразумеваются больные с продолжительностью жизни 3 года и более. В литературе указываются различные факторы, которые могут способствовать такой выживаемости. **Цель исследования** – проведение сравнительной оценки демографических, клинических, морфологических, иммуногистохимических и молекулярных особенностей первичной ГБ у пациентов с различной выживаемостью. **Материал и методы.** Авторами выполнено проспективное исследование 69 пациентов с первичной ГБ, наблюдавшихся в РНХИ им. проф. А.Л. Поленова с 2009 г. В рамках данной работы оценивались клинические характеристики больных, а также был выполнен анализ ряда морфологических (Ki67, P53, INA, EGFR) и молекулярно-генетических параметров (экспрессия РНК генов MGMT, VEGF, PDGFRA; мутации в генах IDH1/2; ко-делеция 1p/19q). **Результаты.** Продолжительность жизни более трёх лет наблюдалась у 11 (15,9 %) пациентов. В качестве позитивных прогностических факторов выступали молодой возраст больного ($p=0,002$), использование интенсивной терапии темозоломидом (6 и более курсов) в первой линии ($p=0,016$), проведение второй линии терапии ($p=0,017$), а также низкий уровень экспрессии гена MGMT в опухолевой ткани ($p=0,038$). Другие изучаемые показатели, такие как пол больных, уровень экспрессии генов VEGF и PDGFRA, наличие мутации в гене IDH1, сочетанная делеция 1p/19q, а также иммуногистохимические маркеры Ki67, p53, INA, EGFR не были ассоциированы с выживаемостью свыше 3 лет ($p>0,05$). **Заключение.** Таким образом, относительно благоприятное течение первичной ГБ ассоциировано с определёнными клиническими и биологическими особенностями данного заболевания. Высокий уровень 3-летней

выживаемости больных с первичной ГБ в нашем исследовании объясняется в первую очередь индивидуальным подходом к лечению и интенсивной химиотерапевтической тактикой (от 6 до 15 циклов ХТ темозоломидом в первой линии и проведение второй линии терапии) в отличие от стандартных, ограниченных по длительности терапии, протоколов лечения.

Ключевые слова: глиобластома, продолжительность жизни при глиобластоме, прогностические факторы при глиобластоме, IDH1/2, MGMT, VEGF, PDGFRA.

MORPHOLOGIC AND MOLECULAR FEATURES OF PRIMARY GLIOBLASTOMA IN PATIENTS SURVIVING MORE THAN 3 YEARS

M.V. Matsko^{1,2,3,4}, D.E. Matsko^{1,2,3,4}, N.M. Volkov^{2,4}, A.Yu. Ulitin^{1,6}, V.M. Moiseenko^{2,4}, E.N. Imyanitov^{3,5,6,7}, A.G. Iyevleva^{5,7}

Polenov Russian Neurosurgical Institute – the branch of Almazov NMRC, St. Petersburg, Russia¹

12, Mayakovsky Street, 191014-St. Petersburg, Russia. E-mail: marinamatsko@mail.ru¹

Clinical Scientific-Practical Center of Oncology, St. Petersburg, Russia²

68a, Leningradskaya Street, 197758-St. Petersburg, Russia²

Saint-Petersburg State University, St. Petersburg, Russia³

7/9, Universitetskaya Naberezhnaya, 199034-St. Petersburg, Russia³

Saint-Petersburg Medico-Social Institute, St. Petersburg, Russia⁴

72a, Kondratyevsky Ave, 195271-St. Petersburg, Russia⁴

N.N. Petrov NMRC of Oncology, St. Petersburg, Russia⁵

68a, Leningradskaya Street, 197758-St. Petersburg, Russia⁵

I.I. Mechnikov North-Western Medical University, St. Petersburg, Russia⁶

47, Piskarevsky Ave., 195067-St. Petersburg, Russia⁶

Saint-Petersburg State Pediatric Medical University, St. Petersburg, Russia⁷

22, Alexandra Matrosova Street, 194100-St. Petersburg, Russia⁷

Abstract

Primary glioblastoma (GB) is a rapidly progressing central nervous system tumor with aggressive biological behavior. Long-term glioblastoma survival, defined as survival beyond 3 years, is a rare phenomenon. Various factors contributing to such prolonged lifespan have been proposed. **Aim.** This study aimed to compare demographic, clinical, morphologic, immunohistochemical and molecular features of primary GB in patients with different survival. **Material and Methods.** This prospective study included 69 patients, who were treated at A.L. Polenov Neurosurgery institute. The analysis considered clinical, morphologic, immunohistochemical (Ki67, P53, INA, EGFR) and genetic (MGMT, VEGF and PDGFRA gene expression; IDH1/2 mutational status, 1p/19q co-deletion) characteristics of the disease. **Results.** 11 (15.9 %) patients survived beyond 3 years. Prolonged survival was associated with younger patient age ($p=0.002$), use of more than 6 cycles of temozolomide in the 1st line therapy ($p=0.016$), use of the 2nd line therapy ($p=0.017$) and low level of MGMT expression in the tumor tissue ($p=0.038$). Other factors including patients' gender, VEGF and PDGFRA mRNA expression levels, IDH1 mutation, 1p/19q deletion, and the immunohistochemical markers Ki67, p53, INA, EGFR, were not associated with prolonged survival ($p>0.05$). **Conclusion.** Prolonged survival in GB patients is a non-random event and can be explained by several clinical and biological factors. A high percentage of 3-year survival of GB patients in our study may be explained by an individual approach to treatment and intensive chemotherapeutic tactics (from 6 to 15 cycles of temozolomide in the 1st line therapy and use of the 2nd line therapy), as opposed to standard short treatment protocols.

Key words: glioblastoma, survival, prognostic factors, IDH1/2, MGMT, VEGF, PDGFRA.

Первичная глиобластома (ГБ) у взрослых – злокачественная опухоль головного мозга с самой низкой медианой продолжительности жизни (10–16 мес) среди всех новообразований данной локализации [1–4]. В общей онкологической практике принято оценивать 5-летнюю выживаемость, однако для первичной ГБ этот подход представляется недостаточно адекватным. В научной литературе под «долгоживущими» пациентами с ГБ подразумеваются больные, продолжительность жизни которых составляет 1–5 лет [5–14].

При этом большинство исследователей считает более правильным использовать 3-летний порог для определения этого понятия [15–18].

Для объяснения возможных причин такой продолжительности жизни недостаточно благоприятного сочетания прогностических факторов, которые традиционно оцениваются нейрохирургами: возраст пациента, функциональный статус по шкале Карновского, локализация опухоли, степень радикальности оперативного вмешательства [17, 19–22]. Следует отметить, что не все эти факторы

строго влияют на продолжительность жизни у больных с ГБ [9, 19, 23]. Зачастую у радикально прооперированных пациентов с удовлетворительным функциональным статусом, вовремя получивших необходимый объем лечения (лучевая и химиотерапия), развивается ранний рецидив. С другой стороны, больные, которым выполнялось только частичное удаление опухоли или стереотаксическая биопсия, также с последующей лучевой (ЛТ) и химиотерапией (ХТ), иногда могут демонстрировать лучшие показатели выживаемости, чем больные с радикально удаленными новообразованиями [18, 23, 24–27]. Помимо вышеупомянутых клинических прогностических факторов, в настоящее время активно изучается влияние ряда молекулярно-генетических опухолевых характеристик на прогноз заболевания при первичной ГБ. В первую очередь, к таким характеристикам относится статус гена O(6)-метилгуанин-ДНК метилтрансферазы (MGMT): низкая экспрессия MGMT, обусловленная метилированием промотора данного гена, ассоциирована с лучшим ответом на терапию темозоломидом [5, 28–33].

При оценке молекулярных характеристик ГБ обычно оценивается статус соматических мутаций в генах IDH1 и IDH2, кодирующих изоцитратдегидрогеназы 1 и 2, соответственно [34]. Мутации IDH1/2 приводят к образованию онкогенного метаболита 2-гидроксиглутарата, это способствует формированию так называемого «метилиаторного» фенотипа опухоли (Glioma CpG Island Methylator phenotype, G-CIMP), который ассоциирован с лучшим прогнозом при глиомах [35–38]. Данные мутации встречаются с высокой частотой в диффузных и анапластических астроцитомах GII/GIII (60–90 %), олигодендроглиомах GII/GIII (88–100 %) и вторичных ГБ (62–84 %) [35, 36, 39, 40]. Частота повреждений IDH1/2 в первичных ГБ намного ниже: от 2 % до 12 % в европейской популяции [18, 34–36, 39–48, 50] и около 16 % у пациентов из Китая [49]. Присутствие мутации IDH1/2 не является обязательным условием высокой (более 3 лет) продолжительности жизни у больных с первичной ГБ; тем не менее, по данным нескольких крупных исследований, среди «долгоживущих» пациентов их частота достигает 23–34 % [27, 48].

Делеция протяженных участков хромосом 1 и 19 в результате несбалансированной транслокации между этими хромосомами (ко-делеция 1p/19q) — ещё один важный для глиом молекулярный параметр. Ко-делеция 1p/19q в первичных ГБ — событие достаточно редкое [50]. Имеются значительные расхождения в оценках прогностической значимости сочетанной делеции 1p/19q [27, 51–53].

Материал и методы

Проведено проспективное исследование 69 пациентов старше 18 лет с супратенториальными первичными глиобластомами. Всем больным вы-

полнялось оперативное вмешательство с разным объемом циторедукции — от стереотаксической биопсии (СТБ) до макроскопически тотального удаления опухоли. Больным после операции проводилась ЛТ (с темозоломидом или без) и ХТ (табл. 1). Под «интенсивной ХТ» понималось проведение 6 и более циклов терапии темозоломидом, а под «стандартной ХТ» — от 2 до 5 циклов [23]. При наступлении рецидива заболевания больные в большинстве случаев повторно оперировались с последующим проведением ЛТ или радиохирургии, а также 2-й/3-й линий терапии.

Гистологический диагноз ставился в соответствии с классификациями ВОЗ опухолей ЦНС (2007/2016). Иммуногистохимическое исследование (ИГХ) выполнялось с использованием антител GFAP (poly, DakoCytomation), Ki67 (MIB-1, DakoCytomation), P53 (DO-7, DakoCytomation), EGFR (EP38Y, BioGenex), INA (poly, BioGenex), при необходимости — Syn (27G12, DakoCytomation), NSE (BBS/NC/VI-H14, DakoCytomation), NB (NB84A, Leica). При оценке цитоплазматического окрашивания антителами GFAP и EGFR использовались полуколичественным методом: 0 — окрашивание отсутствует, 1+ — слабое окрашивание, 2+ — умеренное окрашивание, 3+ — интенсивное окрашивание. При ядерном окрашивании (антитела Ki67, P53 и INA) определялся процент окрашенных клеток к их общему числу.

Относительная экспрессия мРНК генов MGMT, VEGF, PDGFRA определялась в архивном гистологическом материале при помощи полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени. Пороговые уровни для разграничения низкой, средней и высокой экспрессии каждого гена (выраженные в ΔCt относительно гена-нормализатора SDHA) определялись как 20 и 80 перцентилей значений относительной экспрессии соответствующих генов в группе из 50 солидных опухолей, отобранных случайным образом. Мутации в генах IDH1 (экзон 4) и IDH2 (экзон 4) в опухолевой ткани детектировали при помощи анализа кривых плавления ПЦР-продуктов с высоким разрешением (HRMA — High Resolution Melting Analysis) с последующим секвенированием ДНК. Сочетанная делеция 1p/19q определялась путем оценки потери гетерозиготности по 12 однонуклеотидным заменам на участках хромосом 1p36 и 19q13. Присутствие ко-делеции 1p/19q устанавливалось в случае потери гетерозиготности по всем информативным (гетерозиготным) маркерам в образце ДНК, выделенной из опухолевого материала, при наличии не менее 1 информативного маркера на каждой хромосоме. Информативность (гетерозиготность) маркеров оценивалась в образце ДНК, выделенной из лимфоцитов периферической крови.

Оценка эффективности терапии осуществлялась по данным МРТ с контрастным усилением после каждых двух циклов химиотерапии и каждые

Таблица 1

**Сравнительная характеристика двух групп пациентов с первичной ГБ
(с выживаемостью до 3 лет и более 3 лет)**

Клинические характеристики	Выживаемость <36 мес (n=58)	Выживаемость >36 мес (n=11)	p
Пол			0,484
Мужчины	25 (43,1 %)	6 (54,5 %)	
Женщины	33 (56,9 %)	5 (45,5 %)	
Возраст (средний)	54 (95 % CI, 52–57)	44 (95 % CI, 37–51)	0,002
Химиотерапия в первой линии			
Темозоломид			
2–5 циклов	21 (36,2 %)	1 (9,1 %)	
6–15 циклов	20 (34,5 %)	9 (81,9 %)	0,016
PCV	5 (8,6 %)	0 (0 %)	
Другое	2 (3,5 %)	1 (9,1 %)	
Без ХТ	10 (17,2 %)	0 (0 %)	
Молекулярно-генетические характеристики			
Уровень экспрессии гена MGMT			
Низкий	18 (31,0 %)	5 (45,5 %)	0,384
Средний	33 (56,9 %)	6 (54,5 %)	
Высокий	7 (12,1 %)	0 (0 %)	
Уровень экспрессии гена VEGF			0,755
Низкий	0 (0 %)	0 (0 %)	
Средний	13 (22,4 %)	2 (18,2 %)	
Высокий	45 (77,6 %)	9 (81,8 %)	
Уровень экспрессии гена PDGFRA			0,127
Низкий	5 (9,1 %)	0 (0 %)	
Средний	31 (56,4 %)	9 (90 %)	
Высокий	19 (34,5 %)	1 (10 %)	
Мутация в генах IDH1/2			0,287
Да	2 (3,4 %)	1 (9,1 %)	
Нет	47 (81,0 %)	10 (90,9 %)	
Нет данных	9 (15,5 %)	0 (0 %)	
Ко-делеция 1p19q			0,639
Да	0 (0 %)	0 (0 %)	
Нет	36 (62,1 %)	6 (54,5 %)	
Нет данных	22 (37,9 %)	5 (45,5 %)	
Иммуногистохимические характеристики			
Ki67 (среднее значение)	27,4 (95 % CI, 23–31)	21 (95 % CI, 16–25)	0,156
P53 (среднее значение)	29 (95 % CI, 16–41)	24,3 (95 % CI, 9–39)	0,742
INA			0,298
Окраска отрицательная	0 (0 %)	0 (0 %)	
1+	5 (8,6 %)	2 (18,2 %)	
2+	1 (1,7 %)	0 (0 %)	
3+	3 (5,2 %)	2 (18,2 %)	
Нет данных	49 (84,5 %)	7 (63,6 %)	
EGFR			0,067
Окраска отрицательная	0 (0 %)	1 (9,1 %)	
1+	5 (8,6 %)	2 (18,2 %)	
2+	3 (5,2 %)	0 (0 %)	
3+	4 (6,9 %)	2 (18,2 %)	
Нет данных	46 (79,3 %)	6 (54,5 %)	

2–4 мес после ее окончания по критериям RANO (Response Assessment in Neuro-Oncology Working Group) [54]. Некоторые пациенты обследовались при помощи ПЭТ с метионином с целью оценки эффективности проведенного лечения и для исключения псевдопрогрессии опухоли.

Статистическая обработка данных проводилась с использованием программного обеспечения SPSS Version 17.00. Значимость различий качественных признаков в сравниваемых группах оценивалась с использованием χ^2 Пирсона или точного теста Фишера. Выживаемость пациентов была проанализирована методом Каплан – Мейера.

Результаты

Продолжительность жизни 3 года и более наблюдалась у 11 (15,9 %) пациентов (табл. 1). Детальные клинические характеристики больных с длительной продолжительностью жизни представлены в табл. 2. У больных с выживаемостью 3 года и более средний возраст составил 44 года (95 % CI, 37–51) по сравнению с 54 годами (95 % CI, 52–57) у пациентов, проживших менее 3 лет ($p=0,002$, t-критерий Стьюдента) (табл. 1). Первая линия лекарственной терапии была проведена 48 пациентам из группы сравнения и всем 11 пациентам с высокой продолжительностью жизни. Темозоломид получали 51/59 (86,4 %) больных, причем интенсивный режим ХТ этим препаратом (6–15 циклов) проводился значительно чаще пациентам с выживаемостью более 3 лет (9/11, 81,8 % vs 20/48, 41,7 %, $p=0,016$, χ^2 Пирсона). Проведена оценка влияния второй линии терапии на выживаемость более 3 лет. Пациенты с выживаемостью менее 3 лет получали лекарственную терапию во второй линии в 48,3 % (28/58) случаев, тогда как в группе больных с выживаемостью 3 года и более – в 90,9 % (10/11) случаев, статистическая разница в группах – $p=0,017$ (тест Фишера).

В группе «долгоживущих» больных уровень экспрессии MGMT был ниже, чем у пациентов,

проживших менее 3 лет (средние значения показателя delta Ct составили 3,6 и 2,5 соответственно, $p=0,038$, t-критерий Стьюдента). Примечательно, что среди «долгоживущих» пациентов высокая экспрессия MGMT не наблюдалась ни в одном из случаев (табл. 1, 3). При низком уровне MGMT (при терапии темозоломидом) безрецидивный период был длительнее в обеих группах (рис. 1).

Другие изучаемые показатели, такие как пол больных, уровень экспрессии генов VEGF и PDGFRA, наличие мутации в гене IDH1, сочетанная делеция 1p/19q, а также иммуногистохимические маркеры Ki67, p53, INA, EGFR, не были ассоциированы с выживаемостью свыше 3 лет (табл. 1). Уровень экспрессии сосудисто-эндотелиального фактора роста (VEGF) у пациентов обеих групп был чаще высоким: в группе с выживаемостью более 3 лет – в 81,8 % случаев и в 77,6 % – в группе сравнения (табл. 1). Данные о высокой экспрессии VEGF соответствовали наличию пролиферации сосудов и их эндотелия в опухоли. У длительно живущих больных высокий уровень мРНК PDGFRA наблюдался реже, чем в группе сравнения (10 % vs. 34,5 %). Мутация в гене IDH1 (R132H) была выявлена у 3 из 60 (5 %) протестированных больных. В группе пациентов с длительной выживаемостью мутация наблюдалась только в одном случае из 11 (9,1 %), а в группе сравнения – в 2 из 49 (4,1 %). Сочетанная делеция 1p/19q не была обнаружена ни в одном из 42 протестированных случаев.

В группе «долгоживущих» больных с ГБ при гистологическом исследовании пролиферация сосудов и эндотелия была выявлена более чем в половине наблюдений (табл. 3). В подавляющем числе образцов имелись некрозы. Индекс пролиферативной активности чаще не превышал 20 % и только в 3 случаях составил от 22 до 35 %. ИГХ-окрашивание опухолевых клеток антителами P53, EGFR, INA проводилось в части случаев (табл. 3).

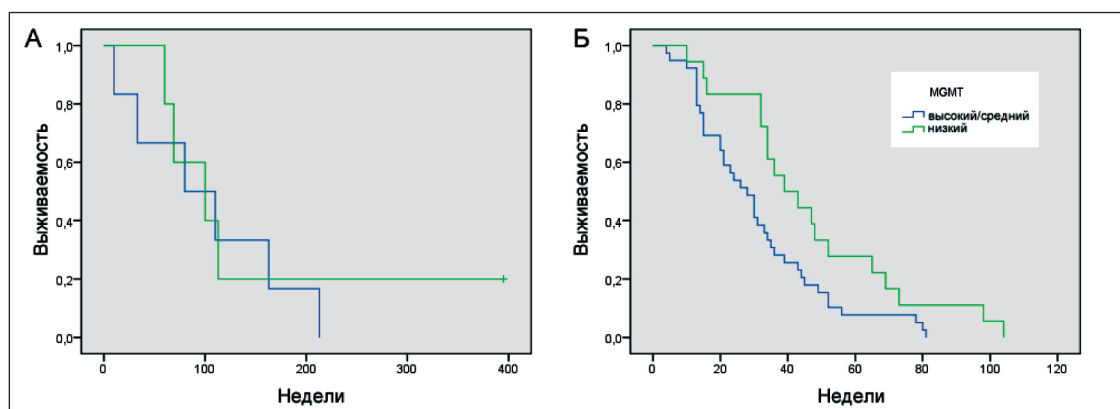


Рис. 1. Выживаемость больных с первичной ГБ в зависимости от уровня экспрессии гена MGMT. Метод Каплан – Мейера: А – безрецидивная выживаемость после первой операции у больных с выживаемостью 3 года и более (11 больных); Б – безрецидивная выживаемость после первой операции у больных с выживаемостью менее 3 лет (57 больных)

Обсуждение

Высокая продолжительность жизни у больных с ГБ – редкий и во многом не объясненный феномен. Существенно, что для достижения более чем 3-летней выживаемости недостаточно наличия известных благоприятных прогностических признаков: молодого возраста, наличия мутации в генах IDH1/2, высокого функционального статуса по шкале Карновского (который, по сути, дает лишь возможность полноценно пролечить больного) и

других. Даже при сочетании всех этих благоприятных факторов пациент может не прожить и года с момента установления диагноза.

Однозначного ответа на вопрос о том, какие именно факторы в наибольшей степени влияют на выживаемость больных с ГБ свыше 3 лет, пока нет. В ряде исследований продемонстрировано, что высокой продолжительности жизни способствуют более радикальное хирургическое вмешательство, молодой возраст, женский пол, высокий

Таблица 2

Клиническая характеристика пациентов с первичной ГБ и выживаемостью более 3 лет

№	Возраст	Пол	Локализация опухоли	ИК	Объем операции	Первая линия терапии		Лечение после рецидива			БРП 1/2	ОВ
						ЛТ	ХТ	операция	ЛТ	терапия, 2/3 линии		
1	48	м	Четверохолмие	50	СТБ	54 Гр+Тем	Тем 14 циклов (ПО)	Нет	40 Гр	Ава+Ири 6 циклов	23 мес	36 мес 1 нед
2	39	м	Левая ЛД	90	СТБ	62 Гр+Тем	Тем 15 циклов (ПО)	Нет	Нет	Нет	Не достигнута > 91 мес	Не достигнута
3	54	м	Левая ТД (3 очага)	70	ТУ	35 Гр	Тем 9 циклов	Да	40 Гр	Тем +Ава 9 циклов	18 мес 2 нед/10 мес 1 нед	40 мес
4	37	ж	Правая ВД	70	ТУ	60 Гр	Тем 6 циклов	Да	50 Гр	Тем 5 циклов	16 мес/7 мес	36 мес 1 нед
5	40	ж	Левая ЗД	80	ЧУ	60 Гр+Тем	Тем 6 циклов (ПО)	Да	Кибер нож	Тем 8 циклов/Ава+Ири 9 циклов/вакциноterapia/Ава+Тем	26 мес/24 мес/12 мес	Не достигнута > 75 мес
6	53	м	Правая ЛД	80	Б	66 Гр	Дак + Карбо 8 циклов (ЧО)	Да	Кибер нож	Тем 9 циклов/Ава+Ири 12 циклов	14 мес/8 мес	41 мес 1 нед
7	60	м	Левая ТД	90	СУ	60 Гр+Тем	Тем 11 циклов (ПО)	Нет	Кибер нож	Тем 10 циклов	25 мес 2 нед	38 мес 2 нед
8	27	ж	Левая ВД, ОД, гиппокамп, МТ	80	СТБ	61 Гр	Тем 13 циклов (ПО)	Нет	Нет	Тем 4 цикла/Докс-нано	49 мес	57 мес 3 нед
9	56	ж	Левая ЛД	80	ЧУ	60 Гр+Тем	Тем 6 циклов (ПО)	Да	48 Гр+Тем	Тем 4 цикла	37 мес 3 нед	Не достигнута > 47 мес
10	46	м	Левая ТД и левая ЗД	80	ТУ	62 Гр+Тем	Тем 6 циклов	Да	40 Гр	Ава+Ири 11 циклов/Тем 6 циклов	7 мес 3 нед/15 мес	44 мес 2 нед
11	32	ж	МТ, обе ЛД	70	ЧУ	51 Гр	Тем 2 цикла (ПР)	Да	Нет	PCV 6 циклов	2 мес 2 нед/22 мес	Не достигнута > 38 мес

Примечания: ИК – индекс Карновского; ЛТ – лучевая терапия; ХТ – химиотерапия; БРП – безрецидивный период; ОВ – общая выживаемость; СТБ – стереотаксическая терапия; Гр – Грей; Тем – Темозоломид; Ава – Авастин; Ири – Иринотекан; ПО – полный ответ (на ХТ); ЛД – лобная доля; ТД – теменная доля; ТУ – тотальное удаление; ВД – височная доля; ЗД – затылочная доля; ЧУ – частичное удаление; Б – биопсия; Дак – дакарбазин; Карбо – карбоплатин; ЧО – частичный ответ; СУ – субтотальное удаление; ОД – островковая доля; МТ – мозолистое тело; Докс – доксорубин; ПР – продолженный рост; PCV – прокарбазин+ломустин+винкристин.

функциональный статус по шкале Карновского, локализация опухоли вне субвентрикулярной зоны, метилирование промотора гена MGMT, наличие мутации в гене IDH1 или IDH2 [14, 16, 17, 27, 52, 55]. В других работах эти ассоциации не подтверждаются [1, 6, 9, 56]. Согласно большинству опубликованных данных, наиболее значимыми для выживаемости свыше 3 лет являются возраст, функциональный статус по шкале Карновского и статус гена MGMT [14, 27, 51, 56–58].

Одним из существенных моментов для достижения высокой продолжительности жизни, вероятно, является чувствительность опухоли к терапии темозоломидом, причем для хорошего ответа на лечение важна низкая активность гена MGMT. В нашем исследовании уровень мРНК MGMT был в целом ниже у пациентов с высокой продолжительностью жизни; кроме того, показатели экспрессии у всех 11 больных данной группы относились к категории низкой или средней экспрессии. Весьма важным остается вопрос об оптимальном методе определения активности гена MGMT, которых существует достаточно много: ИГХ, пиросеквенирование, метил-чувствительная ПЦР (MSP) и

её модификации, метил-чувствительный анализ кривых плавления, техника MethyLight и др. [59]. Наиболее распространенной является оценка метилирования промотора гена MGMT при помощи метил-чувствительной ПЦР (MSP). Используемый в нашей работе метод – определение уровня мРНК методом ПЦР в режиме реального времени, – на наш взгляд, является адекватным, так как помимо метилирования учитывает и иные возможные механизмы регуляции экспрессионной активности гена.

Не в полной мере изучено влияние на долгосрочную выживаемость у больных с ГБ мутаций в генах IDH1/2, наличие или отсутствие которых необходимо указывать в окончательном диагнозе, согласно новой классификации ВОЗ (2016). Данные мутации ассоциированы с особым вариантом патогенеза опухолей, характеризующимся глобальным гиперметилированием, особым экспрессионным паттерном и своеобразным набором хромосомных перестроек [16, 61–62]. Мутации IDH1/2 часто встречаются при вторичных ГБ (до 85 %) и редко (менее 10 %) – при первичных; они связаны с хорошим прогнозом заболевания [18, 34–48]. В двух больших исследованиях, включивших 67 и 35

Таблица 3

Морфо-молекулярная характеристика пациентов с первичной ГБ и выживаемостью более 3 лет

№	Возраст/ пол	Морфологические данные		Иммуногистохимия				Мутации IDH1/2	Экспрессия мРНК			Кодирование 1p19q
		пролиферация сосудов / эндотелия	некроз	Ki67 (%)	P53 (%)	EGFR	INA		MGMT	VEGF	PDGFRA	
1	48/м	- / +	+	12	Н.д.	Н.д.	Н.д.	Нет	Низкий (4.6)	Высокий	Средний	Н.д.
2	39/м	- / +	-	18	Н.д.	Н.д.	Н.д.	IDH1 (R132H)	Низкий (7.6)	Высокий (-2.2)	Средний (0.8)	Н.д.
3	54/м	+ /	-	2530	Н.д.	Н.д.	Н.д.	Нет	Средний (2.9)	Высокий (-3.5)	Средний (-1)	Н.д.
4	37/ж	+ / +	+	1820	До 25	+	+	Нет	Низкий (3.8)	Высокий (-3.3)	Средний (0.4)	Нет
5	40/ж	+ / +	+	35	30	+	+	Нет	Низкий (не определяется)	Высокий	Средний	Нет
6	53/м	+ / +	+	20	Н.д.	Н.д.	Н.д.	Нет	Низкий (3.8)	Высокий (-1.5)	Высокий (-7.6)	Нет
7	60/м	+ / +	+	20	Н.д.	+++	Н.д.	Нет	Средний (2.4)	Высокий	Средний	Нет
8	27/ж	+ /	+	20	Н.д.	Н.д.	Н.д.	Н.д.	Средний (2.4)	Средний	Н.д.	Н.д.
9	56/ж	+ /	+	18	10	+++	+++	Нет	Средний (2.6)	Высокий	Средний	Нет
	46/м	+ /	+	22	Н.д.	Н.д.	Н.д.	Нет	Средний (1.7)	Высокий (-3.3)	Средний (-1.3)	Н.д.
11	32/ж	+ / +	+	16	15–18		+++	Нет	Средний (1.0)	Средний (-0.6)	Средний (-0.3)	Нет

Примечания: EGFR – рецептор эпидермального фактора роста; INA – альфа интернексин; IDH1/2 – изоцитрат дегидрогеназа 1/2; MGMT – O⁶-метилгуанин-ДНК-метилтрансфераза; VEGF – сосудисто-эндотелиальный фактор роста; PDGFRA – рецептор тромбоцитарного фактора роста альфа; н.д. – нет данных.

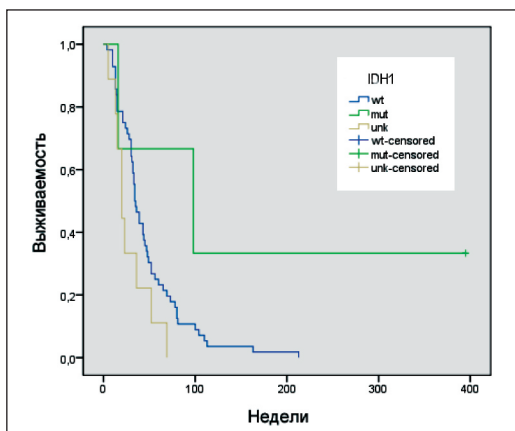


Рис. 2. Общая выживаемость больных с первичной ГБ (57 больных) в зависимости от наличия мутации в гене IDH1 (R132H). Метод Каплан – Майера

«долгоживущих» пациентов с первичной ГБ, частота мутаций IDH1/2 у них оказалась существенно выше (34 и 23 % соответственно), чем у больных с «обычной» продолжительностью жизни [27, 48]. В нашей работе значимые различия во встречаемости мутаций IDH1/2 в рассмотренных группах не были обнаружены, что может объясняться малым числом проанализированных случаев. Тем не менее выживаемость больных с наличием мутации в гене IDH1 (R132H) в исследованной выборке оказалась выше, чем без нее (рис. 2).

Особую важность представляет выявление иных молекулярных факторов, помимо благоприятного статуса гена MGMT, обуславливающих длительную выживаемость у больных с ГБ без мутаций IDH1/2. Интересные данные в этом отношении получены в исследовании Geisenberger et al. [9]: в то время как ни один клинический фактор и статус гена MGMT достоверно не отличались в группах больных с высокой (>36 мес) и низкой (<10 мес) продолжительностью жизни, было обнаружено преобладание проканцерогенных провоспалительных M2-макрофагов в глии высокоагрессивных опухолей, а также установлена благоприятная прогностическая роль сочетанного увеличения копийности 19 и 20 хромосом. Важно отметить, что в сравниваемые в данной работе группы были включены только пациенты без мутаций IDH1/2, которые получили одинаковую терапию.

Одним из ключевых генов, отвечающим за неопластический рост, является VEGF. В настоящем исследовании у подавляющего большинства пациентов (у 54 из 69) уровень его экспрессии был высоким, что согласуется с наличием ярко выраженного сосудистого компонента при ГБ и одновременно является показателем злокачественного течения заболевания. Продукт гена PDGFRA принимает участие как в неопластическом росте, так и в регуляции процессов пролиферации и дифференцировки клеток. У большинства пациентов с выживаемостью более 3 лет наблюдался средний уровень

PDGFRA (90 %), а высокий уровень этого маркера встречался несколько реже, чем в группе сравнения (10 vs 34,5 %).

Иммуногистохимическая окраска антителом INA проводилась в 13 случаях (в обеих группах) и во всех опухолях была позитивной. Оказалось, что позитивному окрашиванию соответствовал только низкий или средний уровень экспрессии гена MGMT. Подобная зависимость описана и в работе Suh et al. [63]. Данные о том, что позитивное окрашивание опухолевых клеток антителом INA является суррогатным маркером сочетанной делеции 1p/19q [6365], в нашем исследовании подтверждения не нашли. Возможно, это связано с малым количеством проанализированных случаев.

Средние цифровые значения ИГХ окрашивания Ki67 и p53 не отличались в группах больных, однако у «долгоживущих» пациентов они все же были несколько ниже (табл. 1). Позитивное иммуногистохимическое окрашивание опухолевых клеток антителом EGFR наблюдалось с разной интенсивностью у пациентов вне зависимости от выживаемости. Малое количество наблюдений пока не позволяет нам сделать какие-либо выводы.

По сравнению с большинством зарубежных исследований, где частота встречаемости «долгоживущих» ГБ составляет от 2 до 11 %, среди наших больных она оказалась 15,9 %, причем в группе сравнения были пациенты с продолжительностью жизни от момента диагностики заболевания 32–33 мес, не попавшие в основную группу по формальному признаку. Такую достаточно высокую выживаемость можно объяснить индивидуальным подходом к лечению (с обязательным учетом экспрессии MGMT и ряда других генов), когда большинство пациентов получили от 6 до 15 циклов ХТ темозоломидом в отличие от стандартных, ограниченных по длительности, протоколов лечения (ЛТ с темозоломидом и 6 циклов адьювантной ХТ темозоломидом в первой линии терапии).

С учетом мирового опыта и наших данных в настоящее время имеются «четыре кита» для прогнозирования высокой выживаемости у пациентов с ГБ: возраст больного на момент диагностики, низкий уровень экспрессии гена MGMT, наличие мутации в генах IDH1/2 и максимально интенсивная ХТ. Без адекватного химиотерапевтического лечения даже при низком уровне экспрессии гена MGMT, согласно результатам другого нашего исследования, медиана выживаемости составляет всего 6,5 мес (95 % CI, 5,2 мес до 7,7 мес), а при проведении ХТ она возрастает в четыре раза ($p=0,0001$) [66]. У того небольшого числа пациентов с глиобластомой, которые в перспективе могут стать «долгоживущими», индивидуальные генетические особенности самой опухоли уже «настроены» на лучшее течение заболевания, а специалистам-нейроонкологам остается лишь вовремя их распознать и дать больному такой шанс.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Burton E.C., Lamborn K.R., Forsyth P., Scott J., O'Campo J., Uyehara-Lock J., Prados M., Berger M., Passe S., Uhm J., O'Neill B.P., Jenkins R.B., Aldape K.D. Aberrant p53, mdm2, and proliferation differ in glioblastomas from long-term compared with typical survivors. *Clin Cancer Res.* 2002 Jan; 8(1): 180–7.
- Scoccianti S., Magrini S.M., Ricardi U., Detti B., Buglione M., Sotti G., Krengli M., Maluta S., Parisi S., Bertoni F., Mantovani C., Tombolini V., De Renzi C., Lioce M., Fatigante L., Fusco V., Muto P., Berti F., Rubino G., Cipressi S., Fariselli L., Lupatelli M., Santoni R., Pirtoli L., Biti G. Patterns of care and survival in a retrospective analysis of 1059 patients with glioblastoma multiforme treated between 2002 and 2007: a multicenter study by the Central Nervous System Study Group of Airo (Italian Association of Radiation Oncology). *Neurosurgery.* 2010 Aug; 67(2): 446–58. doi: 10.1227/01.NEU.0000371990.86656.E8.
- Johnson D.R., Leeper H.E., Uhm J.H. Glioblastoma survival in the United States improved after Food and Drug Administration approval of bevacizumab: a population-based analysis. *Cancer.* 2013 Oct 1; 119(19): 3489–95. doi: 10.1002/cncr.28259.
- Gilbert M.R., Dignam J.J., Armstrong T.S., Wefel J.S., Blumenthal D.T., Vogelbaum M.A., Colman H., Chakravarti A., Pugh S., Won M., Jeraj R., Brown P.D., Jaeckle K.A., Schiff D., Stieber V.W., Brachman D.G., Werner-Wasik M., Tremont-Lukats I.W., Sulman E.P., Aldape K.D., Curran W.J., Mehta M.P. A randomized trial of bevacizumab for newly diagnosed glioblastoma. *N Engl J Med.* 2014 Feb 20; 370(8): 699–708. doi:10.1056/NEJMoa1308573.
- Gerber N.K., Goenka A., Turcan S., Reynold M., Makarov V., Kannan K., Beal K., Omuro A., Yamada Y., Gutin P., Brennan C.W., Huse J.T., Chan T.A. Transcriptional diversity of long-term glioblastoma survivors. *Neuro Oncol.* 2014 Sep; 16(9): 1186–95. doi:10.1093/neuonc/nou043.
- Johnson D.R., Ma D.J., Buckner J.C., Hammack J.E. Conditional probability of long-term survival in glioblastoma: a population-based analysis. *Cancer.* 2012 Nov 15; 118(22): 5608–13. doi:10.1002/cncr.27590.
- Feng Y., Wang Z., Bao Z., Yan W., You G., Wang Y., Hu H., Zhang W., Zhang Q., Jiang T. SOCS3 Promoter Hypermethylation Is a Favorable Prognosticator and a Novel Indicator for G-CIMP- Positive GBM Patients. *PLoS One.* 2014 Mar 14; 9(3): e91829. doi:10.1371/journal.pone.0091829.
- Mazaris P., Hong X., Altschuler D., Schultz L., Poisson L.M., Jain R., Mikkelsen T., Rosenblum M., Kalkanis S. Key determinants of short-term and long-term glioblastoma survival: a 14-year retrospective study of patients from the Hermlin Brain Tumor Center at Henry Ford Hospital. *Clin Neurol Neurosurg.* 2014 May; 120: 103–12. doi: 10.1016/j.clineuro.2014.03.001.
- Geisenberger C., Mock A., Warta R., Rapp C., Schwager C., Korshunov A., Nied A.K., Capper D., Brors B., Jungk C., Jones D., Collins V.P., Ichimura K., Bäcklund L.M., Schnabel E., Mittelbronn M., Lahrmann B., Zheng S., Verhaak R.G., Grabe N., Pfister S.M., Hartmann C., von Deimling A., Debus J., Unterberg A., Abdollahi A., Herold-Mende C. Molecular profiling of long-term survivors identifies a subgroup of glioblastoma characterized by chromosome 19/20 co-gain. *Acta Neuropathol.* 2015 Sep; 130(3): 419–34. doi: 10.1007/s00401-015-1427-y.
- Shannon S., Vaca C., Jia D., Enters I., Schaer A., Carcione J., Weaver M., Avidar Y., Pettit R., Nair M., Khan A., Foty R.A. Dexamethasone-Mediated Activation of Fibronectin Matrix Assembly Reduces Dispersal of Primary Human Glioblastoma Cells. *PLoS One.* 2015 Aug 18; 10(8): e0135951. doi: 10.1371/journal.pone.0135951.
- Bähr O., Herrlinger U., Weller M., Steinbach J.P. Very late relapses in glioblastoma long-term survivors. *J Neurol.* 2009 Oct; 256(10): 1756–8. doi: 10.1007/s00415-009-5167-6.
- Sawaya R., Suki D. Long-Term Survival in Patients With Glioblastoma Multiforme: Frequency and Prognostic Factors. *Oncology (Williston Park).* 2016 Apr; 30 Suppl. pii: 216594.
- Fiore D., Donnarumma E., Roscigno G., Iaboni M., Russo V., Afinito A., Adamo A., De Martino F., Quintavalle C., Romano G., Greco A., Soini Y., Brunetti A., Croce C.M., Condorelli G. miR-340 predicts glioblastoma survival and modulates key cancer hallmarks through down-regulation of NRAS. *Oncotarget.* 2016 Apr 12; 7(15): 19531–47. doi: 10.18632/oncotarget.6968.
- Millward C.P., Brodbelt A.R., Haylock B., Zakaria R., Baborie A., Crooks D., Husband D., Shenoy A., Wong H., Jenkinson M.D. The impact of MGMT methylation and IDH1 mutation on long-term outcome for glioblastoma treated with chemoradiotherapy. *Acta Neurochir (Wien).* 2016 Oct; 158(10): 1943–53. doi: 10.1007/s00701-016-2928-8.
- Shinawi T., Hill V.K., Krex D., Schackert G., Gentle D., Morris M.R., Wei W., Cruickshank G., Maher E.R., Latif F. DNA methylation profiles of long- and short-term glioblastoma survivors. *Epigenetics.* 2013 Feb; 8(2): 149–56. doi: 10.4161/epi.23398.
- Reifenberger G., Weber R.G., Riehm V., Kaulich K., Willscher E., Wirth H., Gietzelt J., Hentschel B., Westphal M., Simon M., Schackert G., Schramm J., Matschke J., Sabel M.C., Gramatzki D., Felsberg J., Hartmann C., Steinbach J.P., Schlegel U., Wick W., Radlwimmer B., Pietsch T., Tonn J.C., von Deimling A., Binder H., Weller M., Loeffler M. Molecular characterization of long-term survivors of glioblastoma using genome- and transcriptome-wide profiling. *Int J Cancer.* 2014 Oct 15; 135(8): 1822–31. doi: 10.1002/ijc.28836.
- Adeberg S., Bostel T., König L., Welzel T., Debus J., Combs S.E. A comparison of long-term survivors and short-term survivors with glioblastoma, subventricular zone involvement: a predictive factor for survival? *Radiat Oncol.* 2014 Apr 23; 9: 95. doi: 10.1186/1748-717X-9-95.
- Amelot A., De Cremoux P., Quillien V., Polivka M., Adle-Biassette H., Lehmann-Che J., Françoise L., Carpentier A.F., George B., Mandonnet E., Froelich S. IDH-Mutation Is a Weak Predictor of Long-Term Survival in Glioblastoma Patients. *PLoS One.* 2015 Jul 9; 10(7): e0130596. doi: 10.1371/journal.pone.0130596.
- Scott J.N., Rewcastle N.B., Brasher P.M., Fulton D., MacKinnon J.A., Hamilton M., Cairncross J.G., Forsyth P. Which glioblastoma multiforme patient will become a long-term survivor? A population-based study. *Ann Neurol.* 1999 Aug; 46(2): 183–8.
- Baur M., Preusser M., Piribauer M., Elandt K., Hassler M., Hudec M., Ditttrich C., Marosi C. Frequent MGMT (O6)-methylguanine-DNA methyltransferase hypermethylation in long-term survivors of glioblastoma: a single institution experience. *Radiol Oncol.* 2010 Jun; 44(2): 113–20. doi: 10.2478/v10019-010-0023-y.
- Sanai N., Polley M.Y., McDermott M.W., Parsa A.T., Berger M.S. An extent of resection threshold for newly diagnosed glioblastomas. *J Neurosurg.* 2011 Jul; 115(1): 3–8. doi: 10.3171/2011.2.JNS.10998.
- Chaichana K.L., Pendleton C., Chambless L., Camara-Quintana J., Nathan J.K., Hassam-Malani L., Li G., Harsh G.R. 4th, Thompson R.C., Lim M., Quinones-Hinojosa A. Multi-institutional validation of a preoperative scoring system which predicts survival for patients with glioblastoma. *J Clin Neurosci.* 2013 Oct; 20(10): 1422–6. doi: 10.1016/j.jocn.2013.02.007.
- Glas M., Hapold C., Rieger J., Wiewrodt D., Bähr O., Steinbach J.P., Wick W., Kortmann R.D., Reifenberger G., Weller M., Herrlinger U. Long-term survival of patients with glioblastoma treated with radiotherapy and lomustine plus temozolomide. *J Clin Oncol.* 2009 Mar 10; 27(8): 1257–61. doi: 10.1200/JCO.2008.19.2195.
- Chandler K.L., Prados M.D., Malec M., Wilson C.B. Long-term survival in patients with glioblastoma multiforme. *Neurosurgery* 1993 May; 32(5): 716–20.
- McLendon R.E., Halperin E.C. Is the long-term survival of patients with intracranial glioblastoma multiforme overstated? *Cancer.* 2003 Oct 15; 98(8): 1745–8. doi: 10.1002/cncr.11666.
- Zhang C., Yao Y., Wang Y., Chen Z., Wu J., Mao Y., Zhou L. Temozolomide for adult brain stem glioblastoma: case report of a long-term survivor. *Int J Neurosci.* 2010 Dec; 120(12): 787–91. doi: 10.3109/00207174.2010.520377.
- Hartmann C., Hentschel B., Simon M., Westphal M., Schackert G., Tonn J.C., Loeffler M., Reifenberger G., Pietsch T., von Deimling A., Weller M., German Glioma Network. Long-term survival in primary glioblastoma with versus without isocitrate dehydrogenase mutations. *Clin Cancer Res.* 2013 Sep 15; 19(18): 5146–57. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-13-0017.
- Мацко М.В., Лучин Е.И., Певлева А.Г., Бахходин Д.В., Абышева С.Н., Загородная Е.В., Потапова О.Н., Имянитов Е.Н., Мацко Д.Е. Значимый регресс глиобластомы с низкой экспрессией гена MGMT при химиолучевой терапии. Вопросы онкологии. 2011; 57(2): 245–249. [Matsko M.V., Luchin E.I., Iyevleva A.G., Bakholdin D.V., Abysheva S.N., Zavorodnyaya E.V., Potapova O.N., Imyanitov E.N., Ulitin A.Yu., Matsko D.E. Significant regression of glioblastoma with low level of mgmt gene expression following radiotherapy. Problems in oncology. 2011; 57(2): 245–249. (in Russian)].
- Hegi M.E., Diserens A.C., Gorlia T., Hamou M.F., de Tribolet N., Weller M., Kros J.M., Hainfellner J.A., Mason W., Mariani L., Bromberg J.E., Hau P., Mirimanoff R.O., Cairncross J.G., Janzer R.C., Stupp R. MGMT gene silencing and benefit from temozolomide in glioblastoma. *N Engl J Med.* 2005; 352: 997–1003. doi: 10.1056/NEJMoa043331.
- Weiler M., Hartmann C., Wiewrodt D., Herrlinger U., Gorlia T., Bähr O., Meyermann R., Bamberg M., Tatagiba M., von Deimling A., Weller M., Wick W. Chemoradiotherapy of newly diagnosed glioblastoma with intensified temozolomide. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2010 Jul 1; 77(3): 670–6. doi: 10.1016/j.ijrobp.2009.05.031.
- Quillien V., Lavenue A., Karayan-Tapon L., Carpentier C., Labusière M., Lesimple T., Chinot O., Wager M., Honnorat J., Saikali S., Fina F., Sanson M., Figarella-Branger D. Comparative Assessment of 5 Methods (Methylation-Specific Polymerase Chain Reaction, MethyLight, Pyrosequencing, Methylation-Sensitive High-Resolution Melting, and Immunohistochemistry) to Analyze O6-Methylguanine-DNA Methyltransferase in a Series of 100 Glioblastoma Patients. *Cancer.* 2012 Sep 1; 118(17): 4201–11. doi: 10.1002/cncr.27392.
- Lalezari S., Chou A.P., Tran A., Solis O.E., Khanlou N., Chen W., Li S., Carrillo J.A., Chowdhury R., Selfridge J., Sanchez D.E., Wilson R.W.,

- Zurayk M., Lalezari J., Lou J.J., Ormiston L., Ancheta K., Hanna R., Miller P., Piccioni D., Ellingson B.M., Buchanan C., Mischel P.S., Nghiemphu P.L., Green R., Wang H.J., Pope W.B., Liao L.M., Elashoff R.M., Cloughesy T.F., Yong W.H., Lai A. Combined analysis of O6-methylguanine-DNA methyltransferase protein expression and promoter methylation provides optimized prognostication of glioblastoma outcome. *Neuro Oncol.* 2013 Mar; 15(3): 370–81. doi: 10.1093/neuonc/nos308.
33. Rapp M., Goepfert M., Felsberg J., Steiger H.J., Sabel M. The impact of sequential vs. combined radiochemotherapy with temozolomide, resection and MGMT promoter hypermethylation on survival of patients with primary glioblastoma – a single centre retrospective study. *Br J Neurosurg.* 2013 Aug; 27(4): 430–5. doi: 10.3109/02688697.2013.767317.
34. Parsons D.W., Jones S., Zhang X., Lin J.C., Leary R.J., Angenendt P., Mankoo P., Carter H., Siu I.M., Gallia G.L., Olivi A., McLendon R., Rasheed B.A., Keir S., Nikolskaya T., Nikolsky Y., Busam D.A., Tekleab H., Diaz L.A.Jr., Hartigan J., Smith D.R., Strausberg R.L., Marie S.K., Shinjo S.M., Yan H., Riggins G.J., Bigner D.D., Karchin R., Papadopoulos N., Parmigiani G., Vogelstein B., Velculescu V.E., Kinzler K.W. An integrated genomic analysis of human glioblastoma multiforme. *Science.* 2008 Sep 26; 321(5897): 1807–12. doi: 10.1126/science.1164382.
35. Sanson M., Marie Y., Paris S., Idhah A., Laffaire J., Ducray F., El Hallani S., Boisselier B., Mokhtari K., Hoang-Xuan K., Delattre J.Y. Isocitrate dehydrogenase 1 codon 132 mutation is an important prognostic biomarker in gliomas. *J Clin Oncol.* 2009 Sep 1; 27(25): 4150–4. doi: 10.1200/JCO.2009.21.9832.
36. Yan H., Parsons D.W., Jin G., McLendon R., Rasheed B.A., Yuan W., Kos I., Batnits-Haberle I., Jones S., Riggins G.J., Friedman H., Friedman A., Reardon D., Herndon J., Kinzler K.W., Velculescu V.E., Vogelstein B., Bigner D.D. IDH1 and IDH2 mutations in gliomas. *N Engl J Med.* 2009 Feb 19; 360(8): 765–73. doi: 10.1056/NEJMoa0808710.
37. Turcan S., Rohle D., Goenka A., Walsh L.A., Fang F., Yilmaz E., Campos C., Fabius A.W., Lu C., Ward P.S., Thompson C.B., Kaufman A., Guryanova O., Levine R., Heguy A., Viale A., Morris L.G., Huse J.T., Mellinghoff I.K., Chan T.A. IDH1 mutation is sufficient to establish the glioma hypermethylator phenotype. *Nature.* 2012 Feb 15; 483(7390): 479–83. doi: 10.1038/nature10866.
38. Christensen B.C., Smith A.A., Zheng S., Koestler D.C., Houseman E.A., Marsit C.J., Wiemels J.L., Nelson H.H., Karagas M.R., Wrensch M.R., Kelsey K.T., Wiencke J.K. DNA methylation, isocitrate dehydrogenase mutation, and survival in glioma. *Natl Cancer Inst.* 2011 Jan 19; 103(2): 143–53. doi: 10.1093/jnci/djq497.
39. Zou P., Xu H., Chen P., Yan Q., Zhao L., Zhao P., Gu A. IDH1/IDH2 mutations define the prognosis and molecular profiles of patients with gliomas: a meta-analysis. *PLoS One.* 2013 Jul 22; 8(7): e68782. doi: 10.1371/journal.pone.0068782.
40. Molenaar R.J., Verbaan D., Lamba S., Zanon C., Jeuken J.W., Boots-Sprenger S.H., Wesseling P., Hulsebos T.J., Troost D., van Tilborg A.A., Leenstra S., Vandertop W.P., Bardelli A., van Noorden C.J., Bleeker F.E. The combination of IDH1 mutations and MGMT methylation status predicts survival in glioblastoma better than either IDH1 or MGMT alone. *Neuro Oncol.* 2014 Sep; 16(9): 1263–73. doi: 10.1093/neuonc/nou005.
41. Balss J., Meyer J., Mueller W., Korshunov A., Hartmann C., von Deimling A. Analysis of the IDH1 codon 132 mutation in brain tumors. *Acta Neuropathol.* 2008 Dec; 116(6): 597–602. doi: 10.1007/s00401-008-0455-2.
42. Ichimura K., Pearson D.M., Kocalkowski S., Bäcklund L.M., Chan R., Jones D.T., Collins V.P. IDH1 mutations are present in the majority of common adult gliomas but rare in primary glioblastomas. *Neuro Oncol.* 2009 Aug; 11(4): 341–7. doi: 10.1215/15228517-2009-025.
43. Hartmann C., Meyer J., Balss J., Capper D., Mueller W., Christians A., Felsberg J., Wolter M., Mawrin C., Wick W., Weller M., Herold-Mende C., Unterberg A., Jeuken J.W., Wesseling P., Reifenberger G., von Deimling A. Type and frequency of IDH1 and IDH2 mutations are related to astrocytic and oligodendroglial differentiation and age: a study of 1,010 diffuse gliomas. *Acta Neuropathol.* 2009 Oct; 118(4): 469–74. doi: 10.1007/s00401-009-0561-9.
44. Weller M., Felsberg J., Hartmann C., Berger H., Steinbach J.P., Schramm J., Westphal M., Schackert G., Simon M., Tonn J.C., Heese O., Krex D., Nikkhah G., Pietsch T., Wiestler O., Reifenberger G., von Deimling A., Loeffler M. Molecular predictors of progression-free and overall survival in patients with newly diagnosed glioblastoma: a prospective translational study of the German Glioma Network. *J Clin Oncol.* 2009 Dec 1; 27(34): 5743–50. doi: 10.1200/JCO.2009.23.0805.
45. Hartmann C., Hentschel B., Wick W., Capper D., Felsberg J., Simon M., Westphal M., Schackert G., Meyermann R., Pietsch T., Reifenberger G., Weller M., Loeffler M., von Deimling A. Patients with IDH1 wild type anaplastic astrocytomas exhibit worse prognosis than IDH1-mutated glioblastomas, and IDH1 mutation status accounts for the unfavorable prognostic effect of higher age: implications for classification of gliomas. *Acta Neuropathol.* 2010 Dec; 120(6): 707–18. doi: 10.1007/s00401-010-0781-z.
46. Combs S.E., Rieken S., Wick W., Abdollahi A., von Deimling A., Debus J., Hartmann C. Prognostic significance of IDH-1 and MGMT in patients with glioblastoma: one step forward, and one step back? *Radiat Oncol.* 2011 Sep 13; 6: 115. doi: 10.1186/1748-717X-6-115.
47. Myung J.K., Cho H.J., Park C.K., Kim S.K., Phi J.H., Park S.H. IDH1 mutation of gliomas with long-term survival analysis. *Oncol Rep.* 2012 Nov; 28(5): 1639–44. doi: 10.3892/or.2012.1994.
48. Sarmiento J.M., Mukherjee D., Black K.L., Fan X., Hu J.L., Nuno M.A., Patil C.G. Do Long-Term Survivor Primary Glioblastoma Patients Harbor IDH1 Mutations? *J Neurol Surg A Cent Eur Neurosurg.* 2016 May; 77(3): 195–200. doi: 10.1055/s-0035-1566121.
49. Yan W., Zhang W., You G., Bao Z., Wang Y., Liu Y., Kang C., You Y., Wang L., Jiang T. Correlation of IDH1 mutation with clinicopathologic factors and prognosis in primary glioblastoma: a report of 118 patients from China. *PLoS One.* 2012; 7(1): e30339. doi: 10.1371/journal.pone.0030339.
50. Мацко Д.Е., Мацко М.В., Имянитов Е.Н. Нейроонкология. Практическая онкология. 2017; 18(1): 103–114. [Matsko D.E., Matsko M.V., Imanyitov E.N. Neurooncology. Practical Oncology. 2017; 18(1): 103–114. (in Russian)].
51. Krex D., Klink B., Hartmann C., von Deimling A., Pietsch T., Simon M., Sabel M., Steinbach J.P., Heese O., Reifenberger G., Weller M., Schackert G.; German Glioma Network. Long-term survival with glioblastoma multiforme. *Brain.* 2007 Oct; 130(Pt 10): 2596–606. doi: 10.1093/brain/awm204.
52. Zhang G.B., Cui X.L., Sui D.L., Ren X.H., Zhang Z., Wang Z.C., Lin S. Differential molecular genetic analysis in glioblastoma multiforme of long- and short-term survivors: a clinical study in Chinese patients. *J Neurooncol.* 2013 Jun; 113(2): 251–8. doi: 10.1007/s11060-013-1102-x.
53. Burton E.C., Lamborn K.R., Forsyth P., Scott J., O'Campo J., Ueyhara-Lock J., Prados M., Berger M., Passe S., Uhm J., O'Neill B.P., Jenkins R.B., Aldape K.D. Aberrant p53, mdm2, and proliferation differ in glioblastomas from long-term compared with typical survivors. *Clin Cancer Res.* 2002 Jan; 8(1): 180–7.
54. Wen P.Y., Macdonald D.R., Reardon D.A., Cloughesy T.F., Sorensen A.G., Galanis E., Degroot J., Wick W., Gilbert M.R., Lassman A.B., Tsien C., Mikkelsen T., Wong E.T., Chamberlain M.C., Stupp R., Lamborn K.R., Vogelbaum M.A., van den Bent M.J., Chang S.M. Updated response assessment criteria for high-grade gliomas: response assessment in neuro-oncology working group. *J Clin Oncol.* 2010 Apr 10; 28(11): 1963–72. doi: 10.1200/JCO.2009.26.3541.
55. Martinez R., Schackert G., Yaya-Tur R., Rojas-Marcos I., Herman J.G., Esteller M. Frequent hypermethylation of the DNA repair gene MGMT in long-term survivors of glioblastoma multiforme. *J Neurooncol.* 2007 May; 83(1): 91–3. doi: 10.1007/s11060-006-9292-0.
56. Korshunov A., Sycheva R., Golanov A. Genetically distinct and clinically relevant subtypes of glioblastoma defined by array-based comparative genomic hybridization (array-CGH). *Acta Neuropathol.* 2006 May; 111(5): 465–74. doi: 10.1007/s00401-006-0057-9.
57. Sonoda Y., Kumabe T., Watanabe M., Nakazato Y., Inoue T., Kanamori M., Tominaga T. Long-term survivors of glioblastoma: clinical features and molecular analysis. *Acta Neurochir (Wien).* 2009 Nov; 151(11): 1349–58. doi: 10.1007/s00701-009-0387-1.
58. Lu J., Cowperthwaite M.C., Burnett M.G., Shpak M. Molecular Predictors of Long-Term Survival in Glioblastoma Multiforme Patients. *PLoS One.* 2016 Apr 28; 11(4): e0154313. doi: 10.1371/journal.pone.0154313.
59. Matsko M.V., Imanyitov E.N. Predictive role of O6-methylguanine DNA methyltransferase status for the treatment of brain tumors. *Epigenetics Territory and Cancer.* Springer, 2015. 251–279.
60. Sturm D., Witt H., Hovestadt V., Khuong-Quang D.A., Jones D.T., Konermann C., Pfaff E., Tönjes M., Sill M., Bender S., Kool M., Zapotka M., Becker N., Zucknick M., Hielscher T., Liu X.Y., Fontebasso A.M., Ryzhova M., Albrecht S., Jacob K., Wolter M., Ebinger M., Schuhmann M.U., van Meter T., Frühwald M.C., Hauch H., Pekrun A., Radlwimmer B., Niehues T., von Komorowski G., Dürken M., Kulozik A.E., Madden J., Donson A., Foreman N.K., Drissi R., Fouladi M., Scheurlen W., von Deimling A., Monoranu C., Roggendorf W., Herold-Mende C., Unterberg A., Kramm C.M., Felsberg J., Hartmann C., Wiestler B., Wick W., Milde T., Witt O., Lindroth A.M., Schwartzentruber J., Faury D., Fleming A., Zakrzewska M., Liberski P.P., Zakrzewski K., Hauser P., Garami M., Klekner A., Bognar L., Morrissey S., Cavalli F., Taylor M.D., van Sluis P., Koster J., Versteeg R., Volckmann R., Mikkelsen T., Aldape K., Reifenberger G., Collins V.P., Majewski J., Korshunov A., Lichter P., Plass C., Jabado N., Pfister S.M. Hotspot mutations in H3F3A and IDH1 define distinct epigenetic and biological subgroups of glioblastoma. *Cancer Cell.* 2012 Oct 16; 22(4): 425–37. doi: 10.1016/j.ccr.2012.08.024.
61. Toedt G., Barbus S., Wolter M., Felsberg J., Tews B., Blond F., Sabel M.C., Hofmann S., Becker N., Hartmann C., Ohgaki H., von Deimling A., Wiestler O.D., Hahn M., Lichter P., Reifenberger G., Radlwimmer B. Molecular signatures classify astrocytic gliomas by IDH1 mutation status. *Int J Cancer.* 2011 Mar 1; 128(5): 1095–103. doi: 10.1002/ijc.25448.

62. Noushmehr H., Weisenberger D.J., Diefes K., Phillips H.S., Pujara K., Berman B.P., Pan F., Pelloski C.E., Sulman E.P., Bhat K.P., Verhaak R.G., Hoadley K.A., Hayes D.N., Perou C.M., Schmidt H.K., Ding L., Wilson R.K., Van Den Berg D., Shen H., Bengtsson H., Neuvial P., Cope L.M., Buckley J., Herman J.G., Baylin S.B., Laird P.W., Aldape K.; Cancer Genome Atlas Research Network. Identification of a CpG island methylator phenotype that defines a distinct subgroup of glioma. *Cancer Cell*. 2010 May 18; 17(5): 510–22. doi: 10.1016/j.ccr.2010.03.017.

63. Suh J.H., Park C.K., Park S.H. Alpha internexin expression related with molecular characteristics in adult glioblastoma and oligodendroglioma. *J Korean Med Sci*. 2013 Apr; 28(4): 593–601. doi: 10.3346/jkms.2013.28.4.593.

64. Durand K., Guillaudeau A., Pompey L., Mesturoux L., Chauvel A., Gadeaud E., Porcheron M., Moreau J.J., Labrousse F. Alpha-internexin expression in gliomas: relationship with histological type and 1p, 19q, 10p and 10q status. *J Clin Pathol*. 2011 Sep; 64(9): 793–801. doi: 10.1136/jcp.2010.087668.

65. Ducray F., Crinière E., Idbaih A., Mokhtari K., Marie Y., Paris S., Navarro S., Laigle-Donadey F., Dehais C., Thillet J., Hoang-Xuan K., Delattre J.Y., Sanson M. alpha-Internexin expression identifies 1p19q codeleted gliomas. *Neurology*. 2009 Jan 13; 72(2): 156–61. doi: 10.1212/01.wnl.0000339055.64476.cb.

66. Мацко М.В., Мацко Д.Е., Моисеенко В.М., Улитин А.Ю., Волков Н.М., Иевлева А.Г., Имянитов Е.Н. Прогностическая роль гена MGMT при лечении Темозоломидом больных с глиобластомой. Материалы XI международного научного конгресса «Рациональная фармакотерапия». СПб., 2016. 97–98. [Matsko M.V., Matsko D.E., Moiseenko V.M., Ulitin A.Yu., Iyevleva A.G., Imyanitov E.N. Predictive role of a gene MGMT at treatment of patients with glioblastoma by Temozolomid. Abstracts of the XI International Scientific Congress «Rational Pharmacotherapy». Saint-Peterburg, 2016. 97–98. (in Russian)].

Поступила/Received 10.12.2018
Принята в печать/Accepted 25.03.2019

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Мацко Марина Витальевна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник сектора клинической морфологии, врач-онколог, «РНХИ им. проф. А.Л. Поленова» – филиал ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). SPIN-код: 2014-2268. AuthorID (РИНЦ): 918790. ORCID: 0000-0003-1564-0943. ResearcherID (WOS): W-9626-2018.

Мацко Дмитрий Евгеньевич, доктор медицинских наук, профессор, «РНХИ им. проф. А.Л. Поленова» – филиал ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия).

Волков Никита Михайлович, кандидат медицинских наук, начальник отдела организации клинических исследований, ГБУЗ «Санкт-Петербургский клинический научно-практический центр специализированных видов медицинской помощи (онкологический)» (г. Санкт-Петербург, Россия). SPIN-код: 1605-0256. AuthorID (РИНЦ): 883973.

Улитин Алексей Юрьевич, доктор медицинских наук, врач-нейрохирург, «РНХИ им. проф. А.Л. Поленова» – филиал ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). ORCID: 0000-0002-8343-4917.

Моисеенко Владимир Михайлович, доктор медицинских наук, профессор, ГБУЗ «Санкт-Петербургский клинический научно-практический центр специализированных видов медицинской помощи (онкологический)» (г. Санкт-Петербург, Россия). SPIN-код: 8184-2980. Author ID: 602994. ORCID: 0000-0003-4807-7915.

Имянитов Евгений Наумович, доктор медицинских наук, профессор, член-корр. РАН, руководитель научного отдела биологии опухолевого роста, Санкт-Петербургский государственный университет (г. Санкт-Петербург, Россия). SPIN-код: 1909-7323. AuthorID (Scopus): 7003644486. ORCID: 0000-0003-4529-7891.

Иевлева Аглая Геннадиевна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отдела биологии опухолевого роста, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). Researcher ID (WOS): P-8305-2016. Author ID (Scopus): 6506417697. ORCID: 0000-0001-5454-5186.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы объявляют, что у них нет конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Marina V. Matsko, MD, PhD, Senior Researcher, physician-oncologist, Polenov Russian Neurosurgical Institute – the branch of Almazov NMRC (St. Petersburg, Russia). ORCID: 0000-0003-1564-0943. Researcher ID (WOS): W-9626-2018.

Dmitry E. Matsko, MD, Professor, Polenov Russian Neurosurgical Institute – the branch of Almazov NMRC (St. Petersburg, Russia).

Nikita M. Volkov, MD, PhD, Head of the Department of Clinical Trials, Clinical Scientific-Practical Center of Oncology (St. Petersburg, Russia).

Alexey Yu. Ulitin, MD, Professor, physician-neurosurgeon, Polenov Russian Neurosurgical Institute – the branch of Almazov NMRC (St. Petersburg, Russia). ORCID: 0000-0002-8343-4917.

Vladimir M. Moiseenko, MD, Professor, Clinical Scientific-Practical Center of Oncology (St. Petersburg, Russia). ORCID: 0000-0003-4807-7915.

Evgeny N. Imyanitov, MD, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Head of the Department of Tumor Growth Biology, Saint-Petersburg State University (St. Petersburg, Russia). Author ID (Scopus): 7003644486. ORCID: 0000-0003-4529-7891.

Aglaya G. Iyevleva, MD, PhD, Senior Researcher of the Department of Tumor Growth Biology, N.N. Petrov NMRC of Oncology (St. Petersburg, Russia). Researcher ID (WOS): P-8305-2016. Author ID (Scopus): 6506417697. ORCID: 0000-0001-5454-5186.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

Для цитирования: Лаврентьев С.Н., Аксененко М.Б., Аверчук А.С., Комина А.В., Палкина Н.В., Рукша Т.Г. Повышение уровня экспрессии miR-204-5p в клетках меланомы под воздействием дакарбазина. Сибирский онкологический журнал. 2019; 18(3): 45–53. – doi: 10.21294/1814-4861-2019-18-3-45-53.

For citation: Lavrentiev S.N., Aksenenko M.B., Averchuk A.S., Komina A.V., Palkina N.V., Ruksha T.G. Increased level of miR-204-5p expression in melanoma cells under the influence of dacarbazine. Siberian Journal of Oncology. 2019; 18(3): 45–53. – doi: 10.21294/1814-4861-2019-18-3-45-53.

ПОВЫШЕНИЕ УРОВНЯ ЭКСПРЕССИИ miR-204-5P В КЛЕТКАХ МЕЛАНОМЫ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ДАКАРБАЗИНА

С.Н. Лаврентьев, М.Б. Аксененко, А.С. Аверчук, А.В. Комина, Н.В. Палкина, Т.Г. Рукша

ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России, г. Красноярск, Россия
Россия, г. Красноярск, 660022, ул. Партизана Железняка, 1.
E-mail: tatyana_ruksha@mail.ru

Аннотация

МикроРНК участвуют в регуляции на эпигенетическом уровне многочисленных критических биологических процессов, включая клеточную пролиферацию, дифференцировку, миграцию и инвазию, функционируя в качестве онкосупрессоров или онкогенов. Ранее было определено, что микроРНК miR-204-5p характеризуется сниженным уровнем при меланоме. Основной целью данного исследования явилось определение эффектов изменения уровня экспрессии микроРНК при воздействии на клетки меланомы цитостатическим агентом дакарбазином *in vitro*, а также синтетическим аналогом miR-204-5p *in vivo*. Уровень экспрессии miR-204-5p и miR-211 в клетках меланомы оценивали с помощью ПЦР в реальном времени. Противоопухолевые эффекты *in vivo* определялись при оценке динамики роста опухолевого узла. Токсические эффекты оценивались по поведению животных, потреблению жидкости, корма, а также по уровню АЛТ, АСТ, креатинина, мочевины. На модели меланомы C57BL6 определено, что введение синтетического аналога miR-204-5p не вызвало значимых изменений исследуемой микроРНК в опухолевых клетках. Вместе с тем противоопухолевый препарат дакарбазин в клетках меланомы *in vitro* приводил к повышению уровня исследуемой микроРНК более чем в 20 раз. Полученные результаты исследования указывают на возможность восстановления уровня miR-204-5p под воздействием цитостатической терапии. С учетом выявленного нами ранее ингибирующего эффекта miR-204-5p на пролиферацию клеток меланомы стоит предположить, что данная микроРНК может играть роль в поддержании дормантного состояния опухолевых клеток. Полученные данные требуют дальнейшего разьяснения, так как это может иметь значение для понимания развития метастазирования, а также прогнозирования эффективности противоопухолевой терапии при меланоме.

Ключевые слова: miR-204-5p, miR-211, меланома, дакарбазин, клеточная пролиферация, химиотерапия, культивирование клеток, ПЦР, биоинформатический анализ, химиорезистентность.

INCREASED LEVEL OF MIR-204-5P EXPRESSION IN MELANOMA CELLS UNDER THE INFLUENCE OF DACARBAZINE

S.N. Lavrentiev, M.B. Aksenenko, A.S. Averchuk, A.V. Komina, N.V. Palkina, T.G. Ruksha

Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University, Russian Federation Ministry of Health Care, Krasnoyarsk, Russia
1, Zheleznyaka Street, 660022-Krasnoyarsk, Russia. E-mail: tatyana_ruksha@mail.ru

Abstract

Various types of tissues was analyzed, and the algorithm for summing neutron and photon doses in neutron-MiRNAs are involved in the regulation of numerous critical biological processes, including cell proliferation, differentiation, migration and invasion. They function as oncogenes or tumor suppressors according to the nature of the target. It has been previously determined that miR-204-5p miRNA is characterized by the increased level in melanoma. The aim of this study was to determine the effects of changes in the level of microRNA expression when dacarbazine was exposed to melanoma cells in vitro and synthetic miR-204-5p in vivo. The expression levels of miR-204-5p and miR-211 in melanoma cells were determined by real-time PCR. Antitumor effects in vivo were verified in assessing the growth dynamics of the tumor node. Toxic effects were assessed by animal behavior, fluid intake, feed, and ALT, AST, creatinine, urea levels. In the model of melanoma C57BL/6, it was revealed that the introduction of the synthetic miR-204-5p did not cause significant changes in the investigated microRNA in tumor cells. At the same time, the antitumor effects of dacarbazine in melanoma cells in vitro led to an increase in the level of the investigated microRNA by more than 20 times. The results of the study indicated the possibility of compensating the level of miR-204-5p under the influence of cytostatic therapy. Taking into account the previously revealed miR-204-5p inhibitory effect on the proliferation of melanoma cells, we can assume that this miRNA can play a role in maintaining the dermal state of tumor cells. Further studies are required to understand the metastasis development and predict the response to antitumor therapy for melanoma.

Key words: miR-204-5p, miR-211, melanoma, dacarbazine, cell proliferation, chemotherapy, cell cultivation, PTsR, bioinformation analysis, chemoresistance.

Введение

Современные возможности лечения меланомы представлены различными способами, включая хирургическое вмешательство, химиотерапию, иммунотерапию, применение BRAF-ингибиторов [1]. Одним из стандартных вариантов лекарственной терапии меланомы кожи на протяжении более 30 лет является применение дакарбазина [2]. Препарат относится к группе алкилирующих агентов, его действие заключается в прямом повреждении ДНК [3]. Недавнее внедрение в клиническую онкологию противоопухолевых средств, обладающих способностью ингибирования гистоновых деацетилаз [4], позволяет предполагать возможность целенаправленного воздействия на эпигенетические механизмы с терапевтической целью. МикроРНК – это эволюционно консервативные некодирующие РНК длиной 20–22 нуклеотидов, участвующие практически во всех известных физиологических и патологических процессах, включая канцерогенез [5]. Возможность целенаправленного изменения уровней микроРНК является новым направлением в экспериментальной терапии меланомы кожи.

Цель исследования – изучение влияния модуляции уровня экспрессии miR-204-5p на модели меланомы in vivo, а также в клетках меланомы in vitro.

Материал и методы

Исследование было одобрено локальным этическим комитетом Красноярского государственного медицинского университета им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого (протокол № 79/2017 от 22.11.2017). Манипуляции с животными осуществляли в соответствии с правилами, изложенными в Хельсинкской Декларации Всемирной Медицинской Ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki 1964, 2008 ред.), а также в «Междуна-

родных рекомендациях по проведению медико-биологических исследований с использованием лабораторных животных» и приказе Министерства здравоохранения РФ от 01.04.2016 №199н. «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики».

Эксперимент по воссозданию меланомы кожи проводили на половозрелых мышках-самках линии C57BL/6 в возрасте 8–9 нед со средней массой тела 18,5 г. Животные были предоставлены ФИЦ ИЦиГ СО РАН (г. Новосибирск). Температура воздуха в помещении поддерживалась на уровне 20–22 °С. Животные содержались в клетках при естественном освещении с неограниченным доступом к корму и воде.

Перевивка культуры клеток меланомы B16 животным производилась путём подкожного введения 0,5 мл взвеси опухолевой ткани в растворе Хенкса (1:10) по стандартной методике. Все животные были разделены на 3 группы случайным образом. Животным контрольной группы (n=3) на 7-е сут после трансплантации опухолевых клеток в латеральную вену хвоста вводился раствор фосфатно-солевого буфера (VWR Radnor, USA). В группе отрицательного контроля (n=6) применялся негативный контроль имитатора (mirvana™ mirna Mimic Negative Control #1, Ambion, Carlsbad, USA). Вещество вводилось на 7-е сут после трансплантации опухолевых клеток однократно в латеральную вену хвоста. Животным опытной группы (n=5) вводился синтетический аналог (имитатор) miR-204-5p (mirVana® miR-204-5p mimic, Ambion, Carlsbad, USA) однократно в боковую вену хвоста на 7-е сут после перевивки опухолевых клеток в дозировке 1,2 мг/кг в виде раствора 7,4 µM в объеме 200 мкл, в качестве растворителя использовали InvivoFectamine® 3.0 Reagent (Invitrogen, Life Technologies, Carlsbad, USA).

Оценка динамики роста опухоли

Линейные размеры опухоли измеряли в двух взаимно перпендикулярных направлениях. Объём опухоли рассчитывали по формуле

$$V = A \times (B)^2,$$

где А – больший, а В – меньший линейный размер узла. Торможение роста опухоли (ТРО, %) вычисляли по формуле

$$ТРО = ((V_k - V_o) / V_k) \times 100 \%,$$

где V_k – средний объём опухоли в контрольной группе на определённый срок измерения (mm^3), V_o – средний объём опухоли в опытной группе на определённый срок измерения (mm^3).

Оценка токсического эффекта синтетического имитатора miR-204-5p на организм животных

Токсический эффект имитатора miR-204-5p оценивался по изменению массы тела мышей, потреблению пищи (в граммах) и воды (в миллилитрах). Животных взвешивали каждые трое суток. Изменение внешних признаков фиксировали ежедневно путем балльной оценки изменения окраса шерсти и волосяного покрова: 1 балл – шерстяной покров тусклый, 2 балла – яркий; изменения двигательной активности: 5 баллов – активное движение животного по клетке, выраженные избегательно-оборонительные реакции; 4 балла – медленные активные движения по клетке, избегательно-оборонительные реакции с попытками укусов; 3 балла – реакция на раздражение избегательная, спонтанная двигательная активность угнетена, стимулированная сохранена, животное передвигается на несколько шагов только при подталкивании; 2 балла – реакция на тактильные раздражители угнетена, минимальная стимулированная двигательная активность животного; 1 балл – кома, отсутствие спонтанной и стимулированной двигательной активности; 0 баллов – животное пало. Животных выводили из эксперимента путем декапитации под хлороформным наркозом на 15-е сут после начала эксперимента.

Изучение морфологических изменений в органах животных

Животные после эвтаназии подвергались визуальному осмотру. Во время вскрытия проводилась оценка внутренних органов животных: цвета, формы, консистенции. Определялась масса внутренних органов.

Определение биохимических параметров – маркеров токсического повреждения органов

Для оценки маркеров возможного токсического повреждения органов оценивалась концентрация АЛТ (аланинаминотрансферазы), АСТ (аспартатаминотрансферазы), креатинина, мочевины на биохимическом анализаторе Cobasintegra 400 plus (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany).

Выделение РНК

Образцы опухолевых узлов, изъятые при вскрытии, были помещены в криопробирки с раствором для сохранения и фиксации РНК RNeasy Lysis Solution (Qiagen, Crawley, UK) и хранились при $-80^\circ C$. После гомогенизации тканей выделяли РНК с применением наборов реагентов Рибо-золь, Рибо-сорб (Амплисенс, Москва, РФ) согласно инструкции производителя.

Культивирование клеток меланомы и воздействие на них дакарбазином

Исследование одобрено локальным этическим комитетом Красноярского государственного медицинского университета имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого (протокол № 73/2016 от 16.12.2016), а также локальным этическим комитетом Красноярского краевого клинического онкологического диспансера им. А.И. Крыжановского (протокол № 8 от 14.06.2017). Образцы меланомы кожи 2303-С, 2303-К, 0404-К были получены от пациентов с меланомой кожи, находившихся на лечении в Красноярском краевом онкологическом диспансере, после оперативного удаления меланомы. Фрагменты опухоли были подвергнуты дезагрегации и перенесены в питательную среду для получения клеточной линии. Клетки культивировали в питательной среде RPMI-1640, L-глутамин (Gibco, Life Technologies, Paisley, UK), содержащей 10 % фетальной бычьей сыворотки (Gibco, Life Technologies, Paisley, UK) и смесь антибиотика-антимикотика (пенициллин, стрептомицин, амфотерицин В) (Gibco, Life Technologies, Paisley, UK), при $37^\circ C$ и 5 % CO_2 в CO_2 -инкубаторе (Sanyo MSO-5AC, Osaka, Japan). Смену питательной среды осуществляли один раз в 3 дня. Для проведения исследования клетки рассеивали в 6-луночные планшеты в концентрации 2×10^5 кл/мл. После 24 ч в лунки, согласно протоколу исследования вносили дакарбазин (Sigma, St. Louis, USA) в концентрации 1000 мкг/мл или DMSO (Panreacchimica s.a., Barcelona, Spain) до конечной концентрации 1 %. Через 72 ч клетки трипсинизировались, после чего из полученных клеток выделяли микроРНК при помощи комплекта реагентов RecoverAll™ Total Nucleic Acid Isolation Kit (Ambion, Life Technologies, Vilnius, Lithuania).

Реакция обратной транскрипции

Реакция обратной транскрипции проводилась с применением набора реагентов MMLV RT kit (Евроген, Москва, РФ). Для определения уровня экспрессии матричных РНК использовался набор случайных праймеров из набора MMLV RT kit (Евроген, Москва, РФ) и специфичные праймеры для каждого вида микроРНК TaqMan Assays hsa-miR-211 (Assay ID 000514, №.4427975, Applied Biosystems, Foster City, USA), TaqMan Assays hsa-

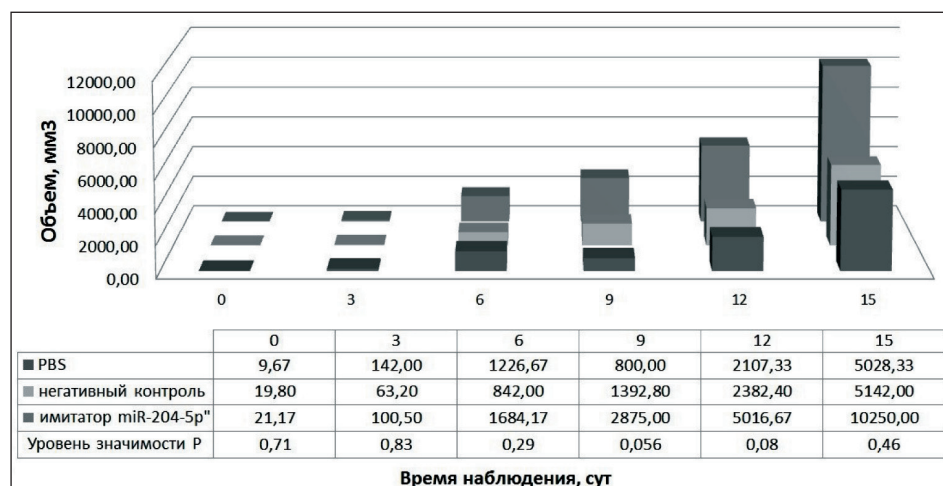


Рис. 1. Динамика объема опухолевых узлов после воздействия имитатором miR-204-5p

miR-204-5p (Assay ID 478491, № A25576, Applied Biosystems, Foster City, USA) TaqManAssays (Applied Biosystems, Foster City, USA).

ПЦР в реальном времени

Реакцию ПЦР в реальном времени проводили на приборе StepOne™ Real-Time PCR-System (Applied Biosystems, Singapore, Singapore). В качестве эндогенных контролей использовали U6 snRNA (Assay-ID 001973, № 4427975, Applied Biosystems, Foster City, USA), SNO 234 (AssayID 001234, № 4427975; Applied Biosystems, Foster City, USA). Эксперимент осуществляли в трех технологических повторах. Анализ данных производили с использованием метода $\Delta\Delta Ct$. Для определения уровня экспрессии выполняли расчет среднего геометрического от произведения уровней экспрессии.

Биоинформатический анализ

Анализ сигнальных путей, регулируемых miR-204-5 и miR-211, осуществляли при помощи программного обеспечения DIANA miRPath v.3.0 на основе базы данных KEGG (с применением баз данных TargetScan v.7.0, TarBase, microT-CDS).

Статистическая обработка данных

Для статистической обработки данных был использован пакет программного обеспечения Statistica 6.1 (StatSoft, Москва, Россия). Для многогрупповых сравнений применялся непараметрический критерий Краскела – Уоллиса. Результаты считали значимыми при $p < 0,05$. Данные в таблице представлены в виде среднего значения. Данные на рис. 2, 7, 8 представлены в виде среднего значения, его стандартного отклонения и доверительного интервала.

Результаты

С учетом полученных нами ранее [6] и литературных данных о роли miR-204-5p в регуляции пролиферации опухолевых клеток [7] в данном исследовании было осуществлено введение син-

тетического имитатора данной микроРНК мышам линии C57BL6 с имплантированной меланомой B16 для последующей оценки противоопухолевых и токсических эффектов вышеуказанного модулятора.

Противоопухолевые эффекты синтетического аналога miR-204-5p, оцениваемые по динамике торможения роста опухоли и объема опухолевого узла под воздействием исследуемого синтетического аналога miR-204-5p, не наблюдались (рис. 1). Уровень miR-204-5p в клетках опухолевого узла в группе животных, получавших имитатор miR-204-5p, не отличался от контрольной группы (рис. 2).

Для определения возможного токсического воздействия используемого мимика на животных были оценены следующие показатели: динамика массы тела, внешний вид и двигательная активность животных в течение эксперимента. Динамика массы тела в исследуемых группах за период эксперимента значимо не различалась (рис. 3). Значимых изменений потребления животными воды и корма за период наблюдения в ходе эксперимента также отмечено не было. Кроме того, в ходе эксперимента все животные характеризовались выраженными

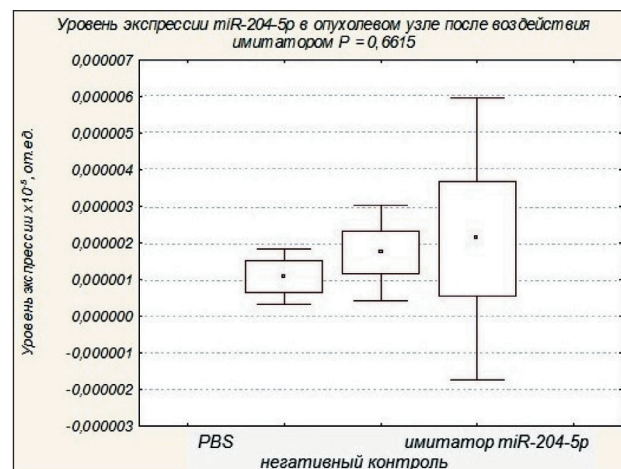


Рис. 2. Уровень экспрессии miR-204-5p в опухолевом узле после воздействия имитатором miR-204-5p



Рис. 3. Динамика массы тела животных после воздействия имитатором miR-204-5p

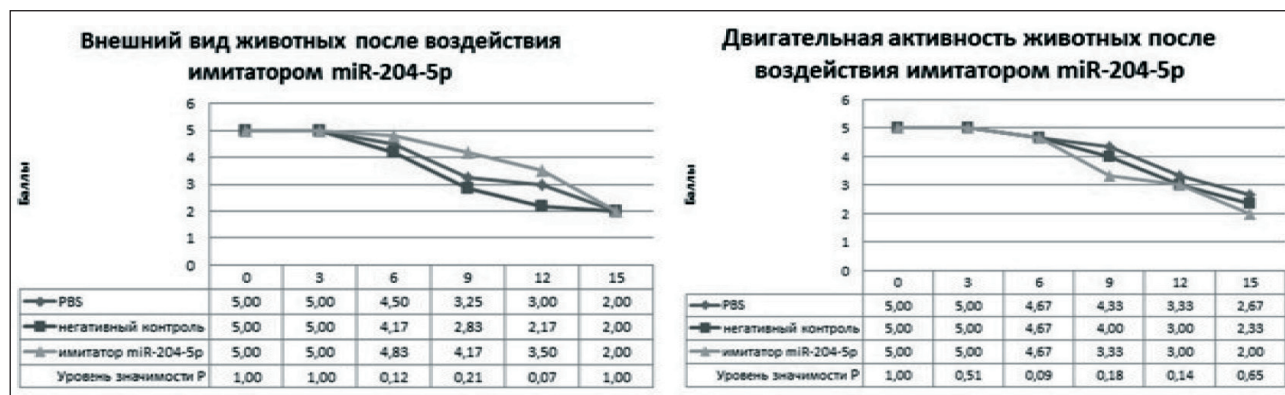


Рис. 4. Внешний вид и двигательная активность животных после воздействия имитатором miR-204-5p

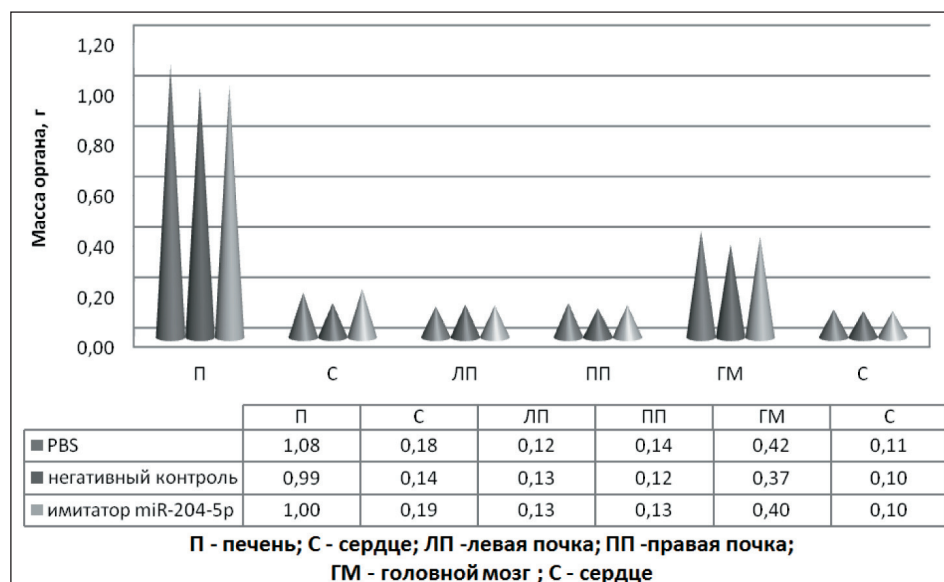


Рис. 5. Массы органов животных после воздействия имитатором miR-204-5p

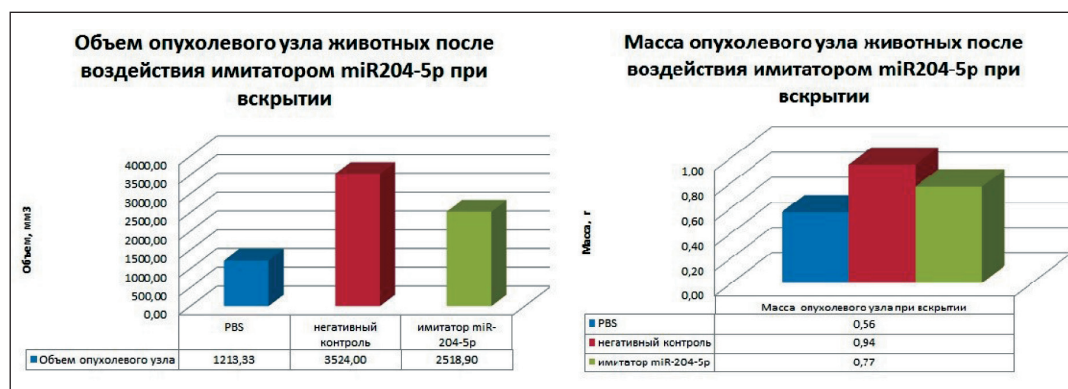


Рис. 6. Объем и масса опухолевых узлов после воздействия имитатором miR-204-5p

избегательно-оборонительными реакциями и нормальной двигательной активностью (рис. 4).

По результатам оценки морфологических изменений внутренних органов (головного мозга, печени, селезенки, почек, сердца, легких) при вскрытии животных всех групп не было отмечено дистрофических изменений. Масса исследуемых органов, объем и масса опухолевых узлов также не различались в исследуемых группах (рис. 5, 6).

Для анализа возможного гепато- и нефротоксического эффектов используемого имитатора определялись уровни АЛТ, АСТ, креатинина, мочевины, значимых различий которых в исследуемых группах выявлено не было (таблица). Изменений морфологического (головной мозг, печень, селезенка, почки, сердце, легкие), физиологического характера (масса тела, количество потребляемой жидкости и корма), поведенческих реакций выявлено не было.

Таблица

Биохимические параметры токсичности после воздействия имитатором miR-204-5p

Параметр	Группа			Уровень значимости
	PBS	Негативный контроль	Имитатор miR-204-5p	
АЛТ	57,63	56,48	57,01	p=0,97
АСТ	473,13	578,12	559,83	p=0,59
Креатинин	4,00	2,40	3,40	p=0,80
Мочевина	9,88	7,49	8,74	p=0,33

Для проведения дальнейшего этапа исследования, учитывая литературные данные о позитивной индукции уровня данной микроРНК противоопухолевыми агентами [8], осуществляли модуляцию экспрессии miR-204-5p дакарбазином. С этой целью в клетках меланомы, полученных из

первичной опухоли, оценивали уровни miR-204-5p и гомологичной ей miR-211 после воздействия вышеуказанным веществом в течение 72 ч в концентрации 1000 мкг/мл. Регистрировалось 20-кратное и более повышение уровней miR-204-5p, miR-211 (рис. 7, 8) у клеточной культуры, полученной из краевого участка опухоли (2303-К) в отличие от клеточных линий, полученных из центральной части (2303-С и 0404-С).

Следующим этапом был проведен биоинформатический анализ генов-мишеней вышеуказанных микроРНК, который определил, что miR-204-5 и miR-211 принимают участие в регуляции сигнальных механизмов, участвующих в процессах жизнеобеспечения клетки, процессов апоптоза и формирования опухоли, таких как сигнальный путь NF-каппа В, сигнальный путь JAK-stat. Полученные результаты согласуются с литературными данными об участии miR-204-5p и miR-211 в канцерогенезе [9, 10].

Обсуждение

Так как микроРНК-гомологи miR-204-5p и miR-211 по результатам нескольких исследований были определены как одни из минимально экспрессирующихся при меланоме, предполагается, что повышение их уровня может иметь значение в терапии [11]. Как было выявлено нами ранее [6] и что также согласуется с другими исследованиями [12], применение имитатора данной микроРНК *in vitro* снижает пролиферативную активность и жизнеспособность клеток опухоли. В этой связи на первом этапе исследования нами было осуществлено введение имитатора miR-204-5p мышам C57BL6 с имплантированной меланомой В16 с целью оценки противоопухолевого действия, а также токсических эффектов.

Вместе с тем динамика роста опухоли в экспериментальной и опытной группах была идентич-

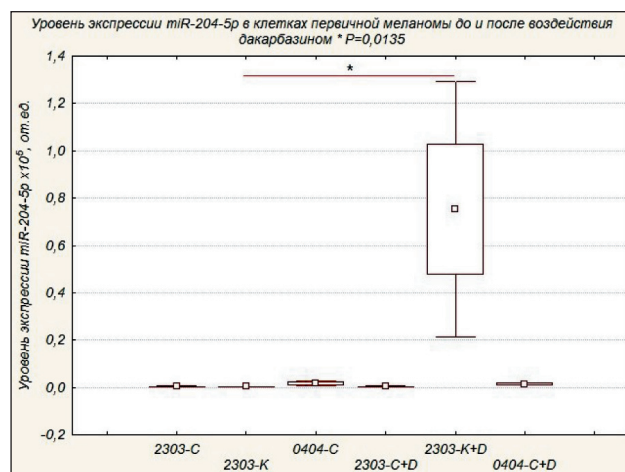


Рис. 7. Уровень экспрессии miR-204-5p в клетках первичной меланомы.

Примечание: * – статистически значимые различия до и после воздействия дакарбазином (p=0,0136)

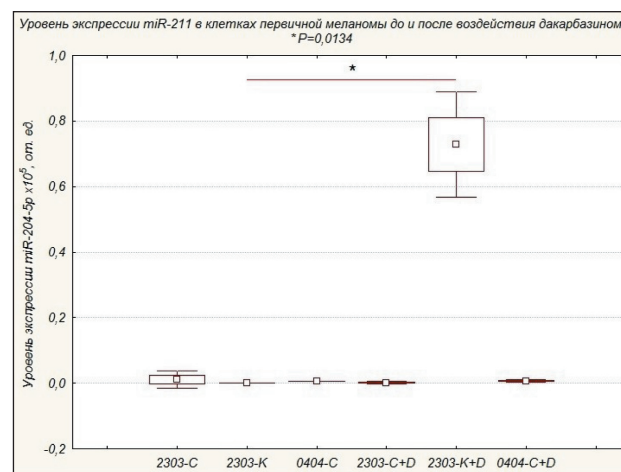


Рис. 8. Уровень экспрессии miR-211 в клетках первичной меланомы.

Примечание: * – статистически значимые различия до и после воздействия дакарбазином (p=0,0134)

ной, что может быть обусловлено недостаточной дозой введенного имитатора, его разрушением под воздействием нуклеаз периферической крови или нивелированием эффектов имитатора факторами, вызывающими снижение экспрессии данных микроРНК в клетках меланомы. Доза препарата определялась согласно рекомендациям производителя (Insert PN 4457172 Rev. C, Ambion by Life Technologies, Carlsbad, USA). Стабильность олигонуклеотидов является одной из ключевых проблем их применения в медицине. Существует множество работ, описывающих проблемы и решение вопросов адресной доставки лекарственных веществ [13, 14]. Выделяют несколько направлений решения, включая в случае опухолей кожи, регионарное введение препарата, а также введение препарата посредством различных решений: связывания с полимером, наночастицами, липосомами, вирусными частицами. Вместе с тем данные способы имеют ограничения в виде токсичности, низкой специфичности, вариабельной биодegradируемости средств доставки [15].

В связи с тем, что одна микроРНК может регулировать сразу несколько генов-мишеней, но также большое количество разновидностей микроРНК могут осуществлять регуляцию экспрессии одного гена, стоит предположить, что при ингибировании/усилении микроРНК одного типа, другие микроРНК могут оказывать регуляторные влияния на ген-мишень. МикроРНК miR-204-5p и miR-211 имеют отличия в строении только на один нуклеотид, в связи с чем предполагается, что большинство генов-мишеней данных микроРНК идентичны. В этой связи стоит предположить, что при воздействии имитатором miR-204-5p супрессивное воздействие на соответствующие гены-мишени может продолжать оказывать miR-211, нивелируя действие имитатора. При этом стоит отметить, что токсических эффектов на фоне введения олигонуклеотидов выявлено не было.

При выполнении полногеномного секвенирования РНК клеток меланомы, в том числе резистентных к BRAF-ингибитору вемурафенибу, Diaz-Martines et al. выявили, что miR-204-5p и miR-211 были в числе четырех микроРНК, различия в уровнях которых были максимальными в двух вышеуказанных группах. Одним из механизмов этого авторы определили изменение уровня транскрипционного фактора STAT. Последний также принимает участие в регуляции чувствительности опухолевых клеток к алкилирующим агентам [16]. В этой связи на следующем этапе исследования клетки меланомы, полученные из первичных опухолей, инкубировались с дакар-

базином. Выполнение ПЦР в реальном времени позволило определить более чем 20-кратное увеличение уровня miR-204-5p, miR-211. Можно предположить, что изученные клеточные линии испытывают различную степень деградации генетического материала при действии дакарбазина и, следовательно, проявляют различные механизмы адаптации к нему, что свидетельствует о генетической гетерогенности материнской опухоли.

Ряд авторов в своих публикациях выделяют и доказывают действенность нескольких факторов, влияющих на клетки одной опухоли и вызывающих явление генетической гетерогенности: воздействие экстрацеллюлярного матрикса, клеточные и неклеточные компоненты стромы опухоли, васкуляризация центральной и краевых опухолевых участков и метаболические особенности малигнизированных клеток и микроокружения, гипоксия и снижение pH, возникающие в результате недостаточности кровоснабжения и трофики центральной части опухоли [17, 18]. Изменение генетического профиля под действием перечисленных факторов, возможно, проявляется в активации синтеза белков-транспортеров, глутатион S-трансферазы и белка MGMT, которые увеличивают резистентность к действию дакарбазина [19–21]. Чрезмерной экспрессии MGMT способствует активируемый гипоксией фактор (HIF)-1 α [19]. Гипоксия и ацидоз снижают чувствительность опухоли к действию препарата, что может радикально изменить биологию рака. Опухолевые клетки при гипоксии приобретают стволовые функции, они более инвазивны и устойчивы к лекарственным средствам, чем их нормоксичные аналоги.

Таким образом, под воздействием цитостатического препарата в живых клетках регистрировалось повышение уровня анализируемых микроРНК. Стоит отметить, что в подобных условиях остаются жизнеспособными клетки с низким пролиферативным потенциалом, имеющие значение в развитии феномена дормантности. В проведенных нами ранее исследованиях мы определили, что *in vitro* имитатор miR-204-5p вызывает снижение пролиферативной активности в клетках.

Заключение

На основании выполненного исследования можно предположить, что микроРНК miR-204-5p и miR-211 могут участвовать в обеспечении «сдвига» пролиферирующих опухолевых клеток в дормантное состояние, а повышение уровня данных микроРНК может играть роль в развитии химиорезистентности и метастазирования.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Maverakis E., Cornelius L.A., Bowen G.M., Phan T., Patel F.B., Fitzmaurice S., He Y., Burrall B., Duong C., Kloxin A.M., Sultani H., Wilken R., Martinez S.R., Patel F. Metastatic Melanoma – a review of current and future treatment options. *Acta Derm Venereol.* 2015 May; 95(5): 516–24. doi: 10.2340/00015555-2035.

2. Xin Y., Huang Q., Zhang P., Yang M., Hou X.Y., Tang J.Q., Zhang L.Z., Jiang G. Meta-Analysis of the Safety and Efficacy of Interferon Combined With Dacarbazine Versus Dacarbazine Alone in Cutaneous Malignant Melanoma. *Medicine (Baltimore).* 2016 Apr; 95(16): e3406. doi: 10.1097/MD.0000000000003406.

3. Hafeez A., Kazmi I. Dacarbazine nanoparticle topical delivery system for the treatment of melanoma. *Sci Rep.* 2017 Nov 28; 7(1): 16517. doi: 10.1038/s41598-017-16878-1.
4. Zwergerl C., Giulia S., Valente S., Mai A. Histone Deacetylase Inhibitors: Updated Studies in Various Epigenetic-Related Diseases. *J Clin Epigenet.* 2016 Mar; 2(1/7): 1–15. doi: 10.21767/2472-1158.100015.
5. Lujambio A., Lowe S.W. The microcosmos of cancer. *Nature.* 2012 Feb 15; 482(7385): 347–55. doi: 10.1038/nature10888.
6. Palkina N., Komina A., Aksenenko M., Ruksha T. MicroRNA 204-5p decreases proliferation/viability and the ability to form colonies in melanoma cells. *J Clin Invest Dermatol.* 2017 Oct; 137(10/2): 29. doi: 10.1016/j.jid.2017.07.777.
7. Yin Y., Zhang B., Wang W., Fei B., Quan C., Zhang J., Song M., Bian Z., Wang Q., Ni S., Hu Y., Mao Y., Zhou L., Wang Y., Yu J., Du X., Hua D., Huang Z. MiR-204-5p inhibits proliferation and invasion and enhances chemotherapeutic sensitivity of colorectal cancer cells by downregulating RAB22A. *Clin. Cancer Res.* 2014 Oct 7; 20: 6187–99. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-14-1030.
8. Díaz-Martínez M., Benito-Jardón L., Alonso L., Koetz-Ploch L., Hernando E., Teixidó J. miR-204-5p and miR-211-5p Contribute to BRAF Inhibitor Resistance in Melanoma. *Cancer Res.* 2018 Feb 15; 78(4): 1017–30. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-17-1318.
9. Gao W., Wu Y., He X., Zhang C., Zhu M., Chen B., Liu Q., Qu X., Li W., Wen S., Wang B. MicroRNA-204-5p inhibits invasion and metastasis of laryngeal squamous cell carcinoma by suppressing forkhead box C1. *J Cancer.* 2017 Jul 21; 8(12): 2356–68. doi: 10.7150/jca.19470.
10. Xia B., Yang S., Liu T., Lou G. miR-211 suppresses epithelial ovarian cancer proliferation and cell-cycle progression by targeting Cyclin D1 and CDK6. *Mol Cancer.* 2015 Mar 11; 14: 57. doi: 10.1186/s12943-015-0322-4.
11. Galasso M., Morrison C., Minotti L., Corrà F., Zerbinati C., Agnoletto C., Baldassari F., Fassan M., Bartolazzi A., Vecchione A., Nuovo G., Di Leva G., D'Atti S., Alvino E., Previali M., Nickoloff B.J., Croce C.M., Volinia S. Loss of miR-204 expression is a key event in melanoma. *Mol Cancer.* 2018 Mar 9; 17(1): 71. doi: 10.1186/s12943-018-0819-8.
12. Liu L., Wang J., Li X., Ma J., Shi C., Zhu H., Xi Q., Zhang J., Zhao X., Gu M. MiR-204-5p suppresses cell proliferation by inhibiting IGFBP5 in papillary thyroid carcinoma. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2015 Nov 3; 457: 621–6. doi: 10.1016/j.bbrc.2015.01.037.
13. Lou S., Zhao Z., Dezort M., Lohneis T., Zhang C. Multifunctional Nanosystem for Targeted and Controlled Delivery of Multiple Chemotherapeutic Agents for the Treatment of Drug-Resistant Breast Cancer. *ACS Omega.* 2018 Aug 31; 3(8): 9210–19. doi: 10.1021/acsomega.8b00949.
14. Tian F., Dahmani F.Z., Qiao J., Ni J., Xiong H., Liu T., Zhou J., Yao J. A targeted nanoparticle co-delivering chemotherapeutic and antiangiogenic drugs as a tool to reverse multidrug resistance in breast cancer. *Acta Biomater.* 2018 Jul 15; 75: 398–412. doi: 10.1016/j.actbio.2018.05.050.
15. Drusco A., Croce C.M. MicroRNAs and Cancer: A Long Story for Short RNAs. *Adv Cancer Res.* 2017; 135: 1–24. doi: 10.1016/bbsacr.2017.06.005.
16. Happold C., Roth P., Silginer M., Florea A.M., Lamszus K., Frei K., Deenen R., Reifenberger G., Weller M. Interferon- β induces loss of spherogenicity and overcomes therapy resistance of glioblastoma cells. *Mol Cancer Ther.* 2014 Apr; 13(4): 948–61. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-13-0772.
17. Marusyk A., Polak K. Tumor heterogeneity: causes and consequences. *Biochim Biophys Acta.* 2010 Jan; 1805(1): 105. doi: 10.1016/j.bbcan.2009.11.002.
18. Tlsty T., Coussens L. Tumor stroma and regulation of cancer development. *Annu. Rev. Pathol.* 2006. 1: 119–50. doi: 10.1146/annurev.pathol.1.110304.100224.
19. Pistollato F., Abbadi S., Rampazzo E., Persano L., Puppa D., Frasson C., Sarto E., Scienza R., D'Avella D., Basso G. Intratumoral hypoxic gradient drives stem cells distribution and MGMT expression in glioblastoma. *Stem Cells.* 2010 May; 28(5): 851–62. doi: 10.1002/stem.415.
20. Attaoua C., Vincent L., Jaoued A., Hadj-Kaddour K., Baï Q., De V., Vian L., Cuq P. Differential involvement of glutathione S-transferase mu 1 and multidrug resistance protein 1 in melanoma acquired resistance to vinca alkaloids. *Fundam Clin Pharmacol.* 2014 Oct; 29(1): 62–71. doi: 10.1111/fcp.12093.
21. Cabrini G., Fabbri E., Nigro L., Dechecchi M., Gambari R. Regulation of expression of O6-methylguanine-DNA methyltransferase and the treatment of glioblastoma (Review). *Int J Oncol.* 2015 May; 47(2): 417–428. doi: 10.3892/ijo.2015.3026.

Поступила/Received 03.10.18
Принята в печать/Accepted 19.11.18

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Лаврентьев Семен Николаевич, аспирант кафедры патологической физиологии, Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России (г. Красноярск, Россия). Researcher ID (WOS): Q-5615-2017 ORCID: 0000-0002-2214-1336.

Аксененко Мария Борисовна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры патологической физиологии, Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России (г. Красноярск, Россия). SPIN-код: 6958-9122. Researcher ID (WOS): V-1055-2017. Author ID (Scopus): 55330015100. ORCID: 0000-0001-7660-700X.

Аверчук Антон Сергеевич, кандидат биологических наук, доцент кафедры патологической физиологии, Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России (г. Красноярск, Россия). SPIN-код: 7276-8713. Researcher ID (WOS): I-1075-2018. ORCID: 0000-0002-1284-6711.

Комина Анна Владимировна, кандидат биологических наук, научный сотрудник кафедры патологической физиологии, Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России (г. Красноярск, Россия). SPIN-код: 1172-2769. Researcher ID (WOS): O-9770-2015. Author ID (Scopus): 55596122500. ORCID: 0000-0002-2269-0298.

Палкина Надежда Владимировна, кандидат медицинских наук, ассистент кафедры патологической физиологии, Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России (г. Красноярск, Россия). SPIN-код: 7534-4443. Researcher ID (WOS): P-1585-2015. Author ID (Scopus): 56126629300. ORCID: 0000-0002-6801-3452.

Рукша Татьяна Геннадьевна, доктор медицинских наук, заведующая кафедрой патологической физиологии, Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России (г. Красноярск, Россия). SPIN-код: 5412-2148. Researcher ID (WOS): A-4801-2014. Author ID (Scopus): 23009925600. ORCID: 0000-0001-8142-4283.

Финансирование

Исследование выполнено при поддержке Российского научного фонда (проект № 14-15-00074П).

Конфликт интересов

Авторы объявляют, что у них нет конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Semen N. Lavrentev, Postgraduate, Department of Pathophysiology, V.F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University (Krasnoyarsk, Russia). Researcher ID (WOS): Q-5615-2017. ORCID: 0000-0002-2214-1336.

Maria B. Aksenenko, MD, PhD, Associate Professor, Department of Pathophysiology, V.F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University (Krasnoyarsk, Russia). Researcher ID (WOS): V-1055-2017. Author ID (Scopus): 55330015100. ORCID: 0000-0001-7660-700X.

Anton S. Averchuk, PhD, Associate Professor, Department of Pathophysiology, V.F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University (Krasnoyarsk, Russia). Researcher ID (WOS): I-1075-2018. ORCID: 0000-0002-1284-6711.

Anna V. Komina, PhD, Research Scientist, Department of Pathophysiology, V.F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University (Krasnoyarsk, Russia). Researcher ID (WOS): O-9770-2015. Author ID (Scopus): 55596122500. ORCID: 0000-0002-2269-0298.

Nadezhda V. Palkina, MD, PhD, Department of Pathophysiology, V.F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University (Krasnoyarsk, Russia). Researcher ID (WOS): P-1585-2015. Author ID (Scopus): 56126629300. ORCID: 0000-0002-6801-3452.

Tatiana G. Ruksha, MD, DSc, Head of the Department of Pathophysiology, V.F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University (Krasnoyarsk, Russia). Researcher ID (WOS): A-4801-2014. Author ID (Scopus): 23009925600. ORCID: 0000-0001-8142-4283.

Funding

The study was supported by the grant from the Russian Science Foundation (project №14-15-00074).

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

Для цитирования: Рябая О.О., Прокофьева А.А., Хоченков Д.А., Акасов Р.А., Буров С.В., Марквичева Е.А., Степанова Е.В. Роль эпителиально-мезенхимального перехода и аутофагии в противоопухолевом ответе клеточных линий меланомы на таргетное ингибирование MEK и mTOR киназ. Сибирский онкологический журнал. 2019; 18(3): 54–63. – doi: 10.21294/1814-4861-2019-18-3-54-63.

For citation: Ryabaya O.O., Prokofieva A.A., Khochenkov D.A., Akasov R.A., Burov S.V., Markvicheva E.A., Stepanova E.V. The role of epithelial-to-mesenchymal transition and autophagy in antitumoral response of melanoma cell lines to target inhibition of MEK and mTOR kinases. Siberian Journal of Oncology. 2019; 18(3): 54–63. – doi: 10.21294/1814-4861-2019-18-3-54-63.

РОЛЬ ЭПИТЕЛИАЛЬНО-МЕЗЕНХИМАЛЬНОГО ПЕРЕХОДА И АУТОФАГИИ В ПРОТИВООПУХОЛЕВОМ ОТВЕТЕ КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЙ МЕЛАНОМЫ НА ТАРГЕТНОЕ ИНГИБИРОВАНИЕ MEK и mTOR КИНАЗ

О.О. Рябая¹, А.А. Прокофьева¹, Д.А. Хоченков¹, Р.А. Акасов^{2,4,5}, С.В. Буров³, Е.А. Марквичева⁴, Е.В. Степанова¹

Научно-исследовательский институт экспериментальной диагностики и терапии опухолей, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, г. Москва, Россия¹
Россия, Москва, 115478, Каширское шоссе, 24. E-mail: oxa2601@yandex.ru¹
Институт молекулярной медицины, ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России, г. Москва, Россия²
Россия, Москва, 119991, ул. Трубецкая, 8/2²
Медико-биологический научно-производственный комплекс «Цитомед», г. Санкт-Петербург, Россия³
Россия, г. Санкт-Петербург, 199004, 4-я линия Васильевского острова, 11³
Отдел биоматериалов и бионанотехнологий, Институт биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, г. Москва, Россия⁴
Россия, г. Москва, 117997, ГСП-7, ул. Миклухо-Маклая, 16/10⁴
Федеральный научно-исследовательский центр «Кристаллография и фотоника» РАН, г. Москва, Россия⁵
Россия, г. Москва, 117997, ул. Бутлерова, 17а⁵

Аннотация

Введение. Возникновение резистентности и дальнейшая опухолевая прогрессия остаются актуальной проблемой в лечении меланомы кожи. Процесс аутофагии и эпителиально-мезенхимальный переход (ЭМП) тесно связаны между собой и играют ключевую роль в опухолевой прогрессии. Таргетное ко-ингибирование MEK и mTOR киназ является потенциальной мишенью для терапии меланомы, нацеленной на блокирование ЭМП. **Цель работы** – изучение влияния ко-ингибирования MEK и mTOR киназ на выживаемость, возможность формирования 3D-сфероидов и миграционные способности клеточных линий меланомы, а также взаимосвязь этих изменений с маркерами ЭМП и аутофагии. **Материал и методы.** Работа проведена на клеточных линиях меланомы Mel Z и Mel MTP, полученных от пациентов, проходивших лечение в НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина. Оценку антипролиферативной активности биниметиниба и/или рапамицина исследовали МТТ-тестом. 3D-сфероиды получали на основе RGD-пептидов, миграционную способность и инвазивность оценивали в камере Бойдена и базальном матриксе. Изменения экспрессии маркеров аутофагии и ЭМП исследованы иммуноцитохимически или иммуноблоттингом. **Результаты.** Рапамицин усиливал цитотоксичность биниметиниба как в 2D-, так и в 3D-культурах клеточных линий меланомы. При этом биниметиниб и рапамицин снижали инвазию, но не миграцию клеток меланомы *in vitro*. Эффективность комбинации связана со снижением маркеров ЭМП N-кадгерина и β -катенина и аутофагии в клетках меланомы – Беклин 1, p62/SQSTM1 и LC3BII. **Заключение.** Инактивация аутофагии и ЭМП позволяет преодолеть резистентность к существующей терапии и может быть рассмотрена как перспективная мишень для терапии меланомы.

Ключевые слова: меланома, аутофагия, эпителиально-мезенхимальный переход, 3D-сфероиды, экспериментальная терапия, рапамицин.

THE ROLE OF EPITHELIAL-TO-MESENCHYMAL TRANSITION AND AUTOPHAGY IN ANTITUMORAL RESPONSE OF MELANOMA CELL LINES TO TARGET INHIBITION OF MEK AND mTOR KINASES

O.O. Ryabaya¹, A.A. Prokofieva¹, D.A. Khochenkov¹, R.A. Akasov^{2,4,5},
S.V. Burov³, E.A. Markvicheva⁴, E.V. Stepanova¹

Department of Experimental Diagnostic and Tumor Therapy, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Moscow, Russia¹

24, Kashirskoe shosse, 115478-Moscow, Russia. E-mail: oxa2601@yandex.ru¹

Institute of Molecular Medicine, Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia²

82, Trubetskaya Street, 119991-Moscow, Russia²

Cytomed J.S.Co, St. Petersburg, Russia³

11, 4th line of Vasilyevsky Island, 199004-St. Petersburg, Russia³

Department of Biomaterials and Biotechnologies, Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia⁴

16/10, Miklukho-Maklaya Street, GSP-7, 117997-Moscow, Russia⁴

Federal Scientific Research Center «Crystallography and Photonics» Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia⁵

17a, Butlerova Street, 117997-Moscow, Russia⁵

Abstract

Introduction. Cutaneous melanoma is a challenge to treat due to rapid progression of disease and acquired resistance to therapy. Autophagy and the epithelial-to-mesenchymal transition (EMT) are closely interrelated and play a key role in tumor progression. Targeted co-inhibition of MEK and mTOR kinases is a potential target for melanoma therapy by downregulation of the EMT. **Objective:** to study the effect of MEK and mTOR co-inhibition on cell viability, ability to form 3D-spheroids and migratory capacity of melanoma cell lines, and correlation of these changes with EMT- and autophagy-related markers. **Material and Methods.** Melanoma cell lines Mel Z and Mel MTP were derived from patients, who were treated at the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology. The antiproliferative effect of binimetinib and/or rapamycin was studied by the MTT-test. 3D spheroids were formed using RGD peptides. Cell migration and invasion were assessed by a Boyden chamber migration assay. The expression levels of autophagy and EMT markers were investigated by immunocytochemistry or immunoblotting. **Results.** Rapamycin increased cytotoxicity of binimetinib in both 2D and 3D melanoma cell line cultures. At the same time, binimetinib and rapamycin reduced invasion, but not migration capacity of melanoma cells *in vitro*. The effectiveness of the combination was associated with a decrease in the EMT markers (N-cadherin and β -catenin) and autophagy markers (Beclin 1, p62/SQSTM1 and LC3BII) in melanoma cells. **Conclusion.** Inactivation of autophagy and EMT leads to overcoming the resistance to current anti-melanoma therapy and can be considered as a promising target for the treatment of melanoma.

Key words: melanoma, autophagy, epithelial-to-mesenchymal transition, 3D spheroids, experimental therapy.

Введение

Несмотря на достигнутые успехи в лечении меланомы, проблема возникновения резистентности и дальнейшей опухолевой прогрессии остается актуальной. Опухолевая прогрессия может быть рассмотрена как многоступенчатый эволюционный процесс, который позволяет опухолевым клеткам на разных этапах преодолевать неблагоприятные условия и физиологические барьеры, сдерживающие рост, за счет приобретения новых функций. Этот процесс адаптации включает в себя изменение клеточных функций и взаимодействие между несколькими клеточными путями. Предполагается, что аутофагия и эпителиально-мезенхимальный переход (ЭМП) тесно связаны между собой и

играют ключевую роль в опухолевой прогрессии, являясь основными биологическими процессами в опухоли. Аутофагия – эволюционно сложившийся процесс лизосомальной утилизации белков и органелл для поддержания своего гомеостаза и жизнедеятельности при неблагоприятных условиях окружающей среды или нехватке питательных веществ и энергии в клетках, предотвращая накопление токсинов внутри клетки [1]. В последнее время участие ЭМП и аутофагии и их взаимосвязь в опухолевой прогрессии активно изучаются [2]. ЭМП является ведущим механизмом инвазии и метастазирования опухолей, в результате которого эпителиальные клетки теряют апикально-базальную полярность и межклеточные контакты

с последующей реорганизацией цитоскелета [3]. Ключевым событием в процессе ЭМП является утрата центральной молекулы межклеточных адгезионных контактов – E-кадгерина. При ЭМП также происходит так называемое переключение кадхеринов, «cadherin switch» – снижение экспрессии E-кадгерина и повышение уровня N-кадгерина, характерного для мезенхимальных клеток, виментина, фибронектина, матриксных металлопротеиназ, а также высвобождение β -катенина, его ядерная транслокация, что, собственно, способствует эпителиально-мезенхимальной трансформации [3–5].

Белок RAS представляет собой небольшую ГТФазу, которая регулирует последующую активацию сигнальных путей, включая MAPK и PI3K и, следовательно, вовлечена в прогрессирование меланомы [6, 7]. Изоформа NRAS мутирована примерно у 15–25 % пациентов с меланомой [6]. Наиболее распространенными мутациями являются замены лизина или аргинина на глутамин [8]. Нижестоящий белок BRAF представлен мутантной формой в 50–70 % случаев меланомы. BRAF-активация может индуцировать подвижность клеток меланомы, его активация связана с увеличением экспрессии Twist1 и Zeb1, что приводит к большей инвазии меланомных клеток [5]. Кроме того, мутация BRAF потенцирует путь NF κ B, который, в свою очередь, стимулирует экспрессию MMP, увеличивая миграционную способность, и индуцирует экспрессию SNAIL, известного драйвера метастазирования [9, 10].

Митоген-активированная протеинкиназа (MEK) является нисходящим эффектором BRAF и потенциальной мишенью для терапии меланомы [11]. Однако недавние данные свидетельствуют о том, что ингибирование MEK может фактически увеличить инвазивный потенциал в меланоме [12]. Известно, что PI3K/AKT/mTOR-сигнальный путь играет значительную роль в ЭМП при меланоме. Структурная активация PI3K/AKT приводит к последующей экспрессии мезенхимальных белков, репрессии E-кадгерина и усиленной миграции клеток меланомы [13, 14]. Активация PI3K/AKT-пути регулируется белком PTEN. Стоит отметить, что PTEN часто мутирован при меланоме, и потеря его функций ведет к резистентности к лекарственной терапии и плохому прогнозу [15]. Дальнейшая активация комплекса mTOR-mTORC1 индуцирует ЭМП путем активации p70S6 киназы 1 (S6K1). Таким образом, mTOR-путь является потенциальной мишенью для терапии меланомы, нацеленной на блокирование ЭМП.

Целью исследования явилось изучение влияния ко-ингибирования MEK и mTOR на выживаемость, возможность формирования 3D-сфероидов и миграционные способности клеточных линий меланомы, а также взаимосвязь этих изменений с маркерами ЭМП и аутофагии.

Материал и методы

Клеточные линии

Клетки метастатической меланомы Mel MTP и Mel Z были получены из опухолевого материала пациентов, проходивших лечение в НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина [16]. Клеточные линии культивировали в RPMI-1640 (Gibco, США) с добавлением 10 % телячьей эмбриональной сыворотки (ТЭС, HyClone, США), 2 mM L-глутамина (Sigma, США), 10 МЕ/мл пенициллин-стрептомицина (ПанЭко, Россия) при 37 °C в атмосфере с 5 % CO₂. Клетки поддерживали в логарифмической фазе роста постоянным пересевом культуры через 3–4 дня.

Оценка цитотоксичности

Клеточные линии (8×10^4 кл/лунка) вносили в 96-луночный планшет. Через 24 ч заменяли среду и добавляли рапамицин и/или биниметиниб и инкубировали в течение 48 ч при 37 °C и 5 % CO₂. Затем вносили раствор MTT (3-[4,5-диметилтриазол-2-ил]-2,5-дифенилтетразолийбромид, Sigma-Aldrich, США) в конечной концентрации 0,5 мг/мл. Образовавшиеся кристаллы диформаза элюировали с клеточных мембран ДМСО (200 мкл/лунка). Результат оценивался спектрофотометрически при длине волны 570 нм на анализаторе Multiscan FC (Thermo Scientific, США). Выживаемость клеток рассчитывали по формуле: (OD экспериментальной группы – OD контрольной группы) / OD контрольной группы $\times$ 100 %.

Иммуноблоттинг

Клетки (2×10^6) лизировали в буфере, содержащем 50 mM Трис-HCl, 1 mM ЭДТА, 0,5 % дезоксихолата натрия, 0,1 % SDS, 10 мкл/мл ингибирующего коктейля, 1 mM PMSF, 100 мкмоль/л ДТТ (pH 7,5) в течение 40 мин при +4 °C, центрифугировали при 13 400 об/мин 15 мин при +4 °C. Концентрацию белка определяли методом Брэдфорда (Sigma-Aldrich, США) на спектрофлуориметре Multiscan FC (595 нм). Электрофорез образцов, содержащих по 40–60 мкг белка, проводили в 10 % SDS-полиакриламидном геле, белки переносили на нитроцеллюлозные мембраны (Bio-Rad, США) методом полусухого электропереноса в системе Trans-Blot Turbo (Bio-Rad, США) при 1A и 25B в течение 30 мин. Для предотвращения неспецифической сорбции нитроцеллюлозную мембрану обрабатывали 5 % раствором сухого молока («Applichem», Германия) в TBS-T Мембрану инкубировали с первичными антителами LC3B (Novus Biologicals, Великобритания), p62/SQSTM1 (Cell Signaling, США), Беклин 1 (Cell Signaling, США), E-кадгерин (Dako, Дания), N-кадгерин (Dako, Дания), β -катенин (NeoMarkers, Великобритания), Виментин (Dako, Дания) и β -актином (Sigma, США) в течение ночи при +4 °C, отмывали раствором TBS-T при комнатной

температуре, инкубировали 1,5 ч с вторичными антивидовыми антителами, конъюгированными пероксидазой хрена (Amersham, США). Затем добавляли хемилюминесцентный субстрат Clarity ECL (Bio-Rad, США). Хемилюминесцентную реакцию регистрировали на ChemiDoc Touch (Bio-Rad, США). Денситометрический анализ проводился с помощью программы ImageJ (NIH, США).

Иммуноцитохимическое исследование

Клетки наращивали на стеклах до 80 % монослоя, далее фиксировали в спирте и ацетоне, инкубировали с первичными антителами к Е-кадхерину (Dako, Дания), N-кадхерину (Dako, Дания), β -катенину (NeoMarkers, Великобритания), Виментину (Dako, Дания), матриксным металлопротеиназам 2 (Abcam, Великобритания) и 9 (Santa Cruz, США) при 4 °C в течение 18 ч. Клетки промывали и инкубировали с вторичными антивидовыми антителами, меченными флуорохромом AlexaFluor®488 (Life Technologies, США), а затем с Хекстом 33258 (ПанЭко, США). Клетки заключали под покровные стекла с использованием полимерной среды Fluorescent mounting medium (Dako, Дания). Интенсивность окрашивания оценивали на клеточном анализаторе InCell Analyzer 6000 с использованием программного обеспечения InCell Investigator.

Формирование сфероидов с использованием RGD-пептида

Формирование сфероидов проводили, как описано ранее [17]. Стоковый раствор cyclo-RGDfK(TPP) пептида (400 мкМ) готовили растворением лиофилизированного порошка в питательной среде RPMI-1640 без сыворотки и последующей стерилизацией через одноразовый фильтр (Millipore, 0,22 мкм), стоковый раствор хранили в морозильной камере при -20 °C не более трех месяцев. Клетки рассеивали на 96-луночные планшеты в концентрации 2×10^4 клеток на лунку в 100 мкл питательной среды RPMI-1640 + 10 % ТЭС и помещали в CO₂-инкубатор. Через 2–4 ч из лунок удаляли старую питательную среду и вносили 100 мкл полной среды, содержащей 10–100 мкМ пептида, и вновь помещали в CO₂-инкубатор. За изменениями в характере роста и морфологии клеток наблюдали с помощью оптического микроскопа.

Оценка инвазии сфероидов в Матригель

Сфероиды клеточной линии Mel Z, полученные на основе RGD-пептидов, собирали в 15 мл пробирку и открывали в течение 10 мин при 1500 об/мин. Далее отбирали супернатант, к осадку клеток добавляли 1 мл Матригеля (BD Bioscience, Бельгия), аккуратно ресуспендировали и добавляли по 50 мкл в охлажденный 96-лучный планшет. Планшет инкубировали при 37 °C 10 мин для полимеризации Матригеля, а затем добавляли 100 мкл полной питательной среды, содержащей

рапамицин (250 нМ) и/или биниметиниб (2,5 мМ) или оставляли интактными. Инвазия клеток в Матригель оценивалась через 2–3 дня с помощью светового микроскопа.

Оценка миграционной способности клеток в камере Бойдена

Клетки меланомы ($2,5 \times 10^5$ /мл) прединкубировали с рапамицином (250 нМ) и/или биниметинибом (2 мМ) в течение 4 ч, затем переносили в камеру Бойдена в 300 мкл бессывороточной среды, содержащей химиопрепараты, помещали в 24-луночный планшет, содержащий 750 мкл среды с 10 % ТЭС для создания условий для миграции клеток через поры камеры Бойдена, и оставляли на 24 ч при 37 °C в атмосфере с 5 % CO₂. Затем мембрану фиксировали 3 % формальдегидом в течение 5 мин с последующей фиксацией в метаноле, после чего клетки окрашивали 0,5 % раствором кристаллического фиолетового в течение 30 мин. Количество мигрировавших клеток с нижней стороны мембраны камеры Бойдена считали в 5 различных полях ($\times 40$) под световым микроскопом Nikon 80i.

Статистический анализ

Все эксперименты были выполнены в трех повторях. Статистический анализ и графический интерфейс представлены с использованием программного обеспечения GraphPad Prism v.5.0. (GraphPad, США). Для достоверности различий использовали t-критерий Стьюдента. Значение $p \leq 0,05$ считалось статистически достоверным.

Результаты

Изучение экспрессии маркеров ЭМП на клеточных линиях меланомы Mel Z и Mel MTP

Изначально мы изучили базальную экспрессию Е-кадхерина, N-кадхерина, β -катенина, виментина, MMP2 и MMP9 на 2 клеточных линиях метастатической меланомы Mel Z, несущей мутацию в гене *BRAF*, и линии с мутантным *NRAS* – Mel MTP. Установлено, что обе клеточные линии отличаются более высоким базальным уровнем маркеров мезенхимальности: виментина, N-кадхерина и MMP2 по сравнению с эпителиальным маркером Е-кадхерином. Уровень экспрессии β -катенина и MMP9 был заметно ниже (рис. 1).

Ранее нами был изучен уровень базальной аутофагии по уровню экспрессии Беклин 1 в исследованных клеточных линиях [18]. Было показано, что клеточная линия Mel Z имела низкий уровень базальной аутофагии, а Mel MTP – высокий. Таким образом, на уровне базальной экспрессии корреляции между уровнем аутофагии и ЭМП не отмечено.

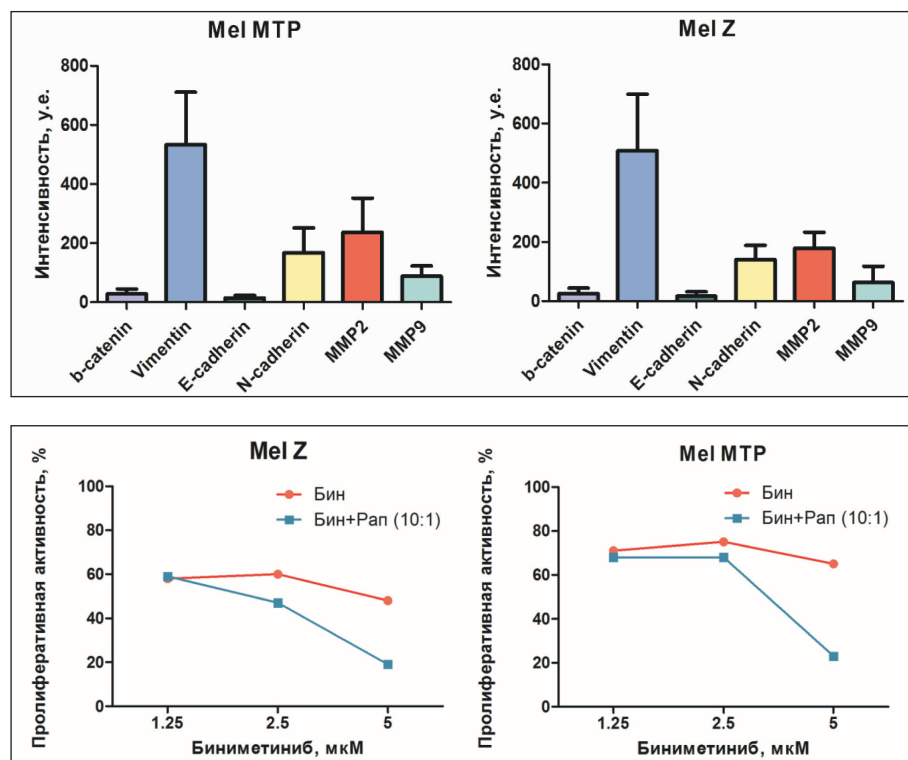


Рис. 1. Иммуноцитохимическое исследование экспрессии маркеров ЭМП на клеточных линиях меланомы Mel MTP и Mel Z

Рис. 2. Изменение цитотоксичности биниметиниба в присутствии или отсутствии рапамицина на клеточных линиях меланомы Mel Z и Mel MTP определено методом МТТ после 48-часовой инкубации с препаратами ($p < 0,05$)

Цитотоксичность комбинации биниметиниба и рапамицина

Далее мы изучили действие биниметиниба и/или рапамицина на выживаемость клеточных линий меланомы. Величина IC_{50} биниметиниба составила $3,8 \pm 0,2 \mu M$ для линии Mel Z и $10,2 \pm 0,4 \mu M$ – для Mel MTP ($p < 0,05$), величина IC_{50} рапамицина составила $300 \pm 15 nM$ для обеих клеточных линий ($p < 0,05$). Для изучения действия комбинации препаратов на выживаемость клеток меланомы биниметиниб и рапамицин брали в соотношении 10:1. Все комбинации демонстрировали усиленный антипролиферативный эффект по сравнению с монорежимами рапамицина и биниметиниба, однако синергизм действия 2 препаратов, определяемый по комбинационному индексу (КИ) методом Chou-Talalay [19], отмечался только при концентрациях 5 μM биниметиниба и 0,5 μM рапамицина и 2,5 μM биниметиниба и

0,25 μM рапамицина (таблица, рис. 2). При более низких концентрациях отмечалась незначительная аддитивность взаимодействия препаратов (данные не представлены). Для дальнейших исследований брали биниметиниб и рапамицин в концентрациях 2,5 μM и 250 нМ, которые приводили к 10–15 % ингибированию роста по сравнению с биниметинибом в монорежиме.

Цитотоксичность комбинации биниметиниба и рапамицина в 3D-сфероиде

Опираясь на данные о цитотоксичности препаратов в монослойной культуре (2D-культуре), мы исследовали эффективность комбинации в 3D-сфероиде, которые представляют собой более близкую к *in vivo* клеточную модель. Клетки Mel Z формировали плотные сфероиды с диаметром в среднем 100 μm , клетки Mel MTP имели

Таблица

Антипролиферативная активность (% от контроля) биниметиниба, рапамицина или их комбинации в соотношении 10:1, КИ – комбинационный индекс, посчитанный по методу Chou-Talalay (КИ < 1 – антагонизм, > 1 – антагонизм, = 1 – аддитивность)

Mel Z						Mel MTP					
Биниметиниб		Рапамицин		Биниметиниб + рапамицин		Биниметиниб		Рапамицин		Биниметиниб + рапамицин	
Концентрация, мкМ	Выживаемость	Концентрация, нМ	Выживаемость	Выживаемость	КИ	Концентрация, мкМ	Выживаемость	Концентрация, нМ	Выживаемость	Выживаемость	КИ
5	48 %	500	16 %	19 %	0,95	5	67 %	500	28 %	23 %	0,99
2,5	60 %	250	80 %	47 %	0,45	2,5	75 %	250	77 %	68 %	0,8
1,25	58 %	125	95 %	59 %	0,97	1,25	71 %	125	98 %	68 %	1,25

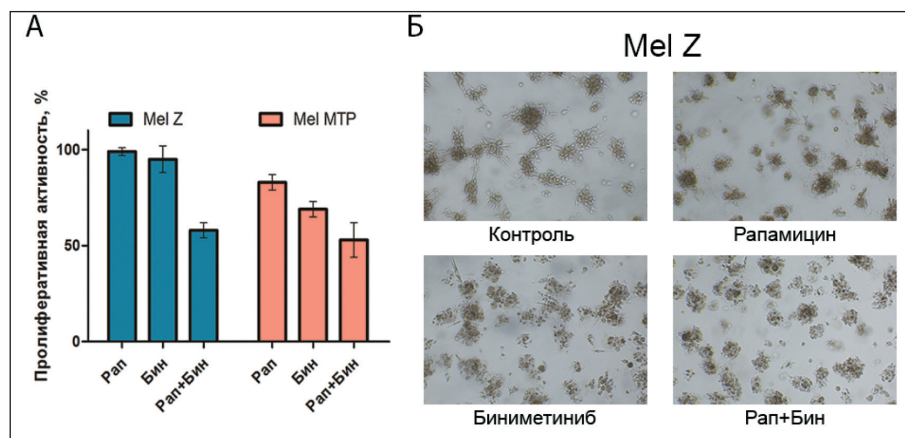


Рис. 3. Влияние комбинации биниметиниба и/или рапамицина на 3D-клеточные линии меланомы: А – антипролиферативная активность биниметиниба, рапамицина или их комбинации в 3D-сфероиде клеточных линий Mel MTP и Mel Z методом МТТ после 48 ч инкубации с препаратами; Б – изучение инвазивности 3D-сфероидов клеток Mel Z, имплантированных в Матригель, через 48 ч после воздействия биниметиниба и/или рапамицина

гроздевидную форму. Минимальное количество *cyclo-RGDfK*(TPP) пептида для формирования сфероидов составило 100 μ M для Mel Z и 50 μ M для Mel MTP. Неожиданным оказался тот факт, что биниметиниб в монорежиме был нетоксичным для клеток линии Mel Z по сравнению с монослойной культурой (95 % выживаемость в 3D-сфероиде против 60 % в 2D-культуре), при этом в Mel MTP токсичность биниметиниба была сопоставима с 2D-культурой (75 и 69 % соответственно). При комбинации с рапамицином в клеточной линии Mel Z сохранялся усиленный антипролиферативный эффект по сравнению с биниметинибом, а в линии Mel MTP отмечалось усиление токсичности на 20 % (рис. 3А).

Биниметиниб и рапамицин снижают инвазию, но не миграцию клеток меланомы *in vitro*

Мы изучили способность биниметиниба и/или рапамицина к уменьшению инвазии клеток на 3D-сфероиде, имплантированных в Матригель, для чего клетки линии Mel Z были преинкубированы с биниметинибом (2,5 мкМ) и/или рапамицином (250 нМ) в течение 48 ч. Рапамицин и биниметиниб в монорежиме снижали инвазию Mel Z в Матригель. Более того, комбинированное действие препаратов приводило к более значительному ингибированию инвазии по сравнению с биниметинибом и рапамицином отдельно (рис. 3Б).

Влияние комбинации биниметиниба и рапамицина на миграционную способность клеток меланомы было изучено по способности клеток проходить 8 мкМ мембрану камеры Бойдена. Клетки преинкубировали с препаратами в течение 4 ч, после чего их вносили в камеру Бойдена в бесывороточной среде с 2,5 мкМ биниметинибом и/или 250 нМ рапамицином. Через 24 ч получали изображения мигрировавших через камеру Бойдена клеток и подсчитывали количество промигрировавших клеток в присутствии препаратов под световым микроскопом в 5 полях (рис. 4). Снижение миграционной активности под действием препаратов относительно контроля было более значительным в клетках линии Mel Z по сравнению с Mel MTP. Однако не выявлено различий в миграционной способности под действием биниметиниба, рапамицина и их комбинации ни в одной из двух клеточных линий. Более того, ко-инкубация с биниметинибом и рапамицином в клеточной линии Mel Z приводила к усиленной миграции клеток, что может быть объяснено более агрессивным фенотипом этих клеток и как следствие повышенной подвижностью.

Изучение экспрессии маркеров ЭМП и аутофагии под действием комбинации рапамицина и биниметиниба

Для оценки степени участия маркеров ЭМП и аутофагии в снижении опухолевой пролиферации

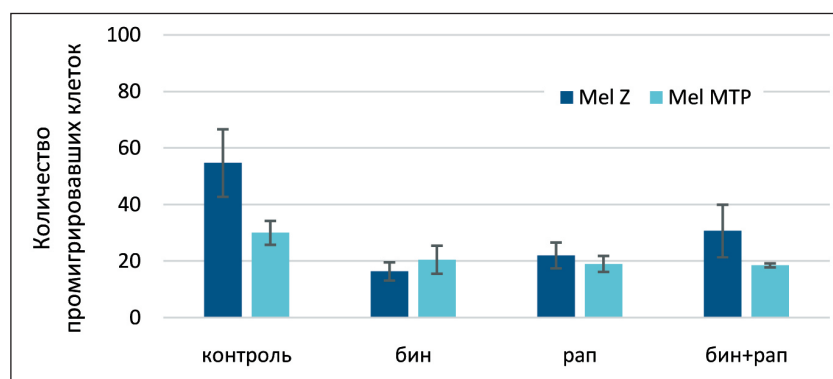


Рис. 4. Миграционная способность клеточных линий Mel MTP и Mel Z в камере Бойдена после 24-часовой инкубации с биниметинибом (2,5 мкМ) и/или рапамицином (250 нМ). Количество мигрировавших клеток в камере Бойдена подсчитывали в 5 различных полях ($\times 40$) под световым микроскопом

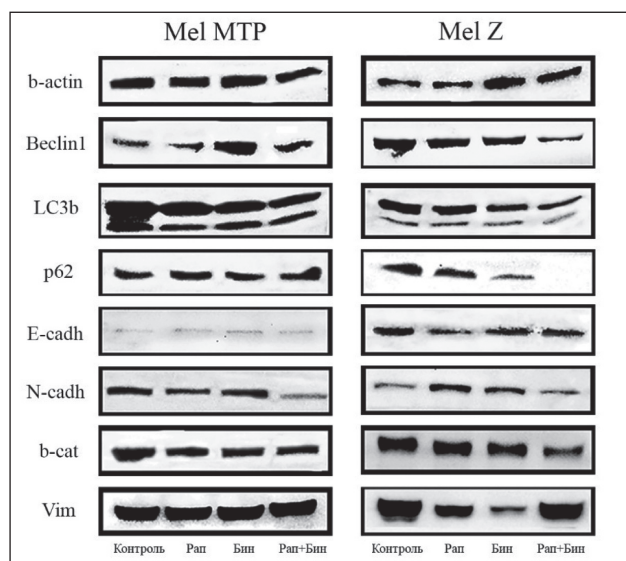


Рис. 5. Иммуноблоттинг экспрессии Беклина 1, LC3В, p62, Е-кадгерина, N-кадгерина, β -катенина и виментина после воздействия биниметиниба и/или рапамицина на клеточных линиях меланомы Mel MTP и Mel Z

под действием рапамицина и/или биниметиниба мы исследовали экспрессию Е-кадгерина, N-кадгерина, β -катенина, виментина, LC3В/II, p62/SQSTM1 и Беклин 1. Активность каждого рецептора определяли методом вестерн-блоттинга с использованием соответствующих антител. Как показано на рис. 5, в клетках Mel Z комбинация препаратов снижала экспрессию маркеров аутофагии Беклин 1, p62/SQSTM1, LC3В/II и маркеров мезенхимальности N-кадгерина и β -катенина, препараты в монорежиме не влияли на степень активации белков. При этом уровень виментина оставался неизменным. Схожая картина наблюдалась и в другой линии меланомы Mel MTP, где комбинация препаратов также подавляла активацию N-кадгерина, β -катенина и LC3В/II. Однако не происходило сколько-нибудь значимой блокировки p62/SQSTM1 и виментина по сравнению с контролем. При исследовании обеих клеточных линий не отмечено значимых различий в экспрессии Е-кадгерина.

Обсуждение

Основной причиной, ограничивающей эффективность таргетной терапии при меланоме, являются возникающая резистентность и дальнейшая опухолевая прогрессия. Чаще всего резистентность приобретается за счет реактивации MAPK-сигнального пути или активации альтернативных каскадов, включая PI3K/AKT/mTOR [20]. Оба сигнальных пути PI3K/AKT/mTOR и MAPK могут регулироваться посредством рецепторных тирозинкиназ [21].

В данном исследовании мы показали, что комбинация MEK-ингибитора биниметиниба и mTOR-ингибитора рапамицина имеет большую

терапевтическую эффективность по сравнению с препаратами в монорежиме в экспериментах *in vitro*. Биниметиниб и рапамицин синергично снижали пролиферативную активность как BRAF-мутированной меланомы Mel Z, так и NRAS-мутированной Mel MTP. Более того, данный эффект сохранялся и при изучении эффективности данной комбинации в 3D-сфероидах, которые представляют собой более близкую к *in vivo* экспериментальную модель. Недавние данные показали, что инактивация PI3K/AKT/mTOR-сигнального пути уменьшает прогрессию меланомы. Предварительные исследования показывают, что ингибитор PI3K, LY-294.002 может уменьшить инвазию и миграцию меланомы за счет снижения фосфорилирования AKT и увеличения экспрессии MITF [22]. Схожие данные были получены и при других типах опухолей [23].

Нами показано, что частично эффективность комбинации связана со снижением маркеров ЭМП N-кадгерина и β -катенина и снижением аутофагии в клетках меланомы – Беклин 1, p62/SQSTM1 и LC3В/II.

Недавно была исследована прогностическая значимость маркеров аутофагии и ЭПМ LC3В, E-cadherin и Vimentin в предсказании общей выживаемости у пациентов с карциномой желудка, гастроинтестинальными опухолями и раком почки [24].

Известно, что PI3K/AKT/mTOR играет значительную роль в меланоме ЭМП. Структурная активация PI3K/AKT приводит к последующей экспрессии мезенхимальных белков, репрессии Е-кадгерина и усиленной миграции клеток меланомы [13, 14]. mTOR является нисходящим эффектором пути PI3K/AKT. mTOR функционирует как каталитическая единица двух важных белковых комплексов mTORC1 и mTORC2 [25]. Активация mTORC1 индуцирует ЭМП путем активации p70S6 киназы 1. Это изменение стимулирует реорганизацию F-актина, фокальную адгезию и экспрессию MMP. Через фосфорилирование AKT, сигнализация TGF β стимулирует mTORC2, чтобы индуцировать цитоскелетную реорганизацию и миграцию.

Хотя ряд ученых показали, что ингибирование MEK при меланоме может увеличивать инвазию и индуцировать клеточную подвижность, особенно в клеточных линиях, мутантных по BRAF и KRAS [12, 26–28], в нашем исследовании комбинация биниметиниба и рапамицина снижала инвазию клеток, но не миграцию. Стоит отметить, что не все MEK-ингибиторы индуцируют повышенную инвазию клеток. Так, MEK-ингибитор траметиниб уменьшал фосфорилирование ERK1/2, но увеличивал активацию AKT и нисходящих эффекторов в NRAS-мутированных клетках SK-MEL-2 посредством EGF-сигналинга [29]. Другой MEK-ингибитор селуметиниб индуцировал инвазию в

клеточной линии A375 по сравнению с контролем за счет усиления экспрессии MMP-2 и MMP-9 и промезенхимальных транскрипционных факторов, таких как Zeb1, Twist, Snail [12, 30]. С другой стороны, U0126 – потенциальный ингибитор MEK – ингибировал инвазию клеток A375 в клеточных моделях в матриксе за счет снижения экспрессии урокиназы плазминогена и MMP-9 [31].

Недавние исследования показывают, что аутофагия и ЭМП находятся в сложной взаимосвязи в опухолях [2]. Оба процесса регулируются общими молекулярными медиаторами и сигнальными путями, включая TGF, STAT3 и PI3K/AKT/mTOR сигнальный каскад. С одной стороны, aberrantная активация ЭМП требует повышенного уровня аутофагии для поддержания жизнеспособности опухолевых клеток при метастатическом распространении. С другой стороны, аутофагия на ранних стадиях может подавлять рост опухоли, дестабилизируя важнейшие медиаторы ЭМП [2]. Qiang and He показали, что функциональное снижение аутофагии активировало ЭМП посредством

SQSTM1-опосредованной стабилизации TWIST1 [32]. В другом исследовании было показано, что нокдаун белка Беклин 1 ингибировал рапамицин-опосредованную активацию аутофагии, что приводило к подавлению ЭМП и снижению инвазивности клеток рака толстой кишки [33].

В целом Беклин 1-зависимая аутофагия играет важную роль в регуляции ЭМП и ассоциирована с ростом, метастазированием, лекарственной устойчивостью и плохим прогнозом онкозаболеваний, таких как холангиокарцинома, аденокарцинома поджелудочной железы, карцинома пищевода, рак молочной железы, рак желудка и др. [34–37].

Заключение

Таким образом, инактивация аутофагии и ЭМП за счет таргетного ко-ингибирования MEK и mTOR киназ позволяет преодолевать резистентность к существующей терапии и может быть рассмотрена как перспективная мишень для терапии меланомы.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Yang X., Yu D.D., Yan F., Jing Y.Y., Han Z.P., Sun K., Liang L., Hou J., Wei L.X. The role of autophagy induced by tumor microenvironment in different cells and stages of cancer. *Cell Biosci.* 2015 Mar 28; 5: 14. doi: 10.1186/s13578-015-0005-2.
2. Gugnani M., Sancisi V., Manzotti G., Gandolfi G., Ciarrocchi A. Autophagy and epithelial-mesenchymal transition: an intricate interplay in cancer. *Cell Death Dis.* 2016 Dec 8; 7(12): e2520. doi: 10.1038/cddis.2016.415.
3. Kalluri R., Weinberg R.A. The basics of epithelial-mesenchymal transition. *J Clin Invest.* 2009 Jun; 119(6): 1420–8. doi: 10.1172/JCI39104.
4. Alonso S.R., Tracey L., Ortiz P., Pérez-Gómez B., Palacios J., Polán M., Linares J., Serrano S., Sáez-Castillo A.I., Sánchez L., Pajares R., Sánchez-Aguilera A., Artiga M.J., Piris M.A., Rodríguez-Peralto J.L. A High-Throughput Study in Melanoma Identifies Epithelial-Mesenchymal Transition as a Major Determinant of Metastasis. *Cancer Res.* 2007 Apr 1; 67(7): 3450–60. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-06-3481.
5. Caramel J., Papadogeorgakis E., Hill L., Browne G.J., Richard G., Wierinckx A., Saldanha G., Osborne J., Hutchinson P., Tse G., Lachuer J., Puisieux A., Pringle J.H., Ansieau S., Tulchinsky E. A switch in the expression of embryonic EMT-inducers drives the development of malignant melanoma. *Cancer Cell.* 2013 Oct 14; 24(4): 466–80. doi: 10.1016/j.ccr.2013.08.018.
6. Sullivan R.J., Fisher D.E. Understanding the Biology of Melanoma and Therapeutic Implications. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2014 Jun; 28(3): 437–53. doi: 10.1016/j.hoc.2014.02.007.
7. van't Veer L.J., Burgering B.M., Versteeg R., Boot A.J., Ruiter D.J., Osanto S., Schrier P.I., Bos J.L. N-ras mutations in human cutaneous melanoma from sun-exposed body sites. *Mol Cell Biol.* 1989 Jul; 9(7): 3114–6.
8. Platz A., Egyhazi S., Ringborg U., Hansson J. Human cutaneous melanoma; a review of NRAS and BRAF mutation frequencies in relation to histogenetic subclass and body site. *Mol Oncol.* 2008 Apr; 1(4): 395–405. doi: 10.1016/j.molonc.2007.12.003.
9. Lin K., Baritaki S., Militello L., Malaponte G., Bevelacqua Y., Bonavida B. The Role of B-Raf Mutations in Melanoma and the Induction of EMT via Dysregulation of the NF- κ B/Snail/RKIP/PTEN Circuit. *Genes Cancer.* 2010 May; 1(5): 409–420. doi: 10.1177/1947601910373795.
10. Whipple C.A., Brinkerhoff C.E. BRAF(V600E) melanoma cells secrete factors that activate stromal fibroblasts and enhance tumorigenicity. *Br J Cancer.* 2014 Oct 14; 111(8): 1625–33. doi: 10.1038/bjc.2014.452.
11. Salama A.K., Kim K.B. Trametinib (GSK1120212) in the treatment of melanoma. *Expert Opin Pharmacother.* 2013 Apr; 14(5): 619–27. doi: 10.1517/14656566.2013.770475.
12. Ferguson J., Arozarena I., Ehrhardt M., Wellbrock C. Combination of MEK and SRC inhibition suppresses melanoma cell growth and invasion. *Oncogene.* 2013 Jan 3; 32(1): 86–96. doi: 10.1038/onc.2012.25.
13. Fenouille N., Tichet M., Dufies M., Pottier A., Mogha A., Soo J.K., Rocchi S., Mallavialle A., Galibert M.-D., Hammami A., Lacour J.-P., Ballotti R., Deckert M., Tartare-Deckert S. The Epithelial-Mesenchymal Transition (EMT) Regulatory Factor SLUG (SNAI2) Is a Downstream Target of SPARC and AKT in Promoting Melanoma Cell Invasion. *PLoS One.* 2012; 7(7): e40378. doi: 10.1371/journal.pone.0040378.
14. Thiery J.P., Sleeman J.P. Complex networks orchestrate epithelial-mesenchymal transitions. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2006 Feb; 7(2): 131–42. doi: 10.1038/nrm1835.
15. Nathanson K.L., Martin A.M., Wubbenhorst B., Greshock J., Letrero R., D'Andrea K., O'Day S., Infante J.R., Falchook G.S., Arkenau H.T., Millward M., Brown M.P., Pavlick A., Davies M.A., Ma B., Gagnon R., Curtis M., Lebowitz P.F., Kefford R., Long G.V. Tumor genetic analyses of patients with metastatic melanoma treated with the BRAF inhibitor dabrafenib (GSK2118436). *Clin Cancer Res.* 2013 Sep 1; 19(17): 4868–78. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-13-0827.
16. Mikhaylova I.N., Kovalevsky D.A., Morozova L.F., Golubeva V.A., Cheremushkin E.A., Lukashina M.I., Voronina E.S., Burova O.S., Utyashev I.A., Kiselev S.L., Demidov L. V., Beabealashvili R.S., Baryshnikov A.Y. Cancer/testis genes expression in human melanoma cell lines. *Melanoma Res.* 2008 Oct; 18(5): 303–13. doi: 10.1097/CMR.0b013e32830c391d.
17. Akasov R., Zaytseva-Zotova D., Burov S., Leko M., Dontenwill M., Chipper M., Vandamme T., Markvicheva E. Formation of multicellular tumor spheroids induced by cyclic RGD-peptides and use for anticancer drug testing in vitro. *Int J Pharm.* 2016 Jun 15; 506(1–2): 148–57. doi: 10.1016/j.ijpharm.2016.04.005.
18. Ryabaya O., Prokofieva A., Khochenkov D., Abramov I., Zasedatelev A., Stepanova E. Inhibition of endoplasmic reticulum stress-induced autophagy sensitizes melanoma cells to temozolomide treatment. *Oncol Rep.* 2018 Jul; 40(1): 385–394. doi: 10.3892/or.2018.6430.
19. Chou T.C., Talalay P. Quantitative analysis of dose-effect relationships: the combined effects of multiple drugs or enzyme inhibitors. *Adv. Enzyme Regul.* 1984; 22: 27–55.
20. Calero R., Morchon E., Martinez-Argudo I., Serrano R. Synergistic anti-tumor effect of 17AAG with the PI3K/mTOR inhibitor NVP-BEZ235 on human melanoma. *Cancer Lett.* 2017 Oct 10; 406: 1–11. doi: 10.1016/j.canlet.2017.07.021.
21. Carlino M.S., Todd J.R., Gowrishankar K., Mijatov B., Pupo G.M., Fung C., Snoyman S., Hersey P., Long G. V., Kefford R.F., Rizos H. Differential activity of MEK and ERK inhibitors in BRAF inhibitor resistant melanoma. *Mol Oncol.* 2014 May; 8(3): 544–54. doi: 10.1016/j.molonc.2014.01.003.
22. Schlegel N.C., von Planta A., Widmer D.S., Dummer R., Christofori G. PI3K signalling is required for a TGF β -induced epithelial-mesenchymal-like transition (EMT-like) in human melanoma cells. *Exp Dermatol.* 2015 Jan; 24(1): 22–8. doi: 10.1111/exd.12580.
23. Haagen E.J., Kyle S., Beale G.S., Maxwell R.J., Newell D.R. The synergistic interaction of MEK and PI3K inhibitors is modulated by mTOR inhibition. *Br J Cancer.* 2012 Apr 10; 106(8): 1386–94. doi: 10.1038/bjc.2012.70.
24. Wang X., Chen K., Yu Y., Xiang Y., Kim J.H., Gong W., Huang J., Shi G., Li Q., Zhou M., Sayers T., Tewary P., Gao B., Wang J.M. Metformin

sensitizes lung cancer cells to treatment by the tyrosine kinase inhibitor erlotinib. *Oncotarget*. 2017 Nov 21; 8(65): 109068–109078. doi: 10.18632/oncotarget.22596.

25. Betz C., Hall M.N. Where is mTOR and what is it doing there? *J Cell Biol*. 2013 Nov 25; 203(4): 563–74. doi: 10.1083/jcb.201306041.

26. Vultur A., Villanueva J., Krepler C., Rajan G., Chen Q., Xiao M., Li L., Gimotty P.A., Wilson M., Hayden J., Keeney F., Nathanson K.L., Herlyn M. MEK inhibition affects STAT3 signaling and invasion in human melanoma cell lines. *Oncogene*. 2014 Apr 3; 33(14): 1850–61. doi: 10.1038/onc.2013.131.

27. Solit D.B., Garraway L.A., Pratilas C.A., Sawai A., Getz G., Basso A., Ye Q., Lobo J.M., She Y., Osman I., Golub T.R., Sebolt-Leopold J., Sellers W.R., Rosen N. BRAF mutation predicts sensitivity to MEK inhibition. *Nature*. 2006 Jan 19; 439(7074): 358–62. doi: 10.1038/nature04304.

28. Gilmartin A.G., Bleam M.R., Groy A., Moss K.G., Minthorn E.A., Kulkarni S.G., Rominger C.M., Erskine S., Fisher K.E., Yang J., Zappacosta F., Annan R., Sutton D., Laquerre S.G. Is an Inhibitor of MEK Activity and Activation with Favorable Pharmacokinetic Properties for Sustained In Vivo Pathway Inhibition. *Clin Cancer Res*. 2011 Mar 1; 17(5): 989–1000. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-10-2200.

29. Vu H.L., Rosenbaum S., Capparelli C., Purwin T.J., Davies M.A., Berger A.C., Aplin A.E. MIG6 Is MEK Regulated and Affects EGF-Induced Migration in Mutant NRAS Melanoma. *J Invest Dermatol*. 2016 Feb; 136(2): 453–463. doi: 10.1016/j.jid.2015.11.012.

30. Leight J.L., Tokuda E.Y., Jones C.E., Lin A.J., Anseth K.S. Multifunctional bioscaffolds for 3D culture of melanoma cells reveal increased MMP activity and migration with BRAF kinase inhibition. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2015 Apr 28; 112(17): 5366–71. doi: 10.1073/pnas.1505662112.

31. Ge X., Fu Y.M., Meadows G.G. U0126, a mitogen-activated protein kinase kinase inhibitor, inhibits the invasion of human A375 melanoma cells. *Cancer Lett*. 2002; 179(2): 133–140.

32. Qiang L., He Y.-Y. Autophagy deficiency stabilizes TWIST1 to promote epithelial-mesenchymal transition. *Autophagy*. 2014 Oct 1; 10(10): 1864–5. doi: 10.4161/auto.32171.

33. Shen H., Yin L., Deng G., Guo C., Han Y., Li Y., Cai C., Fu Y., Liu S., Zeng S. Knockdown of Beclin-1 impairs epithelial-mesenchymal transition of colon cancer cells. *J Cell Biochem*. 2018 Aug; 119(8): 7022–7031. doi: 10.1002/jcb.26912.

34. Nitta T., Sato Y., Ren X.S., Harada K., Sasaki M., Hirano S., Nakamura Y. Autophagy may promote carcinoma cell invasion and correlate with poor prognosis in cholangiocarcinoma. *Int J Clin Exp Pathol*. 2014 Jul 15; 7(8): 4913–21.

35. Chen Y., Lu Y., Lu C., Zhang L. Beclin-1 expression is a predictor of clinical outcome in patients with esophageal squamous cell carcinoma and correlated to hypoxia-inducible factor (HIF)-1 α expression. *Pathol Oncol Res*. 2009 Sep; 15(3): 487–93. doi: 10.1007/s12253-008-9143-8.

36. Ko Y.H., Cho Y.-S., Won H.S., Jeon E.K., An H.J., Hong S.U., Park J.H., Lee M.A. Prognostic significance of autophagy-related protein expression in resected pancreatic ductal adenocarcinoma. *Pancreas*. 2013 Jul; 42(5): 829–35. doi: 10.1097/MPA.0b013e318279d0dc.

37. Masuda G.O., Yashiro M., Kitayama K., Miki Y., Kasashima H., Kinoshita H., Morisaki T., Fukuoka T., Hasegawa T., Sakurai K., Toyokawa T., Kubo N., Tanaka H., Muguruma K., Masaichi O., Hirakawa K. Clinicopathological Correlations of Autophagy-related Proteins LC3, Beclin 1 and p62 in Gastric Cancer. *Anticancer Res*. 2016; 36(1): 129–136.

Поступила/Received 12.11.18
Принята в печать/Accepted 06.12.18

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Рябая Оксана Олеговна, научный сотрудник, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина Минздрава России (г. Москва, Россия). E-mail: oxa2601@yandex.ru. SPIN-код: 4865-5850. Author ID (Scopus): 56974346800. Researcher ID (WOS): G-1529-2017. ORCID: 0000-0001-6295-3497.

Прокофьева Анастасия Алексеевна, лаборант-исследователь, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина Минздрава России (г. Москва, Россия). Author ID (Scopus): 57202330994.

Хоченков Дмитрий Александрович, кандидат биологических наук, заведующий лабораторией, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). E-mail: khochenkov@gmail.com. SPIN-код: 9588-1183. Author ID (Scopus): 25930436100. Researcher ID (WOS): J-6861-2015. ORCID: 0000-0002-5694-3492.

Акасов Роман Александрович, кандидат химических наук, научный сотрудник, Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Москва, Россия). SPIN-код: 8383-0004. Author ID (Scopus): 56285575900. Researcher ID (WOS): K-2275-2016. ORCID: 0000-0001-6486-8114.

Буров Сергей Владимирович, доктор химических наук, Медико-биологический научно-производственный комплекс «Цитомед» (г. Санкт-Петербург, Россия). SPIN-код: 6046-3461. Author ID (Scopus): 7003948349. Researcher ID (WOS): P-7225-2015.

Марквичева Елена Арнольдовна, доктор химических наук, Институт биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН (г. Москва, Россия). Author ID (Scopus): 6603356683.

Степанова Евгения Владиславовна, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 3008-2690. Author ID (Scopus): 57189217833. Researcher ID (WOS): B-3206-2014. ORCID: 0000-0002-7546-1288.

Финансирование

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант №14-35-00107).

Конфликт интересов

Авторы объявляют, что у них нет конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Oksana O. Ryabaya, Researcher, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology (Moscow, Russia). E-mail: oxa2601@yandex.ru. Author ID (Scopus): 56974346800. Researcher ID (WOS): G-1529-2017. ORCID: 0000-0001-6295-3497.

Anastasia A. Prokofieva, Research assistant, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology (Moscow, Russia). Author ID (Scopus): 57202330994.

Dmitry A. Khochenkov, PhD, Head of the Laboratory, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology (Moscow, Russia). Author ID (Scopus): 57202330994. Researcher ID (WOS): J-6861-2015. ORCID: 0000-0002-5694-3492.

Roman A. Akasov, PhD, Institute of Molecular Medicine, Sechenov First Moscow State Medical University (Moscow, Russia). Author ID (Scopus): 56285575900. Researcher ID (WOS): K-2275-2016. ORCID: 0000-0001-6486-8114.

Sergey V. Burov, DSc, Cytomed J.S.Co (St. Petersburg, Russia). Author ID (Scopus): 7003948349. Researcher ID (WOS): P-7225-2015.

Elena A. Markvicheva, DSc, Institute of Molecular Medicine, Sechenov First Moscow State Medical University (Moscow, Russia). Author ID (Scopus): 6603356683.

Evgenia V. Stepanova, MD, DSc, Leading Researcher, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology (Moscow, Russia). Author ID (Scopus): 57189217833. Researcher ID (WOS): B-3206-2014. ORCID: 0000-0002-7546-1288.

Funding

The study was supported by the Russian Science Foundation (grant № 14-35-00 107).

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

Для цитирования: Ложкомоев А.С., Бакина О.В., Фоменко А.Н., Августинович А.В., Афанасьев С.Г., Добродеев А.Ю., Спирина Л.В., Тарасова А.С., Урмонов У.Б. Применение наноструктурных оксидов для направленного изменения pH микроокружения опухолевых клеток. Сибирский онкологический журнал. 2019; 18(3): 64–70. – doi: 10.21294/1814-4861-2019-18-3-64-70.

For citation: Lozhkomoev A.S., Bakina O.V., Fomenko A.N., Avgustinovich A.V., Afanasyev S.G., Dobrodeev A. Yu., Spirina L.V., Tarasova A.S., Urmonov U.B. The use of nanostructured metal oxides for directional pH changes of tumor cells microenvironment. Siberian Journal of Oncology. 2019; 18(3): 64–70. – doi: 10.21294/1814-4861-2019-18-3-64-70.

ПРИМЕНЕНИЕ НАНОСТРУКТУРНЫХ ОКСИДОВ ДЛЯ НАПРАВЛЕННОГО ИЗМЕНЕНИЯ pH МИКРООКРУЖЕНИЯ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК

А.С. Ложкомоев¹, О.В. Бакина¹, А.Н. Фоменко¹, А.В. Августинович²,
С.Г. Афанасьев², А.Ю. Добродеев², Л.В. Спирина², А.С. Тарасова²,
У.Б. Урмонов²

Институт физики прочности и материаловедения СО РАН, г. Томск, Россия¹

Россия, 634055, г. Томск, пр. Академический, 2/41. E-mail: ovbakina@ispms.tsc.ru¹

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский
медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия²

Россия, 634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5. E-mail: aov862@yandex.ru²

Аннотация

Цель исследования – установить взаимосвязь между кислотно-основными характеристиками наноструктур на основе оксидов алюминия и/или магния и их противоопухолевой активностью в экспериментах *in vitro*. **Материал и методы.** Для синтеза наноструктур на основе оксидов алюминия и/или магния с различными кислотно-основными характеристиками поверхности был использован метод гидролиза алколюатов металлов и их смесей. Морфологию наноструктур исследовали методом просвечивающей электронной микроскопии с интегрированной системой энергодисперсионного анализа. Фазовый состав частиц определяли методом рентгеновской дифракции. Влияние синтезированных наноструктур на жизнеспособность клеточных линий определяли при помощи МТТ-теста на культурах клеток MDA, PyMT и Neuro-2a. **Результаты.** В работе методом гидролиза алколюатов алюминия и магния, а также их смеси были синтезированы наноструктуры оксида алюминия AlOOH, оксида магния MgO, композитные частицы AlOOH/MgO, эффективно подавляющие жизнедеятельность опухолевых клеток. Показано, что наибольшей цитотоксичностью обладает MgO, наименьшей – AlOOH. Анализ физико-химических характеристик синтезированных наноструктур показал, что основными факторами, обуславливающими их противоопухолевую активность, являются кислотно-основные свойства поверхности. Установлено, что MgO повышает pH клеточной питательной среды до 9,4, AlOOH – до 7,7, AlOOH/MgO – до 8,8. При этом наблюдается корреляция между количеством живых клеток при контакте питательной среды с наноструктурами и клеток, инкубированных в среде при повышенном pH, не содержащей наноструктуры. Данный подход может быть использован для синтеза материалов, способных изменять кислотность микроокружения опухолевых клеток в заданном диапазоне для противоопухолевой терапии, в том числе потенцируя действие стандартных химиопрепаратов за счет снижения внеклеточной кислотности. **Заключение.** Анализ характеристик синтезированных наноструктур показал, что основными факторами, обуславливающими их противоопухолевую активность, являются кислотно-основные свойства поверхности. Данный подход может быть использован для синтеза материалов, способных изменять кислотность микроокружения опухолевых клеток в заданном диапазоне для противоопухолевой терапии, в том числе потенцируя действие стандартных химиопрепаратов за счет снижения внеклеточной кислотности.

Ключевые слова: оксид алюминия, оксид магния, микроокружение опухолевых клеток, кислотность микроокружения, противоопухолевая активность.

THE USE OF NANOSTRUCTURED METAL OXIDES FOR DIRECTIONAL pH CHANGES OF TUMOR CELLS MICROENVIRONMENT

A.S. Lozhkomoev¹, O.V. Bakina¹, A.N. Fomenko¹, A.V. Avgustinovich²,
S.G. Afanasyev², A.Yu. Dobrodeev², L.V. Spirina², A.S. Tarasova²,
U.B. Urmonov²

Institute of Strength Physics and Materials Science of the Siberian Branch
of the Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia¹

2/4, pr. Akademicheskii, 634055-Tomsk, Russia. E-mail: ovbakina@ispms.tsc.ru¹

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences,
Tomsk, Russia²

5, Kooperativny Street, 634009-Tomsk, Russia. E-mail: aov862@yandex.ru²

Abstract

Purpose of the study. To establish the effect of acid-base characteristics of alumina and/or magnesium oxide nanostructures on their antitumor activity (in vitro experiments). **Material and methods.** The alumina and/or magnesium oxide nanostructures with various acid-base surface characteristics were obtained by the hydrolysis of metal alkoxides. The morphology of nanostructures was investigated by transmission electron microscopy with an integrated system of energy dispersive analysis. The phase composition of the particles was determined by X-ray diffraction. The effect of the synthesized nanostructures on the viability of cell lines was determined using the MTT test (cell cultures of MDA, PyMT, Neuro-2a). **Results.** In present work we report the preparation of AlOOH, MgO, AlOOH /MgO nanostructures that inhibit the growth of tumor cells. MgO nanostructures inhibit cell growth better than AlOOH nanostructures. It was showed that the main factors determining antitumor activity of nanostructures are the acid-base properties of their surface. All synthesized nanostructures raised the pH of the cell culture medium: MgO – up to 9.4, AlOOH – up to 7.7, AlOOH / MgO – up to 8.8. We observed the same number of viable cells incubated in a cell medium containing nanostructures and cells incubated in medium at an elevated pH value (using NaOH). The results of the study can be used to obtain new materials that can change the acidity of the tumor cells microenvironment for anticancer therapy. **Conclusion.** It was shown that the main factors determining the antitumor activity of nanostructures are the acid-base properties of the surface. This approach can be used to produce new materials that can change the acidity of the tumor cells microenvironment.

Key words: alumina oxide, magnesium oxide, tumor cells microenvironment, acidity of the tumor cells microenvironment, antitumor activity.

Введение

Поиск новых методов лечения злокачественных новообразований является актуальной задачей, несмотря на значительный прогресс в данном направлении в последнее десятилетие. Это связано с тем, что до сих пор не найдено идеальное решение для борьбы со злокачественными опухолями. Для реализации данной задачи широко применяются наноматериалы и нанотехнологии. В настоящее время для лечения рака используются различные системы на основе наночастиц, такие как носители лекарственных средств для целенаправленной терапевтической доставки, магнитоактивные препараты для гипертермии и термохимиотерапии [1–5]. Более того, наночастицы с заданным размером частиц, морфологией и другими физико-химическими свойствами могут влиять на жизнеспособность раковых клеток [6–8] и снижать их метастатический потенциал [9]. Для облегчения доставки лекарств в клетки используют pH-зависимые и pH-чувствительные системы

[10–12]. Перспективным в данном направлении является поиск новых способов воздействия на межклеточную среду с помощью регуляции параметров (кислотность, ионный баланс и др.) микроокружения клеток [13–14]. Это связано с тем, что ионное состояние внеклеточного пространства в значительной степени определяет жизнедеятельность и жизнеспособность клеток [15]. Комплексной характеристикой, отражающей ионное состояние биологических сред, в том числе межклеточных, является величина pH [16–18]. Например, опухолевые клетки вследствие измененного метаболизма создают вокруг себя кислую среду, характеризующуюся пониженной относительно нормальных клеток величиной pH [19]. Внеклеточная кислотность также снижает эффективность стандартных химиопрепаратов [20]. Повышение pH внеклеточной среды приводит к лучшему поглощению клетками слабо основных лекарственных средств, в том числе доксорубицина, и усилению их цитотоксического эффекта [21].

В настоящем исследовании были синтезированы наноструктуры оксидных фаз Al и Mg, способные в разной степени изменять и поддерживать pH микроокружения клеток. В экспериментах *in vitro* показана корреляция между повышением pH микроокружения клеток и эффективностью подавления жизнедеятельности опухолевых клеток.

Материал и методы

Синтез наноструктур осуществляли методом гидролиза бутилата Al, Mg и их смеси. Бутилаты металлов и их смеси синтезировали следующим образом: в конические колбы с объемом бутанола 200 мл добавляли по 2 г металлической стружки Al, Mg и смеси Al и Mg с массовым соотношением 1:1 и кипятили с обратным холодильником в течение 6 ч при постоянном перемешивании до полного растворения металлов. Полученные алкоголяты по каплям выливали в емкость с дистиллированной водой объемом 500 мл, нагретой до 60 °C при интенсивном перемешивании. Полученные в результате гидролиза гидроксиды отфильтровывали на мембране и сушили при 200 °C в течение 12 ч.

Полученные образцы исследовали методом рентгенофазового анализа (РФА) с помощью дифрактометра Shimadzu XRD 7000 (Shimadzu Corporation, Япония). Исследование структуры образцов проводили методом просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ) с помощью электронного микроскопа JEM-2100 (JEOL, Япония). Распределение элементов в частицах оценивали с помощью интегрированной в микроскоп системы энергодисперсионного анализа (ЭДС) X-Max (Oxford Instruments, United Kingdom). Размер частиц определяли с помощью дисковой центрифуги CPS DS24000 (CPS Instruments, США).

Токсическое действие синтезированных наноструктур определяли при помощи МТТ-теста на культурах клеток MDA (эпителиальные клетки аденокарциномы), РуМТ (первичные клетки, выделенные из опухоли мышей) и Neuro-2a (нейробластома мыши, клон линии клеток Neuro C-1300, фибробластоподобные и нейроноподобные клетки). Культура MDA получена из Американской коллекции типовых культур (ATCC). Культура Neuro-2a получена из ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор». Предварительно проводили посев клеток в 96-луночные

планшеты по 7500 клеток на лунку. Культивирование клеток проводили в течение 24 ч при температуре 37 ± 1 °C и 5 % CO₂ в питательной среде. После инкубирования питательную среду удаляли и два раза промывали клетки раствором DPBS.

Для определения цитотоксичности использовали суспензии наноструктур в клеточной среде в концентрациях: 10 мг/мл, 5 мг/мл, 1 мг/мл, 0,5 мг/мл, 0,1 мг/мл, 0,05 мг/мл, 0,01 мг/мл и 0,001 мг/мл. Клетки с наноструктурами инкубировали при температуре 37 ± 1 °C и 5 % CO₂ в течение 24 ч. Для проведения МТТ-теста питательную среду удаляли и два раза промывали клетки раствором DPBS. Затем в каждую лунку добавляли по 100 мкл питательной среды и по 10 мкл раствора МТТ с концентрацией 5 мг/мл. Инкубирование с раствором МТТ проводили в течение 2 ч при температуре 37 ± 1 °C и 5 % CO₂. По окончании инкубирования питательную среду удаляли и добавляли в каждую лунку по 100 мкл диметилсульфоксида. Через 15 мин определяли оптическую плотность на планшетном спектрофотометре Tecan Infinite M1000 PRO (Tecan, Австрия) при длине волны 570 нм. Далее вычисляли процент живых клеток по отношению оптических плотностей исследуемого и контрольного образцов.

Для оценки влияния синтезированных наноструктур на изменение кислотных свойств клеточной питательной среды EMEM (Minimum Essential Medium Eagle) оценивали изменение её pH во времени при концентрации синтезированных наноструктур 5,00 мг/мл с помощью pH-метра Multitest IPL-103 (Semico, Россия).

Статистическая оценка была проведена с использованием программных средств Microsoft Excel и Statistica 6. Достоверность полученных результатов оценивали по t-критерию Стьюдента. Различия считались достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Синтез оксидов и гидроксидов металлов из алкоголятов является одним из способов получения высокочистых веществ [22, 23], а также их смесей [24]. В результате гидролиза бутилата алюминия и магния были синтезированы пористые наноструктуры (рис. 1). При гидролизе бутилата Al образуются складчатые нанолитовые структуры

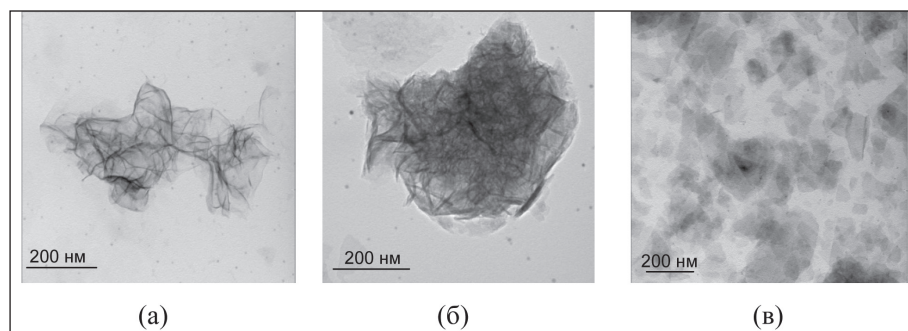


Рис. 1. ПЭМ изображение оксигидроксида Al (а), нанокompозита на основе оксигидроксида Al и Mg (б), оксида магния (в)

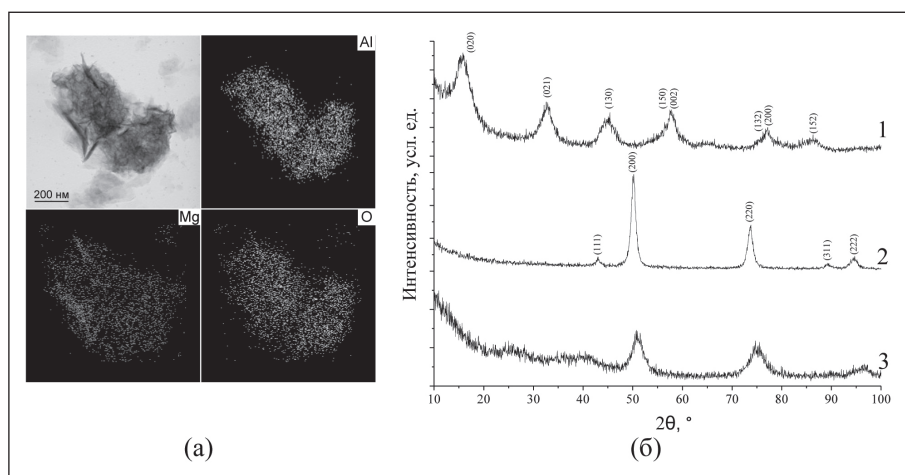


Рис. 2. ПЭМ изображение и элементный анализ в режиме картирования нанокompозита на основе оксигидроксидов Al и Mg при соотношении масс металлов 1:1 (а); РФА продуктов гидролиза алкоголята алюминия (1), алкогольта магния (2), алкогольтов алюминия и магния (3) (б)

оксигидроксида алюминия размером до 1 мкм с толщиной наноллистов 2–5 нм (рис. 1а). В результате гидролиза смесей алкогольтов алюминия и магния с соотношением 1:1 образуется смесь пористых агломератов хаотично расположенных наноллистов толщиной 5–10 нм и нанопластинок размером до 200 нм и толщиной до 20 нм (рис. 1б). При гидролизе бутилата магния образуются нанопластины размером до 500 нм и толщиной 10–30 нм (рис. 1в).

По данным EDS анализа в режиме картирования Mg и Al равномерно распределены по агломератам складчатых наноллистов. Пластинчатые структуры обогащены преимущественно магнием, при этом количественное содержание металлов в частицах соответствует их стехиометрии в смесях алкогольтов (рис. 2а). По данным рентгенофазового анализа (рис. 2б) продуктом гидролиза бутилата алюминия является псевдобемит, бутилата магния – оксид магния. При гидролизе смеси алкогольтов образуется смесь псевдобемита и оксида магния. Следует отметить, что на рентгенограмме продуктов гидролиза алкогольтов алюминия и магния с соотношением 1:1 наблюдается сильное уширение рефлексов AlOOH и MgO, а также снижение их интегральных интенсивностей, что свидетельствует об отсутствии дальнего порядка в расположении атомов и аморфной структуре образца.

Таким образом, в результате гидролиза алкогольтов алюминия и магния были получены наноструктуры псевдобемита и оксида магния. В результате гидролиза смеси алкогольтов образуются агломераты наноллистных структур псевдобемита и оксида магния, при этом происходит равномерное распределение продуктов гидролиза по частицам.

В таблице представлены некоторые характеристики синтезированных наноструктур. Как видно, максимальная удельная поверхность (284 м²/г) и дзета-потенциал (+30,4 мВ), измеренный в воде при температуре 37 °С и pH 7,4, характерны для псевдобемита. Удельная поверхность нанопластинок оксида магния составила 93 м²/г, дзета-потенциал +20,6 мВ. Величина удельной поверхности смешанных наноструктур псевдобемита и оксида магния составила 256 м²/г, дзета-потенциал 25,3 мВ.

На рис. 3 представлены концентрационные зависимости синтезированных наноструктур на жизнеспособность опухолевых клеток MDA, PyMT и Neuro-2a. Цитотоксическое действие синтезированных наноструктур начинается при использовании концентраций от 1 мг/мл и увеличивается при использовании более высоких концентраций. При этом наибольшим цитотоксическим эффектом обладает оксид магния, а наименьшим – псевдобемит. При концентрации наноструктур от 1 мг/мл наблюдается зависимость между цитотоксичностью и количеством оксида магния в образцах для культур клеток PyMT и Neuro-2a. Для клеток MDA такая зависимость наблюдается при концентрации наноструктур 10 мг/мл.

Синтезированные наноструктуры обладают различными кислотно-основными свойствами и по-разному изменяют pH клеточной питательной среды (рис. 4а). При этом псевдобемит повышает pH среды с 7,2 до 7,7, смесь псевдобемита и оксида магния с соотношением масс металлов 1:1 повышает pH до 8,6, оксид магния – до 9,4. При экспериментальной оценке жизнеспособности опухолевых клеток Neuro-2a в питательной среде

Таблица

Характеристики синтезированных наноструктур

Образец	S _{вель} , м ² /г	Дзета-потенциал, мВ	Средний размер частиц, мкм
AlOOH	284	30,4	0,7
MgO	93	20,6	0,4
AlOOH/MgO	256	25,3	0,9

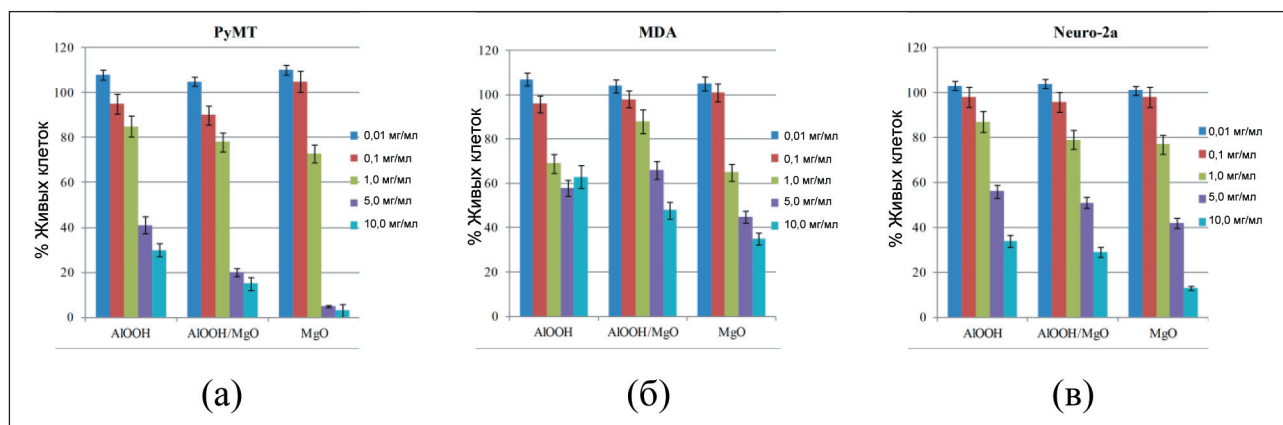


Рис. 3. Цитотоксичность MgO, AlOOH/MgO и AlOOH для клеточных линий PyMT (а), MDA (б) и Neuro-2a (в) относительно контроля (100 % жизнеспособных клеток)

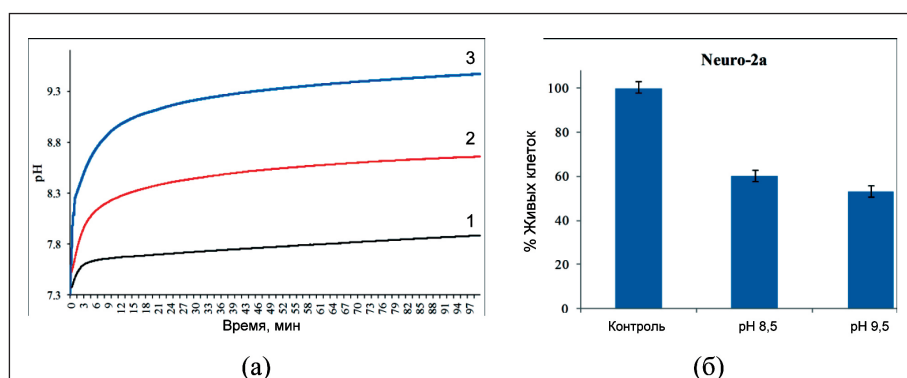


Рис. 4. Изменение pH среды EMEM в присутствии синтезированных наноструктур с концентрацией 5 мг/мл. Примечание: на рис (а) цифрами обозначено: AlOOH – 1, смесь AlOOH и MgO – 2, MgO – 3

с повышенной щелочностью при pH 8,5 и pH 9,5 установлено, что повышение pH приводит к снижению жизнеспособности клеток (рис. 4б). Процент живых клеток при инкубировании в среде с pH 8,5 составил около 60 %, при инкубировании в среде с pH 9,5 – около 50 %. Полученный результат практически совпадает с результатом противоопухолевого действия синтезированных наноструктур. Таким образом, можно утверждать, что одним из ключевых факторов обуславливающих противоопухолевую активность синтезированных наноструктур является увеличение щелочности клеточной среды. Также следует отметить, что синтезированные наноструктуры имеют довольно крупные размеры, не позволяющие проникать им внутрь клетки [25, 26], и токсический эффект проявляется, прежде всего, за счет изменения параметров микроокружения клеток. Можно предположить, что основным механизмом цитотоксического действия синтезированных наноструктур является изменение мембранного потенциала клеток за счет повышения pH внеклеточной среды и как следствие нарушение обменных процессов в клетках.

Заключение

С помощью гидролиза алкоголятов алюминия и магния, а также их смесей были синтезированы 2D наноструктуры псевдобемита и оксида магния. Установлено, что при гидролизе смеси

алкоголятов образуются агрегаты нанолитовых структур с равномерным распределением Al и Mg по частицам, при этом массовое соотношение металлов в агрегатах соответствует их массовому соотношению в смеси алкоголятов. На примере опухолевых клеточных культур PyMT, MDA и Neuro-2a установлено, что все синтезированные наноструктуры оказывают цитотоксическое действие при их концентрации более 1 мг/мл. Наименьшей цитотоксичностью обладает псевдобемит, наибольшей – оксид магния.

Показано, что синтезированные наноструктуры способны по-разному увеличивать pH клеточной питательной среды, pH увеличивается в ряду AlOOH, AlOOH/MgO, MgO, а их цитотоксическое действие напрямую связано с изменением кислотности среды.

Полученные результаты показывают, что, используя данный подход, можно синтезировать наноструктуры, способные изменять pH микроокружения клеток в заданном диапазоне, регулируя соотношение AlOOH и MgO. Синтезированные наноструктуры в перспективе могут быть использованы для противоопухолевой терапии как самостоятельно, так и в совокупности со стандартными химиопрепаратами, потенцируя их действие за счет снижения внеклеточной кислотности опухолевых клеток.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Lee H., Lytton-Jean A.K.R., Chen Y., Love K.T., Park A.I., Karagianis E.D., Sehgal A., Querbes W., Zurenko C.S., Jayaraman M., Peng C.G., Charisse K., Borodovsky A., Manoharan M., Donahoe J.S., Truelove J., Nahrenndorf M., Langer R., Anderson D.G. Molecularly self-assembled nucleic acid nanoparticles for targeted in vivo siRNA delivery. *Nat Nanotechnol.* 2012 Jun 3; 7(6): 389–93. doi: 10.1038/nnano.2012.73.
2. Mikhaylov G., Klimpel D., Schaschke N., Mikac U., Vizovisek M., Fonovic M., Turk V., Turk B., Vasiljeva O. Selective targeting of tumor and stromal cells by a nanocarrier system displaying lipidated cathepsin B inhibitor. *Angew Chem Int Ed Engl.* 2014 Sep 15; 53(38): 1007781. doi: 10.1002/anie.201402305.
3. Mikhaylov G., Mikac U., Magaeva A.A., Itin V.I., Naiden E.P., Psakhye I., Babes L., Reinheckel T., Peters C., Zeiser R., Bogoy M., Turk V., Psakhye S.G., Turk B., Vasiljeva O. Ferri-liposomes as an MRI-visible drug-delivery system for targeting tumours and their microenvironment *Nat Nanotechnol.* 2011 Aug 7; 6(9): 594–602. doi: 10.1038/nnano.2011.112.
4. Peer D., Karp J.M., Hong S., Farokhzad O.C., Margalit R., Langer R. Nanocarriers as an emerging platform for cancer therapy. *Nat Nanotechnol.* 2007 Dec; 2(12): 751–60. doi: 10.1038/nnano.2007.387.
5. Shu Y., Shu D., Haque F., Guo P. Fabrication of pRNA nanoparticles to deliver therapeutic RNAs and bioactive compounds into tumor cells. *Nat Protoc.* 2013 Sep; 8(9): 1635–59. doi: 10.1038/nprot.2013.097.
6. Hauert S., Bhatia S.N. Mechanisms of cooperation in cancer nanomedicine: towards systems nanotechnology. *Trends Biotechnol.* 2014 Sep; 32(9): 448–55. doi: 10.1016/j.tibtech.2014.06.010.
7. Jo D.H., Kim J.H., Lee T.G. Size, surface charge, and shape determine therapeutic effects of nanoparticles on brain and retinal diseases. *Nanomedicine.* 2015 Oct; 11(7): 1603–11. doi: 10.1016/j.nano.2015.04.015.
8. Petros R.A., DeSimone J.M. Strategies in the design of nanoparticles for therapeutic applications. *Nat Rev Drug Discov.* 2010 Aug; 9(8): 615–27. doi: 10.1038/nrd2591.
9. Schroeder A., Heller D.A., Winslow M.M., Dahlman J.E., Pratt G.W., Langer R., Jacks T., Anderson D.G. Treating metastatic cancer with nanotechnology. *Nat Rev Cancer.* 2011 Dec 23; 12(1): 39–50. doi: 10.1038/nrc3180.
10. Gao W., Chan J.M., Farokhzad O.C. pH-responsive nanoparticles for drug delivery. *Mol Pharm.* 2010 Dec 6; 7(6): 1913–20. doi: 10.1021/mp100253e.
11. Lee E.S., Na K., Bae Y.H. Super pH-sensitive multifunctional polymeric micelle. *Nano letters.* 2005 Feb; 5(2): 325–329. doi: 10.1021/nl0479987.
12. Chen D., Liu W., Shen Y., Mu H., Zhang Y., Liang R., Wang A., Sun K., Fu F. Effects of a novel pH-sensitive liposome with cleavable esterase-catalyzed and pH-responsive double smart mPEG lipid derivative on ABC phenomenon. *Int J Nanomedicine.* 2011; 6: 2053–61. doi: 10.2147/IJN.S24344.
13. Burger J.A., Ghia P., Rosenwald A., Caligaris-Cappio F. The microenvironment in mature B-cell malignancies: a target for new treatment strategies. *Blood.* 2009 Oct 15; 114(16): 3367–75. doi: 10.1182/blood-2009-06-225326.
14. Burger J.A. Targeting the microenvironment in chronic lymphocytic leukemia is changing the therapeutic landscape. *Curr Opin Oncol.* 2012 Nov; 24(6): 643–9. doi: 10.1097/CCO.0b013e3283589950.
15. Dhanier F., Feron O., Preat V. To exploit the tumor microenvironment: Passive and active tumor targeting of nanocarriers for anti-cancer drug delivery. *J Control Release.* 2010 Dec 1; 148(2): 135–46. doi: 10.1016/j.jconrel.2010.08.027.
16. Puvvada N., Rajput S., Kumar B.N.P., Sarkar S., Konar S., Brunt K.R., Rao R.R., Mazumdar A., Das S.K., Basu R., Fisher P.B., Mandal M., Pathak A. Novel ZnO hollow-nanocarriers containing paclitaxel targeting folate-receptors in a malignant pH-microenvironment for effective monitoring and promoting breast tumor regression. *Sci Rep.* 2015 Jul 6; 5: 11760. doi: 10.1038/srep11760.
17. Robey I.F., Baggett B.K., Kirkpatrick N.D., Roe D.J., Dosesu J., Sloane B.F., Hashim A.I., Morse D.L., Raghunand N., Gatenby R.A., Gillies R.J. Bicarbonate Increases Tumor pH and Inhibits Spontaneous Metastases. *Cancer Res.* 2009 Mar 15; 69(6): 2260–8. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-07-5575.
18. Prescott D.M., Charles H.C., Poulson J.M., Page R.L., Thrall D.E., Vujaskovic Z., Dewhurst M.W. The relationship between intracellular and extracellular pH in spontaneous canine tumors. *Clin Cancer Res.* 2000 Jun; 6(6): 2501–5.
19. Cardone R.A., Casavola V., Reshkin S.J. The role of disturbed pH dynamics and the Na⁺/H⁺ exchanger in metastasis. *Nature reviews cancer.* 2005 Oct; 5(10): 786–795. doi: 10.1038/nrc1713.
20. Kozin S.V., Shkarin P., Gerweck L.E. The cell transmembrane pH gradient in tumors enhances cytotoxicity of specific weak acid chemotherapeutics. *Cancer research.* 2001 Jun; 61(12): 4740–4743.
21. Raghunand N., Gatenby R.A., Gillies R.J. Microenvironmental and cellular consequences of altered blood flow in tumours. *Br J Radiol.* 2003; 76 Spec No 1: S11–22. doi: 10.1259/bjr/12913493.
22. Barringer E.A., Bowen H.K. Formation, Packing, and Sintering of Monodisperse TiO₂ Powders. *Journal of the American Ceramic Society.* 1982 Dec; 165(12): 199–201.
23. Uchiyama K., Ogihara T., Ikemoto T., Mizutani N., Kato M. Preparation of monodispersed Y-doped ZrO₂ 2 powders. *Journal of materials science.* 1987 Dec; 22(12): 4343–4347.
24. Salmon R., Matijević E. Preparation of colloidal magnesium-aluminum-silicates by hydrolysis of a mixed alkoxide. *Ceramics International.* 1990 Apr; 16(3): 157–163.
25. Zhang S., Li J., Lykotraftis G., Bao G., Suresh S. Size-Dependent Endocytosis of Nanoparticles. *Adv. Mater.* 2009 Jul; 21: 419–424.
26. Jiang W., Kim B.Y., Rutka J.T., Chan W.C. Nanoparticle-mediated cellular response is size-dependent. *Nature nanotechnology.* 2008 Mar; 3: 145–150.

Поступила/Received 12.02.19
Принята в печать/Accepted 1.04.19

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Ложкомоев Александр Сергеевич, кандидат химических наук, старший научный сотрудник, Институт физики прочности и материаловедения, Сибирское отделение Российской академии наук (г. Томск, Россия).

Бакина Ольга Владимировна, кандидат химических наук, научный сотрудник, Институт физики прочности и материаловедения, Сибирское отделение Российской академии наук (г. Томск, Россия). E-mail: ovbakina@ispms.tsc.ru. SPIN-код: 9002-1344.

Фоменко Алла Николаевна, инженер, Институт физики прочности и материаловедения, Сибирское отделение Российской академии наук (г. Томск, Россия). E-mail: alserova@ispms.tsc.ru. SPIN-код: 4435-8053.

Августинович Александра Владимировна, кандидат медицинских наук, научный сотрудник отделения абдоминальной онкологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). E-mail: aov862@yandex.ru. SPIN-код: 2952-6119.

Афанасьев Сергей Геннадьевич, доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделением абдоминальной онкологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 9206-3037. ORCID: 0000-0002-4701-0375. Researcher ID (WOS): D-2084-2012. Author ID (Scopus): 21333316900.

Добродеев Алексей Юрьевич, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник отделения абдоминальной онкологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 5510-4043. ORCID: 0000-0002-2748-0644. Researcher ID (WOS): B-5644-2017. Author ID (Scopus): 24832974200.

Спирина Людмила Викторовна, доктор медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории биохимии опухолей, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 1336-8363. Researcher ID (WOS): A-7760-2012. Author ID (Scopus): 36960462500.

Тарасова Анна Сергеевна, кандидат медицинских наук, младший научный сотрудник отделения абдоминальной онкологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 1554-3063.

Урмонов Умиджон Бутабекович, аспирант отделения абдоминальной онкологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). E-mail: dr_urmonov@mail.ru. SPIN-код: 7150-7291.

Финансирование

Работа выполнена в рамках Программы фундаментальных научных исследований государственных академий наук на 2013–2020 гг., направление III.23.

Конфликт интересов

Авторы объявляют, что у них нет конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Alexandr S. Lozhkomoev, PhD, Senior Researcher, Institute of Strength Physics and Materials Science, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia).

Olga V. Bakina, PhD, Researcher, Institute of Strength Physics and Materials Science, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). E-mail: ovsbakina@ispms.tsc.ru.

Alla N. Fomenko, Engineer, Institute of Strength Physics and Materials Science, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia).

Alexandra V. Avgustinovich, MD, PhD, Researcher, Abdominal Department, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia).

Sergey G. Afanasyev, MD, DSc, Professor, Head of Abdominal Department, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). ORCID: 0000-0002-4701-0375. Researcher ID (WOS): D-2084-2012. Author ID (Scopus): 21333316900.

Alexey Yu. Dobrodeev, MD, DSc, Senior Researcher, Abdominal Department, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). ORCID: 0000-0002-2748-0644. Researcher ID (WOS): B-5644-2017. Author ID (Scopus): 24832974200.

Lyudmila V. Spirina, MD, DSc, Senior Researcher, Laboratory of Tumor Biochemistry, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): A-7760-2012. Author ID (Scopus): 36960462500.

Anna S. Tarasova, MD, PhD, Junior Researcher, Abdominal Department, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia).

Umijon B. Urmonov, MD, Postgraduate, Abdominal Department, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia).

Funding

The study was carried out within the framework of the Program of Basic Scientific Research of the State Academies of Sciences for 2013–20, III.23.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

Для цитирования: Ганцев Ш.Х., Татунов М.А., Ганцев К.Ш., Кзыргалин Ш.Р., Мухамедьяров Р.Ш. Микрохирургические методы исследования патологии лимфатической системы ex vivo при раке молочной железы. Сибирский онкологический журнал. 2019; 18(3): 71–77 – doi: 10.21294/1814-4861-2019-18-3-71-77.

For citation: Gantsev S.K., Tatunov M.A., Gantsev K.S., Kzyrgalin S.R., Mukhamedyarov R.S. Microsurgical methods of ex vivo examination of the lymphatic system in breast cancer patients. Siberian Journal of Oncology. 2019; 18(3): 71–77. – doi: 10.21294/1814-4861-2019-18-3-71-77.

МИКРОХИРУРГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ПАТОЛОГИИ ЛИМФАТИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ EX VIVO ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Ш.Х. Ганцев^{1,2}, М.А. Татунов³, К.Ш. Ганцев^{1,2}, Ш.Р. Кзыргалин^{1,2},
Р.Ш. Мухамедьяров¹

ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России,
г. Уфа, Россия¹

Россия, г. Уфа, 450008, ул. Ленина, 3. E-mail: prfg@mail.ru¹

Центр персонализированной онкологии Академии наук Республики Башкортостан, г. Уфа, Россия.

E-mail: prfg@mail.ru²

Россия, г. Уфа, 450008, ул. Кирова, 15²

ГБУЗ «Челябинская областная клиническая больница», г. Челябинск, Россия³

Россия, г. Челябинск, 454076, ул. Воровского, 70. E-mail: tatunovm76@mail.ru³

Аннотация

Цель исследования – ex vivo изучить особенности перфузии лимфатических узлов при метастазах рака молочной железы. **Материал и методы.** Объектом исследования служили лимфатические узлы, в разной степени пораженные метастазами. Лимфоузлы подвергались микрохирургической диссекции с выделением капсулы, лимфатических сосудов, паренхимы и стромы. Все манипуляции выполнялись после предварительной лимфатической диссекции у 100 больных раком молочной железы на препарате клетчатки аксиллярной области. Затем проводилась диссекция отдельно взятого лимфатического узла из этого региона. Выделение лимфатических узлов и сосудов из жировой ткани аксиллярной области производилось с помощью ультразвукового аппарата LySonix 3000® с PulseSelect™ методом сонолиподеструкции. Детальное исследование лимфатического узла и лимфонодулярного комплекса производилось с помощью операционного микроскопа OPTON – OPMI 6 CFC и набора микрохирургических инструментов. Проводилась цветная лимфография выделенных афферентных лимфатических сосудов 0,5 % раствором метиленового синего. Наряду с цветной лимфографией выполнялась цифровая морфометрия компонентов лимфатического русла (Image-Pro Plus 6.0), микрохирургическая диссекция капсулы лимфатических узлов, клапанов лимфангиона. **Результаты.** Получены и зафиксированы на цифровых носителях данные о перфузии лимфатического узла в норме и при метастазах рака. При анализе метастатической блокады лимфоидной долики и афферентных лимфатических сосудов методом антеградной цветной лимфографии выявлено компенсаторное развитие обходных путей лимфоттока – интракапсулярного неолимфомикрангиогенеза, что подтверждено гистологическими результатами. **Заключение.** Цветная лимфография позволяет достоверно определить зоны функциональной перфузии и степени ее нарушения. Постлучевые изменения в тканях выражено изменяют логику тока лимфы и регионарного метастазирования. Капсула лимфатического узла с метастазами претерпевает патологическую трансформацию, характеризующуюся развитием сети лимфатических капилляров, выраженность которой зависит от степени метастатического блока. Метастатическое поражение лимфатического узла изменяет лимфатическую гидродинамику за счет изменения количества лимфатических сосудов и их диаметра.

Ключевые слова: лимфатическая система, лимфатический узел, рак молочной железы, нарушение перфузии, метастатический блок.

MICROSURGICAL METHODS OF EX VIVO EXAMINATION OF THE LYMPHATIC SYSTEM IN BREAST CANCER PATIENTS

S.K. Gantsev^{1,2}, M.A. Tatunov³, K.S. Gantsev^{1,2}, S.R. Kzyrgalin^{1,2},
R.S. Mukhamedyarov¹

Bashkir State Medical University, Ufa, Russia¹

3, Lenina Street, 450008-Ufa, Russia. E-mail: prfg@mail.ru¹

Centre of Personified Oncology of Academy of Sciences of the Republic of Bashkortostan, Ufa, Russia²

15, Kirova Street, 450008-Ufa, Russia. E-mail: prfg@mail.ru²

Chelyabinsk Regional Clinical Hospital, Chelyabinsk, Russia³

70, Vorovski Street, 454076-Chelyabinsk, Russia. E-mail: tatunovm76@mail.ru³

Abstract

The purpose of the study was ex vivo examination of lymph node perfusion in patients with metastatic breast cancer. **Material and Methods.** Lymph nodes affected with metastatic breast cancer were examined. These nodes were subsequently subjected to microsurgical dissection with the isolation of the capsule, lymphatic vessels, parenchyma and stroma. All manipulations were performed after preliminary lymph node dissection using an axillary node sample, and the dissection of an isolated lymph node from this region was then performed. A total of 100 breast cancer patients underwent lymph node dissection and microsurgical lymph node dissection. The control group comprised samples taken from women who died in accidents and had no a history of cancer. Lymph nodes and vessels were isolated from the adipose tissue of the axillary region by the sonolipodestruction technique using LySonix 3000® ultrasonic device with PulseSelect™. A detailed examination of lymph nodes was carried out using OPTON microscope – OPML 6 CFC and a set of microsurgical instruments. Color lymphography of isolated afferent lymphatic vessels with 0.5 % methylene blue solution was performed. Along with color lymphography, digital morphometry of the components of the lymphatic system (Image-Pro Plus 6.0) and microsurgical dissection of the lymph node capsule and lymphangion valves were performed. **Results.** Data on non-metastatic and metastatic lymph nodes were obtained and digitally recorded. When studying the metastatic blockade of the lymphoid lobule and afferent lymphatic vessels by the method of antegrade color lymphography, we revealed the compensatory development of lymphatic bypass – intracapsular neo-lymphatic microangiogenesis that was confirmed by histological studies. **Conclusion.** Color lymphography reliably determines the areas and the extent of functional perfusion. Post-radiation changes in tissues markedly change the logistics of lymph flow and regional metastasis. The lymph node capsule with metastases undergoes a pathological transformation characterized by the development of a network of lymphatic capillaries, the severity of which depends on the extent of metastatic block. Lymph node metastasis changes the lymphatic hydrodynamics by changing the number of lymphatic vessels and their diameter.

Key words: lymphatic system, lymph node, breast cancer, perfusion, metastatic block.

Введение

Роль лимфатической системы в процессе метастазирования рака остается объектом пристального внимания. Тем не менее до конца не ясно, какие механизмы объясняют масштабы распространения опухоли. Накоплено достаточно данных о том, что процесс диссеминации во многом зависит от логики лимфы, и об особой значимости сторожевого лимфатического узла. Именно на его уровне происходят перераспределение потоков и транспорт раковых клеток. Тезис, что лимфогенное метастазирование происходит по зональному принципу, уже несостоятелен, этому есть объективные доказательства. С позиции зональности классические диссекции считались достаточными. В обновленном формате, когда этот патологический процесс рассматривается как меж- и многозональный, должно меняться и отношение к целесообразности лимфатических диссекций в пределах анатомических зон. Данные о межзональном рас-

пространении опухолевых клеток уже на раннем этапе могут стать основой коррекции стадии рака по критерию N в сторону повышения.

Нами накоплен большой опыт по изучению регионарной лимфатической системы (подмышечного бассейна) при раке молочной железы (РМЖ), который позволяет сделать некоторые выводы, существенно влияющие на современную доктрину хирургического лечения этой патологии [1–3]. В данной статье представлены результаты собственных исследований, касающихся перфузии лимфатических узлов при РМЖ с метастазами в аксиллярной области. Следует заметить, что микрохирургические технологии при изучении таких состояний практически не применялись, поэтому данные наших исследований отличаются от результатов «макрохирургических» и «макронатомологических» наблюдений.

Несмотря на малые размеры лимфатических узлов, в них происходят сложные процессы кле-

точной дифференцировки, девитализация раковых клеток и др. Учитывая значительную функциональную нагрузку на узлы при раке, даже небольшие нарушения их перфузии «ломают» всю систему дренажа региональной зоны, особенно на уровне сторожевого лимфатического узла. Прежде всего, это касается блока одной или нескольких долек лимфатического узла, что затрудняет движение лимфы в сторону узла и приводит к значительному расширению приносящего сосуда. В этом кроется один из механизмов перераспределения потоков лимфы через вновь образованные и коллатеральные лимфатические сосуды за счет формирования недостаточности клапанов афферентного звена лимфоциркуляции. Это один из ключевых факторов, определяющих порядок метастатического каскада, характеризующийся бесконтрольностью и отсутствием логичной последовательности этого процесса.

Цель исследования – *ex vivo* изучить особенности перфузии лимфатических узлов при метастазах рака молочной железы.

Материал и методы

Объектом исследования служили лимфатические узлы, в разной степени пораженные метастазами, которые подвергались микрохирургической диссекции с выделением капсулы, лимфатических сосудов, паренхимы и стромы. Все манипуляции выполнялись после предварительной лимфатической диссекции на препарате клетчатки аксиллярной области, а затем проводилась диссекция отдельно взятого лимфатического узла из этого региона. Лимфатическая диссекция и микрохирургические диссекции лимфатических узлов выполнены у 100 больных РМЖ. Контрольная группа была составлена из аксиллярных комплексов, изъятых у женщин, не имевших онкологических заболеваний в анамнезе и погибших в результате несчастных случаев.

Лимфатические узлы и сосуды выделялись из жировой ткани аксиллярной области с помощью ультразвукового аппарата LySonix 3000® с PulseSelect™ методом сонолипострукции. Это позволяло получить лимфатическую карту, на которой можно было видеть весь лимфатический каскад, участвующий в движении лимфы. Больше всего изменений наблюдалось в узлах, приближенных к опухоли, их размеры колебались от 1,0 до 3,0 см. Причем размеры узлов второго и третьего порядка уменьшались в линейной пропорции в зависимости от расстояния от первичной опухоли.

Для микрохирургического исследования (М.А. Татунов) выбирался один, предположительно, «сторожевой» лимфатический узел с афферентными и эфферентными лимфатическими сосудами. Детальное исследование лимфатического узла и лимфонодулярного комплекса производилось с помощью операционного микро-

скопа OPTON – OPMI 6 CFC и набора микрохирургических инструментов. Препарат помещался в операционное поле микроскопа. Проводилось скелетирование лимфатического узла с приносящими и выносящими лимфатическими сосудами, капсулы, кровеносных сосудов.

Анатомический препарат считался готовым к исследованию, когда зона интереса и сосуды были полностью освобождены от прилегающих тканей. Цветная лимфография выделенных афферентных лимфатических сосудов проводилась 0,5 % раствором метиленового синего. Концентрация препарата была ранее экспериментально подобрана для оптимального проведения цветной лимфографии. Пункция афферентного лимфатического сосуда проводилась инъекционной иглой, диаметром 300 мкм. Наряду с цветной лимфографией проводилась цифровая морфометрия компонентов лимфатического русла (Image-Pro Plus 6.0), микрохирургическая диссекция капсулы лимфатических узлов, клапанов лимфангиона. Измерение диаметра лимфатических сосудов выполняли на расстоянии 10 мм от капсулы лимфатического узла.

Результаты и обсуждение

Из 100 процедур антеградной цветной лимфографии афферентных лимфатических сосудов в 70 (70 %) случаях мы получили удовлетворительные результаты, в 30 (30 %) случаях не удалось заполнить патологически измененный лимфатический сосуд. В основном трудности в проведении цветной лимфографии наблюдались у больных, получавших лучевую терапию. Это была основная причина рубцово-спаечного процесса (рис. 1).

Этот технический нюанс подтолкнул нас к мысли о влиянии лучевой терапии на процессы диссеминации опухоли. Если региональные подмышечные лимфатические сосуды после облучения склерозируются, то наступает коллапс лимфообращения. Возникает вопрос, куда и через какую сеть и коллатерали происходит сброс лим-

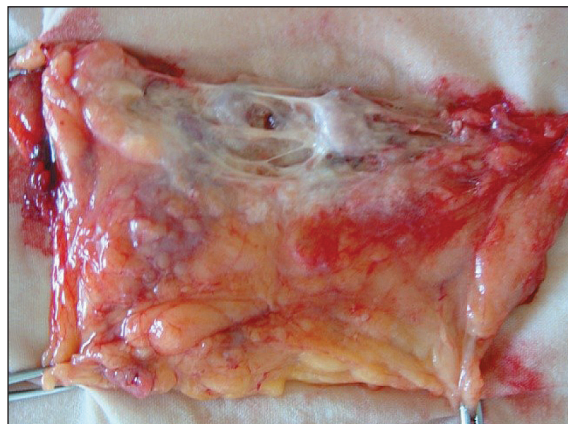


Рис. 1. Ткань подмышечной области при раке молочной железы после лучевой терапии. Отмечаются резко выраженные рубцово-склеротические изменения тканей, затрудняющие мобилизацию сосудов и узлов

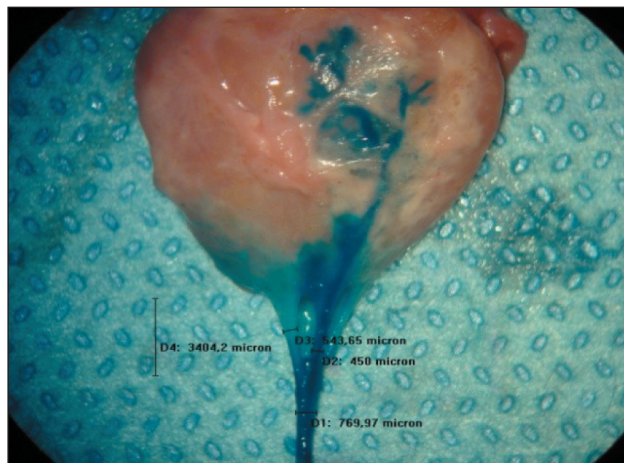


Рис. 2. Антеградная цветная лимфография афферентного лимфатического сосуда при метастазах рака в лимфатические узлы, блок I ст. подкапсульного синуса, $\times 20$

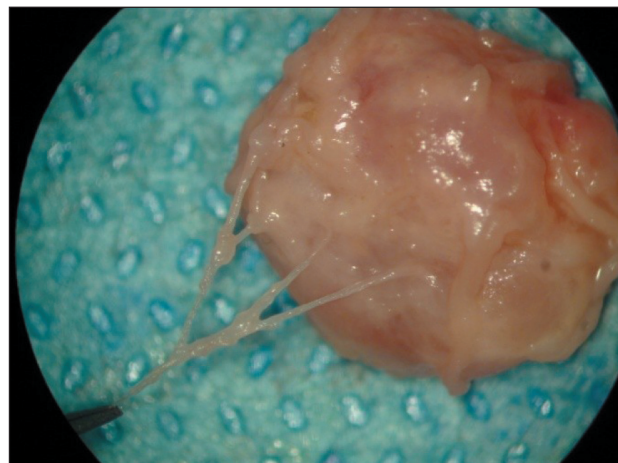


Рис. 3. Рассыпной тип приносящего лимфатического сосуда

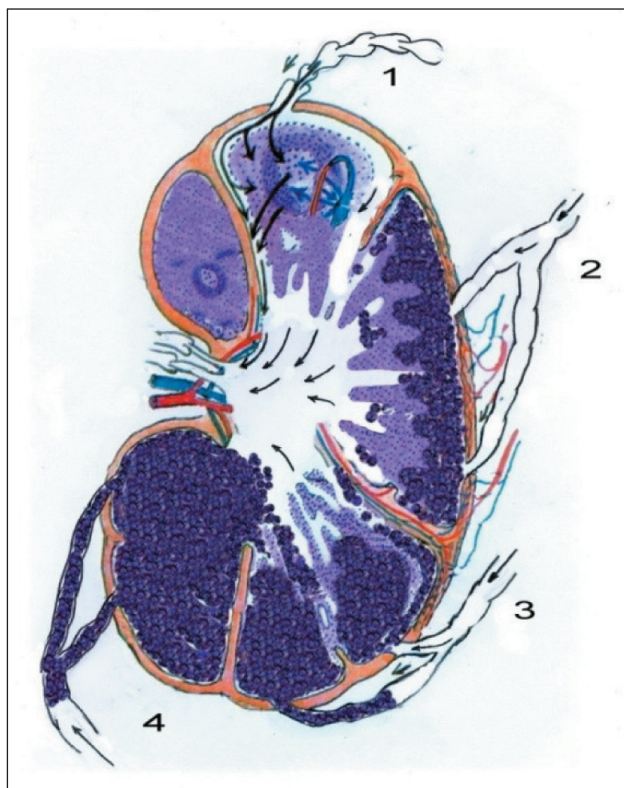


Рис. 4. Схема метастатической блокады лимфатического узла и афферентных лимфатических сосудов: 1 – афферентный лимфатический сосуд в норме; 2 – метастатическая блокада I степени – блок лимфоидной дольки раковыми клетками на уровне подкапсульного синуса; 3 – метастатическая блокада II степени – блок лимфатического узла на уровне подкапсульного синуса и частичное поражение афферентных лимфатических сосудов; 4 – метастатическая блокада III степени – блок афферентного лимфатического сосуда

фы, в том числе и от опухоли. На наш взгляд, это может быть негативным фактором в диссеминации раковой опухоли, ведь эффект девитализации не происходит мгновенно.

Возможности цветной лимфографии с использованием 20-кратного оптического увеличения позволили изучить лимфонодулярный переход. Также удалось получить сведения о перфузии лимфатического узла в норме и при метастазах рака в лимфатический узел и зафиксировать эти данные на цифровых носителях (рис. 2). Установлено, что лимфонодулярный переход имеет сложное анатомическое устройство. Сосуды могут проникать в узел в виде ствола (магистральный тип) и в виде множества лимфатических сосудов (рассыпной тип). Необходимо отметить, что рассыпной тип более характерен для опухолевой патологии, тогда этот компонент усиливается и за счет вновь образованных сосудов – феномен неолимфангиогенеза (рис. 3).

Процесс лимфатической перфузии в норме и нарушении перфузии при метастазах рака за счёт метастатической блокады лимфатического узла и афферентных лимфатических сосудов мы отображали в виде схемы (рис. 4). Модель метастатической блокады позволяет оценить окклюзию дольки лимфатического узла, принадлежащей к определённому афферентному лимфатическому сосуду. Мы не можем говорить о метастатическом поражении всего лимфатического узла одновременно, так как структурно функциональной единицей лимфатического узла является лимфоидная долька, то распространение метастазов проходит из определённого региона по соответствующему ему лимфатическому сосуду и заканчивается в принадлежащей ему лимфоидной долке. Судя по данным, полученным в ходе исследования, к одному афферентному лимфатическому сосуду в среднем может относиться от одной до трёх лимфоидных долек.

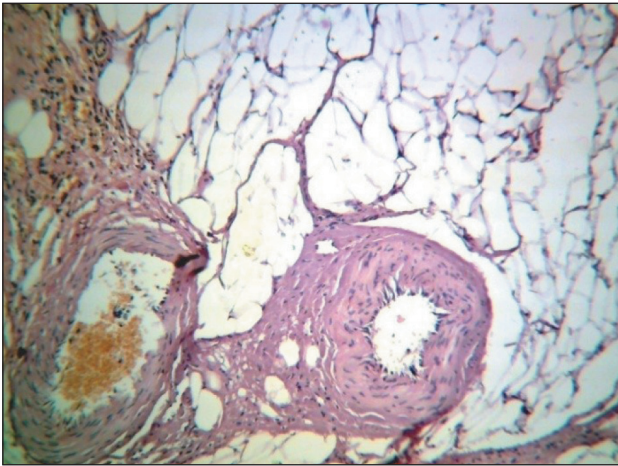


Рис. 5. Кровеносный и лимфатический сосуды в паранодальной клетчатке. В просвете кровеносного сосуда прослеживаются клетки крови. В просвете лимфатического сосуда практически нет клеточных элементов. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 90$

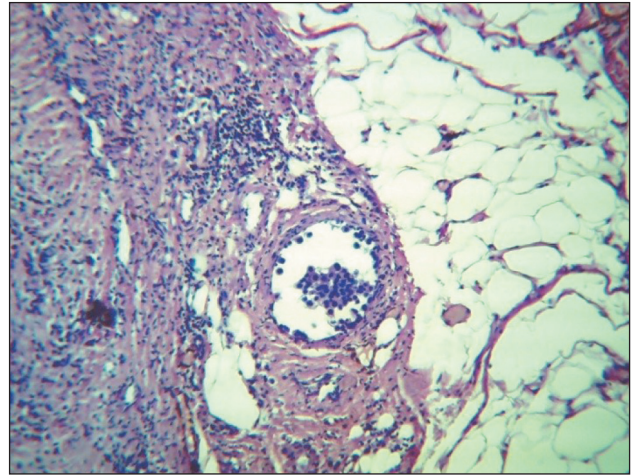


Рис. 6. Немногочисленные метастатические клетки в просвете приносящего лимфатического сосуда на уровне лимфонодулярного перехода (в капсуле). Окраска гематоксилином и эозином, $\times 90$

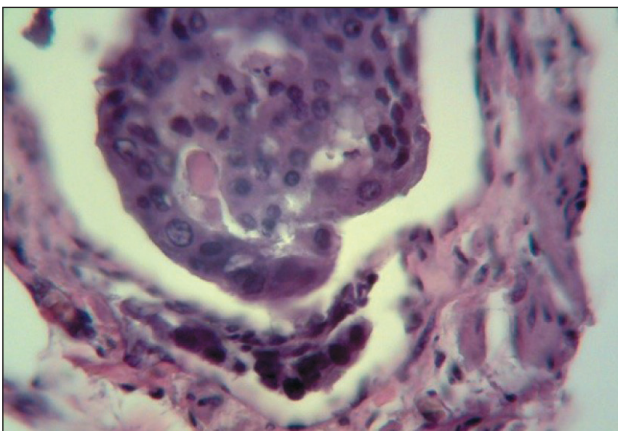


Рис. 7. Приносящий лимфатический сосуд, просвет которого на 80 % выполнен конгломератом опухолевых клеток. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 900$

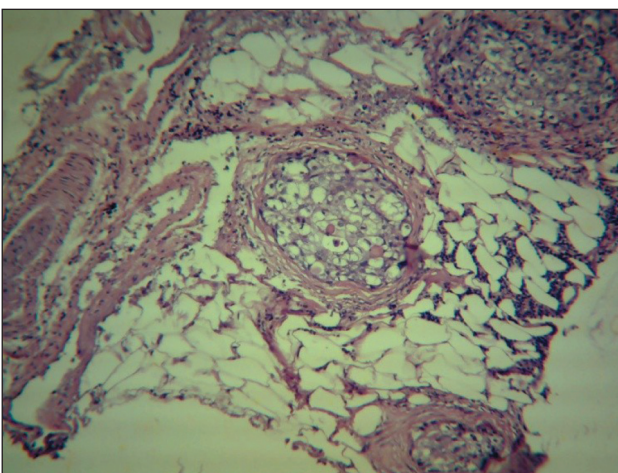
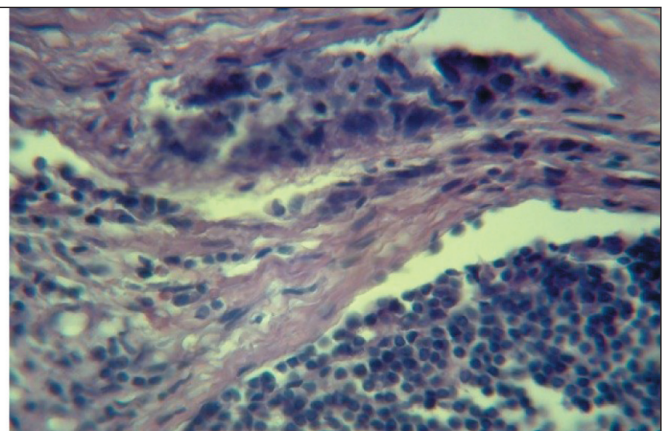


Рис. 8. Тотальный блок приносящего лимфатического сосуда раковыми клетками. Диаметры сосудов 216 и 281 мкм. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 225$

При исследовании метастатической блокады лимфоидной дольки и афферентных лимфатических сосудов методом антеградной цветной лимфографии был установлен факт компенсаторного развития обходных путей лимфоттока – интракапсулярного неолимфомикрангиогенеза, что подтверждено гистологическими исследованиями (рис. 5–9)

Метастатическая блокада обуславливала состояние афферентных и эфферентных лимфатических сосудов. Методом компьютерной морфометрии были измерены диаметры лимфатических сосудов сторожевых лимфатических узлов. Средний диаметр афферентных и эфферентных лимфатических сосудов при раке с метастазами больше диаметра афферентных и эфферентных лимфатических сосудов в контрольной группе на 75,5 %, и 31,5 % соответственно (рис. 10).

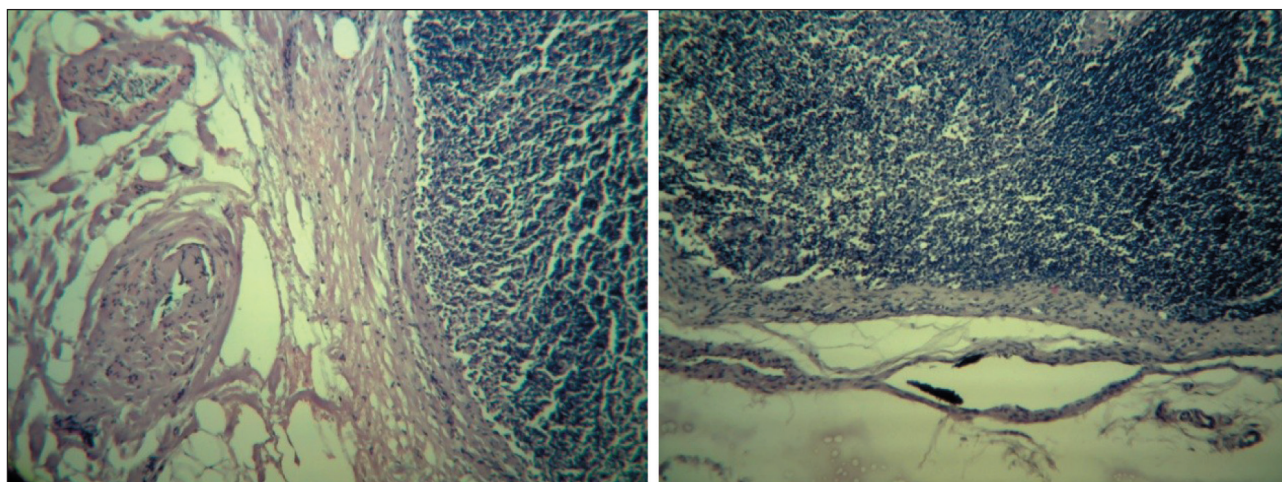


Рис. 9. Заполнение капсулы лимфатического узла лимфатическими капиллярами. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 225$ и $\times 90$

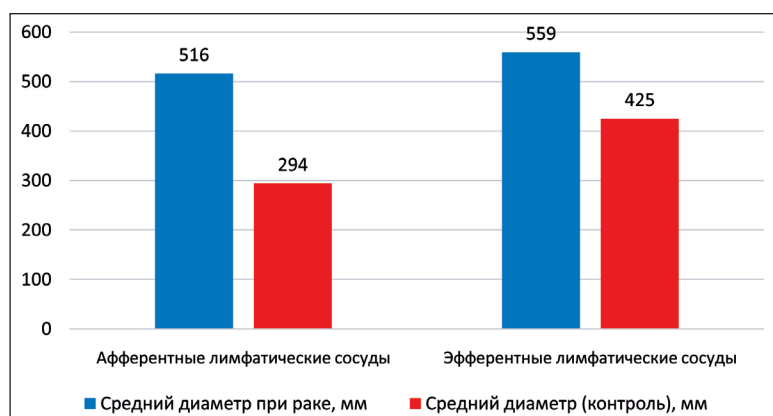


Рис. 10. Средние значения диаметра афферентных и эфферентных лимфатических сосудов сторожевых лимфатических узлов и лимфатических узлов в контрольной группе

Таким образом, цветная лимфография позволила определить особенности перфузии лимфатических узлов при раке молочной железы и установить степени её нарушения, а также установить факт развития коллатерального лимфообращения за счет неолимфомикрангиогенеза при метастатическом блоке.

Выводы

Цветная лимфография позволяет достоверно определить зоны функциональной перфузии и

степени ее нарушения. Постлучевые изменения в тканях выражено изменяют логику тока лимфы и регионарного метастазирования. Капсула лимфатического узла с метастазами претерпевает патологическую трансформацию, характеризующуюся развитием сети лимфатических капилляров, выраженность которой зависит от степени метастатического блока. Метастатическое поражение лимфатического узла изменяет лимфатическую гидродинамику за счет изменения количества лимфатических сосудов и их диаметра.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Ганцев Ш.Х. Лимфатический узел и его микроокружение при раке. Атлас. М., 2018. 288 с. [Gantsev Sh.Kh. Lymph node and its microenvironment for cancer. Atlas. M., 2018. 288 p. (in Russian)].
2. Ганцев Ш.Х., Умеэва К., Султанбаев А.В., Ишмуратова Р.Ш., Фролова В.Ю., Ахметов А.Т., Фазлыева Э.А., Кзыргалин Ш.Р. Логистика лимфогенного метастазирования при раке молочной железы. Креативная хирургия и онкология. 2012; 2: 10–16. [Gantsev Sh.Kh., Umezawa K., Sultanbaev A.V., Ishmuratova R.Sh., Frolova V.Yu., Akhmetov A.T., Fazlyeva E.A., Kzyrgalin Sh.R. Logistics of lymphogenic breast cancer metastasis. Creative Surgery and Oncology. 2012; 2: 10–16. (in Russian)].

3. Ганцев Ш.Х. Новые технологии диагностики и лечения рака молочной железы. Креативная хирургия и онкология. 2009; 1: 6–9. [Gantsev Sh.Kh. New technologies in breast cancer diagnosis and treatment. Creative Surgery and Oncology. 2009; 1: 6–9. (in Russian)].

Поступила/Received 12.11.18
Принята в печать/Accepted 04.12.18

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Ганцев Шамиль Ханафиевич, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой онкологии с курсами онкологии и патологической анатомии ИДПО, член-корреспондент Академии наук Республики Башкортостан, Башкирский государственный медицинский университет (г. Уфа, Россия). E-mail: prfg@mail.ru. SPIN-код: 6846-7150. Researcher ID (WOS): B-8218-2018. Author ID (Scopus): 55507627000. ORCID: 0000-0003-2047-963X.

Татунов Михаил Александрович, кандидат медицинских наук, врач-хирург отделения реконструктивной и пластической хирургии, Челябинская областная клиническая больница (г. Челябинск, Россия). E-mail: tatunovm76@mail.ru.

Ганцев Камил Шамилович, доктор медицинских наук, профессор кафедры онкологии с курсами онкологии и патологической анатомии ИДПО, Башкирский государственный медицинский университет (г. Уфа, Россия). E-mail: gantseff@mail.ru. SPIN-код: 9955-0228.

Кзыргалин Шамиль Римович, кандидат медицинских наук, доцент кафедры онкологии с курсами онкологии и патологической анатомии ИДПО, Башкирский государственный медицинский университет (г. Уфа, Россия). E-mail: ufa.shamil@gmail.com. SPIN-код: 6538-2732. Researcher ID (WOS): O-7699-2017. ORCID: 0000-0001-9721-108X.

Мухамедьяров Ришат Шавкатович, ассистент кафедры онкологии с курсами онкологии и патологической анатомии ИДПО, Башкирский государственный медицинский университет (г. Уфа, Россия). E-mail: mr.rishat.1993@mail.ru.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы объявляют, что у них нет конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Shamil Kh. Gantsev, MD, Professor, Corresponding Member of the Academy of Sciences of the Republic of Bashkortostan, Head of the Oncology Department, Bashkir State Medical University (Ufa, Russia). E-mail: prfg@mail.ru. Researcher ID (WOS): B-8218-2018. Author ID (Scopus): 55507627000. ORCID: 0000-0003-2047-963X.

Mikhail A. Tatunov, MD, PhD, Department of Reconstructive Surgery, Chelyabinsk Regional Clinical Hospital (Chelyabinsk, Russia). E-mail: tatunovm76@mail.ru.

Kamil Sh. Gantsev, MD, Professor, Oncology Department, Bashkir State Medical University (Ufa, Russia). E-mail: gantseff@mail.ru.

Shamil R. Kzyrgalin, MD, PhD, Oncology Department, Bashkir State Medical University (Ufa, Russia). E-mail: ufa.shamil@gmail.com. Researcher ID (WOS): O-7699-2017. ORCID: 0000-0001-9721-108X.

Rishat Sh. Mukhamedyarov, MD, Oncology Department, Bashkir State Medical University (Ufa, Russia). E-mail: mr.rishat.1993@mail.ru.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

DOI: 10.21294/1814-4861-2019-18-3-78-83
УДК: 616.381-006.66-036.65-08-059

Для цитирования: Абдуллаев А.Г., Давыдов М.М., Козлов Н.А. Проблема выбора тактики лечения при продолженном росте псевдомиксомы брюшины. Сибирский онкологический журнал. 2019; 18(3): 78–83. – doi: 10.21294/1814-4861-2019-18-3-78-83.

For citation: Abdullaev A.G., Davydov M.M., Kozlov N.A. Challenges in choice of the treatment strategy for patients with recurrent pseudomyxoma peritonei. Siberian Journal of Oncology. 2019; 18(3): 78–83. – doi: 10.21294/1814-4861-2019-18-3-78-83.

ПРОБЛЕМА ВЫБОРА ТАКТИКИ ЛЕЧЕНИЯ ПРИ ПРОДОЛЖЕННОМ РОСТЕ ПСЕВДОМИКСОМЫ БРЮШИНЫ

А.Г. Абдуллаев, М.М. Давыдов, Н.А. Козлов

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, г. Москва, Россия
Россия, г. Москва, 115478, Каширское шоссе, 23. E-mail: amirido@mail.ru

Аннотация

Псевдомиксома брюшины является разновидностью канцероматоза брюшины с выраженным слизистым образованием и высокой частотой рецидивирования, осложняющегося нередким развитием кишечной непроходимости. Исследования последних 10–15 лет демонстрируют повышение выживаемости больных с рецидивной псевдомиксомой при использовании комбинированного подхода: циторедуктивная операция в сочетании с интраперитонеальной химиотерапией. Тем не менее частота рецидивов псевдомиксомы брюшины может достигать 80–90 % в сроки до 2 лет, даже после оптимальной циторедукции. **Цель исследования** – анализ выживаемости и результатов комбинированного лечения (циторедуктивная операция и внутрибрюшинная гипертермическая химиоперфузия) пациентов с рецидивом псевдомиксомы брюшины, ранее перенесших циторедуктивную операцию. **Материал и методы.** В исследование были включены 43 пациента, ранее перенесшие этапные циторедуктивные операции по поводу псевдомиксомы брюшины в торакальном отделении ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России. **Результаты.** Повторные операции были выполнены у 11 из 43 пациентов с псевдомиксомой брюшины после ранее проведенных циторедуктивных операций. Повторная интраперитонеальная химиоперфузия с гипертермией проведена у 6 больных. У 7 из 11 повторно оперированных пациентов индекс полноты циторедукции исходно составлял CC-0, рецидив болезни выявлен в сроки от 22 до 47 мес; CC-1 наблюдался у двоих, рецидив был отмечен через 12 и 15 мес. Добиться оптимального уровня циторедукции (CC0-1) при повторных операциях удалось у 7 из 11 пациентов. В последующем максимальный срок наблюдения за пациентами составил 44 мес. Рецидив отмечен у 9 пациентов, при этом у большинства определялось удовлетворительное качество жизни. У 2 пациентов появились признаки частичной кишечной непроходимости. Ни один из больных в течение срока наблюдения не умер. У 2 больных с оптимальным (CC-0) уровнем циторедукции через 9 и 15 мес после повторной операции признаков прогрессирования нет. Однолетняя безрецидивная выживаемость составила 51 %. **Заключение.** Выполнение повторных хирургических вмешательств при рецидиве псевдомиксомы представляет достаточно сложную задачу в связи с трудностями обеспечения оптимальной циторедукции. Основным условием повторного хирургического вмешательства следует считать исходный оптимальный уровень циторедукции. Кроме того, условным критерием благоприятного прогноза считаем время до прогрессирования.

Ключевые слова: псевдомиксома брюшины, циторедукция, рецидив, интраперитонеальная химиоперфузия, выживаемость, рецидив, кишечная непроходимость.

CHALLENGES IN CHOICE OF THE TREATMENT STRATEGY FOR PATIENTS WITH RECURRENT PSEUDOMYXOMA PERITONEI

A.G. Abdullaev, M.M. Davydov, N.A. Kozlov

N.N. Blokhin NMRC of Oncology of Ministry of Healthcare of Russian Federation, Moscow, Russia
23, Kashirskoe shosse, 115478-Moscow, Russia. E-mail: amirido@mail.ru

Abstract

Pseudomyxoma peritonei is a rare type of peritoneal carcinomatosis accompanied by accumulation of mucus and high recurrence rate and in some cases complicated with intestinal obstruction. In the last 10–15 years, there has been observed a significant improvement in overall survival of patients with recurrent pseudomyxoma, who underwent cytoreductive surgery in combination with intraperitoneal chemotherapy. However, the frequency of recurrences of peritoneal pseudomyxoma after optimal cytoreduction can reach 80–90 % in the first 2 years. **The purpose of the study** was to analyze the results of combined therapy (cytoreductive surgery and hypothermic intraperitoneal chemoperfusion) in patients with recurrent pseudomyxoma peritonei, who previously underwent cytoreductive surgery. **Material and Methods.** The study included 43 patients previously undergoing cytoreductive surgery for pseudomyxoma peritonei in the Thoracic Oncology Department of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology. **Results.** Re-operations were performed in 11 of the 43 patients with recurrent pseudomyxoma peritonei after previously performed cytoreductive surgery. Repeated intraperitoneal chemoperfusion with hyperthermia was performed in 6 patients. Of the 11 re-operated patients, 7 had a complete cytoreduction (CC-0), recurrence was detected within 22 to 47 months; 2 patients had CC-1 and recurrence was observed within 12 and 15 months. Optimal cytoreduction (CC0-1) was achieved in 7 of the 11 patients. The maximum follow-up period was 44 months. Recurrence was noted in 9 patients, while the majority of patients had a satisfactory quality of life. Two patients showed signs of partial intestinal obstruction. None of the patients died during the follow-up period. In two patients with optimal (CC-0) cytoreduction, there were no signs of disease progression 9 and 15 months after re-surgery. One-year disease-free survival rate was 51 %. **Conclusion.** Repeated surgeries for recurrent pseudomyxoma present a great challenge for surgeons due to the difficulty in achieving optimal cytoreduction. Optimal cytoreduction in initial surgery should be considered as the main condition for repeated surgery. Moreover, additional criterion for a favorable prognosis is the time to progression of disease.

Key words: pseudomyxoma peritonei, cytoreduction, recurrence, intraperitoneal chemoperfusion, survival, relapse, intestinal obstruction.

Введение

Псевдомиксома брюшины – разновидность канцероматоза брюшины, сопровождающаяся выраженным слизееобразованием и всегда являющаяся прямым следствием распространения в просвет брюшной полости муцин-продуцирующей злокачественной опухоли. Степень дифференцировки и, соответственно, степень злокачественности псевдомиксомы могут быть различными и определяются аналогичным показателем в первичном очаге. Традиционно лечение пациентов с псевдомиксомой заключалось в множественных повторных хирургических вмешательствах, направленных на облегчение страданий больного, однако болезнь почти всегда прогрессирует, часто с развитием кишечной непроходимости.

В 1994 г. D.E. Cough сообщил о 31 % 10-летней выживаемости в группе из 56 пациентов с псевдомиксомой брюшины, которым проводились периодические вмешательства с целью уменьшения объема опухоли и выборочно интраперитонеальная лучевая терапия либо химиотерапия [1]. В 2005 г. T.J. Miner et al. сообщили о 21 % 10-летней вы-

живаемости в группе из 97 пациентов с псевдомиксомой брюшины, которым также проводились периодические циторедуктивные хирургические вмешательства в сочетании с системной химиотерапией и/или с интермиттирующим интраперитонеальным введением 5-фторурацила [2].

В последующем появилось множество работ по изучению эффективности комбинации циторедуктивных операций с интраперитонеальной химиотерапией в условиях гипертермии [3, 4]. Анализ представленных исследований продемонстрировал лучшие показатели выживаемости при комбинированном подходе: циторедуктивная операция в сочетании с интраперитонеальной химиотерапией, но при условии оптимального удаления опухоли (табл. 1), при этом основными факторами прогноза являются гистологический тип опухоли, степень интраперитонеальной диссеминации (PCI), полнота циторедукции (CCR), использование внутрибрюшной химиотерапии [5–8].

Однако, по мнению ряда авторов, частота рецидивов псевдомиксомы брюшины достигает 80–90 % в сроки до 2 лет даже после оптимальной

циторедуктивной операции [9–11]. В то же время проблема рецидива псевдомиксомы после выполнения циторедуктивных операций различного объема недостаточно хорошо освещена в мировой литературе, также это касается исследований, где проводилась операция «перитонэктомия», предложенная Sugarbaker et al. [12] в сочетании с интраперитонеальной гипертермической химиоперфузией.

Цель исследования – анализ выживаемости и результатов комбинированного лечения (циторедуктивная операция и внутрибрюшинная гипертермическая химиоперфузия) пациентов с рецидивом псевдомиксомы брюшины, ранее перенесших циторедуктивную операцию.

Материал и методы

В исследование были включены 43 пациента, ранее перенесшие этапные циторедуктивные операции по поводу псевдомиксомы брюшины в

торакальном отделении ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России.

Результаты

Мы считаем данную группу пациентов достаточно сложной в силу ряда причин: выполнение оптимальной циторедуктивной операции в виде «перитонэктомии» или этапной циторедуктивной операции сопровождается высоким уровнем хирургической агрессии пособия; в анамнезе у пациентов часто уже имеется ряд хирургических вмешательств, которые выполнялись при ошибочном диагнозе или в неспециализированных клиниках; уровень функционального статуса больного существенно снижен к моменту лечения по поводу рецидива опухоли. Дополнительным основанием для выбора повторной операции служит факт высокой дифференцировки опухоли, низкая клеточность псевдомиксомы что, как следствие, определяет относительную химиорезистентность.

Таблица 1

Результаты лечения больных псевдомиксомой брюшины

Авторы	Число больных	Методы лечения	Выживаемость
Glehen M., Sugarbaker P., 2004	174	EPIC + CRS – 76 IPCH + CRS – 61	Медиана – 20,5 мес, 3-летняя – 34 %, 5-летняя – 15 %
Gough et al. (Mayo Clinic), 1995	56	CRS CCR0 – 33 %	5-летняя – 53 %, рецидив – 97 %
Miner et al. (Memorial SK), 2005	97	CRS – 67 CRS + IPCH – 30 CCR0 – 53 %	10-летняя – 21 %, рецидив – 88 %
Elias D., 2009	301	CRS + HIPEC – 255 CCR0 – 73 %	5-летняя – 75 %, 10-летняя – 55 %
Chua et al., 2012	2298	CRS + HIPEC + EPIC – 668 CRS + HIPEC – 1382 CRS + EPIC – 44 CRS – 203 CCR0 – 1–80 %	10-летняя 63 %, 15-летняя 59 %
Wang et al., 2014	39	CRS + HIPEC – 7 CRS + PIC – 22 CRS – 10	Медиана – 37 мес, 5-летняя – 89 %, 10-летняя – 35 %

Примечание: CCR – completeness of cytoreduction; EPIC – early postoperative intraperitoneal chemotherapy; HIPEC – hyperthermic intraperitoneal chemotherapy; IPCH – intraperitoneal chemotherapy; CRS – cytoreduction surgeon; PIC – perioperative intraperitoneal chemotherapy.

Таблица 2

Объемы операций при повторных вмешательствах в исследуемой группе больных псевдомиксомой брюшины

Название операции	Число пациентов	Полнота циторедукции (CC0-3)
Гемиколэктомия справа, резекция тонкой кишки, удаление опухоли + ГИХ	1	CC2
Гемиколэктомия справа, холецистэктомия	1	CC1
Удаление опухолевых отсеков, частичная перитонэктомия (+ ГИХ у 3 пациентов)	6	3CC0 1CC1 2CC2
Удаление опухоли с капсулы печени и правого купола диафрагмы + ГИХ	1	CC1
Удаление рецидивной опухоли в малом тазу	1	CC0
Пробное вмешательство (установка лапаропорта)	1	CC3
ВСЕГО	11	11

Примечание: ГИХ – гипертермическая интраперитонеальная химиоперфузия.

Таблица 3

Общая характеристика больных, подвергнутых повторным вмешательствам

Признак	Категория	Количество
Гистологическая степень злокачественности псевдомиксомы	Low grade	7
	High grade	4
Наличие асцита	Да	8
	Нет	3
Степень интраперитонеальной диссеминации	P1	1
	P2	1
	P3	9

Таблица 4

Взаимосвязь полноты циторедуктивной операции от исходной распространенности опухоли и гистологического варианта

До этапной циторедуктивной операции + ГИХ			При прогрессировании	
Гистологическая степень злокачественности псевдомиксомы	P	CCR0–3	P1–3	CCR0–3
Low grade				
P1		–	–	–
P2	3	CCR0 – 3	–	–
P3	4	CCR0 – 4	P2 – 1 P3 – 6	CCR0 – 4 CCR1 – 3
High grade				
P1		–	–	–
P2	1	CCR0	–	–
		CCR0 – 1		CCR1 – 1
P3	3	CCR2 – 1 CCR3 – 1	P1 – 1 P3 – 1	CCR2 – 2 CCR3 – 1

В связи с этим перед врачом возникает дилемма: рекомендовать больному системную химиотерапию, которая окажется неэффективной и вызовет ряд побочных симптомов, либо планировать повторное хирургическое вмешательство, которое технически окажется сложнее предыдущего и тоже может снизить качество жизни.

Повторные операции после ранее проведенных этапных циторедуктивных операций были выполнены у 11 из 43 пациентов с псевдомиксомой брюшины (табл. 2). Повторная интраперитонеальная химиоперфузия с гипертермией проведена 6 больным. Основным критерием отбора пациентов на повторные вмешательства помимо удовлетворительного функционального статуса был исходный объем полноты циторедукции, который должен быть равен 0 или 1 (CC0-1, наличие резидуальной опухоли менее 2,5 мм). Из 11 повторно оперированных пациентов у 7 индекс полноты циторедукции исходно составлял CC-0, рецидив болезни выявлен в сроки от 22 до 47 мес; у двоих – CC-1, продолженный рост опухоли отмечен через 12 и 15 мес. Необходимо отметить, что при первичном обращении степень интраперитонеальной диссеминации у 3 пациентов составляла P2 и у 8 – P3, а при интраоперационной оценке во время повторных вмешательств P1, P2 и P3 выявлены у 1, 1 и 9 больных соответственно, что практиче-

ски равнозначно (табл. 3–4). Прогрессирование, реже, проявляется в виде продолженного роста либо появления новых отсеков в виде диффузного канцероматоза, с которым технически труднее справиться при повторных вмешательствах. Тем не менее добиться оптимального уровня циторедукции (CC0-1) при повторных операциях удалось у 7 из 11 пациентов.

Двое пациентов составили исключение из критериев отбора в связи с тем, что при выполнении первичной этапной циторедуктивной операции не удалось достигнуть оптимального объема резекции, полнота циторедукции составляла CC-2 и CC-3 (объем остаточной опухоли от 2,5 мм до 2,5 см и более). Рецидив зафиксирован спустя 6 и 11 мес соответственно, поводом к повторным вмешательствам явились признаки кишечной непроходимости. У 1 пациентки выполнено удаление рецидивной опухоли, резекция тонкой кишки, гемиколэктомия справа, гипертермическая интраперитонеальная химиоперфузия, у 1 больной – гемиколэктомия справа без химиоперфузии в связи с исходно низким функциональным статусом.

Максимальный срок наблюдения за пациентами после лечения составил 44 мес. Рецидивы возникли у 9 пациентов, при этом у большинства определялось удовлетворительное качество жизни. У 2 больных появились признаки частичной кишечной

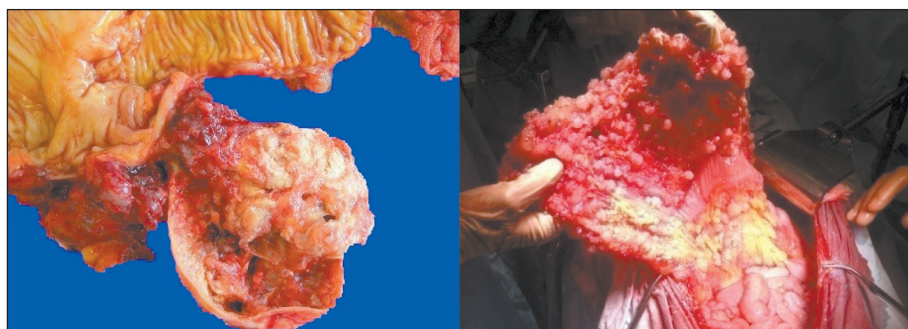


Рис. 1. Муцинозная аденокарцинома низкой степени злокачественности червеобразного отростка (левый снимок), псевдомиксома брюшины (правый снимок)

непроходимости, у одного – на уровне верхних отделов тощей кишки, у одного – в зоне илеоцекального перехода, что подтверждено замедлением пассажа бариевой взвеси при рентгенографии. Среди симптомов тотального канцероматоза по типу «панциря» при псевдомиксоме следует отметить: быстрое насыщение (уменьшение объема желудка вследствие компрессии), асимметрию живота при умеренном асците, похудание больного, ригидность брюшной стенки при пальпации. Ни один из больных в течение срока наблюдения не умер. У 2 больных с оптимальным (CC-0) уровнем циторедукции через 9 и 15 мес после повторной операции признаков прогрессирования нет. Показатели однолетней безрецидивной выживаемости составили 51 % (рис. 2).

Заключение

Выполнение повторных хирургических вмешательств при рецидиве псевдомиксомы представляет достаточно трудную задачу для хирурга в связи со сложностью достижения оптимальной циторедукции, однако, на наш взгляд, даже симптоматические операции оправданы в случае признаков компрессии полого органа или при наличии других витальных показаний. Основным условием повторного хирургического вмешательства

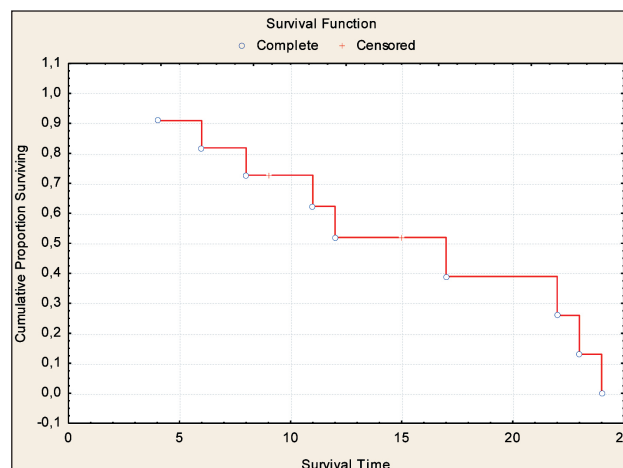


Рис. 2. Показатели безрецидивной выживаемости больных, перенесших повторные оперативные вмешательства

следует считать исходный оптимальный уровень циторедукции (CC0–CC1). Кроме того, условным критерием благоприятного прогноза считаем время до прогрессирования: чем оно длиннее, тем лучше. Однако провести анализ влияния времени до прогрессирования на общую выживаемость нам не удалось вследствие небольшого количества пациентов (n=11) и ввиду различных объемов повторных циторедуктивных операций.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Gough D.B., Donohue J.H., Schutt A.J., Gonchoroff N., Goellner J.R., Wilson T.O., Naessens J.M., O'Brien P.C., van Heerden J.A. Pseudomyxoma peritonei: long-term patient survival with an aggressive regional approach. *Ann Surg.* 1994; 219(2): 112–119.
2. Miner T.J., Shia J., Jaques D.P., Klimstra D.S., Brennan M.F., Coit D.G. Long-term survival following treatment of pseudomyxoma peritonei: an analysis of surgical therapy. *Ann Surg.* 2005; 241(2): 300–308.
3. Chua T.C., Moran B.J., Sugarbaker P.H., Levine E.A., Glehen O., Gilly F.N., Baratti D., Deraco M., Elias D., Sardi A., Liauw W., Yan T.D., Barrios P., Gómez Portilla A., de Hingh I.H., Ceelen W.P., Pelz J.O., Piso P., González-Moreno S., Van Der Speeten K., Morris D.L. Early- and long-term outcome data of patients with pseudomyxoma peritonei from appendiceal origin treated by a strategy of cytoreductive surgery and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy. *J Clin Oncol.* 2012 Jul 10; 30(20): 2449–56. doi: 10.1200/JCO.2011.39.7166.
4. Glehen O., Mohamed F., Sugarbaker P.H. Incomplete cytoreduction in 174 patients with peritoneal carcinomatosis from appendiceal malignancy. *Ann Surg.* 2004; 240(2): 278–285.
5. Moran B.J. Decision-making and technical factors account for the learning curve in complex surgery. *J Public Health (Oxf).* 2006 Dec; 28(4): 375–8.
6. Smeenk R.M., Verwaal V.J., Zoetmulder F.A. Learning curve of combined modality treatment in peritoneal surface disease. *Br J Surg.* 2007 Nov; 94(11): 1408–14. doi: 10.1002/bjs.5863.
7. Yan T.D., Links M., Fransi S., Jacques T., Black D., Saunders V., Morris D.L. Learning curve for cytoreductive surgery and perioperative

intraperitoneal chemotherapy for peritoneal surface malignancy: a journey to becoming a nationally funded peritonectomy center. *Ann Surg Oncol.* 2007 Aug; 14(8): 2270–80. doi: 10.1245/s10434-007-9406-8.

8. Elias D., Gilly F., Quenet F., Bereder J.M., Sidéris L., Mansvelt B., Lorimier G., Glehen O., Association Française de Chirurgie. Pseudomyxoma peritonei: A French multicentric study of 301 patients treated with cytoreductive surgery and intraperitoneal chemotherapy. *Eur J Surg Oncol.* 2010 May; 36(5): 456–62. doi: 10.1016/j.ejso.2010.01.006.

9. Deraco M., Baratti D., Inglese M.G., Allaria B., Andreola S., Gavazzi C., Kusamura S. Peritonectomy and intraperitoneal hyperthermic perfusion (IPHP): a strategy that has confirmed its efficacy in patients with pseudomyxoma peritonei. *Ann Surg Oncol* 2004; 11: 393–8. doi: 10.1245/ASO.2004.07.002.

10. Bryant J., Clegg A.J., Sidhu M.K., Brodin H., Royle P., Davidson P. Systematic review of the Sugarbaker procedure for pseudomyxoma peritonei. *Br J Surg.* 2005 Feb; 92(2): 153–8. doi: 10.1002/bjs.4862.

11. Smeenk R.M., Verwaal V.J., Antonini N., Zoetmulder F. Progression of Pseudomyxoma Peritonei after Combined Modality Treatment: Management and Outcome. *Ann Surg Oncol.* 2007; 14(2): 493–499. doi: 10.1245/s10434-006-9174-x.

12. Sugarbaker P.H. Comprehensive management of peritoneal surface malignancy using cytoreductive surgery and perioperative intraperitoneal chemotherapy: the Washington Cancer Institute approach. *Expert Opin Pharmacother.* 2009 Aug; 10(12): 1965–77. doi: 10.1517/14656560903044974.

Поступила/Received 24.08.18
Принята в печать/Accepted 12.02.19

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Абдуллаев Амир Гусейнович, доктор медицинских наук, старший научный сотрудник торакального отделения торако-абдоминального отдела, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). E-mail: amirido@mail.ru. SPIN-код: 5178-8384.

Давыдов Михаил Михайлович, доктор медицинских наук, член-корреспондент РАН, заведующий торакальным отделением торако-абдоминального отдела, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). AuthorID (РИНЦ): 555607.

Козлов Николай Александрович, кандидат медицинских наук, заведующий патологоанатомическим отделением отдела патологической анатомии опухолей человека, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). E-mail: newbox13@mail.ru. SPIN-код: 1847-6530.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы объявляют, что у них нет конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Amir G. Abdullaev, MD, DSc, Senior Researcher, Thoracic Surgery Department, N.N. Blokhin NMRC of Oncology of Ministry of Healthcare of Russian Federation (Moscow, Russia).

Mikhail M. Davydov, MD, DSc, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Head of Thoracic Surgery Department, N.N. Blokhin NMRC of Oncology of Ministry of Healthcare of Russian Federation (Moscow, Russia).

Nikolay A. Kozlov, MD, PhD, Head of Pathology Department, N.N. Blokhin NMRC of Oncology of Ministry of Healthcare of Russian Federation (Moscow, Russia).

Funding

This study required no funding.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

Для цитирования: Кит О.И., Розенко Л.Я., Франциянц Е.М., Гусарева М.А., Кошелева Н.Г., Солнцева А.А., Крохмаль Ю.Н. Способ лечения анального рака с переходом на кожу. Сибирский онкологический журнал. 2019; 18(3): 84–89. – doi: 10.21294/1814-4861-2019-18-3-84-89.

For citation: Kit O.I., Rozenko L.Ya., Frantsiyants E.M., Gusareva M.A., Kosheleva N.G., Solntseva A.A., Krokhmal Yu.N. Method of treatment for anal cancer affecting the skin. Siberian Journal of Oncology. 2019; 18(3): 84–89. – doi: 10.21294/1814-4861-2019-18-3-84-89.

СПОСОБ ЛЕЧЕНИЯ АНАЛЬНОГО РАКА С ПЕРЕХОДОМ НА КОЖУ

О.И. Кит, Л.Я. Розенко, Е.М. Франциянц, М.А. Гусарева, Н.Г. Кошелева,
А.А. Солнцева, Ю.Н. Крохмаль

ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт»

Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Россия

Россия, г. Ростов-на-Дону, 344037, ул. 14-я линия, 63. E-mail: natalya.doctorko@yandex.ru

Аннотация

Введение. Необходимость и объем оперативного пособия при анальном раке прямой кишки (АРПК) определяются клинической эффективностью неоадьювантного химиолучевого лечения (ХЛЛ). Разработана концепция использования ультразвукового воздействия средней интенсивности (УЗВ) в сочетании с химиотерапией. С целью улучшения эффективности ХЛЛ и качества жизни у больных АРПК с переходом на кожу оценены возможности использования сонодинамической химиотерапии (СДХ).

Материал и методы. На 1-м этапе лечения 34 больным морфологически подтвержденным АРПК cT2–3N0–1M0 стадии проводилось 2 курса полихимиотерапии (ПХТ): митомицин С в дозе 10 мг/м² внутривенно струйно в 1-й и 29-й дни + 5-фторурацил в дозе 1000 мг/м² в сутки в виде непрерывной инфузии в 1–4-й дни и 29–32-й дни. Через 3 нед после 2-го курса ПХТ осуществлялось ХЛЛ. В основной группе 18 пациентам за 2 ч до каждого сеанса стандартного наружного и внутривлагалищного облучения на первичный очаг опухоли подводилась «ex tempore» составленная смесь: 5 мг салфетки гидрогелевой «Колетекс СП-1» с прополисом на основе альгината натрия, смешанной со 100 мг гемцитабина-медак и проводился сеанс среднечастотного УЗВ (частота – 0,88 МГц, I=1,0 Вт/см², Патент № 2638616). В контрольной группе 16 больных на протяжении курса облучения получали капецитабин в дозе 825 мг/м² ежедневно перорально в два приема с перерывами в 12 ч. **Результаты.** В основной группе контролируемый общий клинический эффект после наружного облучения + СДХ оказался на 25,7 % (p<0,05) выше, чем в контрольной, полная регрессия опухоли была в 1,4 раза чаще – в 77,8 % против 56,2 % соответственно. Радикальная операция после ХЛЛ была необходима в основной группе в 11,1 %, в контрольной – в 43,8 % случаев (p<0,05). За период наблюдения 6–12 мес после лечения без операции локальный рецидив не выявлен ни у одного из 16 больных основной группы, у аналогичных пациентов в группе контроля – в 22,2 % случаев (p<0,05). Рецидив, ограниченный областью таза, и отдаленные метастазы обнаружены с одинаковой частотой в каждой группе. **Заключение.** Положительный эффект предлагаемого способа лечения АРПК определяется совокупностью действия лечебных факторов, в том числе действием радиосенсибилизирующего агента, внедренного в ткань опухоли.

Ключевые слова: анальный рак, лучевая терапия, сонодинамическая локальная химиотерапия, рецидивы, ультразвуковая терапия.

METHOD OF TREATMENT FOR ANAL CANCER AFFECTING THE SKIN

O.I. Kit, L.Ya. Rozenko, E.M. Frantsiyants, M.A. Gusareva, N.G. Kosheleva,
A.A. Solntseva, Yu.N. Krokhmal

Rostov Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don, Russia

63, 14 Liniya Street, 344037-Rostov-on-Don, Russia. E-mail: natalya.doctorko@yandex.ru

Abstract

The extent of surgery for anal rectal cancer (ARC) is determined by the clinical efficacy of neoadjuvant chemoradiotherapy (CRT). An approach using medium intensity ultrasound combined with chemotherapy was developed. Advantages of sonodynamic chemotherapy (SDCT) were evaluated to improve the CRT efficacy and the quality of life of patients with ARC affecting the skin. **Material and methods.** 34 patients with morphologically verified cT2–3N0–1M0 ARC received 2 cycles of polychemotherapy (PCT): intravenous bolus of mitomycin C 10 mg/m² on days 1 and 29 + continuous infusion of 5-fluorouracil 1000 mg/m² daily on days 1–4 and 29–32. Patients received CRT 3 weeks after the second PCT cycle. Prior to each session of standard external and intracavitary irradiation, 18 patients of the main group received a 2-hour extemporaneous mixture to the primary tumor site: 5 mg of the Coletex SP-1 hydrogel material with propolis based on sodium alginate plus 100 mg of gemcitabine-medac together with mid-frequency ultrasound (0.88 MHz, I = 1.0 Bm/cm², Patent No. 2638616). 16 controls received capecitabine 825 mg/m² orally twice a day with 12-hour intervals during the radiation course. **Results.** Controlled general clinical effect after external irradiation + SDCT in the main group was 25.7 % (p<0.05) higher than in controls, and complete regression was 1.4 times more frequent (77.8 % vs. 56.2 %). Radical surgery after CRT was necessary only in 11.1 % cases in the main group vs. 43.8 % in controls (p<0.05). No local recurrences were observed during 612 months in 16 patients of the main group without surgery, while 22.2 % (p<0.05) of controls showed local recurrence. The rates of pelvic relapses and distant metastases were similar in both groups. **Conclusion.** The positive effect of the proposed method for ARC treatment is determined by the combination of therapeutic factors including the action of a radiosensitizing agent introduced into tumor tissues.

Key words: anal cancer, radiotherapy, sonodynamic regional chemotherapy, relapses, ultrasound therapy.

Введение

Развитие технологий лучевого и химиолучевого лечения (ХЛЛ) способствует улучшению выживаемости больных анальным раком прямой кишки (АРПК). Эффективность терапии АРПК напрямую коррелирует с достижением локального контроля, так как основной причиной неудач лечения являются местные рецидивы заболевания. Общая 5-летняя выживаемость при полной регрессии АРПК составляет 81,7 ± 5,9 %, при частоте местных рецидивов – 15,1 %. В случаях неполной регрессии и последующей экстирпации прямой кишки аналогичные результаты лечения составляют 69,0 % при частоте местных рецидивов – 23,1 % [1–3]. Применение индуцирующей химиотерапии митомизином С и 5-фторурацилом, непрерывный прием капецитабина на фоне лучевой терапии способствуют увеличению числа полных регрессий опухоли с 50 до 70 % по сравнению с лучевым воздействием без химиотерапии [1, 4].

Разработки последних лет касаются исследования возможностей повышения локального противоопухолевого эффекта при использовании сонодинамической химиотерапии (СДХ). Установлено, что ультразвуковая терапия эффективна, безопасна и обладает многосторонним положительным биологическим действием [5]. Перспективной представляется СДХ, используемая в качестве радиомодифицирующего агента [6–8].

Целью исследования является улучшение эффективности лучевого лечения и качества жизни больных с местнораспространенным анальным раком с переходом на кожу.

Материал и методы

Клинический материал касался 34 больных АРПК. Критериями включения в исследование

являлись первичный морфологически подтвержденный АРПК с переходом на кожу cT2–3N0–1M0 стадии, отказ от операции и согласие на химиолучевое лечение. Критерии исключения были стандартными для проведения химиолучевого лечения. У 12 больных (35,3 %) установлена cT2N0–1M0 стадия, у 22 (64,7 %) – cT3N0–1M0 АРПК. Средний возраст пациентов – 55 ± 2,4 года. Плоскоклеточный с ороговением и неороговевающий рак диагностированы у 85,3 % больных, в остальных случаях были переходноклеточные, базалоидные или смешанные формы анального рака. Всем больным на 1-м этапе лечения проводилось 2 курса полихимиотерапии (ПХТ) по схеме: митомизин С в дозе 10 мг/м² внутривенно струйно в 1-й и 29-й дни + 5-фторурацил в дозе 1000 мг/м² в сутки в виде непрерывной инфузии в 1–4-й дни и 29–32-й дни. Через 3 нед после топометрической компьютерной подготовки с использованием компьютерного томографа Siemens «Somatom Definitions AS», системы лазерной навигации LAP Laser и станции виртуальной симуляции Singo Via, формирования плана лечения с помощью программного обеспечения Eclips Varian, системы компьютерного 3D планирования проводилось конформное лучевое лечение на линейном ускорителе низких энергий Varian Unique 6MV. Разовая очаговая доза (РОД) 2,4 Гр ежедневно 5 фракций в неделю до суммарной очаговой дозы 44 ± 4 изоГр на первичный очаг и зоны регионарного метастазирования. После перерыва 2–3 нед начинали курс внутривисочного облучения на аппарате «MultiSource HDR» РОД 3 Гр с ритмом облучения через день до СОД 17 изоГр. Общая СОД на первичный очаг – 61 ± 4 изоГр.

По способу сопроводительной химиотерапии больные были разделены на 2 сопоставимые по основным клиническим параметрам группы

(табл. 1, 2). В группе контроля 16 больных в процессе всего курса облучения получали ежедневно перорально капецитабин в дозе 825 мг/м², 18 пациентам основной группы за 2 ч до сеанса облучения проводили сеансы СДХ (аппарат УЗТ-1.03У, сертификат соответствия № РООС RU.ИМ 18.ВО1660, паспорт тА3.863.013 ПС). Для этого на первичный очаг и кожу перианальной зоны подводили «ех темпоре» составленную смесь, содержащую 5 мг салфетки гидрогелевой «Колетекс СП-1» с прополисом на основе альгината натрия, смешанной со 100 мг гемцитабина медак. После нанесения лекарственной смеси на зону первичной опухоли (при наружном облучении) или при введении ее в область ануса (при внутриводном облучении) к очагу поражения подводили излучатель и проводили 10-минутный сеанс среднечастотного ультразвукового воздействия (УЗВ) частотой 0,88 МГц, I=1,0 Вм/см². В дни, свободные от облучения, сеансы СДХ не проводили. Общая доза гемцитабина медак за курс сочетанного лучевого лечения составляла 2000 ± 100 мг (Патент № 2638616 от 14.12.2017).

Статистическую обработку проводили с использованием пакета прикладных программ Statistica 6,0 (StatSoft, USA). Оценку значимости различий средних значений показателя осуществляли с использованием t-критерия Стьюдента для независимых выборок. Статистические гипотезы считали достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Собственно манипуляция ультразвукового воздействия достаточно проста, совершенно безболезненна, легко переносилась больными. Проведение ее с использованием гемцитабина не сопровождалось некротическими или воспалительными изменениями на коже, смежной с

опухолью. Противоопухолевую эффективность использованного в процессе облучения способа сопроводительной химиотерапии мы оценивали после перерыва по окончании наружного облучения с использованием критериев оценки эффективности Recist 1.1 (табл. 3).

Стабилизацию опухолевого процесса с уменьшением размеров опухоли от 25 до 50 % не учитывали в оценке клинического противоопухолевого эффекта. При этом обратила на себя внимание высокая эффективность разработанного варианта лечения больных в основной группе с использованием на этапах облучения СДХ гемцитабином. Так, контролируемый общий клинический эффект после первого этапа облучения был зарегистрирован у 17 (94,4 %) больных из основной группы и у 11 (68,7 %) в группе контроля ($p < 0,05$). Причем в основной группе была объективно зарегистрирована полная регрессия в 1,4 раза чаще – 77,8 % против 56,2 %. Следует отметить, что в обеих группах эффективность была более низкой при морфологической структуре, относящейся к кератинообразующим и базалоидному типам строения.

После облучения необходимость проведения расширенной экстирпации прямой кишки с выведением колостомы (при согласии больных контрольной группы) возникла у 7 (43,8 %) из 16 пациентов, у больных основной группы в силу существенной эффективности проведенного химиолучевого лечения только у 2 (11,1 %) из 18 ($p < 0,005$). При сроке наблюдения 6–12 мес локальный рецидив не выявлен ни у одного из 16 больных основной группы, не подвергавшихся оперативному вмешательству, в контрольной аналогичной подгруппе местный рецидив на коже анальной области возник у 2 (22,2 %) из 9 ($p < 0,05$) пациентов. Рецидив, ограниченный областью таза, обнаружен у 1 (6,3 %) из 16 и у 2 (11,1 %) из 18

Таблица 1

Схема последовательности химиолучевого воздействия в группах (I этап)

Вид терапии	Дни лечения																				
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18			
Основная группа																					
ДГТ на зону мишени	2,4	2,4	2,4	2,4	2,4	2 дня перерыв	2,4	2,4	2,4	2,4	2,4	2 дня перерыв	2,4	2,4	2,4	2,4	2,4	2 дня перерыв	2,4	2,4	2,4
СДХ за 2 ч до сеанса	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+		+	+	+	+	+		+	+	+
Контрольная группа																					
ДГТ на зону мишени	2,4	2,4	2,4	2,4	2,4	2 дня перерыв	2,4	2,4	2,4	2,4	2,4	2 дня перерыв	2,4	2,4	2,4	2,4	2,4	2 дня перерыв	2,4	2,4	2,4
Капечи- табин 1 раз в день	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+		+	+	+	+	+		+	+	+
																		Перерыв 2–3 нед			

Таблица 2

Схема последовательности химиолучевого воздействия в группах (II этап)

Вид терапии	Дни лечения									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Основная группа										
⁶⁰ Со терапия	+	-	+	-	+	-	-	+	-	+
СДХ за 2 ч до сеанса	+	-	+	-	+	-	-	+	-	+
Контрольная группа										
⁶⁰ Со терапия	+	-	+	-	+	-	-	+	-	+
Капецитабин 1 раз в день	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Таблица 3

Противоопухолевый эффект лечения больных после I этапа облучения

Степень регрессии	Основная группа (n=18)	Контрольная группа (n=16)
Резорбция (полная регрессия)	14 (77,8 %)	9 (56,2 %)
Частичная регрессия ≥ 50 %	3 (16,7 %)	2 (12,5 %)
Стабилизация 25–50 %	1 (5,5 %)	3 (18,8 %)
Стабилизация менее 25 %		2 (12,5 %)
Прогрессирование		
Общий эффект	17 (94,4 %)*	11 (68,7 %)

Примечание: * – различия между сравниваемыми группами статистически значимые (p<0,05)

больных контрольной и основной групп. Признаки отдаленного метастазирования выявлены с одинаковой частотой – по 2 человека в каждой группе. Атрофический дерматит промежности с островками телеангиэктазии как позднее лучевое осложнение был выявлен у 22,2 и 37,5 % больных основной и контрольной группы соответственно.

Положительное действие предлагаемого способа лечения анального рака прямой кишки, с нашей точки зрения, определяется совокупностью действия лечебных факторов. Ранее нами были проведены исследования по определению глубины, проникновения лекарственного агента (в частности оксалиплатина) в опухолевые ткани под действием ультразвука. Было установлено, что при УЗВ интенсивностью $I=1,0 \text{ Вт/см}^2$ и продолжительностью $t=10$ мин наибольшая глубина регистрации атомов платины составляла 14 мм, а с заданным в эксперименте критерием ослабления концентрации – 5–6 мм. Ультразвук средней интенсивности не только способствует накоплению препарата в тканях, но и облегчает его проникновение внутрь клеток, поскольку увеличивает проницаемость клеточных мембран [9]. Гемцитабин – противоопухолевое средство, антиметаболит группы аналогов пиримидина, подавляет синтез ДНК. Особенно эффективен гемцитабин при плоскоклеточном

раке. При этом установлено выраженное радиосенсибилизирующее действие гемцитабина в сочетании с ионизирующим излучением, причем даже в концентрациях, более низких, чем цитотоксические [9, 10]. Доказаны противовоспалительное, регенерационное, противоотечное и многие другие положительные свойства УЗВ воздействия в самостоятельном и комбинированном использовании [5, 6, 9, 11]. Вероятно, благодаря синергизму ультразвука и лекарственных препаратов существенно интенсифицируется их действие, способствуя более выраженному цитостатическому эффекту.

Заключение

Предлагаемый способ сопроводительной химиотерапии позволяет достичь полной регрессии опухоли при АРПК за счёт действия ионизирующего излучения и цитостатика, обладающего радиосенсибилизирующими свойствами, внедренного в ткань опухоли с помощью УЗВ. Увеличивается эффективность лучевого лечения. Существенное снижение частоты калечащих оперативных пособий способствует существенному улучшению качества жизни и сокращению инвалидизации пациентов. Целесообразна дальнейшая разработка этого направления лечения.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Фролов С.А., Ачкасов Е.Е., Ачкасов С.И., Багненко С.Ф., Благодарный Л.А., Васильев С.В., Григорьев Е.Г., Давыдов М.И., Затевахин И.И., Кубышкин В.А., Куликовский В.Ф., Прудков М.И., Стойко Ю.М., Тимебулатов В.М., Халиф И.Л., Шельгин Ю.А., Яновой В.В., Абдулганиева Д.И., Алексеенко С.А., Барановский А.Ю., Беляев А.М., Белоусова Е.А., Бердов Б.А., Болихов К.В., Веселов А.В., Веселов В.В., Вышегородцев Д.В., Головенко О.В., Зароднюк И.В., Захаренко А.А., Ивашкин В.Т., Калашикова И.А., Карпухин О.Ю.,

Кашиников В.Н., Костарев И.В., Костенко Н.В., Кузьминов А.М., Мансуров Ю.В., Москалев А.И., Муравьев А.В., Невольских А.А., Низов А.А., Олейник Н.В., Орлова Л.П., Осипенко М.Ф., Павленко В.В., Полуэктова Е.А., Пугаев А.В., Расулов Р.О., Родоман Г.В., Румянцев В.Г., Рыбаков Е.Г., Сушков О.И., Титов А.Ю., Тихонов А.А., Ткачёв А.В., Ткаченко Е.И., Тотиков В.З., Фоменко О.Ю., Фролов С.А., Хубезов Д.А., Черкасов М.Ф., Шифрин О.С., Эктов В.Н., Эфрон А.Г. Клинические рекомендации. Колопроктология. М., 2015. 528. [Frolov S.A., Achkasov E.E., Achkasov S.I., Bagненко S.F., Blagodarnyj L.A., Vasil'ev S.V.,

Grigor'ev E.G., Davydov M.I., Zatevahn I.I., Kubyshkin V.A., Kulikovskiy V.F., Prudkov M.I., Stojko Ju.M., Timerbulatov V.M., Halif I.L., Shelygin Ju.A., Janovoj V.V., Abdulganieva D.I., Alekseenko S.A., Baranovskiy A.Ju., Beljaev A.M., Belousova E.A., Berdov B.A., Bolihov K.V., Veselov A.V., Veselov V.V., Vyshgorodcev D.V., Golovenko O.V., Zarodnjuk I.V., Zaharenko A.A., Ivashkin V.T., Kalashnikova I.A., Karpuhin O.Ju., Kashnikov V.N., Kostarev I.V., Kostenko N.V., Kuz'minov A.M., Mansurov Ju.V., Moskalev A.I., Murav'ev A.V., Nevol'skih A.A., Nizov A.A., Olejnik N.V., Orlova L.P., Osipenko M.F., Pavlenko V.V., Polujektova E.A., Pugaev A.V., Rasulov R.O., Rodoman G.V., Rumjancev V.G., Rybakov E.G., Sushkov O.I., Titov A.Ju., Tihonov A.A., Tkachjov A.V., Tkachenko E.I., Totikov V.Z., Fomenko O.Ju., Frolov S.A., Hubezov D.A., Cherkasov M.F., Shifrin O.S., Jektov V.N., Jefron A.G. Clinical guidelines. Coloproctology. Moscow, 2015. 528. (in Russian)].

2. Элизбарян К.С., Лазарев А.Ф., Шойхет Я.Н., Давиденко И.С., Каушанская С.Ю., Давиденко О.В., Горьковой А.В., Бублик М.В., Василенко И.Н. Химиолучевая терапия плоскоклеточного местнораспространенного анального рака. Российский онкологический журнал. 2015; 20(1): 26–29. [Elizbaryan K.S., Lazarev A.F., Shoykhet Ya.N., Davidenko I.S., Kaushanskaya S.Yu., Davidenko O.V., Gorcovoi A.V., Bublik M.V., Vasilenko I.N. Chemoradiotherapy of squamous cell anal cancer. 2015; 20(1): 26–29. (in Russian)].

3. Cacheux W., Lievre A., De La Rochefordiere A., Dieumegard B., Cvitkovic F., Labibb A., Mitrya E., Buecher B. Chemotherapy in the treatment of anal canal carcinoma. Dig Liver Dis. 2012 Oct; 44(10): 803–11. doi: 10.1016/j.dld.2012.04.013.

4. Chernykh M., Kozlov O., Gladilina I., Nechushkin M., Trigolov A. Different Applicators in Intracavitary Radiation Therapy of Anal Cancer. Brachytherapy. 2011; 10(3): S76–S77.

5. Андропова Н.В., Трегалина Е.М., Долгушин Б.И., Михайлова Л.М., Кульбачевская Н.Ю., Коняева О.И., Герасимова Г.К., Хорошева Е.В., Сингин А.С., Зимакова Н.И., Зимакова А.П., Николаев А.Л., Гопин А.В., Божжевольнов В.Е., Калия О.Л., Ворожцов Г.Н. Концепция использования в онкологии ультразвукового воздействия средней интенсивности в сочетании с химиотерапией. Медицинская физика. 2010; 3: 12–17. [Andronova N.V., Treshalina N.M., Dolgushin B.I., Mikhailova L.M., Kulbnachevskaya N.Yu., Konyaeva O.I., Guerassimova G.K., Chorosheva E.V., Singin A.S., Zimakova N.I., Budko A.P., Nikolaev A.L., Gopin A.V., Bozhevolnov V.E., Kaliya O.L., Voroztsov G.N. Conception for using in oncology of local moderate intensity ultrasound with chemotherapy. Medical physics. 2010; 3: 12–17. (in Russian)].

6. Хамитова Г.В., Хуснутдинов Ш.М., Леонтьева О.С. Морфологические изменения в опухоли после ультразвукового воздействия. Креативная хирургия и онкология. 2010; 4: 23–25. [Khamitova G.V., Khusnutdinov Sh.M., Leontieva O.S. Morphological changes in a tumor after ultrasonic impact. Creative surgery and oncology. 2010; 4: 23–25. (in Russian)].

7. Mo S., Coussios C.C., Seymour L., Carlisle R. Ultrasound-enhanced drug delivery for cancer. Expert Opin Drug Deliv. 2012 Dec; 9(12): 1525–38. doi: 10.1517/17425247.2012.739603.

8. Hu Z., Lv G., Li Y., Li E., Li H., Zhou Q., Yang B., Cao W. Enhancement of anti-tumor effects of 5-fluorouracil on hepatocellular carcinoma by low-intensity ultrasound. Journal of Experimental & Clinical Cancer Research. 2016; 35(1): 71. doi: 10.1186/s13046-016-0349-4.

9. Кит О.И., Джабаров Ф.Р., Франциянц Е.М., Розенко Л.Я., Максимов А.Ю., Крохмаль Ю.Н. Ростовский научно-исследовательский онкологический институт. Способ лечения рака языка. Патент № 2488412 РФ. МПК А61Н 5/01 А61Н 7/00 А61К 31/282 А61К 31/337 А61К 35/14 А61П 35/00. № 2012103769/14; Заявл. 03.02.2012; Опубл. 27.07.2013. Бюл. № 21. [Kit O.I., Dzhabarov F.R., Frantsiyants E.M., Rozenko L.Ya., Maksimov A.Yu., Krokhmal' Yu.N. Rostovskii nauchno-issledovatel'skii onkologicheskii institut. Sposob lecheniya raka yazyka. Patent № 2488412 RF. MPK A61N 5/01 A61N 7/00 A61K 31/282 A61K 31/337 A61K 35/14 A61P 35/00. № 2012103769/14; 03.02.2012; 27.07.2013. (in Russian)].

10. Франциянц Е.М., Розенко Л.Я., Комарова Е.Ф., Крохмаль Ю.Н., Солдатов А.В., Положенцев О.Е., Гуда А.А., Чайников А.П. Влияние ультразвукового воздействия на доставку цитостатика вглубь опухолевой ткани. Современные проблемы науки и образования. 2013; 6. [Интернет]. URL: www.science-education.ru/113-11650. (дата обращения: 01.03.2019). [Frantsiyants E.M., Rozenko L.Ya., Komarova E.F., Krokhmal Yu.N., Soldatov A.V., Polozhentsev O.E., Guda A.A., Chaynikov A.P. The influence of ultrasonic exposure on transport of cytostatic agent deep into the tumor tissue. Modern problems of science and education. 2013; 6. [Internet]. URL: www.science-education.ru/113-11650. (cited: 01.03.2019). (in Russian)].

11. Чу Э., Де Вит В. Химиотерапия злокачественных новообразований. М., 2008. 76. [Chu E., De Vita V. Jr. Chemotherapy of malignant neoplasms. Moscow, 2008. 76. (in Russian)].

Поступила/Received 13.11.18
Принята в печать/Accepted 28.02.19

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Кит Олег Иванович, доктор медицинских наук, профессор, генеральный директор ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 1728-0329.

Розенко Людмила Яковлевна, доктор медицинских наук, профессор, врач-радиотерапевт отделения радиологии, ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 8879-2251.

Франциянц Елена Михайловна, доктор биологических наук, профессор, заместитель генерального директора по науке, ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 9427-9928.

Гусарева Марина Александровна, кандидат медицинских наук, заведующая отделением радиологии, ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 9040-5476.

Кошелева Наталия Геннадьевна, врач-радиотерапевт отделения радиологии, ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 7818-8478.

Солнцева Анна Анатольевна, кандидат медицинских наук, врач-радиотерапевт отделения радиологии, ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 8521-3065.

Крохмаль Юлия Николаевна, кандидат медицинских наук, врач-радиотерапевт отделения радиологии, ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 5641-5140.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы объявляют, что у них нет конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Oleg I. Kit, MD, Professor, General Director of Rostov Research Institute of Oncology (Rostov-on-Don, Russia).

Lyudmila Ya. Rozenko, MD, Professor, Radiotherapist, Department of Radiology, Rostov Research Institute of Oncology (Rostov-on-Don, Russia).

Elena M. Frantsiyants, Professor, Deputy General Director for Science, Rostov Research Institute of Oncology (Rostov-on-Don, Russia).

Marina A. Gusareva, MD, PhD, Head of Department of Radiology, Rostov Research Institute of Oncology (Rostov-on-Don, Russia).

Natalia G. Kosheleva, MD, Radiotherapist, Department of Radiology, Rostov Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don, Russia.

Anna A. Solntseva, MD, PhD, Radiotherapist, Department of Radiology, Rostov Research Institute of Oncology (Rostov-on-Don, Russia).

Yulia N. Krokmal, MD, PhD, Radiotherapist, Department of Radiology, Rostov Research Institute of Oncology (Rostov-on-Don, Russia).

Funding

This study required no funding.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

DOI: 10.21294/1814-4861-2019-18-3-90-96
УДК: 616.36-004-002-006.6-08:615.281.8

Для цитирования: *Малинина Н.А., Мазурчик Н.В., Тарасова О.И., Огурцов П.П.* Эрадикация HCV-инфекции на стадии цирроза печени: фактор канцеропревенции или канцерогенеза? Сибирский онкологический журнал. 2019; 18(3): 90–96. – doi: 10.21294/1814-4861-2019-18-3-90-96.

For citation: *Malinina N.A., Mazurchik N.V., Tarasova O.I., Ogurtsov P.P.* Eradication of HCV infection in patients with liver cirrhosis: factor of cancer prevention or carcinogenesis? Siberian Journal of Oncology. 2019; 18(3): 90–96. – doi: 10.21294/1814-4861-2019-18-3-90-96.

ЭРАДИКАЦИЯ HCV-ИНФЕКЦИИ НА СТАДИИ ЦИРРОЗА ПЕЧЕНИ: ФАКТОР КАНЦЕРОПРЕВЕНЦИИ ИЛИ КАНЦЕРОГЕНЕЗА?

Н.А. Малинина, Н.В. Мазурчик, О.И. Тарасова, П.П. Огурцов

Центр изучения печени Медицинского института,
Российский университет дружбы народов, г. Москва, Россия
Россия, г. Москва, 117198, ул. Миклухо-Маклая, 10. E-mail: malininan20042013@yandex.ru

Аннотация

Гепатоцеллюлярная карцинома – одна из наиболее распространенных причин онкологической смертности и финальная стадия хронических заболеваний печени, как правило, формирующаяся у больных циррозом печени. Вирус гепатита С (HCV) обладает тропностью к печеночной ткани, а хроническое инфицирование этим вирусом приводит к прогрессирующему воспалению печени и развитию цирроза. Ранее применяемая терапия интерферонами (ИФН) имела относительно низкую эффективность и высокие риски развития побочных эффектов. В период применения ИФН было доказано, что элиминация вируса существенно снижает риск развития рака печени. Появление препаратов прямого противовирусного действия (ПППД) произвело революцию в лечении вирусного гепатита С с частотой элиминации вируса более 98 % и отличным профилем безопасности. Однако риск трансформации цирроза печени в гепатоцеллюлярную карциному остается высоким даже после эрадикации вируса ПППД. Опубликованные в настоящее время многочисленные исследования с противоречивыми результатами по вопросам возможной связи применения противовирусных препаратов прямого действия и увеличением частоты выявления или рецидива гепатоцеллюлярной карциномы предопределили проведение данного исследования. **Цель исследования** – анализ отечественной и зарубежной литературы о влиянии противовирусной терапии хронического гепатита С интерферон-содержащими схемами и препаратами прямого противовирусного действия на риск развития или рецидива гепатоцеллюлярной карциномы.

Материал и методы. Проведен поиск доступных русско- и англоязычных статей, опубликованных в базах данных PubMed, Scopus, E-library, Web of Science, по ключевым словам: гепатоцеллюлярная карцинома, хронический гепатит С, препараты прямого противовирусного действия, цирроз печени, интерфероны, устойчивый вирусологический ответ, hepatocellular carcinoma, chronic hepatitis C, direct antiviral drugs, liver cirrhosis, interferons, sustained virologic response. Из 99 найденных исследований 21 было использовано для написания систематического обзора. **Результаты.** Эрадикация вируса снижает риски ГЦК. Несмотря на сообщения о более высоком риске возникновения или рецидива гепатоцеллюлярной карциномы у пациентов с циррозом печени в исходе хронического гепатита С после лечения ПППД по сравнению с интерферон-содержащими схемами, пока недостаточно данных, подтверждающих прямую связь между использованием ПППД и развитием гепатоцеллюлярной карциномы. При коррекции данных с учетом факторов риска статистически значимой разницы в частоте диагностики ГЦК между пациентами, получавшими лечение интерфероном или ПППД, не обнаружено.

Заключение. Эрадикация вируса является наиболее значимым фактором профилактики ГЦК, поэтому лечение ХГС не должно откладываться из-за риска развития ГЦК. Пациенты с циррозом печени требуют длительного периода наблюдения, даже после успешной терапии ХГС препаратами прямого противовирусного действия. Стратификация рисков ГЦК требует дальнейших исследований.

Ключевые слова: гепатоцеллюлярная карцинома, хронический гепатит С, препараты прямого противовирусного действия, цирроз печени, интерфероны, устойчивый вирусологический ответ.

ERADICATION OF HCV INFECTION IN PATIENTS WITH LIVER CIRRHOSIS: FACTOR OF CANCER PREVENTION OR CARCINOGENESIS?

N.A. Malinina, N.V. Mazurchik, O.I. Tarasova, P.P. Ogurtsov

Department of Hospital Medicine and Center for Liver Research Medical Faculty, Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia
10, Street Miklouho-Maclay, 117198-Moscow, Russia. E-mail: malininan20042013@yandex.ru

Abstract

Hepatocellular carcinoma (HCC) is one of the most common causes of death from cancer and is the final stage of chronic liver disease, usually occurring in patients with cirrhosis (CP). Chronic infection with hepatitis C virus (HCV) leads to progressive liver inflammation and cirrhosis because this virus specifically affects liver tissue. Previously used interferon therapy had a relatively low efficiency and very high risks of side effects. During the period of administration of interferon (IFN) schemes it was proved that elimination of the virus significantly reduced risk of liver cancer development. Discovery of direct-acting antiviral (DAA) drugs have revolutionized HCV therapy with virus elimination rate of more than 95 % and an excellent safety profile. However, the risk of transformation of liver cirrhosis into hepatocellular carcinoma is still high even after complete eradication of the virus. Numerous studies have shown conflicting results on the possible relationship between the use of new antiviral drugs and the increase in the frequency of newly diagnosed or recurrent hepatocellular carcinoma. Thus, the long-term prognosis in terms of risk for HCC development among patients with sustained virological response (SVR) remains unclear. **The purpose of the study** was to analyze the literature on the effect of antiviral therapy of chronic hepatitis C with interferon-containing regimens and drugs of direct antiviral action on the risk of developing or recurring hepatocellular carcinoma. **Material and Methods.** We analyzed publications available from PubMed, Scopus, E-library, Web of Science using the key words "hepatocellular carcinoma", "chronic hepatitis C", "direct-acting antiviral drugs", "liver cirrhosis", "interferons", and "sustained virological response". Of the 99 studies found, 21 were used to write a systematic review. **Results.** Eradication of the virus reduces the risks of HCC. Despite reports on high risk of occurrence or recurrence of hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis after treatment with DAAs compared with interferon-containing regimens, there is not enough data confirming the direct link between the use of DAAs and the development of hepatocellular carcinoma. No statistically significant difference in the frequency of HCC between patients treated with interferon or DAAs was detected. **Conclusion.** Eradication of the virus is the most significant factor in the prevention of HCC; therefore, treatment of CHC should not be delayed due to the risk of HCC. Patients with liver cirrhosis require a long period of follow-up, even after successful treatment of chronic hepatitis C with DAA drugs. Stratification of HCC risk requires further research.

Key words: hepatocellular carcinoma, chronic hepatitis C, direct-acting antiviral (DAA) drugs, liver cirrhosis, interferons, sustained virological response.

Вирус гепатита С был открыт более 20 лет назад, но до сих пор остается одной из наиболее серьезных проблем мирового здравоохранения, которая затрагивает более 71 миллиона человек по всему миру. От последствий этого заболевания ежегодно умирает примерно 399 тысяч человек [1]. Наиболее эндемичными регионами являются Восточное Средиземноморье и Европейский регион, где показатели распространенности составляют 2,3 % и 1,5 %. В Российской Федерации в этиологической структуре впервые зарегистрированных случаев хронических вирусных гепатитов преобладает хронический гепатит С: с начала регистрации (1999 г.) до 2017 г. его доля возросла с 54,8 % до 77,97 % (в 2016 г. – 77,7 %). Заболеваемость ХГС в 2017 г. в РФ составила 34,63 на 100 тыс. населения [2]. В то же время показатели регистрируемой заболеваемости не полностью отражают нагрузку HCV на популяцию, так как бессимптомное течение ХГС нередко приводит к клинической манифестации лишь на поздних стадиях заболевания, при транс-

формации в выраженный фиброз и цирроз печени (ЦП), которые, в свой черед, имеют четкую ассоциацию с гепатоцеллюлярной карциномой [3]. Гепатоцеллюлярная карцинома (ГЦК) – наиболее частый гистологический тип злокачественных новообразований (ЗНО) печени, на нее приходится 85–90 % от первичного рака печени [4]. В подавляющем числе наблюдений ГЦК формируется на фоне цирротически измененной печени с частотой до 4 % в год [5]. Известно, что HCV-инфекция в 15–20 раз увеличивает риск ее возникновения [6]. В свою очередь, согласно 14-летнему проспективному исследованию Bruno et al. (352 пациентов с ЦП в исходе ХГС), развитие ГЦК пятикратно повышает риск декомпенсации цирроза печени, что увеличивает риск «печеночной» и общей смерти в 17 и 7 раз (ОР=16,9, 95 % ДИ 9,9728,6 и ОР=7,08, 95 % ДИ 4,88–10,2) [7].

Заболеваемость ГЦК неравномерно распределена по земному шару. Значимый перевес наблюдается в странах Восточной Юго-Восточной Азии и

Африки, к югу от Сахары, на их долю приходится примерно 50 % всех случаев гепатоцеллюлярной карциномы во всем мире [8]. Высокий уровень заболеваемости раком печени (РП) объясняется как высокой частотой инфицирования вирусными гепатитами в данных регионах, так и ранним возрастом инфицирования пациентов – вертикальный путь передачи инфекции (от матери к ребенку) [9].

По данным проекта мировой онкологической статистики «GLOBOCAN 2018», рак печени занимает седьмое место в структуре онкологических заболеваний и третье в структуре онкологической летальности, 5-летняя выживаемость при этом составляет 8,85 % [10]. Российская Федерация относится к странам со средней заболеваемостью злокачественными новообразованиями печени. По данным Ассоциации онкологов России 2017 г. [11], «грубые» показатели заболеваемости злокачественными новообразованиями печени и внутрипеченочных желчных протоков (ВЖП) в 2017 г. составили 5,99 на 100 тыс. населения, тогда как в 2007 г. – 4,43 на 100 тыс. населения, при этом среднегодовой прирост за 10 лет (с 2007 г. по 2017 г.) составил 2,92 %, общий прирост – 34,80 %. Удельный вес заболеваемости ЗНО печени и ВЖП в 2017 г. – 1,43 % от всех злокачественных новообразований, тогда как в 2007 г. – 1,3 %. Удельный вес смертности от ЗНО печени и ВЖП за 10 лет возрос и составил в 2017 г. – 3,39 %, в 2007 г. – 2,84 % [12]. Стоит отметить низкий уровень морфологической верификации – 66,3 % (2017 г.), а также превышение смертности от ЗНП над уровнем заболеваемости по большинству административных территорий России, что, вероятно, свидетельствует о недоучете первичных больных, так как основная масса больных погибает от прогрессирования цирротического процесса еще до развития значительных размеров опухоли. Кроме того, в РФ отсутствуют официальные данные по количеству пациентов с циррозом печени и гепатоцеллюлярной карциномой, ассоциированных с HCV-инфекцией.

Влияние противовирусной терапии препаратами прямого противовирусного действия на риск развития ГЦК

До появления препаратов прямого противовирусного действия (ПППД) стандартная схема противовирусной терапии (ПВТ) вирусного гепатита С включала парентеральное введение пегилированного интерферона (ПЭГ-ИФН). При этом достичь устойчивого вирусологического ответа (УВО) удавалось лишь в 40–80 % случаев в зависимости от генотипа вируса, длительность терапии составляла от 48 до 72 нед [13]. Такое лечение имело высокие риски развития побочных эффектов и было недоступным для пациентов при ЦП в стадии декомпенсации (количество баллов по Чайлд-Пью более 7), которые в наибольшей

степени в нем нуждались [14]. К противопоказаниям для назначения интерферон-содержащих схем лечения относят также депрессию, психозы или эпилепсию, аутоиммунные заболевания, плохо контролируемую гипертензию, декомпенсированный сахарный диабет, сердечную недостаточность, обструктивную болезнь легких, выраженную дисфункцию почек, щитовидной железы и т. д. Противовирусный эффект данной схемы лечения основан преимущественно на стимуляции иммунного ответа пациента. В период применения интерферонов многочисленными проспективными и ретроспективными исследованиями было показано, что элиминация вируса существенно снижает, но не исключает риск развития ГЦК [15–18]. Так, в исследовании из Канады при оценке частоты возникновения ГЦК у пациентов после лечения, достигших элиминации вируса, риск развития ГЦК составил 1,1 на 1000 человеко-лет ($n=4663$, 57 %), у пациентов, которым не удалось достичь УВО ($n=3484$, 43 %), риск развития ГЦК составил 7,2 на 1000 человеко-лет. При этом цирроз, возраст ≥ 50 лет, мужской пол, 3 генотип вируса были связаны с более высоким риском возникновения ГЦК [19].

В публикации T.R. Morgan et al. говорится о снижении частоты возникновения ГЦК у пациентов, достигших УВО, на 75 % [20]. Согласно результатам международного многоцентрового долгосрочного исследования с участием 5 клиник США, Европы и Канады, из 530 пациентов с циррозом печени в исходе хронического гепатита С в течение 6,8 года после окончания лечения была диагностирована ГЦК у 7 (4 %) пациентов с УВО и у 76 (22 %) – так и не достигших элиминации вируса. Через 10 лет наблюдения совокупный риск возникновения ГЦК составил 5,1 % (95 % ДИ, 1,3–8,9 %) у пациентов с УВО и 21,8 % (95 % ДИ, 16,6–27,0 %) у пациентов без УВО ($p<0,001$). Это исследование с длительной продолжительностью наблюдения продемонстрировало, что элиминация HCV-инфекции с помощью ИНФ связана со снижением риска смертности (в том числе и от ГЦК) у пациентов с ЦП-HCV [21]. Вышеописанные данные согласуются с наблюдениями коллег из Японии, в исследовании которых у пациентов с УВО после интерферонотерапии ГЦК развивалась значительно реже, нежели у тех, кто не ответил на лечение (27/836 и 214/1556 соответственно), и у тех, кто не лечился (67/395) [22]. Метаанализ 18 исследований, проведенный в 2013 г., показал, что индуцированный интерфероном УВО ведет к четырехкратному уменьшению риска ГЦК независимо от стадии заболевания печени (коэффициент риска 0,24, 95 % ДИ 0,18–0,31). У около 1,5 % ($n=145$) из 9185 пациентов, ответивших на лечение, развилась ГЦК по сравнению с 6,2 % ($n=990$) из 16 312 пациентов, у которых УВО достичь не удалось [23].

В 2011 г. созданы первые препараты прямого противовирусного действия. В настоящее время

во многих странах одобрены к применению ПППД четырех классов, мишенями которых являются 3 белка HCV [24]. Препараты прямого противовирусного действия имеют ряд преимуществ: подавление важных этапов жизненного цикла HCV, препятствуя образованию новых вирусных частиц, высокая степень эффективности, высокая частота УВО, короткая, по сравнению с интерфероновыми схемами, длительность терапии, благоприятный профиль безопасности, минимум побочных эффектов, а также удобство применения (1–2 таблетки в день). Расширился диапазон показаний – появилась возможность лечить пациентов с декомпенсированным циррозом печени, которые составляют значительную часть кандидатов на трансплантацию печени [25], а также пациентов с клинически значимыми внепеченочными проявлениями (сахарный диабет, поражение почек и др.), с ГЦК до и в период онкологического лечения, ВИЧ-инфицированных. Таким образом, противовирусные препараты прямого действия стали серьезным прорывом в гепатологии. В распоряжении врача появился новый инструмент для борьбы с вирусом на поздних стадиях болезни. Вероятность полного избавления от HCV-инфекции при использовании современных схем ПППД приближена к 100 % [26]. Однако долгосрочный прогноз для жизни пациентов после элиминации вируса, у которых уже сформировался цирроз печени, оставался неясным. В частности, требовал изучения вопрос о влиянии ПППД на риск формирования первичной ГЦК или рецидива пролеченной.

В 2016 г. итальянские исследователи заявили о неожиданно высоком уровне рецидивов рака печени (27,6 %) у пациентов с полным радиологическим ответом на терапию. На протяжении 5,7 мес у 16 из 58 пациентов после лечения комбинацией новых прямых противовирусных препаратов в период с 2014 по 2015 г. отмечен рецидив ГЦК. Авторы предупредили о необходимости проведения тщательного мониторинга на гепатоцеллюлярную карциному среди данной категории пациентов [27]. Conti et al. [28] ретроспективно наблюдали 344 пациента, которые получали терапию безинтерфероновыми схемами. Устойчивый вирусологический ответ был отмечен у 314 из 344 пациентов (91 %), что подтверждает высокую эффективность ПППД у больных с ЦП, однако в течение полугода ГЦК была выявлена у 26 пациентов (7,6 %, 95 % CI: 4,99–10,84); у 17 из 59 пациентов (28,81 %, 95 % CI: 17,76–42,07) развился рецидив опухоли, у 9 из 285 пациентов опухоль диагностирована впервые (3,16 %, 95 % CI 1,45–5,90). Рецидив опухоли был ассоциирован с более тяжелой степенью фиброза. Учитывая полученный высокий риск ГЦК, авторы пришли к выводу, что у больных с ЦП в исходе ХГС после элиминации HCV-инфекции препаратами прямого противовирусного действия сохраняется риск возникновения и рецидива ГЦК. Эти выво-

ды вызвали серьезную озабоченность и побудили несколько групп ученых проанализировать результаты исследований в попытке их опровергнуть или подтвердить.

Австралийские ученые провели метаанализ 41 публикации данных (13 875 пациентов) [29]. В результате выявлено 26 случаев первичной ГЦК, при этом 17 пациентов пролечены ИФН и 9 пациентов ПППД. Появление первичной ГЦК составило 1,14/100 человеко-лет (95 % ДИ 0,86–1,52) и 2,96/100 человеко-лет (95 % ДИ 1,76–4,96) после лечения интерферонами и ПППД соответственно. А также 17 рецидивов ГЦК (ИФН=7, ПППД=10). Появление рецидива ГЦК составило 9,21/100 человеко-лет (95 % ДИ 7,18–11,81) и 12,16/100 человеко-лет (95 % ДИ 5,00–29,58) после лечения ИФН и ПППД соответственно. Было отмечено, что пациенты, получавшие лечение ПППД, имели более выраженный фиброз печени. После корректировки на возраст, тяжесть заболевания, вероятность декомпенсации ЦП различия по частоте ГЦК были недостоверными: первичная ГЦК (RR 0,68, 95 % ДИ 0,18–2,55, $p=0,55$), рецидив ГЦК (RR 0,62, 95 % ДИ 0,11–3,45, $p=0,56$). Авторы не нашли различий в рисках возникновения первичной ГЦК или ее рецидиве после успешного лечения препаратами прямого действия или интерферонами. И вместе с тем у пациентов с ЦП даже после успешного лечения риск возникновения ГЦК остается высоким.

В исследовании F. Kanwal et al., изучавших риск гепатоцеллюлярной карциномы у пациентов, пролеченных с помощью ПППД в течение 1 года в 129 госпиталях ветеранов, из 22 500 пациентов у 19 518 была достигнута эрадикация вируса, у 2 982 пациентов УВО не отмечалось [30]. Средний возраст пациентов составил 61,6 года и 39,0 % из них имели цирроз печени. Был зарегистрирован 271 новый случай ГЦК, в том числе 183 у пациентов с УВО. По сравнению с пациентами без успешного противовирусного лечения у больных с УВО был значительно снижен риск развития ГЦК (0,90 против 3,45 НСС/100 человеко-лет). Пациенты с ЦП имели самый высокий годовой уровень заболеваемости раком печени (1,82 против 0,34/100 человеко-лет по сравнению с пациентами без ЦП; скорректированное отношение рисков – 4,73, 95 % ДИ 3,34–6,68). Ученые пришли к выводу, что среди больных, получавших ПППД, устойчивый вирусологический ответ был связан со значительным снижением риска ГЦК. При этом не обнаружено доказательств того, что ПППД способствуют возникновению ГЦК. Однако у пациентов с ЦП в исходе ХГС после эрадикации вируса абсолютный риск возникновения ГЦК остается высоким.

Ученые из Великобритании провели ретроспективное когортное исследование на основе шотландской клинической базы. Среди 857 пациентов с ЦП и без ГЦК в анамнезе зафиксировано 46 случаев

ГЦК (5,4 %), успешно пролеченных либо ИФН, либоПППД в период с 1997 по 2016 г. При однофакторном анализе после леченияПППД наблюдалось значительное повышение заболеваемости ГЦК (HR – 2,48, $p=0,021$). Однако при проведении многофакторного анализа с коррекцией исходных данных с учетом возраста, пола, расы, уровня тромбоцитов и тяжести ЦП достоверный риск не сохранялся (aHR – 1,15, $p=0,744$) [31]. В недавнем ретроспективном когортном исследовании американских ученых [32] пациенты с ХГС (n=30 183), получившие противовирусное лечение в период с 2006 по 2017 г.: пролеченныеПППД (n=28 652), без ПВТ (n=137 502) и пациенты, получавшие лечение ИФН (n=12 948). У всех включенных в исследование больных за 12 мес до старта ПВТ и до начала наблюдения не было зарегистрировано признаков неопластического процесса в печени. Без учета различий в исходных характеристиках, а именно возраста, наличия ЦП и его осложнений, сопутствующих заболеваний, нескорректированные показатели заболеваемости раком печени были выше в когорте, пролеченнойПППД, по сравнению с когортой пациентов, не получавших противовирусной терапии (1,18 против 0,64 на 100 человеко-лет соответственно), что соответствует нескорректированному HR 1,84 (95 % ДИ 1,65–2,05). В итоге после корректировки данных на исходные характеристики, включая цирроз, портальную гипертензию и тромбоцитопению, лечениеПППД было связано с более низким риском развития РП по сравнению с отсутствием ПВТ (скорректированный HR=0,84, 95 % ДИ 0,73–0,96), а также относительно лечения ИФН (HR=0,69, 95 % ДИ 0,59–0,81). Помимо возраста, цирроз печени – наиболее сильный фактор риска развития ГЦК (HR – 3,89, 95 % ДИ 3,45–4,37).

G.N. Ioannou et al. при анализе 3271 случая возникновения ГЦК у пациентов с HCV-инфекцией пришли к выводу, что эрадикация HCVПППД снижает риск развития рака печени на 71 % (AHR 0,29, 95 % ДИ 0,23–0,37). При этом частота развития ГЦК была самой высокой у пациентов с ЦП и неудачей в лечении ХГС (3,25 на 100 человеко-лет).

В более раннем французском проспективном исследовании, включавшем 267 пациентов с указанием в анамнезе на излечение от ГЦК, авторы также не обнаружили разницы в рисках рецидивов ГЦК без лечения и послеПППД. Из 189 пациентов, получавших терапию новыми противовирусными препаратами, у 24/189 (12,7 %) выявлен рецидив опухоли по сравнению с 16/78 (20,5 %), у которых лечение не проводилось [33].

В проспективном исследовании G. Cabibbo et al. наблюдали 143 пациента, 86 % из которых имели ЦП и ремиссию после лечения ГЦК. Все пациенты были пролечены препаратами прямого действия. Авторы наблюдали 24 рецидива ГЦК

через 6, 12 и 18 мес, что составило 12, 26,6 и 29,1 % соответственно. При этом не было обнаружено более высокой частоты рецидивов у пациентов, пролеченныхПППД по сравнению с пациентами, которые не получали противовирусной терапии [34].

Широкомасштабное проспективное исследование, проведенное в Италии [35], которое включало 4 668 пациентов (69,2 % с компенсированным циррозом печени, 8,8 % с декомпенсированным циррозом печени и 22 % с хронической HCV-инфекцией без продвинутого фиброза печени), предоставило очевидные данные, подтверждающие, что излечение ХГС приводит к снижению риска смерти по причине печеночных осложнений. Исследование показало, что пациенты с компенсированным циррозом (стадия А по классификации Чайлд-Пью) были в 15 раз более склонны к развитию смертельных осложнений, если у них не удавалось достичь устойчивого вирусологического ответа при использованииПППД (HR – 15,5; 95 % ДИ 4,42–54,49; $p<0,001$). В ходе европейского наблюдения за пациентами с ЦП в исходе вирусного гепатита С было выявлено, что доля трансплантаций печени сократилась с 23 % до 11 % [36]. Это стало очевидным после 2014 г. и особенно четко прослеживается в подгруппе лиц с декомпенсированным циррозом, что, несомненно, связано с появлением препаратов прямого противовирусного действия. Показатель выживаемости после трансплантации печени среди пациентов с ХГС также улучшился.

Таким образом, достижение устойчивого вирусологического ответа у пациентов с хроническим гепатитом С приводит к остановке прогрессирования и частичной регрессии фиброза печени, снижению риска возникновения или рецидива ГЦК и снижению летальности у данной категории больных. Препараты прямого противовирусного действия по сравнению с интерферон-содержащими схемами ПВТ обладают более высоким профилем эффективности и безопасности. Это позволяет лечить пациентов на более поздних стадиях ХГС, которые в сочетании с многочисленными осложнениями сами по себе имеют более высокий риск развития ГЦК. Несмотря на то, что на данный момент опубликованы исследования, в которых предпринята попытка оценить наличие более высокого риска возникновения или рецидива ГЦК после применения препаратов прямого действия по сравнению с интерферон-содержащими схемами, пока нет достаточных данных, подтверждающих разницу между этими двумя группами больных.

Заключение

Злокачественное перерождение печени у пациентов с циррозом печени, ассоциированным с вирусом гепатита С, будет оставаться серьезной проблемой здравоохранения в ближайшие десятилетия, несмотря на доступ к новой противо-

вирусной терапии. Эрадикация вируса является наиболее значимым фактором профилактики ГЦК, поэтому лечение гепатита С не только не должно откладываться из-за риска развития ГЦК, а должно начинаться как можно раньше. Пациенты с циррозом печени требуют длительного периода наблюдения, дополнительного регулярного скрининга на предмет развития новообразований печени после успешной терапии хронического вирусного гепатита препаратами прямого противовирусного действия. При этом проведение ультразвукового

исследования печени и исследование уровня АФП для пациентов без ГЦК в анамнезе желательно каждые 6 мес, а для пациентов с ГЦК в анамнезе должно проводиться КТ или МРТ, а также каждые 3 мес оцениваться уровень АФП. Необходимы дальнейшие исследования для формирования групп высокого риска ГЦК после устойчивого вирусологического ответа, создание алгоритма мониторинга этих групп, разработка методов ранней диагностики ГЦК и, возможно, назначение таргетных препаратов в группах сверхвысокого риска.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. World Health Organization. Hepatitis C [Internet]. URL: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-c> (cited 12.10.2018r).
2. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2017 году: Государственный доклад. М., 2018. 268. [On the state of sanitary and epidemiological well-being of the population in the Russian Federation in 2017: State report. Moscow, 2018. 268. (in Russian)].
3. European Association for Study of Liver. EASL Clinical Practice Guidelines: Management of hepatitis C virus infection. J Hepatol. 2014 Feb; 60(2): 392–420. doi: 10.1016/j.jhep.2013.11.003.
4. Lafaro K.J., Demirjian A.N., Pawlik T.M. Epidemiology of hepatocellular carcinoma. Surg Oncol Clin N Am. 2015 Jan; 24(1): 1–17. doi: 10.1016/j.soc.2014.09.001.
5. Ferlay J., Soerjomataram I., Dikshit R., Eser S., Mathers C., Rebelo M., Parkin D.M., Forman D., Bray F. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. Int J Cancer. 2015 Mar 1; 136(5): E359–86. doi: 10.1002/ijc.29210.
6. Li D., Chung R. Impact of hepatitis C virus eradication on hepatocellular carcinogenesis. Cancer. 2015 Sep 1; 121(17): 2874–82. doi: 10.1002/cncr.29528.
7. Bruno S., Zuin M., Crosignani A., Rossi S., Zadra F., Roffi L., Borzio M., Redaelli A., Chiesa A., Silini E.M., Almasio P.L., Maisonneuve P. Predicting Mortality Risk in Patients With Compensated HCV-Induced Cirrhosis: A Long-Term Prospective Study. Am J Gastroenterol. 2009 May; 104(5): 1147–58. doi: 10.1038/ajg.2009.31.
8. Lafaro K.J., Demirjian A.N., Pawlik T.M. Epidemiology of hepatocellular carcinoma. Surg Oncol Clin N Am. 2015 Jan; 24(1): 1–17. doi: 10.1016/j.soc.2014.09.001.
9. London W.T., Petrick J.L., McGlynn K.A. Liver cancer. Cancer Epidemiology and Prevention. 4th ed. New York: Oxford University Press, 2018. 635–660.
10. Bray F., Ferlay J., Soerjomataram I., Siegel R.L., Torre L.A., Jemal A. Global Cancer Statistics 2018: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. CA Cancer J Clin. 2018 Nov; 68(6): 394–424. doi: 10.3322/caac.21492.
11. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2017 году (заболеваемость и смертность). М., 2018. 250. [Kaprין A.D., Starinskij V.V., Petrova G.V. Malignant neoplasms in Russia in 2017 (morbidity and mortality). Moscow, 2018. 250. (in Russian)].
12. Чиссов В.И., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2007 году (заболеваемость и смертность). М., 2009. 245. [Chissov V.I., Starinskij V.V., Petrova G.V. Malignant neoplasms in Russia in 2007 (morbidity and mortality). Moscow, 2009. 245. (in Russian)].
13. European Association for the Study of the Liver. EASL clinical practice guidelines: Management of hepatitis C virus infection. J Hepatol. 2011 Aug; 55(2): 245–64. doi: 10.1016/j.jhep.2011.02.023.
14. Niederer C., Hüppe D., Zehnter E., Möller B., Heyne R., Christensen S., Pfaff R., Theilmeier A., Alshuth U., Mauss S. Chronic hepatitis C: treat or wait? Medical decision making in clinical practice. World J Gastroenterol. 2012 Mar 28; 18(12): 1339–47. doi: 10.3748/wjg.v18.i12.1339.
15. Hiramatsu N., Oze T., Takehara T. Suppression of hepatocellular carcinoma development in hepatitis C patients given interferon-based antiviral therapy. Hepatol Res. 2015 Jan; 45(2): 152–61. doi: 10.1111/hepr.12393.
16. Yu M.L., Lin S.M., Chuang W.L., Dai C.Y., Wang J.H., Lu S.N., Sheen I.S., Chang W.Y., Lee C.M., Liaw Y.F. A sustained virological response to interferon or interferon/ribavirin reduces hepatocellular carcinoma and improves survival in chronic hepatitis C: A nationwide, multi-centre study in Taiwan. Antivir Ther. 2006; 11(8): 985–94.
17. Singal A.K., Singh A., Jaganmohan S., Guturu P., Mummadi R., Kuo Y.F., Sood G.K. Antiviral therapy reduces risk of hepatocellular carcinoma in patients with hepatitis C virus-related cirrhosis. Clin Gastroenterol Hepatol. 2010 Feb; 8(2): 192–9. doi: 10.1016/j.cgh.2009.10.026.
18. Rutter K., Stättermayer A.F., Beinhardt S., Scherzer T.M., Steindl-Munda P., Trauner M., Ferenci P., Hofer H. Successful anti-viral treatment improves survival of patients with advanced liver disease due to chronic hepatitis C. Aliment Pharmacol Ther. 2015 Mar; 41(6): 521–31. doi: 10.1111/apt.13085.
19. Janjua N.Z., Chong M., Kuo M., Woods R., Wong J., Yoshida E.M., Sherman M., Butt Z.A., Samji H., Cook D., Yu A., Alvarez M., Tyndall M., Krajden M. Long-term effect of sustained virological response on hepatocellular carcinoma in patients with hepatitis C in Canada. J Hepatol. 2017 Mar; 66(3): 504–513. doi: 10.1016/j.jhep.2016.10.028.
20. Morgan T.R., Ghany M.G., Kim H.Y., Snow K.K., Schiffman M.L., De Santo J.L., Lee W.M., Di Bisceglie A.M., Bonkovsky H.L., Dienstag J.L., Morishima C., Lindsay K.L., Lok A.S.; HALT-C Trial Group. Outcome of sustained virological responders with histologically advanced chronic hepatitis C. Hepatology. 2010 Sep; 52(3): 833–44. doi: 10.1002/hep.23744.
21. van der Meer A.J., Veldt B.J., Feld J.J., Wedemeyer H., Dufour J.F., Lammert F., Duarte-Rojo A., Heathcote E.J., Manns M.P., Kuske L., Zeuzem S., Hofmann W.P., de Knecht R.J., Hansen B.E., Janssen H.L. Association Between Sustained Virological Response and All-Cause Mortality Among Patients With Chronic Hepatitis C and Advanced Hepatic Fibrosis. JAMA. 2012 Dec 26; 308(24): 2584–93. doi: 10.1001/jama.2012.144878.
22. Yoshida H., Tateishi R., Arakawa Y., Sata M., Fujiyama S., Nishiguchi S., Ishibashi H., Yamada G., Yokosuka O., Shiratori Y., Omata M. Benefit of interferon therapy in hepatocellular carcinoma prevention for individual patients with chronic hepatitis C. Gut 2004; 53: 425–430.
23. Morgan R.L., Baack B., Smith B.D., Yartel A., Pitasi M., Falck-Ytter Y. Eradication of hepatitis C virus infection and the development of hepatocellular carcinoma: a meta-analysis of observational studies. Ann Intern Med. 2013 Mar 5; 158(5 Pt 1): 329–37. doi: 10.7326/0003-4819-158-5-201303050-00005.
24. Bartenschlager R., Lohmann V., Penin F. The molecular and structural basis of advanced antiviral therapy for hepatitis C virus infection. Nat Rev Microbiol. 2013 Jul; 11(7): 482–96. doi: 10.1038/nrmicro3046.
25. Kim W.R., Lake J.R., Smith J.M., Skeans M.A., Schladt D.P., Edwards E.B., Harper A.M., Wainright J.L., Snyder J.J., Israni A.K., Kasiske B.L. OPTN/SRTR 2013 Annual Data Report: liver. Am J Transplant. 2015 Jan; 15 Suppl 2: 1–28. doi: 10.1111/ajt.13197.
26. European Association for the Study of the Liver. EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis C 2018. J Hepatol. 2018 Aug; 69(2): 461–511. doi: 10.1016/j.jhep.2018.03.026.
27. Reig M., Mariño Z., Perelló C., Iñarrairaegui M., Ribeiro A., Lens S., Díaz A., Vilana R., Darnell A., Varela M., Sangro B., Calleja J.L., Forns X., Bruix J. Unexpected high rate of early tumor recurrence in patients with HCV-related HCC undergoing interferon-free therapy. J Hepatol. 2016 Oct; 65(4): 719–726. doi: 10.1016/j.jhep.2016.04.008.
28. Conti F., Buonfiglioli F., Scuteri A., Crespi C., Bolondi L., Caraceni P., Foschi F.G., Lenzi M., Mazzella G., Verucchi G., Andreone P., Brillanti S. Early occurrence and recurrence of hepatocellular carcinoma in HCV-related cirrhosis treated with direct-acting antivirals. J Hepatol. 2016 Oct; 65(4): 727–733. doi: 10.1016/j.jhep.2016.06.015.
29. Waziry R., Hajarizadeh B., Grebely J., Amin J., Law M., Danta M., George J., Dore G. Hepatocellular carcinoma risk following direct-acting antiviral HCV therapy: A systematic review, meta-analysis, and meta-regression. J Hepatol. 2017 Dec; 67(6): 1204–1212. doi: 10.1016/j.jhep.2017.07.025.
30. Kanwal F., Kramer J., Asch S.M., Chayanupatkul M., Cao Y., El-Serag H.B. Risk of Hepatocellular Cancer in HCV Patients Treated With Direct-Acting Antiviral Agents. Gastroenterology. 2017 Oct; 153(4): 996–1005.e1. doi: 10.1053/j.gastro.2017.06.012.

31. Innes H., Barclay S.T., Hayes P.C., Fraser A., Dillon J.F., Stanley A., Bathgate A., McDonald S.A., Goldberg D., Valerio H., Fox R., Kennedy N., Bramley P., Hutchinson S.J. The risk of hepatocellular carcinoma in cirrhotic patients with hepatitis C and sustained viral response: Role of the treatment regimen. *J Hepatol.* 2018 Apr; 68(4): 646–654. doi: 10.1016/j.jhep.2017.10.033.

32. Singer A.W., Reddy K.R., Telep L.E., Osinusi A.O., Brainard D.M., Buti M., Chokkalingam A.P. Direct-acting antiviral treatment for hepatitis C virus infection and risk of incident liver cancer: a retrospective cohort study. *Aliment Pharmacol Ther.* 2018 May; 47(9): 1278–1287. doi: 10.1111/apt.14593.

33. ANRS collaborative study group on hepatocellular carcinoma. Lack of evidence of an effect of direct-acting antivirals on the recurrence of hepatocellular carcinoma: data from three ANRS cohorts. *J Hepatol.* 2016 Oct; 65(4): 734–740. doi: 10.1016/j.jhep.2016.05.045.

34. Cabibbo G., Petta S., Calvaruso V., Cacciola I., Cannavò M.R., Madonia S., Distefano M., Larocca L., Prestileo T., Tinè F., Bertino G., Giannitrapani L., Benanti F., Licata A., Scalisi I., Mazzola G., Cartabellotta F., Alessi N., Barbàra M., Russello M., Scifo G., Squadrito G., Raimondo G.,

Craxi A., Di Marco V., Cammà C.; Rete Sicilia Selezione Terapia HCV (RESIST-HCV). Is early recurrence of hepatocellular carcinoma in HCV cirrhotic patients affected by treatment with direct-acting antivirals? A prospective multicentre study. *Aliment Pharmacol Ther.* 2017 Oct; 46(7): 688–695. doi: 10.1111/apt.14256.

35. Calvaruso V., Petta S., Cacciola I., Cabibbo G. Disease outcomes after DAA-induced SVR: Data from the resist-HCV cohort. *Digestive and Liver Disease.* 2018; 50(1): 12. doi: 10.1016/j.dld.2018.01.005.

36. Belli L.S., Perricone G., Adam R., Cortesi P.A., Strazzabosco M., Facchetti R., Karam V., Salizzoni M., Andujar R.L., Fondevila C., De Simone P., Morelli C., Fabregat-Prous J., Samuel D., Agarwal K., Moreno Gonzales E., Charco R., Zieniewicz K., De Carlis L., Duvoux C.; all the contributing centers (www.eltr.org) and the European Liver and Intestine Transplant Association (ELITA). Impact of DAA in liver transplantation: major effects on the evolution of the indications and results. A study based on ELTR registry. *J Hepatol.* 2018 Oct; 69(4): 810–817. doi: 10.1016/j.jhep.2018.06.010.

Поступила/Received 07.05.18
Принята в печать/Accepted 12.04.19

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Малинина Наталья Анатольевна, аспирант кафедры госпитальной терапии РУДН, врач Центра изучения печени (г. Москва, Россия). E-mail: malininan20042013@yandex.ru. Researcher ID (WOS): I-9426-2018. ORCID: 0000-0002-0829-474X.

Мазурчик Наталья Владимировна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры госпитальной терапии РУДН, заместитель директора Центра изучения печени РУДН (г. Москва, Россия). E-mail: mazurchikn@yandex.ru.

Тарасова Ольга Ивановна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры госпитальной терапии РУДН, врач Центра изучения печени РУДН (г. Москва, Россия). E-mail: hildegarda@mail.ru. ORCID: P- 1521-2015.

Огурцов Павел Петрович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой госпитальной терапии РУДН, директор Центра изучения печени РУДН (г. Москва, Россия). E-mail: pogurtsov@yandex.ru. Researcher ID (WOS): A-5844-2017. Author ID (Scopus): 6602445752. ORCID: 0000-0001-7939-891X.

Финансирование

Публикация подготовлена при поддержке Программы РУДН «5-100».

Конфликт интересов

Авторы объявляют, что у них нет конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Nataliya A. Malinina, MD, Postgraduate, Liver Research Center, Department of Hospital Therapy, People's Friendship University of Russia (Moscow, Russia). E-mail: malininan20042013@yandex.ru. Researcher ID (WOS): I-9426-2018. ORCID: 0000-0002-0829-474X.

Nataliya V. Mazurchik, MD, PhD, Liver Research Center, Department of Hospital Therapy, People's Friendship University of Russia (Moscow, Russia). E-mail: mazurchikn@yandex.ru.

Olga I. Tarasova, MD, PhD, Associate Professor at the Department of Hospital Therapy, doctor of the Center for the Study of the Liver of People's Friendship University of Russia (Moscow, Russia). Email: hildegarda@mail.ru. ORCID: P-1521-2015.

Pavel P. Ogurtsov, MD, Professor, Liver Research Center, Head of Department of Hospital Therapy, People's Friendship University of Russia (Moscow, Russia). E-mail: pogurtsov@yandex.ru. Researcher ID (WOS): A-5844-2017. Author ID (Scopus): 6602445752. ORCID: 0000-0001-7939-891X.

Funding

The publication has been prepared with the support of the «RUDN University Program 5-100».

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

Для цитирования: Олкина А.Ю., Петров А.С., Панайотти Л.Л., Ланков Т.С., Карачун А.М. Современный взгляд на оптимальные способы подготовки толстой кишки перед плановыми колоректальными операциями. Сибирский онкологический журнал. 2019; 18(3): 97–102. – doi: 10.21294/1814-4861-2019-18-3-97-102.

For citation: Olkina A. Yu., Petrov A. S., Panaiotti L. L., Lankov T. S., Karachun A. M. Modern view on different kinds of bowel preparation for elective colorectal surgery. Siberian Journal of Oncology. 2019; 18(3): 97–102. – doi: 10.21294/1814-4861-2019-18-3-97-102.

СОВРЕМЕННЫЙ ВЗГЛЯД НА ОПТИМАЛЬНЫЕ СПОСОБЫ ПОДГОТОВКИ ТОЛСТОЙ КИШКИ ПЕРЕД ПЛАНОВЫМИ КОЛОРЕКТАЛЬНЫМИ ОПЕРАЦИЯМИ

А.Ю. Олкина¹, А.С. Петров¹, Л.Л. Панайотти¹, Т.С. Ланков¹, А.М. Карачун^{1,2}

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава РФ, г. Санкт-Петербург, Россия¹
Россия, г. Санкт-Петербург, пос. Песочный, 197758, ул. Ленинградская, 68.

E-mail: alexpetrov@doctor.com¹

Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова,
г. Санкт-Петербург, Россия²

Россия, г. Санкт-Петербург, 191015, ул. Кирочная, 41²

Аннотация

Цель исследования – обобщение имеющихся данных по влиянию применения разных подходов предоперационной подготовки кишки на непосредственные результаты при плановых операциях на толстой кишке. **Материал и методы.** С помощью электронной системы американской национальной медицинской библиотеки PubMed проводился поиск статей по ключевым словам: mechanical bowel preparation, surgical site infection, oral antibiotics. В ходе анализа изучено 226 статей, 31 из которых отобрана для окончательного обзора. Также для поиска текущих исследований использовалась электронная база ClinicalTrials.gov. **Результаты.** Применение механической подготовки кишки при операциях на толстой кишке считалось стандартом в течение многих лет. В настоящее время целесообразность механической подготовки кишки подвергается сомнению, в связи с чем рассматривается возможность полного отказа от механической подготовки кишки либо, напротив, дополнение механической подготовки кишки пероральными антибиотиками. В обзоре представлены данные литературы по влиянию применения разных подходов предоперационной подготовки кишки на непосредственные результаты. **Заключение.** Оптимальный способ предоперационной подготовки кишки остается предметом дискуссии в хирургическом сообществе. В настоящее время наиболее предпочтительным способом следует считать комбинацию МВР и пероральных антибиотиков. Однако данная область изучена недостаточно и требует проведения дополнительных рандомизированных исследований.

Ключевые слова: раневая инфекция, механическая подготовка кишки, пероральные антибиотики, инфекционные осложнения, внутрибрюшные абсцессы.

MODERN VIEW ON DIFFERENT KINDS OF BOWEL PREPARATION FOR ELECTIVE COLORECTAL SURGERY

A.Yu. Olkina¹, A.S. Petrov¹, L.L. Panaiotti¹, T.S. Lankov¹, A.M. Karachun^{1,2}

N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology, St. Petersburg, Russia¹
68, Leningradskaya Street, Pesochnyi village, 197758-St. Petersburg, Russia.

E-mail: alexpetrov@doctor.com¹

North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russia²
41, Kirochnaya Street, 191015-St. Petersburg, Russia²

Abstract

Purpose: to assess current data on the effect of different approaches to preoperative bowel preparation before elective colorectal surgery on short-term treatment outcomes. **Material and Methods.** Online system PubMed of U.S. National Library of Medicine was used to find articles with key words “mechanical bowel preparation”, “surgical site infection”, “oral antibiotics”. A total of 226 articles were reviewed. 31 articles were selected for final review. Furthermore, ClinicalTrials.gov site was used to find actual and recruiting trials. **Results.** Mechanical bowel preparation (MBP) used to be a standard procedure for a long time. Nowadays, routine use of MBP seems to be debatable. Alternative approaches, e.g. absolutely no preparation or the use of MBP in combination with oral antibiotics, are considered. Data on performing different kinds of bowel preparation is reviewed in this article. **Conclusion.** Optimal approach of preoperative bowel preparation is still questionable. Combination of mechanical bowel preparation and oral antibiotics seems to be a preferable method. However, there is not enough evidence to exclude another techniques. It's required to conduct additional randomized controlled trials.

Key words: surgical site infection, mechanical bowel preparation, oral antibiotics, infections complications, intraperitoneal abscesses.

Операции на толстой кишке характеризуются высоким риском развития осложнений, в том числе инфекционных. Из-за высокой микробной нагрузки толстокишечного содержимого манипуляции с толстой кишкой могут привести к контаминации брюшной полости или раны, что является фактором риска инфекционных осложнений в послеоперационном периоде. Поиск оптимального способа подготовки толстой кишки к операции является предметом дискуссии в течение многих лет. Для настоящего обзора использовалась электронная система американской национальной медицинской библиотеки PubMed, а также электронная база ClinicalTrials.gov. Проводился поиск статей по ключевым словам: mechanical bowel preparation, surgical site infection, oral antibiotics.

В качестве стандартной процедуры при плановых операциях на протяжении многих лет используется механическая подготовка кишки (mechanical bowel preparation – MBP). Для этого применяются два основных класса препаратов: осмотические агенты и слабительные, стимулирующие перистальтику, также возможно их сочетание. Ранее предполагалось, что MBP необходима не только для снижения объема внутрикишечного содержимого, обсемененного бактериями, но и для профилактики послеоперационных инфекционных осложнений и несостоятельности анастомоза. Однако эти идеи сложились исторически и не имели доказательной базы. В последние десятилетия обоснованность рутинного использования MBP подвергалась сомнению.

Другим вектором интересов является использование пероральных антибиотиков для деконтаминации при подготовке к операции. MBP в комбинации с пероральными антибиотиками (oral antibiotics – ОА) широко использовалась начиная с 1970-х годов XX века [1]. Однако с пересмотром взглядов на резонность использования MBP необходимость применения ОА также стала предметом исследований.

Долгое время MBP применялась рутинно, однако современные подходы зачастую требуют отказа от нее. Еще в прошлом веке проведено большое количество исследований, опровергающих преимущества MBP. Так, в 1972 г. E.S. Hughes предположил, что использовать MBP необязательно. Больные в группе с механической подготовкой кишки не имели преимуществ в сравнении с пациентами без подготовки. Отказ от MBP, по мнению автора, должен хорошо приниматься как пациентами, так и средним медицинским персоналом [2].

Позже появились данные, что MBP не только не дает преимуществ по сравнению с ведением предоперационного периода без MBP, но чаще наносит вред: приводит к структурным повреждениям стенки кишки. В ходе проспективного рандомизированного исследования (основная и контрольная группы по 25 пациентов) P. Bucher et al. продемонстрировали, что утрата слизистой оболочки стенки кишки чаще наблюдалась в группе с MBP, чем без MBP (96 и 52 % соответственно; $p < 0,001$), утрата эпителиальных клеток – у 88 и 40 % пациентов ($p < 0,01$). Воспалительные изменения чаще наблюдались в группе с MBP: инфильтрация лимфоцитами – у 48 и 12 % ($p < 0,02$), полиморфноядерными лейкоцитами – у 52 и 8 % ($p < 0,02$) [3]. Fa-Si-Oen et al. показали, что MBP делает содержимое кишки более жидким и менее управляемым, что увеличивает риск развития инфекционных осложнений и несостоятельности анастомоза [4]. I.J. Dahabreh et al. отметили, что MBP плохо переносится пациентами, может являться причиной дегидратации и электролитных нарушений [5].

Многие исследования показали, что MBP не снижает частоту развития инфекционных осложнений, несостоятельности анастомоза и других осложнений при проведении плановых операций на кишке [5–14]. С.М. Contant et al. в ходе мультицентрового рандомизированного исследования сравнили две группы пациентов, перенесших плановые операции на ободочной или прямой кишке

с формированием первичного анастомоза с МВР и без нее (670 и 684 пациента соответственно). Не показано значимых различий в частоте несостоятельности анастомоза, которая составила около 5 % в обеих группах. Частота инфекционных осложнений, длительность госпитализации, послеоперационная летальность также достоверно не различались. Обращает внимание то, что внутрибрюшные абсцессы чаще встречались в группе без МВР, чем с МВР (4,7 и 2,2 % соответственно, $p=0,001$). Тип анастомоза, объем кровопотери и статус пациента по классификации ASA признаны независимым фактором риска развития несостоятельности анастомоза. Примечательно, что лапароскопический доступ был критерием исключения [6].

Slim et al. провели метаанализ 14 рандомизированных клинических исследований, включивших 4 859 пациентов. При сравнении двух групп пациентов (с МВР и без нее) не было показано достоверных различий в частоте возникновения несостоятельности анастомозов (4,02 и 3,44 %; $p=0,46$), а также внутрибрюшных и интраабдоминальных абсцессов [7]. По результатам другого метаанализа, включившего 18 рандомизированных исследований, также не было получено убедительных данных за наличие преимуществ использования МВР [5]. Ряд исследований показал, что МВР не влияет на долгосрочную выживаемость [8, 9].

В связи с появлением данных в пользу отказа от МВР некоторые научные сообщества обновили свои рекомендации [15, 16]. Клинические рекомендации Canadian society of colon and rectal surgeons поддержали исключение МВР из предоперационной подготовки при плановой право- или левосторонней гемиколэктомии. Однако имеется недостаточное количество аргументов, поддерживающих или опровергающих использование МВР при операциях с лапароскопическим доступом, а также у пациентов перед низкой передней резекцией прямой кишки [16].

Вопрос резонности использования МВР при подготовке к операциям на прямой кишке не до конца изучен. Во многих исследованиях вмешательства на прямой кишке были критериями исключения. В настоящее время имеется мало исследований, рассматривающих исключительно такие операции. Van't Sant et al. проанализировали подгруппу рандомизированных больных, перенесших плановую низкую переднюю резекцию. У пациентов с МВР в сравнении с группой без МВР не было показано достоверных различий в частоте несостоятельности анастомоза (7,6 и 6,6 % соответственно, $p=0,803$). Также не выявлено различий в возникновении раневой инфекции ($p=0,43$). Умеренная раневая инфекция, определенная авторами как возникновение эритемы или серомы, зарегистрирована в 8 и 10 % случаев; раневая инфекция тяжелой степени, то есть, по мнению авторов,

выделение гноя, некроз или расхождение краев раны, – в 9 и 7 % наблюдений [17].

Представляют интерес данные, полученные в ходе многоцентрового рандомизированного исследования GRECCAR III, включившего 178 пациентов с верифицированным раком прямой кишки, перенесших открытую или лапароскопическую сфинктерсохраняющую резекцию прямой кишки. Пациенты были рандомизированы в 2 группы: с применением МВР и без нее. При формировании низких анастомозов выполнялась временная превентивная илеостомия. Количество осложнений в течение 30 дней после операции было достоверно выше в группе без МВР (44 и 27 %; $p=0,018$). Инфекционные осложнения также чаще встречались в группе без МВР (34 и 16 %; $p=0,005$). На основании полученных данных авторы предлагают продолжить использование МВР при операциях на прямой кишке [18].

Роль МВР при лапароскопическом доступе в колоректальной хирургии также неясна. В ходе лапароскопической операции в связи с невозможностью пальпации органа могут наблюдаться определенные сложности в визуализации первичной опухоли. В связи с этим при лапароскопии чаще требуется интраоперационное эндоскопическое исследование, для которого необходима предоперационная подготовка кишки. При нарушении режима приема препарата заполнение обильным жидким содержимым петель тонкой кишки может затруднять визуализацию при лапароскопических операциях. O. Zmora et al. в ретроспективном исследовании показали, что при правильных критериях отбора лапароскопия может безопасно выполняться без МВР [19].

Таким образом, по данным многих авторов, использование МВР не дает преимуществ в непосредственных результатах лечения, таких как частота развития инфекционных осложнений, несостоятельность анастомоза. Механическая подготовка кишки к операции также не отражается на долгосрочных результатах лечения. В связи с этим многие авторы рекомендуют отказаться от рутинного использования МВР при плановых операциях на ободочной кишке.

Эффективность применения МВР при операциях на прямой кишке и при лапароскопическом доступе изучена недостаточно. Имеется только одно рандомизированное контролируемое исследование (РКИ), прицельно рассматривающее вопрос использования МВР перед резекцией прямой кишки [18]. РКИ, сравнивающие больных с и без МВР целенаправленно при лапароскопии, в настоящее время отсутствуют. Требуется дополнительное изучение эффективности МВР при операциях на прямой кишке и при лапароскопии в рамках проспективных рандомизированных исследований.

Применение МВР в комбинации с антибиотиками широко использовалось с 1970-х гг. прошлого

века [1]. Однако в течение последнего десятилетия был проведен ряд исследований, показавших нецелесообразность использования МВР. Тем не менее имеются данные, что МВР все еще имеет смысл при плановой резекции толстой кишки, возможно, в сочетании с пероральными, слабо абсорбируемыми антибиотиками [20]. При данном подходе МВР используется для улучшения распределения антибиотика по длине кишки [21]. Нерешенным остается вопрос, нужна ли комбинация системных и пероральных антибиотиков или достаточно только системной антибиотикопрофилактики.

Стоит обратить внимание на понятие «surgical site infection» (SSI), так как во многих исследованиях оно является первичной конечной точкой. SSI – это инфекция, возникающая в течение 30 дней после операции или в течение года, если на месте операции оставлено инородное тело (имплант). Большая часть микробиоты кишки является условно-патогенной. Вскрытие просвета кишки, которое происходит во время операции на толстой кишке, может приводить к контаминации и развитию SSI. В зависимости от уровня поражения различают: поверхностную SSI (включает поражение кожи и подкожной жировой клетчатки), глубокую SSI (поражаются расположенные глубже мягкие ткани, т.е. мышцы и фасции), органную или полостную SSI (включает поражение любых органов и частей тела кроме слоев стенки раны, произведенной во время разреза) [22].

N. Anjum et al. в ходе проспективного рандомизированного исследования сравнили две группы пациентов: 95 больных получали только МВР, 95 – МВР и пероральные антибиотики. Общая частота SSI была достоверно ниже во второй группе – 27,3 и 8,42 % ($p < 0,001$). Частота поверхностной SSI, глубокой SSI, органной или полостной SSI оказалась также достоверно ниже, чем в группе сравнения. Однако данное исследование является односторонним, что является недостатком [23].

M. Chen et al. провели метаанализ 7 РКИ, включивших 1769 пациентов. 885 пациентов получали МВР в комбинации с системными и пероральными антибиотиками, 884 пациента – МВР в комбинации с системными антибиотиками. Общая SSI была достоверно ниже в первой группе – 7,2 и 16,0 % соответственно ($p < 0,00001$). Тем не менее частота органной или полостной SSI достоверно не различалась в обеих группах (4,0 и 4,8 %, $p = 0,56$) [24].

Hata et al. сравнили проспективно полученные данные двух групп рандомизированных пациентов, которым была проведена плановая лапароскопическая операция по поводу опухоли толстой или прямой кишки: 289 получали ОА и внутривенную антибиотикопрофилактику, 290 – только внутривенные антибиотики. Обе группы получали МВР. Было показано значимое снижение возникновения SSI в группе с ОА: 7,26 % по сравнению с 12,8 % в группе сравнения ($p = 0,028$) [25].

Другие исследования также отмечают преимущества применения МВР в комбинации с пероральными антибиотиками [26–28]. Так как, по данным многих ученых, использование только МВР не отражается на непосредственных и отдаленных результатах лечения, представляет интерес сравнение групп больных без подготовки, то есть без использования МВР, и больных с МВР в комбинации с пероральными антибиотиками.

R.P. Kiran et al. ретроспективно изучили данные 8 442 пациентов. Общая частота SSI была достоверно ниже в группе пациентов, получавших комбинацию МВР с пероральными антибиотиками, чем в группе без подготовки и в группе с применением только МВР, – 6,2, 14,7 и 12,1 % ($p < 0,0001$); 30-дневная послеоперационная летальность была ниже у больных с комбинацией МВР и пероральных антибиотиков – 0,3, 1,6 и 0,6 % ($p < 0,0001$) [29]. При изучении другой базы E.K. Kim et al. оценили данные 2 475 пациентов. В группе пациентов с полной подготовкой кишки (МВР + пероральные антибиотики) по сравнению с группой пациентов без подготовки отмечена меньшая частота развития органной или полостной SSI (1,61 и 2,97 %, $p = 0,0231$), поверхностной SSI (2,79 и 5,85 %, $p = 0,0002$), общей SSI (5,14 и 9,44 %, $p = 0,00001$). Также отмечен более низкий риск развития клостридиального колита (0,73 и 1,98 %, $p < 0,0064$). Интересно, что уровень SSI достоверно выше после операций с открытым доступом (9,0 %) по сравнению с лапароскопическим доступом (4,9 %, $p < 0,01$ %). Частота развития глубокой SSI не имела достоверных различий [30]. Имеются другие ретроспективные исследования, подтверждающие преимущества МВР и пероральных антибиотиков перед отсутствием подготовки [31]. Недостатком данных исследований является ретроспективный характер. Результаты РКИ, сравнивающих группу с МВР + ОА с группой без какой-либо подготовки, в настоящее время отсутствуют. Учитывая полученные данные, в современных рекомендациях по быстрому восстановлению после операции ERAS (Enhanced Recovery After Surgery) Protocol указано, что не следует использовать МВР без ОА в рутинной практике, однако поддерживается использование комбинации МВР и ОА [15].

Таким образом, имеются ретроспективные данные и результаты РКИ о том, что пациенты, получающие пероральные антибиотики в комбинации с МВР, имеют значимо меньшую вероятность развития несостоятельности анастомоза, инфекционных осложнений в послеоперационном периоде по сравнению с теми, кто получал только МВР. Поэтому комбинацию пероральных антибиотиков с МВР следует признать актуальным и перспективным методом предоперационной подготовки. Для подтверждения преимуществ данного метода необходимо проведение рандомизированных клинических исследований, сравнивающих

пациентов без подготовки с больными, которым проводилась комбинация ОА и МВР. В настоящее время ведется набор пациентов в нескольких РКИ. В исследовании COLONPREP, в которое планируется включить 1112 пациентов, рассматриваются 4 группы с плановой лапароскопической резекцией толстой кишки: МВР+ОА, только МВР, только ОА, отсутствие подготовки. Всем пациентам проводится внутривенная антибиотикопрофилактика. Первичной конечной точкой является возникновение SSI в течение 30 дней [32]. Исследование MOBILE планирует набор 415 пациентов в 2 группы: МВР+ОА и отсутствие подготовки. Первичная конечная точка – частота развития SSI [33].

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Nichols R.L., Condon R.E. Preoperative preparation of the colon. *Surg Surg Gynecol Obstet.* 1971 Feb; 132(2): 323–37.
- Hughes E.S. Asepsis in large-bowel surgery. *Ann R Coll Surg Engl.* 1972; 51: 347–356.
- Butcher P., Gervaz P., Egger J.F., Soravia C., Morel P. Morphologic alteration associated with mechanical bowel preparation before elective colorectal surgery: a randomized trial. *Dis Colon Rectum.* 2006 Jan; 49(1): 109–12. doi: 10.1007/s10350-005-0215-5.
- Fa-Si-Oen P.R., Verwaest C., Buitengeweg J., Putter H., de Waard J.W., van de Velde C.J., Roumen R.M. Effect of mechanical bowel preparation with polyethyleneglycol on bacterial contamination and wound infection in patients undergoing elective open colon surgery. *Clin Microbiol Infect.* 2005; 11: 158–160. doi: 10.1111/j.1469-0691.2004.01012.x.
- Dahabreh I.J., Steele D.W., Shah N., Trikalinos T.A. Oral mechanical bowel preparation for colorectal surgery: systematic review and meta-analysis. *Dis Colon Rectum.* 2015; 58: 698–707. doi: 10.1097/DCR.0000000000000375.
- Contant C.M., Hop W.C., van't Sant H.P., Oostvogel H.J., Smeets H.J., Stassen L.P., Neijenhuis P.A., Idenburg F.J., Dijkhuis C.M., Heres P., van Tets W.F., Gerritsen J.J., Weidema W.F. Mechanical bowel preparation for elective colorectal surgery: a multicentre randomised trial. *Lancet.* 2007 Dec 22; 370(9605): 2112–7. doi: 10.1016/S0140-6736(07)61905-9.
- Slim K., Vicaut E., Launay-Savary M.-V., Contant C., Chipponi J. Updated systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials on the role of mechanical bowel preparation before colorectal surgery. *Ann Surg.* 2009 Feb; 249(2): 203–9. doi: 10.1097/SLA.0b013e318193425a.
- Nicholson G.A., Finlay I.G., Diamant R.H., Molloy R.G., Horgan P.G., Morrison D.S. Mechanical bowel preparation does not influence outcomes following colonic cancer resection. *Br J Surg.* 2011 Jun; 98(6): 866–71. doi: 10.1002/bjs.7454.
- van't Sant H.P., Kamman A., Hop W.C., van der Heijden M., Lange J.F., Contant C.M. The influence of mechanical bowel preparation on long-term survival in patients surgically treated for colorectal cancer. *Am J Surg.* 2015 Jul; 210(1): 106–10. doi: 10.1016/j.amjsurg.2014.10.022.
- Guenaga K.F., Matos D., Wille-Jørgensen P. Mechanical bowel preparation for elective colorectal surgery. *Cochrane Database Syst Rev.* 2011 Sep 7; (9): CD001544. doi: 10.1002/14651858.CD001544.pub4.
- Cao F., Li J., Li F. Mechanical bowel preparation for elective colorectal surgery: updated systematic review and meta-analysis. *Int J Colorectal Dis.* 2012 Jun; 27(6): 803–10. doi: 10.1007/s00384-011-1361-y.
- Butcher P., Mermillod B., Gervaz P., Morel P. Mechanical bowel preparation for elective colorectal surgery: a meta-analysis. *Arch Surg.* 2004 Dec; 139(12): 1359–64. doi: 10.1001/archsurg.139.12.1359.
- Jung B., Pählman L., Nyström P.O., Nilsson E.; *Mechanical Bowel Preparation Study Group*. Multicentre randomised clinical trial of mechanical bowel preparation in elective colonic surgery. *Br J Surg.* 2007 Jun; 94(6): 689–95. doi: 10.1002/bjs.5816.
- Zmora O., Mahajna A., Bar-Zakai B., Hershko D., Shabtai M., Krausz M.M., Ayalon A. Is mechanical bowel preparation mandatory for left-sided colonic anastomosis? Results of a prospective randomised trial. *Tech Coloproctol.* 2006 Jul; 10(2): 1315. doi: 10.1007/s10151-006-0266-1.
- Gustafsson U.O., Scott M.J., Hubner M., Nygren J., Demartines N., Francis N., Rockall T.A., Young-Fadok T.M., Hill A.G., Soop M., de Boer H.D., Urman R.D., Chang G.J., Fichera A., Kessler H., Grass F., Whang E.E., Fawcett W.J., Carli F., Lobo D.N., Rollins K.E., Balfour A., Baldini G., Riedel B., Ljungqvist O. Guidelines for Perioperative Care in Elective Colorectal Surgery: Enhanced Recovery After Surgery (ERAS®) Society Recommendations: 2018. *World J Surg.* 2019 Mar; 43(3): 659–695. doi: 10.1007/s00268-018-4844-y.
- Eskicioglu C., Forbes S.S., Fenech D.S., McLeod R.S.; *Best Practice in General Surgery Committee*. Preoperative bowel preparation for patients undergoing elective colorectal surgery: a clinical practice guideline endorsed by the Canadian Society of Colon and Rectal Surgeons. *Can J Surg.* 2010; 53(6): 385–395.
- van't Sant H.P., Weidema W.F., Hop W.C., Oostvogel H.J., Contant C.M. The influence of mechanical bowel preparation in elective lower colorectal surgery. *Ann Surg.* 2010 Jan; 251(1): 59–63. doi: 10.1097/SLA.0b013e3181c0e75c.
- Bretagnol F., Panis Y., Rullier E., Rouanet P., Berdah S., Dousset B., Portier G., Benoist S., Chipponi J., Vicaut E.; *French Research Group of Rectal Cancer Surgery (GRECCAR)*. Rectal cancer surgery with or without bowel preparation: the French GRECCAR III multicenter single-blinded randomized trial. *Ann Surg.* 2010 Nov; 252(5): 863–8. doi: 10.1097/SLA.0b013e3181fd8ea9.
- Zmora O., Lebedev A., Hoffman A., Khaikin M., Munz Y., Shabtai M., Ayalon A., Rosin D. Laparoscopic colectomy without mechanical bowel preparation. *Int J Colorectal Dis.* 2006 Oct; 21(7): 683–7. doi: 10.1007/s00384-005-0044-y.
- Murray A.C., Kiran R.P. Bowel preparation: are antibiotics necessary for colorectal surgery? *Adv Surg.* 2016 Sep; 50(1): 49–66. doi: 10.1016/j.yasu.2016.03.005.
- Fry D.E. Antimicrobial bowel preparation for elective colon surgery. *Surg Infect (Larchmt).* 2016 Jun; 17(3): 269–74. doi: 10.1089/sur.2015.271.
- Mangram A.J., Horan T.C., Pearson M.L., Silver L.C., Jarvis W.R. Guideline for prevention of surgical site infection, 1999. Hospital infection control practice advisory committee. *Am J Infect Control.* 1999 Apr; 27(2): 97–132.
- Anjum N., Ren J., Wang G., Li G., Wu X., Dong H., Wu Q., Li J. A randomized control trial of preoperative oral antibiotics as adjunct therapy to systemic antibiotics for preventing surgical site infection in clean contaminated, contaminated and dirty type of colorectal surgeries. *Dis Colon Rectum.* 2017 Dec; 60(12): 12911298. doi: 10.1097/DCR.0000000000000927.
- Chen M., Song X., Chen L.Z., Lin Z.D., Zhang X.L. Comparing mechanical bowel preparation with both oral and systemic antibiotics versus mechanical bowel preparation and systemic antibiotics alone for the prevention of surgical site infection after elective colorectal surgery: a meta-analysis of randomized controlled clinical trials. *Dis Colon Rectum.* 2016 Jan; 59(1): 70–78. doi: 10.1097/DCR.0000000000000524.
- Hata H., Yamaguchi T., Hasegawa S., Nomura A., Hida K., Nishitai R., Yamanokuchi S., Yamanaka T., Sakai Y. Oral and Parenteral Versus Parenteral Antibiotic Prophylaxis in Elective Laparoscopic Colorectal Surgery (JMTO PREV 07-01): A Phase 3, Multicenter, Open-label, Randomized Trial. *Ann Surg.* 2016 Jun; 263(6): 1085–91. doi: 10.1097/SLA.0000000000001581.
- Cannon J.A., Altom L.K., Deierhoi R.J., Morris M., Richman J.S., Vick C.C., Itani K.M., Hawn M.T. Preoperative oral antibiotics reduce surgical site infection following elective colorectal resections. *Dis Colon Rectum.* 2012 Nov; 55(11): 1160–6. doi: 10.1097/DCR.0b013e3182684fac.
- Toneva G.D., Deierhoi R.J., Morris M., Richman J., Cannon J.A., Altom L.K., Hawn M.T. Oral antibiotic bowel preparation reduces length of stay and readmissions after colorectal surgery. *J Am Coll Surg.* 2013 Apr; 216(4): 756–62; discussion 762–3. doi: 10.1016/j.jamcollsurg.2012.12.039.
- Moghadamyeghaneh Z., Hanna M.H., Carmichael J.C., Mills S.D., Pigazzi A., Nguyen N.T., Stamos M.J. Nationwide analysis of outcomes of bowel preparation in colon surgery. *J Am Coll Surg.* 2015 May; 220(5): 912–20. doi: 10.1016/j.jamcollsurg.2015.02.008.

29. Kiran R.P., Murray A.C., Chiuzan C., Estrada D., Forde K. Combined preoperative mechanical bowel preparation with oral antibiotics significantly reduces surgical site infection, anastomotic leak, and ileus after colorectal surgery. *Ann Surg.* 2015 Sep; 262(3): 416–25. doi: 10.1097/SLA.0000000000001416.

30. Kim E.K., Sheetz K.H., Bonn J., DeRoo S., Lee C., Stein I., Zarinsefat A., Cai S., Campbell D.A.Jr., Englesbe M.J. A statewide colectomy experience: the role of full bowel preparation in preventing surgical site infection. *Ann Surg.* 2014 Feb; 259(2): 310–4. doi: 10.1097/SLA.0b013e3182a62643.

31. Scarborough J.E., Mantyh C.R., Sun Z., Migaly J. Combined mechanical and oral antibiotic bowel preparation reduces incisional surgical

site infection and anastomotic leak rates after elective colorectal resection: An analysis of colectomy- targeted ACS NSQIP. *Ann Surg.* 2015 Aug; 262(2): 331–7. doi: 10.1097/SLA.0000000000001041.

32. *Mechanical Bowel Preparation and Oral Antibiotics Before Colon Cancer Surgery (COLONPREP)* [Internet]. URL: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03475680> (cited 2018 Nov 21).

33. *MOBILE Trial. Mechanical and Oral Antibiotic Bowel Preparation Versus no Bowel preparation for eLective Colectomy a Multicenter, Prospective, Randomized, Controlled Trial* [Internet]. URL: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02652637> (cited 2018 Nov 21).

Поступила/Received 19.03.19
Принята в печать/Accepted 30.04.19

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Олькина Александра Юрьевна, клинический ординатор, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава РФ (г. Санкт-Петербург, Россия). ORCID: 0000-0002-1811-6226.

Петров Алексей Сергеевич, кандидат медицинских наук, врач-онколог хирургического отделения абдоминальной онкологии, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава РФ (г. Санкт-Петербург, Россия). ORCID: 0000-0001-9630-9464.

Панайотти Лидия Леонидовна, аспирант, врач-онколог хирургического отделения абдоминальной онкологии, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава РФ (г. Санкт-Петербург, Россия). ORCID: 0000-0003-1233-7973.

Ланков Тимур Сергеевич, клинический ординатор, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава РФ (г. Санкт-Петербург, Россия). ORCID: 0000-0001-9234-9936.

Карачун Алексей Михайлович, доктор медицинских наук, заведующий хирургическим отделением абдоминальной онкологии, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава РФ; профессор кафедры онкологии, Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова (г. Санкт-Петербург, Россия). SPIN-код: 6088-9313. ORCID: 0000-0001-6641-7229.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы объявляют, что у них нет конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Aleksandra Yu. Olkina, MD, Abdominal Surgery Department, N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Healthcare of Russian Federation (Saint Petersburg, Russia). ORCID: 0000-0002-1811-6226.

Aleksei S. Petrov, MD, PhD, Abdominal Surgery Department, N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Healthcare of Russian Federation (Saint Petersburg, Russia). ORCID: 0000-0001-9630-9464.

Lidiia L. Panaiotti, MD, Abdominal Surgery Department, N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Healthcare of Russian Federation (Saint Petersburg, Russia). ORCID: 0000-0003-1233-7973.

Timur S. Lankov, MD, Abdominal Surgery Department, N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Healthcare of Russian Federation (Saint Petersburg, Russia). ORCID: 0000-0001-9234-9936.

Aleksei M. Karachun, MD, PhD, Abdominal Surgery Department, N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Healthcare of Russian Federation (Saint Petersburg, Russia). ORCID: 0000-0001-6641-7229.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

DOI: 10.21294/1814-4861-2019-18-3-103-108

УДК: 618.19-006.6-08-036.8:615.28:575.113

Для цитирования: Цыганов М.М., Тарабановская Н.А., Дерюшева И.В., Ибрагимова М.К., Казанцева П.В., Певзнер А.М., Слонимская Е.М., Литвяков Н.В. Ответ на неоадьювантную химиотерапию с включением препаратов платины у больной раком молочной железы с делецией гена *BRCA1* в опухоли. Сибирский онкологический журнал. 2019; 18(3): 103–108. – doi: 10.21294/1814-4861-2019-18-3-103-108.

For citation: Tsyganov M.M., Tarabanovskaya N.A., Deryusheva I.V., Ibragimova M.K., Kazantseva P.V., Pevzner A.M., Slonimskaya E.M., Litviakov N.V. Response to neoadjuvant chemotherapy with platinum-based drugs in breast cancer patients with *BRCA1* deletion in tumor. Siberian Journal of Oncology. 2019; 18(3): 103–108. – doi: 10.21294/1814-4861-2019-18-3-103-108.

ОТВЕТ НА НЕОАДЬЮВАНТНУЮ ХИМИОТЕРАПИЮ С ВКЛЮЧЕНИЕМ ПРЕПАРАТОВ ПЛАТИНЫ У БОЛЬНОЙ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ С ДЕЛЕЦИЕЙ ГЕНА *BRCA1* В ОПУХОЛИ

М.М. Цыганов¹, Н.А. Тарабановская¹, И.В. Дерюшева¹, М.К. Ибрагимова^{1,2},
П.В. Казанцева^{1,2}, А.М. Певзнер^{1,2}, Е.М. Слонимская^{1,3}, Н.В. Литвяков^{1,2}

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский
медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия¹

Россия, г. Томск, 634009, пер. Кооперативный, 5.

E-mail: TsyganovMM@yandex.ru¹

Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск, Россия²

Россия, г. Томск, 634050, пр. Ленина, 36. E-mail: imk1805@yandex.ru²

Сибирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской
Федерации, г. Томск, Россия³

Россия, г. Томск, 634050, Московский тракт, 2. E-mail: slonimskaya@rambler.ru³

Аннотация

Актуальность. В настоящее время наличие герминальной мутации *BRCA1* 5382insC у больных раком молочной железы является одним из определяющих факторов для назначения препаратов платины, что связано с высокой эффективностью лечения. Но данный вид мутации обнаруживается не более чем у 10 % больных, что весьма ограничивает возможность назначения препаратов платины. Различные соматические изменения гена *BRCA1* в опухоли молочной железы, ведущие к снижению его активности, в частности делеции данного гена, могут играть важную роль в чувствительности опухоли к препаратам платины. **Описание клинического случая.** Представлено клиническое наблюдение пациентки с диагнозом рак молочной железы, в котором была обнаружена делеция гена *BRCA1*. В результате лечения у пациентки наблюдается полная морфологическая регрессия на предоперационную химиотерапию по схеме СР. **Заключение.** Частота герминальной мутации гена *BRCA1* не превышает 10 %, при этом частота делеций данного гена может варьировать от 30 до 45 %, что расширяет показания для применения препаратов платины у пациентов, отрицательных по герминальной мутации, и позволяет добиться высоких показателей выживаемости и частоты полной морфологической регрессии и.

Ключевые слова: рак молочной железы, мутация *BRCA1* в опухоли, микроматричный анализ, цифровая капельная ПЦР, неоадьювантная химиотерапия, персонализированная медицина.

RESPONSE TO NEOADYAVANT CHEMOTHERAPY WITH PLATINUM-BASED DRUGS IN BREAST CANCER PATIENTS WITH *BRCA1* DELETION IN TUMOR

M.M. Tsyganov¹, N.A. Tarabanovskaya¹, I.V. Deryusheva¹,
M.K. Ibragimova^{1,2}, P.V. Kazantseva^{1,2}, A.M. Pevzner^{1,2},
E.M. Slonimskaya^{1,3}, N.V. Litviakov^{1,2}

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia¹

5, Kooperativny Street, 634050-Tomsk, Russia. E-mail: TsyganovMM@yandex.ru¹

The National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia²

36, Prospekt Lenina, 634050-Tomsk, Russia. E-mail: imk1805@yandex.ru²

Siberian State Medical University, Tomsk, Russia³

2, Moskovsky trakt, 634050-Tomsk, Russia. E-mail: slonimskaya@rambler.ru³

Abstract

Currently, the presence of the germinal mutation *BRCA1* 5382insC in breast cancer patients is one of the determining factors for prescribing platinum-based drugs. However, this type of mutation is found in no more than 10 % of patients, thus limiting the feasibility of administering platinum-based drugs. Various somatic changes in the *BRCA1* gene in breast tumors, in particular the deletions of this gene, can play an important role in the tumor sensitivity to platinum drugs. **Case description.** We present the case of a 42-year-old woman diagnosed with breast cancer. The deletion of the *BRCA1* gene was detected in the tumor. The patient had a complete response to preoperative chemotherapy according to the CP regimen. **Conclusion.** The frequency of the germline mutation of the *BRCA1* gene does not exceed 10 %, and the deletion frequency of this gene can vary from 30 to 45 %, thus greatly increasing the feasibility of using platinum-based drugs in mutation-negative patients to achieve complete pathologic response and high survival rates.

Key words: breast cancer, *BRCA1*, microarray analysis, digital drop PCR, neoadjuvant chemotherapy, personalized treatment.

Введение

Ген *BRCA1* расположен на длинном плече 17 хромосомы (17q21.31) и кодирует ядерный фосфобелок, который участвует в репарации ДНК в клетке и в регуляции клеточного цикла (PubMed; OMIM 113705). Это первый ген, для которого было определено явное участие в этиологии семейного рака молочной железы (РМЖ) [1]. Герминальная мутация гена *BRCA1* также увеличивает риск развития рака шейки и тела матки, поджелудочной железы и толстой кишки [2]. Герминальная мутация *BRCA1* 5382insC в 20-м экзоне выявлена в 1994 г. и была показана ее сопряженность с высоким риском развития наследственного рака молочной железы и яичников [3]. Это наиболее распространенная мутация гена *BRCA1*, которая составляет 80 % мутаций в гене *BRCA1* и 60 % от общего объема мутаций в генах *BRCA1/2* для славянского населения [4]. При этом показано, что больные РМЖ с данной мутацией *BRCA1* особенно чувствительны к неoadъювантной химиотерапии (НХТ) с использованием препаратов платины [5, 6]. Это объясняется тем, что продукт гена-супрессора *BRCA1* входит в репарационный комплекс, обладающий высокой чувствительностью к повреждению ДНК. При возникновении генетических дефектов в

работе белков комплекса нарушается процесс репарации ДНК и мутантные клетки, подвергающиеся действию генотоксических агентов (таких как препараты платины), как правило, погибают [7, 8]. Предполагается, что различные соматические изменения гена *BRCA1* в опухоли молочной железы, которые оказывают влияние на его активность и, в частности, на снижение/повышение экспрессии данного гена, аберрации числа копий (copy number aberration – CNA), делеции и дупликации, точковые мутации и др., могут играть важную роль в чувствительности опухоли к препаратам платины, что дает возможность для их назначения на предоперационном этапе лечения [9].

Приводим клинический случай персонализированной неoadъювантной химиотерапии у больной РМЖ, при выборе схемы НХТ в качестве предиктивного маркера определяли мутации гена *BRCA1* в опухоли.

Проведенная работа соответствует этическим стандартам, разработанным в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации»,

USA) со случайными гексануклеотидами. Уровень экспрессии гена *BRCA1* (PubMed NM_007294.3) оценивали при помощи обратнo-транскриптазной количественной ПЦР в режиме реального времени (RT-qPCR) с оригинальными праймерами и зондами по технологии TaqMan (Forward primer 5'-acagctgtgtgtgtctctgtg-3'; Reverse primer 5'-cattgtcctctgtccaggcatc-3'; Probe FAM-5'-catcatcacccttggcacagggtgt-3'-BHQ1; Amplicon 107 bp) на амплификаторе Rotor-Gene-6000 (Corbett Research, Australia). ПЦР ставился в трех репликах в объеме 15 мкл, содержащем 250 мкМ dNTPs (Sibenzyme, Россия), 300 нМ прямого и обратного праймеров, 200 нМ зонда, 2,5 мМ MgCl₂, 19 SE buffer (67 мМ Tris-HCl pH 8,8 при 25 °C, 16,6 мМ (NH₄)₂SO₄, 0,01 % Tween-20), 2,5 ед HotStart Taq polymerase (Sibenzyme, Россия) и 50 нг кДНК. Двухшаговая программа амплификации включала 1 цикл – 94 °C, 10 мин – предварительная денатурация; 40 циклов – 1 шаг 94 °C, 10 сек и 2 шаг 20 сек – при температуре 60 °C. В качестве гена-рефери использовались два гена-рефери: *GAPDH* (glyceraldehydes-3-phosphatedehydrogenase, PubMed NM_001256799.2) (Forward primer 5'-gccagccgagccacatc-3'; Reverse primer 5'-ggcaacaatatccactttaccaga-3'; Probe FAM-5'-cgcccaatagacccaatccg-3'-BHQ1; Amplicon 124 bp) и *ACTB* (actin beta, PubMed NM_001101.4) (Forward primer 5'-gagaagatgacccagatcatgtt-3'; Reverse primer 5'-atagcacagcctggatagcaa-3'; Probe FAM-5'-agaccttcaacacccagccat-3'-BHQ1; Amplicon 73 bp), уровень экспрессии гена *BRCA1* нормализовался по отношению к экспрессии генов-рефери и измерялся в условных единицах. Относительная экспрессия оценивалась с помощью метода Pfaffl [10]. В качестве калибратора использовалась пулированная от 20 пациентов РНК, выделенная из морфологически нормальной ткани молочной железы, полученной во время операции от больных, которым не проводилась НХТ.

Для изучения CNA гена *BRCA1* в опухоли проводили микроматричный анализ на ДНК-чипах высокой плотности фирмы Affymetrix (USA) CytoScan™ HD Array. В качестве проверки результатов микроматричного исследования была использована цифровая ПЦР (Droplet Digital PCR – Система ddPCR QX200, Bio-Rad, USA) (рис. 1). С использованием программного обеспечения QuantaSoft™ 1.7.4.0917 осуществлялся подсчет капель, дающих флуоресцентные положительные и отрицательные сигналы для расчета концентрации целевой ДНК. CNA в опухолевой ткани определялось по отношению к референсным локусам генома человека (гены *SLC22A17* (NM_001289050.1), *KPNA1* (NM_002264.3), *CASR* (NM_000388.3)) по формуле

$$CNV = (A/B) \times N_B,$$

где *A* – концентрация молекул-мишеней; *B* – концентрация референсных молекул; *N_B* – число копий референсных локусов в геноме.

В результате молекулярно-генетического исследования выявлена делеция гена *BRCA1* в опухоли молочной железы. Подтверждением этому явился низкий уровень экспрессии данного гена – 0,686.

Исходя из полученных данных была персонализированно назначена схема неоадьювантной химиотерапии СР (циклофосфан, цисплатин). Проведено 6 курсов НХТ (Циклофосфан – 1080 мг / Цисплатин 135 мг). Осложнения неоадьювантной химиотерапии: тошнота/рвота II степени, слабость I степени, печеночная токсичность. При оценке эффект лечения по данным УЗИ – полная морфологическая регрессия. 03.11.2017 проведена операция в объеме секторальной резекции левой молочной железы с аксиллярной лимфаденэктомией и интраоперационной лучевой терапией ложа опухоли в дозе 10 Гр. Гистологическое исследование (№№ 28641–64/17): инвазивный дольковый рак без метастатического поражения 15 лимфоузлов. Границы резекции без опухолевой ткани, лечебный патоморфоз I степени по RCB и IV степени по Лавниковой – полная морфологическая регрессия.

В дальнейшем больной назначена послеоперационная гормонотерапия ингибиторами ароматазы (с учетом состояния менопаузы, данных УЗИ и гормонального фона) в течение 5 лет, таргетная терапия трастузумабом в течение года. Кроме того, проведен курс дистанционной лучевой терапии на оставшуюся часть молочной железы в стандартном режиме в дозе 2 Гр до СОД 46 Гр (с учетом интраоперационной лучевой терапии 10 Гр на ложе удаленной опухоли).

Общий срок наблюдения за больной составил 12 мес. Данных о прогрессировании заболевания не получено.

Заключение

Частота герминальной мутации гена *BRCA1* не превышает 10 %, при этом частота делеций данного гена может варьировать от 30 до 45 %, что значительно расширяет возможность применения препаратов платины у пациентов, отрицательных по герминальной мутации, в отношении достижения полной морфологической регрессии и высоких показателей выживаемости. Определение делеции гена *BRCA1* в опухоли молочной железы при помощи микроматричного исследования является высокотехнологичным и точным методом, но, к сожалению, дорогостоящим. В качестве хорошей альтернативы может использоваться система цифровой капельной ПЦР, что в значительной степени упростит и удешевит проведение данного молекулярно-генетического анализа.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Johnson N., Fletcher O., Palles C., Rudd M., Webb E., Sellick G., dos Santos Silva I., McCormack V., Gibson L., Fraser A., Leonard A., Gilham C., Tavtigian S.V., Ashworth A., Houlston R., Peto J. Counting potentially functional variants in BRCA1, BRCA2 and ATM predicts breast cancer susceptibility. *Hum Mol Genet.* 2007 May 1; 16(9): 1051–7. doi: 10.1093/hmg/ddm050.
2. Kadouri L., Hubert A., Rotenberg Y., Hamburger T., Sagi M., Nechushtan C., Abeliovich D., Peretz T. Cancer risks in carriers of the BRCA1/2 Ashkenazi founder mutations. *J Med Genet.* 2007 Jul; 44(7): 467–71. doi: 10.1136/jmg.2006.048173.
3. Simard J., Tonin P., Durocher F., Morgan K., Rommens J., Gingras S., Samson C., Leblanc J.F., Bélanger C., Dion F. Common origins of BRCA1 mutations in Canadian breast and ovarian cancer families. *Nat Genet.* 1994 Dec; 8(4): 392–8. doi: 10.1038/ng1294-392.
4. Palermo E.I., Alemar B., Schüler-Faccini L., Hainaut P., Moreira-Filho C.A., Ewald I.P., Santos P.K.D., Ribeiro P.L.L., Oliveira Netto C.B.D., Kelm F.L.C. Screening for germline BRCA1, BRCA2, TP53 and CHEK2 mutations in families at-risk for hereditary breast cancer identified in a population-based study from Southern Brazil. *Genet Mol Biol.* 2016 May 24; 39(2): 210–22. doi: 10.1590/1678-4685-GMB-2014-0363.
5. Byrski T., Huzarski T., Dent R., Gronwald J., Zuziak D., Cybulski C., Kladny J., Gorski B., Lubinski J., Narod S. Response to neoadjuvant therapy with cisplatin in BRCA1-positive breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat.* 2009 May; 115(2): 359–63. doi: 10.1007/s10549-008-0128-9.
6. Byrski T., Huzarski T., Dent R., Marczyk E., Jasiowka M., Gronwald J., Jakubowicz J., Cybulski C., Wisniewski R., Godlewski D., Lubinski J., Narod S.A. Pathologic complete response to neoadjuvant cisplatin in BRCA1-positive breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat.* 2014 Sep; 147(2): 401–5. doi: 10.1007/s10549-014-3100-x.
7. Гафтон И.Г., Имянитов Е.Н., Семглазов В.В., Мацко Д.Е., Гафтон Г.И., Семилетова Ю.В., Иевлева А.Г., Михнин А.Е., Лемехов В.Г. Экспрессия гена BRCA1 при нейроэндокринных опухолях желудочно-кишечного тракта. *Сибирский онкологический журнал.* 2014; 16(4): 11–15. [Gafton I.G., Imyanitov E.N., Semiglasov V.V., Matsko D.E., Gafton G.I., Semiletova Yu.V., Ievleva A.G., Mikhnin A.E., Lemekhov V.G. BRCA1 gene expression in endocrine tumors of the gastrointestinal tract. *Siberian Journal of Oncology.* 2014; 16(4): 11–15. (in Russian)].
8. Imyanitov E.N., Moiseyenko V.M. Drug therapy for hereditary cancers. *Hered Cancer Clin Pract.* 2011 Aug 6; 9(1): 5. doi: 10.1186/1897-4287-9-5.
9. Tsyganov M., Ibragimova M., Deryusheva I., Slonimskaya E., Litviakov N. Expression of the BRCA1 gene in a breast tumor: Correlation with the effect of neoadjuvant chemotherapy. *AIP Conference Proceedings.* 2017; 1882(1): 1–5.
10. Pfaffl M.W. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic acids research.* 2001; 29(9): e45e45.

Поступила/Received 21.08.18
Принята в печать/Accepted 17.09.19

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Цыганов Матвей Михайлович, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории онковирусологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). E-mail: TsyganovMM@yandex.ru. SPIN-код: 1253-0240. Researcher ID (WOS): A-7212-2014. Author ID (Scopus): 55366377400. ORCID: 0000-0001-7419-4512.

Тарабановская Наталья Анатольевна, кандидат медицинских наук, научный сотрудник отделения общей онкологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). E-mail: k_rose@mail.ru. SPIN-код: 7481-2159. Researcher ID (WOS): R-5596-2017. Author ID (Scopus): 56324452500. ORCID: 0000-0003-1630-4466.

Дерюшева Ирина Валерьевна, младший научный сотрудник лаборатории онковирусологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). E-mail: Irkin_097@mail.ru. SPIN-код: 5560-6131. Researcher ID (WOS): Q-5607-2017. Author ID (Scopus): 57194535404. ORCID: 0000-0002-9568-3371.

Ибрагимова Марина Константиновна, младший научный сотрудник лаборатории онковирусологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). E-mail: imk1805@yandex.ru. SPIN-код: 2340-1628. Researcher ID (WOS): C-8609-2012. Author ID (Scopus): 57130579200. ORCID: 0000-0001-8815-2786.

Казанцева Полина Вадимовна, кандидат медицинских наук, младший научный сотрудник отделения общей онкологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). E-mail: polydoctor@yandex.ru. SPIN-код: 7881-6259. Researcher ID (WOS): O-8997-2017. Author ID (Scopus): 57131104800. ORCID: 0000-0002-2953-0350.

Певзнер Алина Михайловна, лаборант-исследователь лаборатории онковирусологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). E-mail: alin.pevzner@gmail.com.

Слонимская Елена Михайловна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая отделением общей онкологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). E-mail: slonimskaya@rambler.ru. SPIN-код: 7763-6417. Researcher ID (WOS): C-7405-2012. Author ID (Scopus): 6603658443. ORCID: 0000-0003-4382-5697.

Литвяков Николай Васильевич, доктор медицинских наук, заведующий лабораторией онковирусологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). E-mail: nvlitv72@yandex.ru. SPIN-код: 2546-0181. Researcher ID (WOS): C-3263-2012. Author ID (Scopus): 6506850698. ORCID: 0000-0002-0714-8927.

Финансирование

Работа поддержана грантом РНФ № 17-15-01203 «Метастатические клоны опухоли молочной железы».

Конфликт интересов

Авторы объявляют, что у них нет конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Matvey M. Tsyganov, PhD, Researcher, Laboratory of Oncovirology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). E-mail: TsyganovMM@yandex.ru. Researcher ID (WOS): A-7212-2014. Author ID (Scopus): 55366377400. ORCID: 0000-0001-7419-4512.

Natalia A. Tarabanovskaya, MD, PhD, Junior Researcher, Department of General Oncology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): R-5596-2017. Author ID (Scopus): 56324452500. ORCID: 0000-0003-1630-4466.

Irina V. Deryusheva, Junior Researcher, Laboratory of Oncovirology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): Q-5607-2017. Author ID (Scopus): 57194535404. ORCID: 0000-0002-9568-3371.

Marina K. Ibragimova, Junior Researcher, Laboratory of Oncovirology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): C-8609-2012. Author ID (Scopus): 57130579200. ORCID: 0000-0001-8815-2786.

Polina V. Kazantseva, MD, PhD, Junior Researcher, Department of General Oncology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): O-8997-2017. Author ID (Scopus): 57131104800. ORCID: 0000-0002-2953-0350.

Alina M. Pevsner, Laboratory Assistant Researcher, Laboratory of Oncovirology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia).

Elena M. Slonimskaya, MD, DSc, Professor, Head of the Department of General Oncology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): C-7405-2012. Author ID (Scopus): 6603658443. ORCID: 0000-0003-4382-5697.

Nikolay V. Litviakov, DSc, Head of the Laboratory Oncovirology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): C-3263-2012. Author ID (Scopus): 6506850698. ORCID: 0000-0002-0714-8927.

Funding

The study is funded by Russian Science Foundation grants (projects 17-15-01203).

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

Для цитирования: Адлейба С.Т., Когония Л.М., Гуревич Л.Е., Сидоров А.В. Клинический опыт эффективного использования таргетной терапии у пациентки с диссеминированной формой гастроинтестинальной стромальной опухоли. Сибирский онкологический журнал. 2019; 18(3): 109–113. – doi: 10.21294/1814-4861-2019-18-3-109-113.

For citation: Adleiba S.T., Kogonija L.M., Gurevich L.E., Sidorov A.V. Clinical experience in using targeted therapy for disseminated gastrointestinal stromal tumors. Siberian Journal of Oncology. 2019; 18(3): 109–113. – doi: 10.21294/1814-4861-2019-18-3-109-113.

КЛИНИЧЕСКИЙ ОПЫТ ЭФФЕКТИВНОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ТАРГЕТНОЙ ТЕРАПИИ У ПАЦИЕНТКИ С ДИССЕМНИРОВАННОЙ ФОРМОЙ ГАСТРОИНТЕСТИНАЛЬНОЙ СТРОМАЛЬНОЙ ОПУХОЛИ

С.Т. Адлейба¹, Л.М. Когония², Л.Е. Гуревич², А.В. Сидоров¹

ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава России,
г. Ярославль, Россия¹

Россия, г. Ярославль, 150000, ул. Революционная, 5. E-mail: bruvs@mail.ru¹

Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского,
г. Москва, Россия²

Россия, г. Москва, 129110, ул. Щепкина, 61/2²

Аннотация

Представлен собственный опыт эффективного лечения пациентки с диссеминированной формой гастроинтестинальной стромальной опухоли (ГИСО) препаратом из группы ингибиторов тирозинкиназ (иматинибом). **Актуальность.** Терапия гастроинтестинальных стромальных опухолей представляет собой сложную проблему современной онкологии. С 2001 г. в лечении больных ГИСО произошел прорыв за счет успешного применения таргетного препарата из группы ингибиторов тирозинкиназ – иматиниба, который эффективен в первой линии неоперабельных и/или метастатических ГИСО, а также используется с целью неoadъювантной, адъювантной терапии локализованных форм ГИСО. Генно-мутационный анализ, используемый для корректного назначения таргетной терапии, свидетельствует о нецелесообразности назначения иматиниба у пациентов с мутацией в гене сукцинатдегидрогеназы и мутацией D842V в гене тромбоцитарного фактора роста. Однако в разных субъектах РФ подобная диагностическая процедура не всегда может быть выполнена по ряду технических причин. Отсутствие ответа на терапию и, как следствие, прогрессирование заболевания могут быть связаны со снижением терапевтической концентрации иматиниба в плазме крови. Определение концентрации активных метаболитов иматиниба в сыворотке крови позволяет своевременно выявить потенциальные причины недостаточного ответа на терапию и проводить индивидуальную коррекцию дозы препарата. **Материал и методы.** Для выяснения значимости корреляции между повышением/понижением дозы иматиниба и достижением терапевтического ответа использовался лабораторный метод высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения концентрации иматиниба в сыворотке крови. **Заключение.** Определение пониженной концентрации активных метаболитов иматиниба в плазме крови методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с детекцией метода tandemной масс-спектрометрии у пациентки с диссеминированной формой ГИСО позволило провести коррекцию дозы препарата и достичь положительного эффекта с длительностью 51 мес (с момента повышения дозы). Метод высокоэффективной жидкостной хроматографии с детекцией метода tandemной масс-спектрометрии не является абсолютной альтернативой генно-мутационному анализу, однако он может эффективно использоваться для коррекции дозы иматиниба пациентам с ГИСО.

Ключевые слова: гастроинтестинальные стромальные опухоли, химиотерапия, таргетная терапия, ингибиторы тирозинкиназ, иматиниб, старческий возраст, хроматография.

CLINICAL EXPERIENCE IN USING TARGETED THERAPY FOR DISSEMINATED GASTROINTESTINAL STROMAL TUMORS

S.T. Adlejba¹, L.M. Kogonija², L.E. Gurevich², A.V. Sidorov¹

Yaroslavl State Medical University, Yaroslavl, Russia¹

5, Revolyutsionnaya Street, 150000-Yaroslavl, Russia. E-mail: bruv@mail.ru¹

Moscow Regional Research and Clinical Institute, Moscow, Russia²

61/2, Shchepkina Street, 129110-Moscow, Russia²

Abstract

We report a case of disseminated gastrointestinal stromal tumor effectively treated with imatinib, a selective tyrosine kinase inhibitor. **Background.** Treatment of gastrointestinal stromal tumors (GIST) still remains a clinical challenge. Since 2001 a breakthrough has occurred in the treatment of patients with GIST due to a successful use of imatinib, the targeted drug from the group of tyrosine kinase inhibitors, which is effective in the first line of inoperable and/or metastatic GIST, and is also used for neoadjuvant and adjuvant therapy for localized GIST. Genetic mutational analysis used for the correct prescription of targeted therapy suggests that it is inappropriate to administer imatinib in patients with a mutation in the succinate dehydrogenase gene and D842V mutation in the platelet-derived growth factor gene. However, in different regions of the Russian Federation, such diagnostic procedure may not always be available for a number of technical reasons. The lack of response to therapy and, consequently, the progression of the disease, may be associated with a decrease in the therapeutic concentration of imatinib in the blood plasma. Determination of the concentration of active metabolites of imatinib in the serum allows timely identification of potential causes of insufficient response to therapy and individual correction of the dose of the drug. **Material and Methods.** To assess a significance of the correlation between increasing/decreasing the dose of imatinib and achieving a therapeutic response, we used a laboratory high-performance liquid chromatography method to determine the concentration of imatinib in serum. **Conclusion.** Determination of a decreased concentration of active metabolites of imatinib in plasma by high-performance liquid chromatography with detection of tandem mass spectrometry method in a patient with disseminated GIST allowed us to correct the dose of the drug and achieve a positive effect with a duration of 51 months (since the dose was increased). The method of high-performance liquid chromatography with the detection of the method of tandem mass spectrometry is not an absolute alternative to gene mutation analysis, however, it can be effectively used for correction of the dose of imatinib in patients with GIST.

Key words: gastrointestinal stromal tumors, chemotherapy, targeted therapy, tyrosine kinase inhibitors, imatinib, old age, chromatography.

Актуальность

Терапия гастроинтестинальных стромальных опухолей (ГИСО) до сих пор представляет собой сложную проблему современной онкологии [1]. Применение химиотерапии не дало удовлетворительных результатов ни в монорежиме (дакарбазин или доксорубин), ни в комбинированных схемах (MAID – месна, доксорубин, ифосфамид, дакарбазин): по данным разных авторов, частота объективных ответов составляла 0–15 %, медиана общей выживаемости – 8–9 мес [2]. С 2001 г. в лечении больных ГИСО произошел прорыв за счет успешного применения таргетного препарата из группы ингибиторов тирозинкиназ – иматиниба [3, 4], который эффективен в первой линии неоперабельных и/или метастатических форм, а также используется при неoadъювантной, адъювантной терапии локализованных ГИСО [5, 6]. Генно-мутационный анализ, используемый для корректного назначения таргетной терапии, свидетельствует о нецелесообразности назначения иматиниба пациентам с мутацией в гене сукцинатдегидрогеназы и мутаци-

ей D842V в гене тромбоцитарного фактора роста [7, 8]. Однако в разных субъектах РФ подобная диагностическая процедура не всегда может быть доступна по ряду технических причин. Отсутствие ответа на терапию и, как следствие, прогрессирование заболевания могут быть связаны со снижением терапевтической концентрации иматиниба в плазме крови.

Материал и методы

С целью выяснения значимости корреляции между повышением/понижением дозы иматиниба и достижением терапевтического ответа мы использовали лабораторный метод высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения концентрации иматиниба в сыворотке крови. В качестве примера индивидуализации терапии иматинибом приводим собственное наблюдение за пациенткой с диссеминированной формой ГИСО желудка.

Пациентка считает себя больной с августа 2012 г., когда появились первые жалобы на сла-

бость, снижение веса на 8 кг за 4 мес, умеренные боли в эпигастральной области. За медицинской помощью не обращалась. В ноябре 2012 г. была госпитализирована в ГКБ № 62 г. Москвы, где при ЭГДС в верхней трети желудка по передней стенке была выявлена подслизистая опухоль 4 см в диаметре с изъязвлением 12×10 мм, в дне которого фибрин, фиксированный сгусток, взята биопсия. Гистологическое заключение (№№ 14228–39): опухоль, представлена пучками и тяжами клеток с овальными либо вытянутыми ядрами, клетки образуют ритмичные структуры, располагающиеся в бесклеточной гомогенной массе. Морфологическая картина соответствует гастроинтестинальной стромальной опухоли. 19.11.12 больной была произведена гастрэктомия. Гистологическое заключение и ИГХ-исследование (№ 2837) операционного материала: злокачественная ГИСО желудка веретенноклеточного строения, CD117+++, CD34+, виментин–, Ki67–12 %, число митозов–6 в 50 полях зрения.

Через 3 мес после операции состояние пациентки ухудшилось, появились боли в правой половине живота, беспокоила тошнота, слабость, ECOG 1–2. В связи с возникшими жалобами пациентка обратилась к районному онкологу, при контрольном УЗИ органов брюшной полости (06.02.13) были выявлены метастазы в печени (наибольший очаг 3 см в диаметре), по поводу чего начата терапия иматинибом в дозе 400 мг в сут. Через 1 мес после начала приёма иматиниба была определена концентрация иматиниба в плазме крови методом высокоэффективной хроматографии с tandemной масс-спектрометрией (первичный забор 08.03.13–889 нг/мл, ниже нормы). На фоне проводимой терапии имело место субъективное улучшение состояния пациентки, однако при контрольной КТ (11.03.13) установлено прогрессирование заболевания в виде увеличения очага в печени с 3 до 4 см в диаметре (рис. 1). Учитывая прогрессирование процесса на фоне приема иматиниба в дозе 400 мг, а также выявленную первичную пониженную концентрацию иматиниба (889 нг/мл в сыворотке крови), решено увеличить дозу препарата до 600 мг в сут (11.03.13).

Через 2 нед после начала приема препарата в эскалированной дозе (600 мг/сутки) самочувствие пациентки улучшилось: исчезла тошнота, уменьшились боли в правой половине живота. При повторном определении концентрации иматиниба через 1 мес (02.04.13) после повышения дозы до 600 мг этот показатель составил 1209 нг/мл (рис. 1), что коррелировало с улучшением субъективного состояния пациентки. Следующее контрольное КТ органов брюшной полости (11.02.14) зафиксировало уменьшение размеров метастатического очага с 4 см до 0,8 см в диаметре (рис. 2).

С 11.03.13 по настоящее время пациентка ежедневно принимает иматиниб в дозе 600 мг в сут

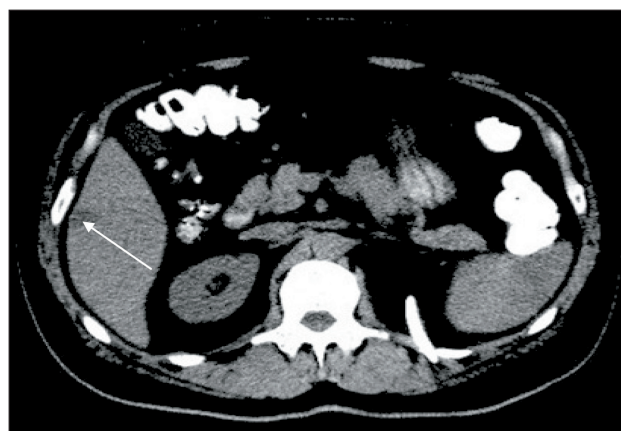


Рис. 1. КТ органов брюшной полости пациентки с диссеминированной формой ГИСО. Прогрессирование при таргетной терапии иматинибом в стандартной суточной дозе 400 мг

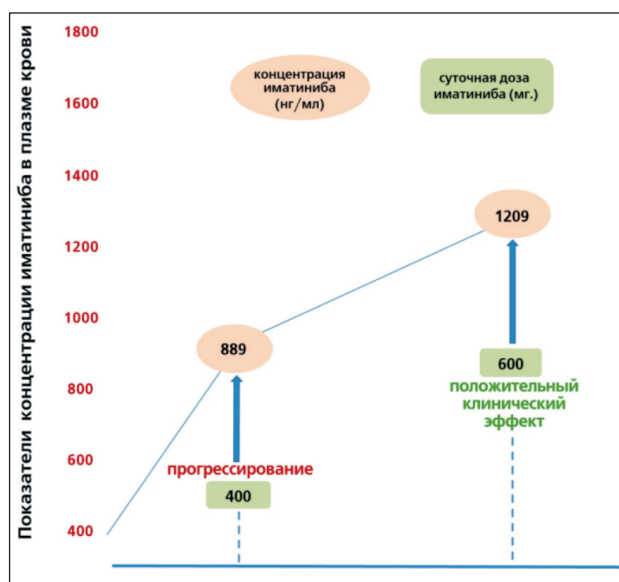


Рис. 2. Определение концентрации иматиниба в плазме крови пациентки с диссеминированной формой ГИСО желудка

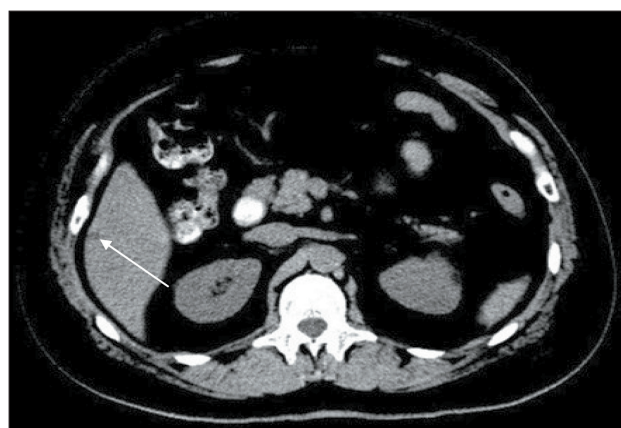


Рис. 3. КТ органов брюшной полости пациентки с диссеминированной формой ГИСО. Положительный клинический эффект индивидуализации таргетной терапии иматинибом в суточной дозе 600 мг

и наблюдается в течение 5 лет с момента повышения дозы. С момента начала терапии иматинибом больная находится под наблюдением 5 лет и 7 мес, на диспансерном учете – 5 лет и 10 мес. При последнем контрольном осмотре состояние удовлетворительное, ECOG 0, активных жалоб не предъявляет. По данным регулярных плановых исследований, а также при последнем контрольном КТ органов брюшной полости (05.09.18) отмечается сохранение достигнутого эффекта. Из нежелательных явлений больная отмечала преходящие умеренные периорбитальные отеки и редко тошноту, лекарственной коррекции не требовалось. Выраженных побочных эффектов на фоне проводимой терапии иматинибом в вышеуказанной дозировке не выявлено.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. ESMO/European Sarcoma Network Working Group. Gastrointestinal stromal tumours: ESMO clinical practice guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. Ann Oncol. 2014 Sep; 25 Suppl 3: iii21–6. doi: 10.1093/annonc/mdl255.
2. Kopp M.B., Koroleva I.A. Мультидисциплинарный подход в диагностике и лечении гастроинтестинальных стромальных опухолей. Злокачественные опухоли. 2013; 1: 15–27. [Kopp M.V., Koroleva I.A. Multidisciplinary approach in the diagnosis and treatment of gastrointestinal stromal tumors. Malignant tumors. 2013; 1: 15–27. (in Russian)].
3. Кащенко В.А., Карачун А.М., Орлова Р.В., Пелипас Ю.В., Петрова В.В., Непомнящая С.Л., Глузман М.И., Бескровный Е.Г. Особенности хирургического подхода в лечении гастроинтестинальных стромальных опухолей. Вестник хирургии имени И.И. Грекова. 2017; 176(2): 22–27. [Kashchenko V.A., Karachun A.M., Orlova R.V., Pelipas Yu.V., Petrova V.V., Nepomnyashchaya S.L., Gluzman M.I., Beskrovnyi E.G. Peculiarities of surgical approach in treatment of gastrointestinal stromal tumors. Grekov's Bulletin of Surgery. 2017; 176(2): 22–27. (in Russian)]. doi: 10.24884/0042-4625-2017-176-2-22-27.
4. Søreide K., Sandvik O.M., Søreide J.A., Giljaca V., Jureckova A., Bulusu V.R. Global epidemiology of gastrointestinal stromal tumors (GIST): A systematic review of population-based cohort studies. Cancer Epidemiol. 2016 Feb; 40: 39–46. doi: 10.1016/j.canep.2015.10.031.
5. Когония Л.М., Корнилова А.Г., Моськин В.Г., Морданов С.В., Оксенюк О.С. Стратификация больных гастроинтестинальными стромальными опухолями по группам риска: определение целесообразности проведения адъювантной терапии и ее продолжительность. Якутский медицинский журнал. 2014; 3(47): 12–16. [Kornilova A.G.,

Выводы

Таким образом, определение пониженной концентрации активных метаболитов иматиниба в плазме крови методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с детекцией метода tandemной масс-спектрометрии у пациентки с диссеминированной формой ГИСО позволило провести коррекцию дозы препарата и достичь положительного эффекта с длительностью 51 мес (с момента повышения дозы). Метод высокоэффективной жидкостной хроматографии с детекцией метода tandemной масс-спектрометрии не является абсолютной альтернативой генно-мутационному анализу, однако он может эффективно использоваться для коррекции дозы иматиниба пациентам с ГИСО.

Kogoniya L.M., Mos'kin V.G., Mordanov S.V., Oksenyuk O.S. Risk groups stratification of patients with gastrointestinal stromal tumors: defining the feasibility of adjuvant therapy and its duration. Yakut Medical Journal. 2014; 3(47): 12–16. (in Russian)].

6. Когония Л.М., Корнилова А.Г., Морданов С.В., Оксенюк О.С. Адъювантная терапия пациентов с гастроинтестинальными стромальными опухолями: стратификация больных по группам риска. Злокачественные опухоли. 2014; 1: 39–46. [Kogoniya L.M., Kornilova A.G., Mordanov S.V., Oksenyuk O.S. Adjuvant therapy of patients with gastrointestinal stromal tumors: stratification of patients by risk groups. Malignant tumors. 2014; 1: 39–46. (in Russian)].

7. Никулин М.П., Архири П.П., Владимиров Л.Ю., Жабина А.С., Носов Д.А., Стилиди И.С. Практические рекомендации по лекарственному лечению гастроинтестинальных стромальных опухолей. Злокачественные опухоли: Практические рекомендации RUSSCO. 2018; 8: 421–429. [Nikulin M.P., Arkhiri P.P., Vladimirova L.Yu., Zhabina A.S., Nosov D.A., Stilidi I.S. Practical recommendations for the medicinal treatment of gastrointestinal stromal tumors. Malignant tumors. Practical recommendations RUSSCO. 2018; 8: 421–429. (in Russian)].

8. Hayashi Y., Bardsley M.R., Toyomasu Y., Milosavljevic S., Gajdos G.B., Choi K.M., Reid-Lombardo K.M., Kendrick M.L., Bingener-Casey J., Tang C.M., Sicklick J.K., Gibbons S.J., Farrugia G., Taguchi T., Gupta A., Rubin B.P., Fletcher J.A., Ramachandran A., Ordog T. Platelet-derived growth factor receptor-alpha regulates proliferation of gastrointestinal stromal tumor cells with mutations in KIT by stabilizing ETV1. Gastroenterology. 2015 Aug; 149(2): 420–32.e16. doi: 10.1053/j.gastro.2015.04.006.

Поступила/Received 17.10.18

Принята в печать/Accepted 08.05.19

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Адлейба Сария Темуровна, соискатель кафедры фармакологии, Ярославский государственный медицинский университет (г. Ярославль, Россия). E-mail: bruvs@mail.ru.

Когония Лали Михайловна, доктор медицинских наук, профессор кафедры онкологии и торакальной хирургии, Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского (г. Москва, Россия).

Гуревич Лариса Евсеевна, доктор биологических наук, профессор, ведущий научный сотрудник патологоанатомического отделения, Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского (г. Москва, Россия).

Сидоров Александр Вячеславович, доктор медицинских наук, доцент кафедры фармакологии, заведующий кафедрой фармакогнозии и фармацевтической технологии, Ярославский государственный медицинский университет (г. Ярославль, Россия).

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы объявляют, что у них нет конфликта интересов.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Sariya T. Adleiba, Pharmacology Department, Yaroslavl State Medical University (Yaroslavl, Russia). E-mail: bruvs@mail.ru.

Lali M. Kogonia, MD, DSc, Professor, Oncology and Thoracic Department, M.F. Vladimirsky Moscow Regional Research Clinical Institute (Yaroslavl, Russia). E-mail: lali51@yandex.ru.

Larisa E. Gurevich, DSc, Professor, Leading Researcher, Anatomic Pathology Department, M.F. Vladimirsky Moscow Regional Research Clinical Institute (Yaroslavl, Russia). E-mail: larisgur@mail.ru.

Alexandr V. Sidorov, MD, DSc, Pharmacology Department, Head of the Department of Pharmacognosy and Pharmaceutical Technology, Yaroslavl State Medical University (Yaroslavl, Russia). E-mail: alekssidorov@yandex.ru.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.