

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 27.06.2020 г.

Формат 60x84^{1/8}.

Бумага офсетная №1. Печать офсетная.

Гарнитура Times New Roman Cyr

Печ. л. 22,5; усл. печ. л. 21,5; уч.-изд. л. 22,7.

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 19, № 3 2020

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: 27.06.2020
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. 19, № 3 2020

Editor-in-Chief :

E.L. Choyazonov, 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. Chenykh, 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

ПЕРЕДОВАЯ СТАТЬЯ

<i>Каприн А.Д., Гамеева Е.В., Поляков А.А., Корниецкая А.Л., Рубцова Н.А., Феденко А.А.</i> Влияние пандемии COVID-19 на онкологическую практику	5
---	---

ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

<i>Гордиенко В.П., Леонтьева С.Н., Коробкова Т.Н.</i> Рак репродуктивных органов у женщин Дальневосточного федерального округа	23
---	----

КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

<i>Скоропад В.Ю., Кудрявцев Д.Д., Титова Л.Н., Мозеров С.А., Агабабян Т.А., Иванов С.А., Каприн А.Д.</i> Лечебный патоморфоз после неоадьювантной химиолучевой терапии у больных местнораспространенным раком желудка	38
<i>Селиверстов Р.Ю., Зарайский М.И., Тюрин Р.В., Нарышкин А.Г., Валерко В.Г., Семиглазов В.В., Takahashi Ch.</i> МикроРНК в мониторинге эволюции глиальных церебральных опухолей	47
<i>Письменный Д.С., Савельева О.Е., Завьялова М.В., Родионов Е.О., Таширева Л.А., Тузиков С.А., Панкова О.В., Перельмутер В.М.</i> Связь параметров воспалительного статуса с развитием лимфогенных метастазов у больных немелкоклеточным раком лёгкого (на англ. языке)	54

ЛАБОРАТОРНЫЕ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

<i>Данилова А.Б., Нехаева Т.Л., Мисюрин В.А., Авдонкина Н.А., Емельянова Н.В., Балдуева И.А.</i> Сравнительный анализ миграционной активности и инвазивного потенциала культивируемых клеток солидных опухолей человека	64
<i>Литвяков Н.В., Ибрагимова М.К., Цыганов М.М., Дерюшева И.В., Певзнер А.М., Гарбуков Е.Ю., Дорошенко А.В., Слонимская Е.М.</i> Ассоциация сочетания aberrаций числа копий генов WNT-сигналинга и амплификаций генов стволовости в опухоли молочной железы с метастазированием (на англ. языке)	78
<i>Волков А.Ю., Сафронова В.М., Неред С.Н., Любченко Л.Н., Стилиди И.С.</i> Генетический полиморфизм забрюшинных миксоидных липосарком	89
<i>Цыганов М.М., Ибрагимова М.К., Певзнер А.М., Литвяков Н.В.</i> Потеря гетерозиготности локусов генов <i>BRCA1</i> и <i>BRCA2</i> в опухоли молочной железы (на англ. языке)	97
<i>Носарева О.Л., Орлов Д.С., Шахристова Е.В., Степовая Е.А., Садыкова А.А.</i> Роль N-ацетилцистеина в регуляции апоптоза опухолевых клеток линии P19 при гипоксии	102
<i>Филонова М.В., Федорова Е.П., Дубская Т.Ю., Неупокоева О.В., Чуринов А.А.</i> Влияние цисплатина на показатели гемостаза экспериментальных животных	109

ОПЫТ РАБОТЫ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ УЧРЕЖДЕНИЙ

<i>Шабунин А.В., Тавобилов М.М., Лебедев С.С., Коржева И.Ю., Карпов А.А., Ланцынова А.В.</i> Выбор способа эндоскопического стентирования у пациентов с нерезектабельной аденокарциномой головки поджелудочной железы	116
---	-----

ОБЗОРЫ

<i>Курсанов К.И., Кузин К.А., Фетисов Т.И., Лесовая Е.А., Белицкий Г.А., Якубовская М.Г.</i> Методические подходы к экспериментальному тестированию резистентности клеток опухоли человека к химиотерапии	122
<i>Финогенова Ю.А., Липенгольц А.А., Смирнова А.В., Григорьева Е.Ю.</i> Использование <i>in vivo</i> методов радионуклидной визуализации в экспериментальной онкологии	137
<i>Васильченко Д.В., Крахмаль Н.В., Вторушин С.В., Завьялова М.В.</i> Роль факторов транскрипции GATA3, FOXA1, ELF5 в патогенезе и прогнозе рака молочной железы	146
<i>Антонова Е.Ю., Базин И.С., Гарин А.М., Покатаев И.А., Сагайдак И.В., Поляков А.Н., Чихарева Я.Е., Волков А.Ю., Базина И.В.</i> Изменения парадигмы лечения больных операбельным раком поджелудочной железы	156
<i>Мамажонов Х.И., Никогосян С.О., Шевчук А.С.</i> Значение циторедуктивных операций при рецидивах рака яичников с изолированным поражением лимфатических узлов	164

СЛУЧАЙ ИЗ КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКИ

<i>Кит О.И., Юрченко Д.Ю., Бурцев Д.В., Кузнецов С.А., Поповян О.П., Барашев А.А., Черногорев П.В., Франциянц Е.М., Сагакянц А.Б., Куштова Л.Б., Мкртчян Г.А., Беспалова А.И., Старжецкая М.В.</i> Клинический случай успешного лечения подростка с саркомой Юинга IV стадии	172
--	-----

CONTENTS

LEDING ARTICLE

Kaprin A.D., Gameeva E.V., Polyakov A.A., Kornietskaya A.L., Rubtsova N.A., Fedenko A.A. Impact of the Covid-19 pandemic on the oncological practice	5
---	---

EPIDEMIOLOGICAL STUDIES

Gordienko V.P., Leontjeva S.N., Korobkova T.N. Cancer of the female reproductive system in the Far Eastern Federal District	23
--	----

CLINICAL STUDIES

Skoropad V.Yu., Kudriavtsev D.D., Titova L.N., Moserov S.A., Agababyan T.A., Ivanov S.A., Kaprin A.D. Pathological complete response to neoadjuvant chemoradiotherapy in patients with locally advanced gastric cancer	38
Seliverstov R.Yu., Zaiskiy M.I., Tyurin R.V., Naryshkin A.G., Valerko V.G., Semiglazov V.V., Takahachi Ch. MicroRNA in monitoring of the evolution of glial cerebral tumors	47
Pismenny D.S., Savelieva O.E., Zavyalova M.V., Rodionov E.O., Tashireva L.A., Tuzikov S.A., Pankova O.V., Perelmutter V.M. The inflammatory status and lymph node metastases in non-small cell lung cancer	54

LABORATORY AND EXPERIMENTAL STUDIES

Danilova A.B., Nekhaeva T.L., Misyurin V.A., Avdonkina N.A., Emelyanova N.V., Baldueva I.A. Comparative analysis of migration activity and invasive potential of cultured solid tumor cells	64
Litviakov N.V., Ibragimova M.K., Tsyganov M.M., Deriusheva I.V., Pevsner A.M., Garbukov E.Yu., Doroshenko A.V., Slonimskaya E.M. Association of the combination of stemness gene amplifications and copy number aberrations of wnt-signaling genes in breast tumors with metastasis	78
Volkov A.Yu., Safronova V.M., Nered S.N., Lyubchenko L.N., Stilidi I.S. Genetic polymorphism of retroperitoneal myxoid liposarcoma	89
Tsyganov M.M., Ibragimova M.K., Pevsner A.M., Litviakov N.V. Loss of heterozygosity in the <i>BRCA1</i> and <i>BRCA2</i> locus in breast cancer	97
Nosareva O.L., Orlov D.S., Shakhristova E.V., Stepovaya E.A., Sadykova A.A. Effect of N-acetylcysteine on apoptosis of P19 cancer cells during hypoxia	102
Filonova M.V., Fedorova E.P., Dubskaya T.Yu., Neupokoeva O.V., Churin A.A. Effect of cisplatin on hemostasis in experimental animals	109

PRACTICE OF ONCOLOGY

Shabunin A.V., Tavobilov M.M., Lebedev S.S., Korzheva I.Yu., Karpov A.A., Lantsynova A.V. The choice of the method of endoscopic stenting in patients with unresectable adenocarcinoma of the pancreatic head	116
--	-----

REVIEWS

Kirsanov K.I., Kuzin K.A., Fetisov T.I., Lesovaya E.A., Belitskiy G.A., Yakubovskaya M.G. Methodological approaches to the determination of chemoresistance of human cancer cells to anti-cancer drugs	122
Finogenova Y.A., Lipengolts A.A., Smirnova A.V., Grigorieva E.Y. Nuclear medicine techniques for <i>in vivo</i> animal imaging	137
Vasilchenko D.V., Krakhmal N.V., Vtorushin S.V., Zavyalova M.V. The role of GATA3, FOXA1, ELF5 transcription factors in the pathogenesis and prognosis of breast cancer	146
Antonova E.Yu., Bazin I.S., Garin A.M., Pokataev I.A., Sagaidak I.B., Polyakov A.N., Chihareva Y.E., Volkov A.Yu., Bazina I.V. A paradigm shift in the treatment of patients with resectable pancreatic cancer	156
Mamajonov H.I., Nikoghosyan S.O., Shevchuk A.S. The value of cytoreductive surgery for isolated lymph node recurrence of ovarian cancer	164

CASE REPORTS

Kit O.I., Yurchenko D.Yu., Burtsev D.V., Kuznetsov S.A., Popovyan O.P., Barashev A.A., Chernogorov P.V., Frantsiyants E.M., Sagakyants A.B., Kushtova L.B., Mkrtchyan G.A., Bessalova A.I., Starzhetskaya M.V. A case report of successful treatment of stage IV Ewing's sarcoma in an adolescent patient	172
--	-----

ПЕРЕДОВАЯ СТАТЬЯ LEADING ARTICLE

DOI: 10.21294/1814-4861-2020-19-3-5-22
УДК: 616-006-08: 578.834.1

Для цитирования: Каприн А.Д., Гамеева Е.В., Поляков А.А., Корниецкая А.Л., Рубцова Н.А., Феденко А.А. Влияние пандемии COVID-19 на онкологическую практику. Сибирский онкологический журнал. 2020; 19(3): 5–22. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-3-5-22.

For citation: Kaprin A.D., Gameeva E.V., Polyakov A.A., Kornietskaya A.L., Rubtsova N.A., Fedenko A.A. Impact of the COVID-19 pandemic on the oncological practice. Siberian Journal of Oncology. 2020; 19(3): 5–22. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-3-5-22.

ВЛИЯНИЕ ПАНДЕМИИ COVID-19 НА ОНКОЛОГИЧЕСКУЮ ПРАКТИКУ

А.Д. Каприн, Е.В. Гамеева, А.А. Поляков, А.Л. Корниецкая, Н.А. Рубцова, А.А. Феденко

Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России, г. Москва, Россия, 125284, г. Москва, 2-й Боткинский пр., 3. E-mail: fedenko@eesg.ru

Аннотация

Проведен детальный, систематический обзор данных мировой литературы, включающий все аспекты, которые отражают влияние пандемии COVID-19 на онкологическую практику. Поиск информационных источников произведен в системах Pubmed, MedLine, Scopus, Web of Science, РИНЦ. Проанализированы данные ретроспективных и проспективных клинических исследований. В обзоре отражен опыт российских и зарубежных исследователей, представлены данные о влиянии COVID-19 на онкологических пациентов, смертности и прогнозе у онкологических больных, инфицированных COVID-19, возможностях лечения COVID-19, а также представлен нетипичный случай течения данной инфекции у онкобольного. На сегодняшний день выделены группы повышенного риска инфицирования новым коронавирусом, к ним относятся и пациенты с онкологическими заболеваниями. Несмотря на пандемию, лечение онкологических пациентов необходимо продолжать, так как наличие опухолевого процесса не допускает задержки в проведении терапии. Мировое онкологическое сообщество активно продолжает разрабатывать рекомендации по оптимальному ведению онкологических больных в условиях пандемии. Наиболее актуальные из них изложены в данной статье.

Ключевые слова: COVID-19, SARS-CoV-2, пандемия, онкология, лекарственное лечение опухолей, онкогематология, солидные опухоли.

IMPACT OF THE COVID-19 PANDEMIC ON THE ONCOLOGICAL PRACTICE

A.D. Kaprin, E.V. Gameeva, A.A. Polyakov, A.L. Kornietskaya, N.A. Rubtsova, A.A. Fedenko

P.A. Hertsen Moscow Oncology Research Center – branch of FSBI NMRRС of the Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia
3, 2nd Botkin Ave., 125284, Moscow, Russia. E-mail: fedenko@eesg.ru

Abstract

Detailed, systematic review of the world literature data, including all aspects that reflect the impact of the COVID-19 pandemic on the oncological practice was conducted. The information sources were taken from Pubmed, MedLine, Scopus, Web of Science, and RSCI systems. The data from retrospective and prospective clinical trials have been analyzed. This review presents current data on the impact of COVID-19 on cancer patients, mortality and prognosis of cancer patients infected with COVID-19, treatment options for COVID-19, as well as the case report of the cancer patient with rare atypical COVID-19 course of disease. To date, the groups of increased risk of being infected with a new coronavirus have been identified. These groups include cancer patients. Despite the pandemic, treatment of cancer patients must be continued, since the presence of a tumor process does not allow the therapy to be delayed. The world cancer community is actively continuing to develop recommendations for optimal management of cancer patients in the context of the pandemic. The most relevant of them are described in this article.

Key words: COVID-19, SARS-CoV-2, pandemic, oncology, drug treatment of tumors, oncohematology, solid tumors.

Введение

В декабре 2019 г. в городе Ухань (Китай) произошла массовая вспышка коронавирусной инфекции (COVID-19), проявляющейся развитием тяжелого острого респираторного синдрома из-за коронавируса 2 (SARS-CoV-2), что в настоящее время является причиной глобального кризиса здравоохранения.

Онкологические пациенты относятся к группе высокого риска заражения инфекционными заболеваниями вследствие иммунодефицитного состояния, вызванного основным заболеванием, и подвергаются высокому риску развития серьезных осложнений, вызванных вирусом. Известно, что многие противоопухолевые препараты оказывают иммуносупрессивное действие. Хирургическая операция является еще одним фактором риска развития инфекций. Пациенты с онкологическими заболеваниями представляют собой особую группу, поскольку их лечение не может быть прекращено. Потребность найти баланс между риском заражения онкобольных и медицинских работников коронавирусной инфекцией и необходимостью продолжать лечение меняет работу онкологических учреждений. Высокий уровень заболеваемости COVID-19 среди медицинских работников значительно сокращает количество персонала для оказания специализированной помощи.

Мировая система здравоохранения столкнулась с нетипичной ситуацией, требующей, с одной стороны, экстренного пересмотра стандартов лечения онкологических больных, а с другой – сохранения качества оказываемой помощи. Имеющийся опыт крайне мал, разнороден и, в большинстве случаев, опирается на единичные наблюдения. Поэтому актуальным является организация оказания помощи пациентам в условиях пандемии, а также поиски ответа на вопрос, как инфицирование коронавирусом влияет на прогноз и методы лечения злокачественных новообразований (ЗНО).

Влияние COVID-19

на онкологических пациентов

Среди описаний клинической картины у больных с подтвержденным COVID-19 большинство ограничивается госпитализированными пациентами с пневмонией. Инкубационный период оценивается в 4 дня (от 2 до 7 сут), однако некоторые исследования предполагают более широкий диапазон, кроме того, согласно данным по MERS-CoV и SARS-CoV, он может составлять от 2 до 14 дней [1, 2].

Наиболее частыми симптомами SARS-CoV-2 инфекции являются лихорадка (до 98 %), кашель (до 82 %), миалгия (до 52 %), одышка (до 31%) [3–6]. Среди госпитализированных в Ухане пациентов с COVID-19 лихорадка присутствовала у 44 % при поступлении в больницу и развилась у 89 % во время госпитализации [2]. Реже наблюдаются боль в горле, головная боль, кашель с выделением мокроты и/или кровохарканье. У некоторых больных отмечались желудочно-кишечные симптомы, такие как диарея и тошнота до развития лихорадки, а также признаки поражения нижних дыхательных путей. В ограниченном числе сообщений описана идентификация бессимптомной или субклинической инфекции на основе обнаружения РНК SARS-CoV-2 или живого вируса в образцах мазков из глотки людей, контактировавших с подтвержденными пациентами [7, 8]. В отличие от SARS-CoV и MERS-CoV, наибольшее количество смертей от COVID-19 было вызвано синдромом полиорганной дисфункции, а не дыхательной недостаточностью, что может быть связано с системным распространением ангиотензинпревращающего фермента – функционального рецептора SARS-CoV-2 [9–11].

Медицинские учреждения по всему миру принимают превентивные меры. Например, Альянс по лечению рака в Сиэтле (Вашингтон, США) отложил несрочные случаи и проводит скрининг больных, поступающих на лечение. Пациентам с лихорадкой или подозрительными респираторными симптомами предоставлялись маски.

Известно, что лица, проходящие химиотерапию или лучевую терапию, подвержены повышенному риску развития тяжелого течения COVID-19, так же как и онкогематологические больные [12]. В руководстве по лечению пациентов с онкологическими заболеваниями Национальная служба здравоохранения Великобритании предупредила о том, что некоторые группы больных особенно подвержены развитию тяжелых осложнений при инфицировании SARS-CoV-2. К ним отнесены лица, проходящие химио- или лучевую терапию по поводу рака легких, пациенты с опухолями системы кроветворения [13].

При этом различные виды ЗНО вызывают неодинаковую супрессию иммунной системы. Опухоли системы крови часто напрямую нарушают иммунные функции, вероятно, такие пациенты, подвергаются наибольшему риску, напротив, солидные опухоли, такие как рак толстой кишки, рак молочной железы и рак легких, обычно не вызывают иммуносупрессию, не индуцированную лечением. Стандартные схемы химиотерапии большинства солидных опухолей вызывают временную иммуносупрессию, которая проявляется лейкопенией. Использование колониестимулирующих факторов снижает риск иммуносупрессии у этих пациентов по сравнению с онкогематологическими больными [13].

Национальная служба здравоохранения Великобритании определила приоритетные группы пациентов для хирургического, системного противоопухолевого лечения и лучевой терапии. Установлено 6 уровней приоритета для системного лечения. Пациенты, требующие лекарственной терапии, вероятность успеха которой составляет более 50 %, относятся к самому высокому уровню. В группу низкого приоритета включают больных, ожидающих терапию, которая вряд ли принесет облегчение, позволит контролировать опухолевый рост или увеличит ожидаемую продолжительность жизни более чем на 1 год. Для лучевой терапии выделили 5 уровней приоритета, при этом пациенты с быстро пролиферирующими опухолями находятся в группе самого высокого приоритета [13].

Примером оптимально организованной работы является опыт отделения химиотерапии Национального онкоцентра Китайской академии наук, в котором с 12.02.20 по 02.03.20 находилось на лечении 2 944 пациента, из них 2 795 – амбулаторно, 149 – в условиях стационара. В результате принятой в центре стратегии скрининга у 27 пациентов были выявлены рентгенологические признаки воспалительных изменений легочной ткани. Подозрение на инфицирование COVID-19 было у 8 пациентов. По данным на 03.03.20, в результате соблюдения строгих мер профилактики и защиты от инфицирования ни у одного пациента и медицинского работника не было обнаружено COVID-19. Для этого в центре было организовано измерение температуры тела

при входе в стационар и амбулаторную клинику; сбор эпидемиологического анамнеза у пациентов и медицинских работников; запись амбулаторных пациентов на прием не только в обычном режиме, но и онлайн, что существенно снизило внутрибольничный поток пациентов; контроль соблюдения мер личной защиты у амбулаторных больных; ежедневные онлайн-консультации, на которых врачи информировали пациентов по вопросам текущей терапии, проводилась коррекция симптомов, связанных с заболеванием и противоопухолевым лечением; скрининг симптомов, потенциально ассоциированных с COVID-19, у пациентов, готовящихся к госпитализации; обязательное выполнение анализов крови и КТ легких у пациентов, готовящихся к госпитализации; тестирование на наличие ДНК вируса при выявлении КТ-признаков пневмонии; по возможности замена инфузионной терапии на пероральную химиотерапию; в зависимости от клинической ситуации увеличение интервалов между введениями при адъювантной и поддерживающей химиотерапии [14].

Прогноз у онкологических пациентов, инфицированных COVID-19

ESMO выделяет следующие группы риска среди онкологических пациентов: получающие химиотерапию или получавшие химиотерапию в течение последних 3 мес; получающие «обширную» лучевую терапию; пациенты после трансплантации костного мозга, а также получавшие лечение с использованием стволовых клеток в течение последних 6 мес; получающие иммуносупрессивную терапию; пациенты с некоторыми типами опухолей кроветворной ткани, даже если они не проходят лечение в данный момент (хронические лейкозы, лимфомы, миеломная болезнь); пациенты с лейкопенией и/или низким уровнем иммуноглобулинов [15].

Группа врачей из Нью-Йорка попыталась определить, является ли прогноз у онкологических пациентов с COVID-19 менее благоприятным, чем у инфицированных больных без онкологии. При анализе электронных медицинских записей из базы данных системы здравоохранения Маунт-Синай были обнаружены 334 (6 %) онкологических больных среди 5 688 пациентов с диагнозом COVID-19. Из них у 57 больных был рак молочной железы, у 56 – рак простаты, у 23 – рак легких, у 18 – рак мочевыводящих путей, у 16 – колоректальный рак. Учитывались данные о поле, возрасте, сопутствующих заболеваниях, фактах проведения интубации и смертности из электронных медицинских карт пациентов с COVID-19, подтвержденным лабораторными тестами, с 1 марта по 6 апреля 2020 г. Смертность анализировалась до 8 апреля. Установлено, что, без учета возраста, онкологических пациентов интубировали значительно чаще, но уровень смертности по сравнению с больными

без ЗНО существенно не отличался. При стратификации по возрасту оказалось, что показания для интубации чаще были у онкобольных в возрасте 66–80 лет; в других возрастных группах не было выявлено существенной разницы по данному показателю. Онкологические пациенты моложе 50 лет имели значительно более высокий уровень смертности, чем больные того же возраста без онкологии. Однако показатели смертности от COVID-19 в возрастных группах старше 50 лет у онкобольных были ниже, чем у пациентов без онкологии. Повреждение легких, ассоциированное с цитокинами, является фактором потенциально тяжелого течения COVID-19. В молодых популяциях онкологических больных изначальная ослабленность может приводить к относительно более высокому уровню смертности [16]. Следует отметить, что предыдущее ретроспективное исследование из Китая, которое включало 28 онкологических пациентов, инфицированных COVID-19, показало высокий уровень смертности среди них.

Уровень смертности среди онкологических больных, инфицированных COVID-19

Наиболее полные данные, отражающие уровень смертности у онкологических пациентов с подтвержденным COVID-19, представлены в отчете ВОЗ, опубликованном 28 февраля 2020 г. [17]. В нем указывается, что в Китае, на момент отсечения данных (20 февраля), показатель смертности у больных с подтвержденным COVID-19 различался в зависимости от наличия коморбидной патологии: общий показатель смертности составил 3,8 %, для пациентов с онкологическими заболеваниями – 7,6 %, с заболеваниями сердечно-сосудистой системы – 13,2 %, с сахарным диабетом – 9,2 %, с хроническими заболеваниями дыхательных путей – 8 %, без сопутствующих хронических заболеваний – 1,4 % [18]. Согласно опубликованному в марте анализу данных из Италии, у 20 % умерших от COVID-19 был активный онкологический процесс [13]. По данным исследований из центра Монтефиоре и Медицинского колледжа им. А. Эйнштейна, онкологические больные, инфицированные COVID-19, имели гораздо более высокий риск смерти от вирусной инфекции по сравнению с пациентами без ЗНО [19]. В исследовании были включены 218 онкобольных с положительным результатом на COVID-19, получавших лечение с 18 марта по 8 апреля 2020 г. в медицинском центре Монтефиоре в Бронксе. От COVID-19 умер 61 пациент с онкологическим диагнозом, что отражает чрезвычайно высокий уровень летальности – 28 %. По данным ВОЗ, в США уровень смертности от COVID-19 составил 5,8 %. По мнению сотрудников Медицинского колледжа им. А. Эйнштейна, смертность, вероятно, более тесно связана с ослабленностью, возрастом и сопутствующими заболеваниями, чем с активной

противоопухолевой терапией [19]. У онкогематологических больных с лейкемией или лимфомой, инфицированных SARS-CoV-2, наблюдался самый высокий уровень смертности – 37 % (20 из 54 пациентов). У пациентов с солидными ЗНО смертность достигла 25 % (41 из 164), при этом ее уровень отличался в зависимости от типа опухоли: летальность при раке легких составила 55 %, при колоректальном раке – 38 %; раке молочной железы – 14 %, раке простаты – 20 %. Пожилой возраст, гипертония, хронические заболевания сердечно-сосудистой системы и легких были в значительной степени связаны с повышенной смертностью у онкологических больных, инфицированных COVID-19 [19].

Возможности лечения COVID-19

В настоящее время специфического лечения COVID-19 не существует. Анализ литературы по лечению атипичной пневмонии, связанной с коронавирусами SARS-CoV и MERS-CoV, позволяет выделить несколько этиотропных препаратов, которые рекомендуется использовать в комбинации. К ним относятся хлорохин, гидроксихлорохин, лопинавир + ритонавир, азитромицин (в комбинации с гидроксихлорохином), интерфероны. Среди препаратов, которые находятся на стадии клинических испытаний у пациентов с COVID-19, можно отметить умифеновир, ремдесивир (не зарегистрирован на территории РФ), фавипиравир (не зарегистрирован на территории РФ). Ремдесивир – исследуемый противовирусный препарат, который обладает активностью *in vitro* в отношении SARS-CoV-2 [20]. По опубликованным данным, эти лекарственные агенты могут применяться при лечении COVID-19. Тем не менее имеющиеся сведения о результатах их применения не позволяют сделать однозначный вывод об эффективности лечения, в связи с чем их назначение допустимо по решению врачебной комиссии в установленном порядке, в случае если потенциальная польза для пациента превышает риск от использования [17]. Клиническое ведение больных COVID-19 включает меры по профилактике и борьбе с инфекцией, а также по лечению осложнений, включая интенсивную поддержку функции жизненно важных органов. Следует избегать назначения кортикостероидов из-за потенциальной возможности продления репликации вируса, наблюдаемой у пациентов с MERS-CoV [21, 22].

Важно помнить, что при одновременном приеме противоопухолевых препаратов и лекарств для лечения COVID-19 возможно потенцирование нежелательных эффектов. Так, при совместном приеме гидроксихлорохина с торемифеном или нилотинибом, лопинавира с торемифеном или нилотинибом, ритонавира с нилотинибом возрастает риск удлинения интервала QT. Увеличивается риск развития токсических эффектов при совместном

приеме ритонавира с винбластином, винкристином, паклитакселом, винорельбином, торемифеном, эверолимусом, дазатинибом, лапатинибом, темсиrolимусом, нилотинибом, пазопанибom, доцетакселом, иринотеканом. Использование ритонавира с тамоксифеном вызывает снижение эффективности тамоксифена. При использовании тоцилизумаба с ритуксимабом возрастает риск развития жизнеугрожающих инфекций [23].

Результаты II фазы открытого рандомизированного исследования показывают, что ранняя тройная противовирусная терапия превосходит по эффективности использование лопинавира/ритонавира при легкой и средней степени тяжести COVID-19. Раннее применение тройной противовирусной терапии было безопасным и продемонстрировало преимущества по сравнению с приемом лопинавира или ритонавира в монорежиме в плане облегчения симптомов заболевания, сокращения продолжительности выделения вируса и пребывания в стационаре у пациентов с легкой и средней степенью тяжести течения коронавирусной болезни [24].

С 10 февраля по 20 марта 2020 г. в 6 больницах Гонконга были рандомизированы 127 пациентов с COVID-19 легкой или средней степени, больным в течение 14 дней назначались комбинации, состоящие из лопинавира 400 мг/ритонавира 100 мг (каждые 12 ч), рибавирина 400 мг (каждые 12 ч) и 3 доз интерферона бета-1b через день (n=86), или монотерапии лопинавиром 400 мг/ритонавиром 100 мг (каждые 12 ч) в течение 14 дней (n=41) [24]. Среднее время от начала лечения до отрицательного мазка из носоглотки (первичной конечной точки) составило 7 сут при комбинированном лечении по сравнению с 12 днями при монотерапии. При комбинированном лечении сокращалось время, необходимое для полного купирования симптомов, — 4 сут против 8 сут. Среднее время пребывания в стационаре в этой группе составило 9 дней, в контрольной группе — 14,5. В исследуемой группе 52 пациента были госпитализированы на момент наличия у них симптомов на протяжении не более 7 дней и получили тройное комбинированное лечение, 34 пациента были госпитализированы более чем через 7 дней с момента появления симптомов и получали лопинавир/ритонавир и рибавирин. Сравнение этих подгрупп показало, что при начале лечения в срок до 7 дней от появления симптомов клинические и вирусологические результаты были лучше [24].

По данным больницы королевы Марии (университет Гонконга, Китай), лечение тройной комбинацией эффективно подавляло вирусную нагрузку во всех клинических образцах, включая мазок из носоглотки, слюну из горла, заднюю ротоглоточную слюну и стул у большинства пациентов через 8 дней от начала лечения, что оказалось значительно быстрее, чем в контрольной группе. При этом

клиническая и вирусологическая эффективность терапии привела к сокращению срока пребывания в стационаре и облегчению контроля над течением заболевания. Средний возраст пациентов — 52 года, из них мужчин — 54 %, у 40 % больных имелись сопутствующие заболевания, чаще всего гипертония (в исследуемой группе — у 27 %, в контрольной — у 32 %). Среднее время госпитализации с момента появления симптомов — 5 дней. Наиболее частые симптомы: диарея (41 %), лихорадка (38 %), тошнота (34 %) и повышение уровня АЛТ (14 %), которые обычно проходили в течение 3 дней после начала лечения. Между группами не было различий по частоте возникновения побочных эффектов, продолжительности тошноты или диареи. Один пациент из контрольной группы прекратил прием лопинавира/ритонавира в связи с появлением биохимических признаков гепатита. Ни один пациент не умер во время исследования. Среди ограниченный исследования следует отметить его открытый характер, отсутствие группы плацебо, отсутствие пациентов с тяжелым течением заболевания, а также тот факт, что в зависимости от времени, прошедшего с момента появления симптомов, некоторые пациенты в группе комбинированной терапии не получали интерферон бета-1b [24].

Изменения в ведении онкологических больных в условиях пандемии COVID-19

В разгар пандемии мировым онкологическим сообществом проводятся исследования и разрабатываются рекомендации по взаимодействию с онкобольными. В частности, Американским Колледжем Хирургов опубликовано руководство по сортировке онкологических больных, требующих оперативного лечения, включающее рекомендации по хирургии рака молочной железы, колоректальной и торакальной хирургии, неотложной хирургии, общей онкологической хирургии, детской хирургии, сосудистой хирургии, метаболической бариатрической хирургии, гинекологии, офтальмологии, отоларингологии, урологии, ортопедии, нейрохирургии. Предлагается разделить эпидемиологические этапы распространения COVID-19 в условиях функционирования клиники на 3 фазы:

— I фаза (полуургентная) — незначительное количество больных с COVID-19 в клинике, больничные ресурсы не исчерпаны, в учреждении по-прежнему есть в достаточном количестве свободные аппараты ИВЛ, а распространение COVID-19 не находится в стадии быстрой эскалации;

— II фаза (ургентная) — большое количество пациентов с COVID-19 в клинике, ограничены возможности проведения ИВЛ или распространение COVID в клинике приобретает нарастающий характер;

— III фаза (критическая) — все ресурсы клиники направлены на лечение пациентов с COVID-19 [25].

Применение хирургических методов и брахитерапии является одной из самых сложных задач из-за значительного изменения соотношения рисков и выгоды. Например, послеоперационная пневмония, ассоциированная с COVID-19, может с большой вероятностью привести к летальному исходу, при этом ресурсы отделений реанимации и интенсивной терапии находятся в состоянии дефицита. Онкологические подразделения внедряют новые способы организации работы для минимизации рисков для пациентов и персонала, оптимизируя лечение и уход за больными. Схемы лечения меняются таким образом, чтобы уменьшить количество посещений стационара. В настоящее время приветствуются режимы лечения с меньшей частотой очных визитов, такие как введение 400 мг пембролизумаба 1 раз в 6 нед вместо 200 мг 1 раз в 3 нед. При проведении лучевой терапии (ЛТ) считается возможным использование меньшего количества фракций с более высокой дозой на фракцию. Для наиболее распространенных локализаций ЗНО, таких как молочная железа, предстательная железа, легкие, голова и шея, обсуждаются варианты большего использования гиподифракционирования. Это может привести к повышению токсичности, поэтому следует использовать те схемы, при которых гиподифракционирование может выполняться безопасно. Онкологические службы повсеместно переключаются с амбулаторных консультаций на онлайн формат [26].

Рекомендации ESMO по организации лечебного процесса в условиях пандемии COVID-19

Во время пандемии COVID-19 ESMO предлагает разделять онкологических больных на 3 группы в зависимости от уровня приоритета проведения лечения: 1-я – высокий приоритет, 2-я – средний приоритет, 3-я – низкий приоритет. Группы определяются в соответствии с критериями онкологической помощи Онтарио, Онкологического института Хантсмана и шкалы MCBS, включающей информацию об установлении приоритетов на основе стоимости и клинической достоверности лечебных мероприятий [15].

К 1-й группе относятся пациенты, состояние которых клинически нестабильно и непосредственно угрожает жизни, и/или величина выгоды квалифицирует вмешательство как высокоприоритетное (например, значительное повышение общей выживаемости и/или существенное улучшение качества жизни). Во 2-ю группу включены больные, у которых ситуация расценена как не критичная, но задержка свыше 6 нед может потенциально повлиять на общий результат и/или размер выгоды соответствует промежуточному приоритету. В 3-ю группу включаются пациенты с достаточно стабильным состоянием, в связи с чем лечение может быть отложено на время пандемии COVID-19,

и/или вмешательство не является приоритетным в зависимости от величины потенциальной выгоды [15]. В текущей ситуации ESMO рекомендует:

- тесное сотрудничество медицинских учреждений с местными органами власти и здравоохранения для обеспечения безопасного оказания высококачественных услуг онкологическим пациентам;
- основные принципы координации онкологической помощи должны максимально соблюдаться с использованием виртуальных технологий: перевести консультации стабильных пациентов в онлайн-формат;
- пересмотреть схемы лечения с целью сокращения числа посещений клиник во время пандемии, предпочитать пероральные или подкожные введения внутривенным инъекциям;
- обсуждать более краткосрочные или гиподифракционированные схемы облучения с радиотерапевтами;
- обсуждать преимущества и риски проведения поддерживающей терапии и варианты «терапевтических каникул» во время пандемии;
- использовать переливание компонентов крови только в случае острой необходимости [15].

Рекомендации по применению лучевой терапии в условиях пандемии COVID-19

Радиотерапевту во время пандемии необходимо минимизировать риск передачи COVID-19 в процессе лучевой терапии, следует ограничить число лиц, сопровождающих больного, развивать консультации больных по телефону. Специалист должен определить приоритеты в проведении пациентам лучевой терапии. При проведении радикального курса, если биология опухоли допускает задержку в лечении (например, гормонально-чувствительный рак молочной железы (РМЖ), рак предстательной железы), разумно отложить лечение до ожидаемого снижения заболеваемости COVID-19. Во время пандемии можно использовать режимы лечения с первым и вторым уровнем доказательности. При адъювантной ЛТ необходимо тщательно оценить степень риска прогрессирования болезни. Если ЛТ снижает частоту локорегионарных рецидивов, но не улучшает общую выживаемость, то во время пандемии её целесообразно избегать. При паллиативной ЛТ необходимо убедиться в том, что все другие варианты лечения исчерпаны. В первую очередь ЛТ следует проводить больным с быстро пролиферирующими опухолями, по возможности стоит использовать режим гиподифракционирования дозы [27].

Во время пандемии COVID-19 лучевую терапию можно не проводить:

- больным РМЖ после органосохраняющих операций с протоковой карциномой *in situ* (не улучшает общую выживаемость, незначительно улучшает локорегионарный контроль);
- больным РМЖ после органосохраняющих операций с инвазивной опухолью старше

70 лет, с низким риском локального рецидива (гормонотерапия);

- при РМЖ после органосохраняющих операций с инвазивной опухолью у больных старше 50 лет, PЭ+, Her2+ без других признаков риска рецидива (можно не подводить «буст» на ложе опухоли);

- пациентам с глиомами низкой степени злокачественности, с асимптоматическими менингиомами G1–2;

- больным с неоперабельным раком поджелудочной железы – рассмотреть возможность лекарственного лечения;

- больным раком предстательной железы низкого или промежуточного риска – рассмотреть тактику наблюдения;

- при олигометастатическом процессе – рассмотреть возможность системного лечения (таргетное, гормональное);

- больным с патологическими переломами костей после операции на зону метастаза;

- при краниальных метастазах немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ) – рассмотреть терапию стероидами;

- при раке легких можно не проводить профилактическое облучение головного мозга [27].

Во время пандемии COVID-19 лучевую терапию можно отложить:

- больным РМЖ T1–2N0, люминальный A + B подтипы после органосохраняющих операций (гормональная терапия) – ЛТ может быть отложена до 20 нед;

- при раке предстательной железы неблагоприятного, промежуточного прогноза высокого или очень высокого риска – рассмотреть проведение длительной (до 6–7 мес) антиандрогенной терапии;

- больным базальноклеточным и плоскоклеточным раком кожи;

- пациентам с костными метастазами без угрозы патологического перелома или развития неврологической катастрофы [27].

Лекарственное лечение опухолей в условиях пандемии COVID-19

Практика сегодняшнего дня предполагает, что для пациентов со стойкой ремиссией, получающих поддерживающую терапию, может рассматриваться возможность прекращения данного вида лечения. Для ряда больных возможна замена внутривенных инфузий на пероральные препараты с целью снижения частоты посещения клиники [13]. При химиотерапии с высоким риском фебрильной нейтропении может использоваться профилактическое назначение колониестимулирующих факторов и антибиотиков даже в тех случаях, когда данный подход не является рутинным в стандартных клинических рекомендациях [28].

Лекарственное лечение опухолей в онкогематологии

Доступные данные не позволяют с уверенностью утверждать, что больные с гемобластомами инфицируются COVID-19 чаще, чем здоровые люди. Вместе с тем уже возникшая инфекция у онкогематологических больных протекает значительно тяжелее (смертность примерно 20 %). Потенциальными факторами риска развития тяжелой инфекции являются пожилой возраст, вторичный глубокий иммунодефицит, лимфоцитопения ($<0,2 \times 10^9/\text{л}$), длительная нейтропения III–IV степени [23].

Специфической профилактики COVID-19 не существует. Кроме общепринятых санитарно-гигиенических мер и самоизоляции, пациентам с вторичным иммунодефицитом показаны внутривенные введения иммуноглобулинов (при рецидивирующей инфекции и/или снижения IgG $<4 \text{ г/л}$), вакцинация против гриппа, применение пневмококковой вакцины с целью предотвращения бактериальной суперинфекции. В ряде исследований, в частности у больных после трансплантации ГСК, было показано, что профилактическое назначение антибиотиков, особенно при наличии бактерий с множественной лекарственной устойчивостью, может привести к неблагоприятному течению и исходу внебольничной вирусной инфекции дыхательных путей [23].

Имеются опасения, что применение гранулоцитарных факторов роста может привести к гиперергической воспалительной реакции, которая потенциально усугубит респираторные повреждения при COVID-19. Применение G-CSF оправдано и необходимо у больных с нейтропенией для профилактики суперинфекции и других септических осложнений. Наиболее эффективным способом восстановления иммунной системы является полный контроль над опухолью, а значит, больным с активными признаками заболевания необходимо проводить противоопухолевое лечение [23].

Наиболее часто используемыми иммуносупрессивными препаратами при гемобластозах являются глюкокортикостероиды. Длительное применение высоких доз гормонов ассоциируется с тяжелым течением инфекционных процессов, в связи с чем их назначение желательно ограничить. В то же время при COVID-19-пневмониях использование гормонов в низких дозах ($<1 \text{ мг/кг/сут}$ в течение 3 дней) способно предотвратить развитие гиперергической воспалительной реакции и вторичного гемофагоцитарного лимфогистиоцитоза, которые могут привести к тяжелой полиорганной недостаточности и летальному исходу [23]. Выбор других противоопухолевых препаратов и их применение зависят от морфоиммунологического варианта гемобластоза, степени агрессивности опухоли и ее локализации. Необходимо минимизировать

посещения больных, использовать телемедицину и онлайн консультации.

При агрессивных неходжкинских лимфомах (аНХЛ) лечение не может быть отложено, но желательно использование СНОР-подобных режимов. По показаниям должна проводиться профилактика поражения ЦНС, при локальных стадиях – лучевая терапия. Во время пандемии COVID-19 ESMO рекомендует применение высокодозной химиотерапии, включающей метотрексат, для лечения недавно диагностированной первичной лимфомы центральной нервной системы [29]. Наибольшие сложности связаны с лечением больных с рецидивом/рефрактерным течением аНХЛ, где основной опцией является высокодозная химиотерапия с аутоТГСК, так как в условиях пандемии резкое сокращение коечного фонда, сложности с донорами и заготовкой компонентов крови ограничивают применение этого метода. Больным можно рекомендовать продолжить стандартную химиотерапию, использовать лучевое лечение и отложить проведение аутоТГСК. Пожилым больным желательно назначение пероральных препаратов (леналидомид, метраномное лечение) [23].

При диффузной В-крупноклеточной лимфоме (DLBCL) предпочтительными являются менее миелосупрессивные схемы, например СНОР-21 вместо СНОЕР-14 или ACVBP. При рефрактерной DLBCL возможно проведение CAR-T-клеточной терапии. Следует избегать Т-клеточных супрессивных агентов, например бендамустина. Профилактика поражения ЦНС с использованием высоких доз метотрексата, высоких доз цитарабина и/или интратекального введения метотрексата может быть исключена. Пациенты должны получать G-CSF для профилактики и коррекции нейтропении. При лечении мантийноклеточной лимфомы поддерживающая терапия ритуксимабом может быть отсрочена [30].

При индолентных неходжкинских лимфомах (иНХЛ) ведущей опцией должна быть тактика «наблюдай и жди». В тех случаях, когда у больного есть показания к началу лечения (GELF критерии), но состояние остается стабильным без симптомов интоксикации, лечение можно несколько отложить с повторным контролем через 1–1,5 мес. При необходимости инициирования лечения рекомендуется использовать схему R-СНОР или R-СVP (желательно воздержаться от бендамустина, что связано с более глубокой иммуносупрессией при его применении). При локальных стадиях возможно облучение исходных зон. К монотерапии ритуксимабом, особенно в поддерживающем режиме у пожилых больных, необходимо относиться более сдержанно и осторожно. При рецидивах без выраженных признаков прогрессирования возможна тактика «наблюдай и жди». Желательно назначение пероральных препаратов (леналидомид, ибрутиниб) [23].

При лимфоме Ходжкина (ЛХ) основным режимом в первой линии терапии можно считать АВВД. В условиях пандемии применение интенсивных режимов типа ВЕАСОРР должно быть ограничено. Желательно выполнение промежуточного ПЭТ-КТ после 2 циклов с целью исключения блеомицина у ПЭТ2-негативных или добавления брентуксимаб ведотина (BV) к АВД у ПЭТ2-позитивных больных. Показано профилактическое назначение 2–3 введений G-CSF для предотвращения нейтропении. У пожилых больных возможно применение монотерапии BV. При рецидивах ЛХ рекомендовано использование схем второй линии, не требующих госпитализации (GDP, GemOx, BV+Nivo) и не ассоциированных с глубокой нейтропенией. Вопрос о применении ВДХТ с аутоТГСК решается индивидуально в зависимости от эпидемиологической ситуации и резервов здравоохранения. В ряде случаев (при локальном рецидиве, позднем рецидиве) возможно применение лучевой терапии в сочетании с BV [23].

При множественной миеломе у пациентов, находящихся на непрерывном лечении 1-й линии, следует рассмотреть возможность отсрочки проведения трансплантации аутологичных стволовых клеток и продлить индукционную фазу лечения до 6–8 циклов. Помимо использования дополнительных циклов индукции, для отсрочки проведения трансплантации аутологичных стволовых клеток возможно назначение поддерживающего лечения леналидомидом. Возможно рассмотрение вопроса о пролонгации приема леналидомида на срок до 2 мес для пациентов, получающих поддерживающую терапию (с промежуточными лабораторными тестами). Также для пациентов, нуждающихся во внутривенном введении иммуноглобулинов, необходимо рассмотреть возможность их использования с большими временными интервалами. Рекомендуется отложить проведение антирезорбтивной терапии золедроновой кислотой, деносумабом и/или снизить частоту их применения (например, один раз в 3 мес). У пожилых пациентов, не подлежащих трансплантации аутологичных стволовых клеток, при наличии ответа на лечение леналидомидом/дексаметазоном следует рассмотреть возможность отмены дексаметазона с сохранением ответа на лечение леналидомидом. Если отменить дексаметазон полностью не представляется возможным, то необходимо снизить его дозировку до 20 мг в нед. Необходимо отдавать предпочтение пероральным препаратам (иксазомиб, леналидомид, помалидомид). Следует рассмотреть переход пациентов на ежемесячный прием даратумумаба [31].

Лекарственное лечение солидных опухолей

При раннем РМЖ неoadъювантная и адъювантная химиотерапия при тройном негативном подтипе, неoadъювантная и адъювантная химиотерапия в сочетании с таргетной терапией при

HER2-позитивном подтипе, неоадьювантная и адьювантная эндокринная терапия +/- химиотерапия при ER+/HER2- подтипе должны проводиться в соответствии с действующими рекомендациями. Следует продолжать проведение адьювантной терапии капецитабином у пациентов группы высокого риска при тройном негативном подтипе и T-DM1 у пациенток группы высокого риска при HER2+ раке молочной железы (в постнеоадьюванте). Разрешается продолжать стандартную адьювантную эндокринную терапию в пре- и постменопаузе [32]. В индивидуальном порядке возможно исключение этапа адьювантной химиотерапии у пациенток с гормонально-чувствительным РМЖ с отягощенной сопутствующей патологией и назначение в послеоперационном периоде только гормональной терапии [28].

Неоадьювантная эндокринная терапия – это вариант лечения для пациенток с ER+/HER2- РМЖ, позволяющий отложить хирургическое вмешательство на 6–12 мес при I или II клинической стадии. Опираясь на результаты проспективных рандомизированных исследований при HER2+ РМЖ у пациенток из группы низкого риска или пожилых пациенток с сердечно-сосудистыми или другими сопутствующими заболеваниями, адьювантная терапия против HER2 может быть прекращена через 6 мес лечения вместо 12 мес. Для пациенток с ER+/HER2- РМЖ, у которых рассматривается проведение химиотерапии, приоритет должен быть отдан неоадьювантному режиму, а также схемам с меньшей частотой введения препаратов. При этом все пациентки должны получать гранулоцитарный фактор роста и антибиотики для минимизации нейтропении, в то время как использование дексаметазона должно быть ограничено, в зависимости от ситуации, для снижения иммуносупрессии. При использовании аналога LHRH наиболее предпочтительным является ежемесячное введение препарата пациенткой или медицинской сестрой в домашних условиях [32].

У больных с диссеминированным РМЖ разрешается продолжать прием антиэстрогенов, ингибиторов ароматазы, бисфосфонатов. Включение в эндокринную терапию ингибиторов CDK4/6 должно соответствовать текущим рекомендациям, местной практике и доступности ресурсов. В некоторых случаях (например, при изолированном поражении костей) их применение может быть отложено, особенно у пожилых больных. Для пациенток с прогрессирующим метастатическим тройным негативным РМЖ лечение первой линии может быть выбрано на основе биомаркеров, в соответствии с местной практикой и доступностью ресурсов. У больных с PD-L1-позитивным TNBC могут быть рассмотрены показания к иммунотерапии. На сегодняшний день риск, связанный с развитием коронавирусной болезни на фоне проводимой иммунотерапии, еще нечетко описан и

требует проведения исследований, рекомендуется тщательный мониторинг специфических симптомов, пневмонита или инфекции, чтобы быстро отменить лечение при заболевании COVID-19. Следует избегать назначения ингибиторов mTOR или PI3KCA, поскольку индуцированная эверолимусом иммуносупрессия и обусловленный аллелисбисом риск развития диабета, а также увеличение частоты нежелательных явлений со стороны легких, требующих КТ и использования других медицинских ресурсов, в том числе пересекающихся с диагностикой COVID-19, могут стать причиной для того, чтобы отложить включение в терапию этих агентов (например, у пациентов с множеством факторов риска инфицирования и тяжелого течения COVID-19, включая сопутствующее заболевание) [32].

При колоректальном раке II, III стадии рекомендуется провести тестирование на микросателлитную нестабильность для выбора лечебной тактики. Предпочтительное назначение капецитабина по сравнению с 5-фторурацилом позволяет сократить сроки пребывания пациента в медицинском учреждении и увеличить интервал между курсами химиотерапии. Целесообразно осуществлять подбор оптимальной дозы капецитабина после определения статуса дигидропиримидиндегидрогеназы. Основываясь на рекомендациях исследования IDEA, стоит провести оценку и решить, будет ли проведение 3-месячного адьювантного лечения не хуже 6-месячного лечения (оценить риски пациента и стратегию, адаптированную к клиническим условиям). При колоректальном раке IV стадии в 1-й линии рекомендуется использовать FOLFOXIRI, FOLFIRI или FOLFOX +/- анти-VEGF или анти-EGFR. При использовании анти-EGFR в сочетании с FOLFIRI или FOLFOX стоит рассмотреть возможность амбулаторного лечения с 2-недельным интервалом, а не с 1-недельным интервалом между использованием цетуксимаба. Кроме того, стоит рассмотреть применение панитумумаба. Рекомендуется оценить возможность применения пегилированного филграстима у пациентов из группы высокого риска для предотвращения фебрильной нейтропении. На 2-й линии терапии при медленном прогрессировании следует назначать лечение каждые 2 нед. Если это невозможно из-за развившейся токсичности и медленного выздоровления, рассмотрите возможность лечения каждые 3 нед. В качестве терапии 3-й линии возможно использование регорафениба и TAC-102 (трифлуридин + типирацил (не зарегистрирован на территории РФ)) [33].

В условиях пандемии COVID-19 ESMO рекомендует совместное использование темозоломида с ЛТ при недавно диагностированной глиобластоме с метилированием промотора MGMT, назначение темозоломида после проведения лучевой терапии по поводу IDH-мутировавшей 1p19q-интактной

анапластической астроцитомы, применение алкилирующих агентов после ЛТ при недавно диагностированной 1p19q-обусловленной анапластической олигодендроглиоме, а также при рецидивирующей глиоме с метилированием промотора MGMT. Кроме того, специалисты ESMO отмечают необходимость строгого контроля применения глюкокортикостероидов при лечении опухолей головного мозга [29].

При прогрессирующем почечно-клеточном раке в период пандемии в качестве терапии 1-й линии остается стандартным применение ингибиторов контрольных точек или их комбинации с ингибиторами VEGF. На 2-й линии терапии при симптоматическом прогрессирующем заболевании переход на пероральную таргетную терапию ингибиторами VEGF может быть предпочтительнее, чем терапия ингибиторами контрольных точек. При относительно благоприятном течении заболевания пероральная таргетная терапия iVEGF будет достаточной, в случае если применение ингибиторов контрольных точек иммунитета считается неоправданно рискованным. По возможности, стоит отложить начало системной терапии. В острой фазе пандемии предпочтение стоит отдавать тирозинкиназным ингибиторам, а не комбинации ТКИ/PD-L1. Следует стремиться к использованию режимов иммунотерапии с более длительным интервалом введения препаратов (ниволумаб 1 раз в 4 нед или пембролизумаб 1 раз в 6 нед). Необходимо принимать во внимание повышенный риск развития потенциальной легочной токсичности при использовании ингибиторов контрольных точек иммунитета (особенно комбинации ингибиторов CTLA-4 / PD-L1) [34].

При раке предстательной железы (РПЖ) у быстро прогрессирующих/симптоматических пациентов, не чувствительных к антиандрогенным препаратам, для контроля симптомов могут быть эффективны доцетаксел или кабазитаксел. Подключение целевого антиандрогенного препарата к андроген-депривационной терапии метастатического гормонально-чувствительного РПЖ может быть максимально отложено. Андроген-депривационная терапия имеет низкую частоту использования, она гораздо легче в применении, чем химиотерапия, при менее значимых побочных эффектах, связанных с COVID-19, поэтому редко возникают ситуации, при которых ее нельзя использовать. По возможности при метастатическом гормонально-чувствительном и кастрационно-резистентном РПЖ следует отдавать предпочтение антиандрогенным агентам. При назначении химиотерапии старайтесь минимизировать количество или увеличить продолжительность циклов лечения [35].

При прогрессирующем раке яичников (РЯ) по возможности следует использовать комбинированную терапию на основе платины: карбоплатин/па-

клитаксел каждые 3–4 нед (для уменьшения числа визитов и снижения риска развития миелотоксичности). В зависимости от реакции организма больного и прогностических факторов лечение должно включать 4–6 циклов. Стоит рассмотреть сокращение числа циклов (4–5) у пациенток, отвечающих на лечение, перед добавлением PARP ингибитора, а также раннее прекращение приема паклитаксела для снижения токсичности. Поддерживающая терапия PARP ингибиторами может применяться для лечения пациенток с мутацией BRCA после основной терапии препаратами платины. У пациенток, имеющих мутацию BRCA и являющихся наивными в отношении PARP, следует рассмотреть возможность проведения монотерапии рупапарибом (не зарегистрирован на территории РФ) в ситуациях, когда терапия платиной невозможна. Назначение бевацизумаба требует осторожности с учетом профиля его токсичности и частоты развития ассоциированной гипертензии, которая может ухудшить исход COVID-19. Терапия, основанная не на производных платины, является низкоприоритетной, она должна использоваться после тщательной оценки соотношения рисков и пользы. При лечении РЯ ранних стадий следует проводить 3–6 циклов карбоплатина и паклитаксела. У пациенток старше 65 лет с сопутствующими сердечно-сосудистыми или респираторными заболеваниями необходимо корректировать дозировки препаратов и рассчитывать дозу карбоплатина в монорежиме (AUC5 каждые 4 нед) [36].

Выбор варианта лечения у пациентов с диссеминированной меланомой без мутации BRAF должен опираться на сопоставление ожидаемого преимущества от назначения комбинированной терапии IPI и NIVO по сравнению с применением одного анти-PD-1 препарата и увеличения риска развития иммуноопосредованных нежелательных явлений III/IV степени. Важно помнить о рисках, связанных с глюкокортикостероидами. Терапию в режиме CheckMate 511 (IPI 1 мг/кг и NIVO 3 мг/кг) следует обсуждать в каждом конкретном случае. Для пациентов, принимающих ингибиторы PD-1, с целью сокращения количества посещений клиники будет предпочтительнее двукратное увеличение и дозировки, и интервала приема препаратов (пембролизумаб 400 мг в сут и ниволумаб 480 мг в сут) [37].

У пациентов без симптомов COVID-19 при саркомах, находящихся в локализованной фазе, рекомендации ESMO применяются без изменений. Не рекомендуется откладывать хирургическое лечение для операбельных пациентов без симптомов COVID, в частности при саркомах мягких тканей 2–3 степени злокачественности, саркомах костей, гастроинтестинальных стромальных опухолях и висцеральных саркомах. Адьювантная ЛТ при саркомах мягких тканей не должна откладываться. В настоящее время при саркомах мягких тканей

неoadъювантная химиотерапия должна быть резервирована в неоперабельных случаях, а также для пациентов, у которых единственно возможный вариант хирургического лечения приведет к формированию увечья. Также в зависимости от местоположения и гистотипа опухоли альтернативой может быть предоперационная лучевая терапия. При саркоме Юинга и остеосаркомах рекомендуется использовать неoadъювантные и адъювантные схемы химиотерапии без изменений для пациентов без симптомов инфекции COVID-19 [38].

При альвеолярных и эмбриональных рабдомиосаркомах у пациентов без симптомов инфекции COVID-19 неoadъювантные и адъювантные программы химиотерапии рекомендуется проводить без модификаций. При опухолях средней степени злокачественности (например, десмоидные опухоли) рекомендуется активное наблюдение. Для ГИСО при высоком риске рецидива адъювантное лечение с иматинибом должно быть начато в соответствии со стандартными рекомендациями [38].

Использование ингибиторов контрольных точек в условиях COVID-19

При COVID-19 одним из наиболее важных механизмов, лежащих в основе ухудшения состояния пациента, является развитие «цитокинового шторма», который может привести к возникновению острого респираторного дистресс-синдрома и полиорганной недостаточности. В условиях Т-клеточной иммунотерапии, включая терапию анти-PD-1 препаратами, происходит гиперактивация иммунной системы, что сопровождается развитием синдрома высвобождения цитокинов. Этот синдром характеризуется повышением уровня цитокинов в организме больного, которое провоцирует последствия и симптомы, связанные с иммунной активацией, от лихорадки, недомогания и миалгии до тяжелой токсичности по отношению к органам, легочной недостаточности и смерти [39].

Лабораторные анализы пациентов с COVID-19 показали гиперактивацию CD4+ и CD8+ Т-клеток, повышенные концентрации провоспалительных факторов в CD4+ Т-клетках и высокие концентрации цитотоксических гранул в CD8+ Т-клетках, эти данные позволяют предположить, что гиперактивация Т-клеток способствует развитию тяжелого иммуноопосредованного повреждения. Кроме того, патологические находки, связанные с развитием острого респираторного дистресс-синдрома при инфекции COVID-19, указывают на наличие обилия интерстициальных мононуклеарных воспалительных инфильтратов в легких, в которых преобладают лимфоциты, что снова указывает на то, что механизмы иммунной гиперактивации частично ответственны за тяжесть течения инфекции COVID-19. Принимая это во внимание, нельзя исключать возможность синергетического взаимодействия между механизмами действия ингибито-

ров контрольных точек и патогенезом COVID-19 при развитии иммунной гиперактивации. Следует отметить, что синдром высвобождения цитокинов, индуцируемый приемом ингибиторов контрольных точек, встречается редко и что развитие «цитокинового шторма» не является ранним проявлением COVID-19, как правило, он наблюдается в поздней фазе наиболее тяжелых случаев заболевания [39].

Таким образом, маловероятно, что онкобольные продолжат получать ингибиторы контрольных точек иммунитета (иКТИ) во время этой фазы COVID-19. В каждом конкретном случае следует тщательно рассматривать вопрос об отсрочке лечения иКТИ пациентов с симптомами ОРВИ.

Анализ течения коронавирусной инфекции у онкологических пациентов в Китае

В настоящее время существует довольно мало публикаций о течении коронавирусной инфекции у онкологических пациентов, все они имеют слишком маленькую выборку. Китайским национальным центром клинических исследований респираторных заболеваний совместно с Национальной комиссией здравоохранения КНР сформирована перспективная группа для мониторинга случаев COVID-19. По данным на 31 января 2020 г., из 575 медицинских центров группой были собраны и проанализированы 2007 случаев заражения. Во всех случаях лабораторно подтвержден COVID-19, пациенты госпитализированы. Из-за недостаточного количества данных в анамнезе были исключены 417 случаев [11].

У 18 (1,1 %) пациентов из 1 590 случаев COVID-19 был онкологический анамнез. Наиболее часто встречался рак легких: у 5 (28 %) из 18 пациентов. Четверо (25 %) из 16 онкобольных (у двоих из 18 пациентов был неизвестный статус лечения) с COVID-19 в течение последнего месяца получали химиотерапевтическое или хирургическое лечение. Остальные 12 (75 %) пациентов в анамнезе перенесли операцию по поводу рака. По сравнению с контрольной группой пациенты с онкологическими заболеваниями были старше – средний возраст 63,1 года против 48,7 года, чаще курили – 4 (22 %) из 18 пациентов против 107 (7 %) из 1572 пациентов, среди них была выше частота развития полипноэ – 8 (47 %) из 17 пациентов против 323 (23 %) из 1 377 пациентов (часть данных по полипноэ отсутствовала), у них наблюдались более тяжелые исходные проявления на КТ – 17 (94 %) из 18 пациентов против 1113 (71 %) из 1572 пациентов, при этом не наблюдалось значительных различий по полу, другим исходным симптомам и сопутствующим заболеваниям [11].

У онкологических пациентов риск наступления тяжелых осложнений был выше (величина риска определялась процентом пациентов, поступивших в отделение интенсивной терапии и требовавших

проведения инвазивной вентиляции легких, или умерших) – 7 (39 %) из 18 пациентов против 124 (8 %) из 1572 пациентов. Аналогичные результаты наблюдались при определении тяжелых осложнений как вышеупомянутыми объективными событиями, так и оценкой врача – 9 (50 %) из 18 пациентов против 245 (16 %) из 1 572 пациентов. У пациентов, которые получали в течение предыдущего месяца химиотерапевтическое или хирургическое лечение, риск наступления тяжелых осложнений был выше (3 (75 %) из 4), чем у тех, кто его не получал (6 (43 %) из 14). Онкологический анамнез представлял собой наиболее значимый фактор риска развития тяжелых осложнений. Среди онкобольных пожилой возраст был единственным фактором риска развития тяжелых событий. Больные раком легких не имели более высокой вероятности развития тяжелых осложнений по сравнению с пациентами с другими ЗНО – 1 (20 %) из 5 пациентов с раком легких против 8 (62 %) из 13 пациентов с другими локализациями. У онкологических пациентов ухудшение состояния происходило быстрее, чем у больных без ЗНО (среднее время до наступления осложнений – 13 сут (интервал 6–15) против 43 сут) [11].

Принимая во внимание высокую ценность исследования, не стоит забывать, что оно не может достоверно указывать на значимую тяжесть течения COVID-19 у онкобольных по сравнению с другими группами риска, так как данные 18 пациентов не могут быть экстраполированы на всю популяцию онкологических больных.

Опыт Онкологического центра Уханьского объединенного госпиталя

Специалисты центра считают, что с целью снижения риска заражения SARS-CoV-2 послеоперационная химиотерапия может быть отложена. У пациентов, получающих лучевую терапию, в течение некоторого времени может быть отложено одновременное проведение химиотерапии, включая период подготовки к проведению ЛТ (например, визуализация опухоли перед лечением, планирование ЛТ). Для пациентов, получающих химиотерапию, особенно пожилых и ослабленных, протокол лечения должен быть скорректирован, дозировка препаратов уменьшена. Больных без опухолевой прогрессии и тяжелых осложнений после лечения, как правило, не следует госпитализировать. Для проведения плановых хирургических вмешательств по возможности следует дождаться окончания пандемии [40].

За период с 15 января по 25 февраля 2020 г. в центре приняли 1 186 онкологических больных. Среди 33 онкологических пациентов с коронавирусной инфекцией у онкогематологических больных смертность составила 46,2 % (6 из 13), у пациентов с солидными опухолями – 10,0 % (2 из 20). Пациенты с опухолями системы кро-

ви были более подвержены к инфицированию SARS-CoV-2, чем с солидными опухолями, среди госпитализированных пациентов уровень инфицированности SARS-CoV-2 у гематологических больных составил 6,1 %, с солидными опухолями – 1,4 %. Более высокая смертность у онкогематологических пациентов может объясняться агрессивными химиотерапевтическими протоколами, агранулоцитозом и ослабленным иммунитетом. Учитывая риск заражения и нехватку компонентов крови, этим пациентам следует избегать интенсивной химиотерапии или трансплантации гемопоэтических стволовых клеток [40].

Среди 33 больных раком с COVID-19 – 8 пациентов, получавших таргетную терапию (протеасомные и киназные ингибиторы), и 2, принимавших ингибиторы контрольных точек, имели более благоприятные результаты, чем получившие химиотерапию. Пациентам, которые находятся дома или используют онлайн-клиники, по возможности должна предоставляться альтернатива лечения без химиотерапии, в виде пероральных или таргетных препаратов, которые не требуют госпитализации [40].

Специалисты центра рекомендуют проводить больше телемедицинских консультаций, предпочитая их личным визитам пациентов в период пандемии. Сравнивая количество пациентов, которые обращались за медицинской помощью в режиме онлайн, установлено, что каждый из 24 онкологов, оказывавших эти услуги, в среднем консультировал 19 пациентов в режиме онлайн и 97 пациентов на очном приеме в клинике в течение первых 2 нед до 20 января. Через 2 нед после 20 января число онлайн-консультаций возросло до 42, а количество посетителей клиники сократилось до 36. Сотрудники центра полагают, что в будущем телемедицина станет важной практикой во время пандемии [40].

Конъюнктура противоопухолевого лечения пациентов в МНИОИ им. П.А. Герцена в условиях соблюдения санитарно-противоэпидемических мер по COVID-19

Лечение, диагностика и консультации пациентов в МНИОИ им. П.А. Герцена продолжают в полном объеме с соблюдением всех санитарно-противоэпидемических мер. При обращении в центр особое внимание уделяется эпидемиологическому анамнезу пациентов за предшествующие 2 нед. В приемном отделении сотрудники опрашивают больных, обращая внимание на факты пребывания в стране, неблагополучной по COVID-19, наличие контактов с лицами, прибывшими из неблагополучных по коронавирусной инфекции стран, а также с лицами, инфицированными SARS-CoV-2. На входе в учреждение всем проводится термометрия, посетителям с выявленной гипертер-

мией вход ограничен. С целью защиты пациентов и сотрудников центра накануне госпитализации всем больным в обязательном порядке проводится тестирование на COVID-19, после чего они сутки находятся на абсолютной самоизоляции или в обсервационном отделении. При выявлении инфицирования SARS-CoV-2 пациенты отправляются под наблюдение терапевта или инфекциониста по месту жительства в режим изоляции [41].

В целях профилактики распространения инфекции временно запрещены визиты посетителей к пациентам, находящимся в круглосуточном стационаре. Прием передач для больных допускается только через волонтеров на пункте сбора. Как в стационаре, так и в поликлиническом здании института работает группа волонтеров, которая помогает маломобильным пациентам передвигаться внутри филиала.

Введенный карантин никак не влияет на проведение лечебно-диагностических мероприятий, осуществляемых в рамках международных клинических протоколов, которые продолжают в полном объеме при выполнении санитарно-противоэпидемических мер. Наиболее целесообразно отложить плановое обследование больных, которые завершили лечение или находятся на длительном динамическом наблюдении, до завершения карантина. При этом для всех больных остается обязательным строгое соблюдение всех назначений врача-онколога во время карантина. В отношении планового лечения все решается индивидуально. По мнению главного внештатного специалиста-онколога Минздрава России, генерального директора Национального медицинского исследовательского центра радиологии, академика РАН А.Д. Каприна, прерывание планового лечения крайне нежелательно, так как рак не уходит на карантин [41]. Поэтому пациентам рекомендуется проходить лечение в соответствии с назначенным планом при отсутствии инфицирования COVID-19 [42].

Все специальное лечение, включая таргетную терапию и химиотерапию, у онкологических и гематологических больных с подтвержденным диагнозом COVID-19 приостанавливается согласно международным рекомендациям [13]. Лечение возобновляется только после трехкратных отрицательных результатов тестов на COVID-19 [41].

Центр широко применяет возможности телемедицины и консультирует в режиме «врач-врач». В последнее время количество заявок на телеконсультации значительно увеличилось. На время эпидемии на базе Московского научно-исследовательского онкологического института им. П.А. Герцена организована бесплатная горячая линия.

Клинический случай успешного течения COVID-19 у больного диссеминированным раком поджелудочной железы

Пациент П., 60 лет, находился в МНИОИ им. П.А. Герцена на стационарном лечении с диагнозом: рак головки поджелудочной железы IV стадии, сТ3N1M1 (метастазы в печень); механическая желтуха, состояние после стентирования общего желчного протока от 25.09.19; состояние в процессе ПХТ по схеме mFOLFIRINOX. Холангит. Двусторонняя COVID-ассоциированная пневмония.

Из анамнеза: пациент обратился в МНИОИ им. П.А. Герцена, где верифицировано метастатическое поражение печени. Учитывая локализацию и распространенность опухолевого процесса, результаты морфологического и иммуногистохимического исследований (метастаз протокового рака поджелудочной железы), сохранный соматический статус, рекомендована полихимиотерапия по схеме mFOLFIRINOX. С 05.11.19 по 11.04.2020 было проведено 10 курсов ПХТ с эффектом стабилизации процесса. Лечение четырежды осложнялось явлениями холангита в межкурсовых интервалах, который купировался консервативно.

16.04.20 больной поступил с явлениями холестаза, холангита, анемии, лейкопении и выраженной гипокоагуляции. В течение 7 дней проводилась инфузионная терапия; получал метрогил – 100 мл 2 раза в сут, амоксиклав – 1200 мг внутривенно 3 раза в сут в течение 5 дней, далее левофлоксацин с положительным эффектом. В связи с выраженной анемией и гипокоагуляцией проведена двукратная гемотрансфузия эритроцитарной массы и свежезамороженной плазмы, вводились колониестимулирующие факторы. С 24.04.20 у пациента отмечалось бурное накопление асцитической жидкости с компрессией полых органов, что потребовало установки дренажа в брюшную полость, по которому выделялось около 3–4 л асцитической жидкости в сутки (при цитологическом исследовании – комплексы аденокарциномы). В связи с появлением одышки 27.04.20 выполнена КТ органов грудной полости (рис. 1А), при которой в легких выявлены двусторонние полисегментарные изменения интерстиция, крайне подозрительные на вирусную пневмонию (КТЗ, не менее 50 % поражения легочной ткани правого легкого и 30 % – левого легкого), двусторонний плеврит. 28.04.20 была отмечена гипертермия, выполнен 1-й тест на коронавирусную инфекцию – отрицательный. Результаты 2-го теста на коронавирусную инфекцию 30.04.20 были положительные. В связи с чем 30.04.20 пациент переведен в инфекционное отделение НИИ урологии им. Лопаткина с диагнозом: коронавирусная инфекция, вызванная вирусом COVID-19, вирус идентифицирован, осложнение – вирусная пневмония.

При переводе: общее состояние пациента тяжелое, сознание ясное. Общемозговой и очаговой симптоматики нет. Кожный покров и видимые слизистые чистые, желтые. Тургор кожи сохранен, отмечаются периферические отеки на нижних конечностях с обеих сторон. Температура тела – 36,9 °С. Дыхание везикулярное, выслушивается над всей поверхностью легких, несколько ослаблено в нижних отделах с обеих сторон, хрипы отчетливо не выслушиваются. ЧДД – 18 в 1 мин. Сатурация SpO₂ – 99 % на оксигенотерапии. Тоны сердца приглушены, ритм правильный. АД 120/70 мм рт. ст., пульс – 85 в 1 мин. Живот увеличен в размерах за счет асцита, при пальпации безболезненный во всех отделах. Дренаж в брюшной полости не функционирует (за сутки

выделено 250 мл, ранее – до 4 л в сут). Мочеиспускание самостоятельное, 1200 мл в сут. Под контролем УЗИ была установлена холецистостома. По холецистостоме отделилось 70–80 мл желчи. С 01.05.20 по 02.05.20 пациент находился в отделении реанимации. Проводилась этиотропная, патогенетическая, симптоматическая терапия с положительным эффектом. 2.05.20 больного перевели в инфекционное отделение, где он получал: гидроксихлорохин – 200 мг 2 раза в сут в течение 7 дней, азитромицин – 500 мг 1 раз в сут в течение 5 дней, линекс – 2 капсулы 2 раза в сут, лоперамид – 1 капсула 2 раза в сут, парацетамол – 500 мг при повышении температуры тела выше 38–38,5 °С. Под УЗИ-навигацией 3.05.2020 установлен дренаж в полость малого таза. Эвакуировано

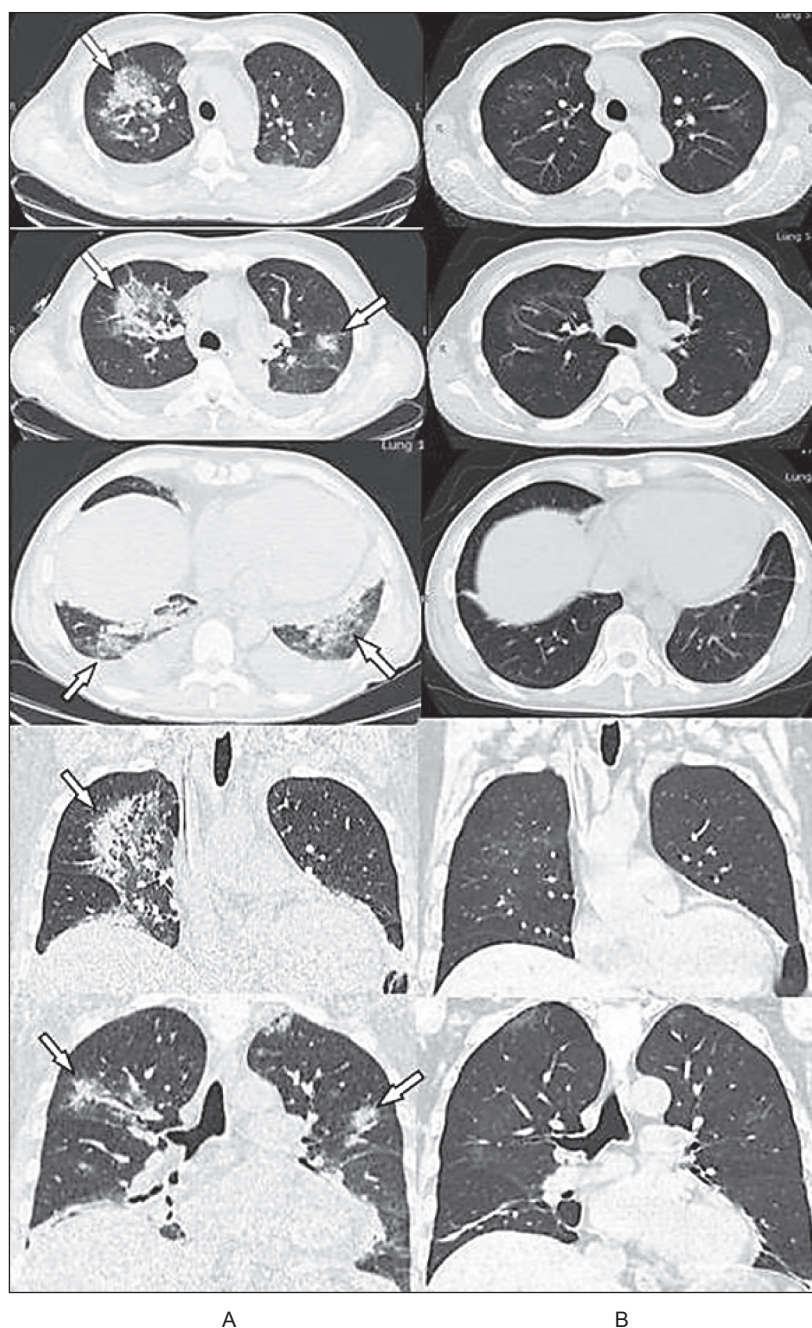


Рис. 1. КТ органов грудной полости больного П. до начала лечения (А) и динамические изменения после проведенного лечения (В). Стрелками обозначены изменения легочной ткани, соответствующие проявлениям пневмонии COVID-19

Fig. 1. CT images of the chest of a patient P. before treatment (A) and dynamic changes after treatment (B). Arrows indicate changes of lungs – pneumonia COVID-19

1,5 л жидкости. Дренаж закрыт. 5.05.2020 проведено УЗИ органов брюшной полости: в поддиафрагмальных пространствах справа и слева, под печенью, по латеральным каналам с обеих сторон, в полости малого таза свободной жидкости и отграниченных жидкостных скоплений (при наличии дренажа) не определялось. Дренаж был удален, рана ушита. С 1.05.20 по 8.05.20 у пациента отмечался фебрилитет/субфебрилитет. Начиная с 9.05.20 температура нормализовалась. 7.05.2020 проведена повторная КТ органов грудной полости: по с КТ от 27.04.20, на фоне проводимого лечения, отмечена положительная динамика (рис. 1В), в легочной ткани с обеих сторон отмечалась частичная резорбция большей части ранее выявленных интерстициальных изменений по типу «матового стекла», с признаками консолидации и частичного исхода в пневмофиброз. Остаточные изменения локализовались преимущественно в верхних и нижних долях легких, суммарный уровень поражения справа уменьшился до 10 %, слева – до 5 %. Жидкости в плевральных полостях не выявлено. Больному проводилось тестирование на COVID-19 методом ПЦР, двукратно получен отрицательный результат – 8.05.20 и 12.05.20. Консультация онколога (13.05.20): уровень СРБ – 17,9 мг/л (снижение в динамике) связан с наличием рака головки поджелудочной железы IV стадии.

Учитывая снижение температуры тела до 36,6 °С, отсутствие признаков нарастания дыхательной недостаточности, сатурацию на атмосферном воздухе SpO₂ – 96 %, снижение СРБ до 11,9 мг/л, уровень лейкоцитов крови 6,7×10⁹/л, регрессию изменений в легких по данным КТ, двукратный отрицательный результат анализа на COVID-19 методом ПЦР, 13.05.20 пациент был выписан на амбулаторное долечивание под наблюдение врача-терапевта по месту жительства.

При анализе данного клинического случая обращает на себя внимание молниеносное появление напряженного асцита в течение суток после дебюта вирусной инфекции. После цитологического подтверждения клеток аденокарциномы в асцитической жидкости первым предположением было бурное прогрессирование онкологического

заболевания, однако с учетом полного исчезновения асцита после элиминации вируса из организма вероятно, что это было проявлением вирусной инфекции COVID-19.

Заключение

На сегодняшний день в мире не существует официально зарегистрированных вакцин и специфического лечения от коронавируса SARS-CoV-2. Выделены группы повышенного риска инфицирования новым коронавирусом и риска развития тяжелых осложнений. К таким группам относятся и онкобольные. Несмотря на пандемию, лечение онкологических пациентов необходимо продолжать, так как наличие опухолевого процесса не допускает задержки проведения терапии, оно требует тщательного контроля вне зависимости от обстоятельств. Мировое онкологическое сообщество продолжает активно разрабатывать рекомендации по оптимальному ведению онкологических больных в условиях пандемии, руководствуясь в определении тактики, в том числе, принципом соотношения пользы от лечения больных и рисков заражения коронавирусной инфекцией. Тем не менее в случае с каждым больным вопрос должен решаться индивидуально. Наблюдение онкобольных с коронавирусной инфекцией, включая своевременное тестирование, отмену противоопухолевой терапии и возобновление лечения, должно проводиться мультидисциплинарной командой. Чтобы обезопасить себя от распространяющейся инфекции, следует выполнять рекомендации ВОЗ и Министерства здравоохранения Российской Федерации. Разработка и испытание вакцины и препаратов для лечения COVID-19 ведутся фармацевтическими компаниями в России и других странах. До создания и утверждения лекарств онкологическим пациентам необходимо сосредоточить свое внимание на соблюдении санитарно-противоэпидемических мер и профилактике заражения коронавирусом. Пандемия коронавирусной инфекции точно закончится, наша задача – не допустить следом «пандемии» онкологических заболеваний как результата принятых охранительных мер.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Guan W.J., Ni Z.Y., Hu Y., Liang W.H., Ou C.Q., He J.X., Liu L., Shan H., Lei C.L., Hui D.S.C., Du B., Li L.J., Zeng G., Yuen K.Y., Chen R.C., Tang C.L., Wang T., Chen P.Y., Xiang J., Li S.Y., Wang J.L., Liang Z.J., Peng Y.X., Wei L., Liu Y., Hu Y.H., Peng P., Wang J.M., Liu J.Y., Chen Z., Li G., Zheng Z.J., Qiu S.Q., Luo J., Ye C.J., Zhu S.Y., Zhong N.S.; China Medical Treatment Expert Group for COVID-19. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *N Engl J Med*. 2020; 382(18): 1708–20. doi: 10.1056/NEJMoa2002032.
2. Li Q., Guan X., Wu P., Wang X., Zhou L., Tong Y., Ren R., Leung K.S.M., Lau E.H.Y., Wong J.Y., Xing X., Xiang N., Wu Y., Li C., Chen Q., Li D., Liu T., Zhao J., Liu M., Tu W., Chen C., Jin L., Yang R., Wang Q., Zhou S., Wang R., Liu H., Luo Y., Liu Y., Shao G., Li H., Tao Z., Yang Y., Deng Z., Liu B., Ma Z., Zhang Y., Shi G., Lam T.T.Y., Wu J.T., Gao G.F., Cowling B.J., Yang B., Leung G.M., Feng Z. Early Transmission Dynamics in Wuhan, China, of Novel Coronavirus-Infected Pneumonia. *N Engl J Med*. 2020 Mar 26; 382(13): 1199–1207. doi: 10.1056/NEJMoa2001316.
3. Chen N., Zhou M., Dong X., Qu J., Gong F., Han Y., Qiu Y., Wang J., Liu Y., Wei Y., Xia J., Yu T., Zhang X., Zhang L. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet*. 2020 Feb 15; 395(10223): 507–513. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30211-7.
4. Holshue M.L., DeBolt C., Lindquist S., Lofy K.H., Wiesman J., Bruce H., Spitters C., Ericson K., Wilkerson S., Tural A., Diaz G., Cohn A., Fox L., Patel A., Gerber S.I., Kim L., Tong S., Lu X., Lindstrom S., Pallansch M.A., Weldon W.C., Biggs H.M., Uyeki T.M., Pillai S.K.; Washington State 2019-nCoV Case Investigation Team. First Case of 2019 Novel Coronavirus in the United States. *N Engl J Med*. 2020 Mar 5; 382(10): 929–936. doi: 10.1056/NEJMoa2001191.
5. Huang C., Wang Y., Li X., Ren L., Zhao J., Hu Y., Zhang L., Fan G., Xu J., Gu X., Cheng Z. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *The Lancet*. 2020; 395(10223): 497–506. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30183-5.

6. Wang D., Hu B., Hu C., Zhu F., Liu X., Zhang J., Wang B., Xiang H., Cheng Z., Xiong Y., Zhao Y., Li Y., Wang X., Peng Z. Clinical Characteristics of 138 Hospitalized Patients With 2019 Novel Coronavirus-Infected Pneumonia in Wuhan, China. *JAMA*. 2020; 323(11): 1061–9. doi: 10.1001/jama.2020.1585.
7. Chan J.F., Yuan S., Kok K.H., To K.K., Chu H., Yang J., Xing F., Liu J., Yip C.C., Poon R.W., Tsoi H.W., Lo S.K., Chan K.H., Poon V.K., Chan W.M., Ip J.D., Cai J.P., Cheng V.C., Chen H., Hui C.K., Yuen K.Y. A familial cluster of pneumonia associated with the 2019 novel coronavirus indicating person-to-person transmission: a study of a family cluster. *Lancet*. 2020 Feb 15; 395(10223): 514–523. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30154-9.
8. Hoehl S., Rabenau H., Berger A., Kortenbusch M., Cinatl J., Bojkova D., Behrens P., Böddinghaus B., Götsch U., Naujoks F., Neumann P., Schork J., Tiarks-Jung K., Walczok A., Eickmann M., Vehreschild M.J.G.T., Kann G., Wolf T., Gottschalk R., Ciesek S. Evidence of SARS-CoV-2 Infection in Returning Travelers from Wuhan, China. *N Engl J Med*. 2020 Mar 26; 382(13): 1278–1280. doi: 10.1056/NEJMc2001899.
9. Wang H., Zhang L. Risk of COVID-19 for patients with cancer. *Lancet Oncol*. 2020 Apr; 21(4): e181. doi: 10.1016/S1470-2045(20)30149-2.
10. You B., Ravaut A., Canivet A., Ganem G., Giraud P., Guimbaud R., Kaluzinski L., Krakowski I., Mayeur D., Grellety T., Lotz J.P. The official French guidelines to protect patients with cancer against SARS-CoV-2 infection. *Lancet Oncol*. 2020; 21(5): 619–21. doi: 10.1016/S1470-2045(20)30204-7.
11. Liang W., Guan W., Chen R., Wang W., Li J., Xu K., Li C., Ai Q., Lu W., Liang H., Li S., He J. Cancer patients in SARS-CoV-2 infection: a nationwide analysis in China. *Lancet Oncol*. 2020 Mar; 21(3): 335–337. doi: 10.1016/S1470-2045(20)30096-6.
12. Burki T.K. Cancer care in the time of COVID-19. *Lancet Oncol*. 2020 May; 21(5): 628. doi: 10.1016/S1470-2045(20)30201-1.
13. Burki T.K. Cancer guidelines during the COVID-19 pandemic. *Lancet Oncol*. 2020 May; 21(5): 629–630. doi: 10.1016/S1470-2045(20)30217-5.
14. Wang Z., Wang J., He J. Active and Effective Measures for the Care of Patients With Cancer During the COVID-19 Spread in China. *JAMA Oncol*. 2020; 6(5): 631632. doi: 10.1001/jamaoncol.2020.1198.
15. ESMO. Cancer patient management during the COVID-19 pandemic [Internet]. URL: <https://www.esmo.org/guidelines/cancer-patient-management-during-the-COVID-19-pandemic?hit=ehp&page=1> (cited 01.04.2020).
16. Miyashita H., Mikami T., Chopra N., Yamada T., Chernyavsky S., Rizk D., Cruz C. Do patients with cancer have a poorer prognosis of COVID-19? An experience in New York City. *Ann Oncol*. 2020 Apr 21; S09237534(20)39303-0. doi: 10.1016/j.annonc.2020.04.006.
17. Временные методические рекомендации: профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19) [Интернет]. URL: https://static1.rosminzdrav.ru/system/attachments/attachments/000/050/116/original/28042020_%D0%9CR_COVID-19_v6.pdf (дата обращения: 01.04.2020) [Temporary methodological recommendations: prevention, diagnosis and treatment of new coronavirus infection (COVID-19) [Internet]. URL: https://static1.rosminzdrav.ru/system/attachments/attachments/000/050/116/original/28042020_%D0%9CR_COVID-19_v6.pdf (cited 01.04.2020). (in Russian)].
18. I of the WHO-China Joint Mission on Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) [Internet]. URL: [https://www.who.int/publications-detail/report-of-the-who-china-joint-mission-on-coronavirus-disease-2019-\(COVID-19\)](https://www.who.int/publications-detail/report-of-the-who-china-joint-mission-on-coronavirus-disease-2019-(COVID-19)) (cited 01.04.2020).
19. Mehta V., Goel S., Kabarriti R., Cole D., Goldfinger M., Acuna-Vilaorduna A., Pradhan K., Thota R., Reissman S., Sparano J.A., Gartrell B.A., Smith R.V., Ohri N., Garg M., Racine A.D., Kalnicki S., Perez-Soler R., Halmos B., Verma A. Case Fatality Rate of Cancer Patients with COVID-19 in a New York Hospital System. *Cancer Discov*. 2020 May 1; CD-20-0516. doi: 10.1158/2159-8290.CD-20-0516.
20. Wang M., Cao R., Zhang L., Yang X., Liu J., Xu M., Shi Z., Hu Z., Zhong W., Xiao G. Remdesivir and chloroquine effectively inhibit the recently emerged novel coronavirus (2019-nCoV) in vitro. *Cell Res*. 2020 Mar; 30(3): 269–271. doi: 10.1038/s41422-020-0282-0.
21. Metlay J.P., Waterer G.W., Long A.C., Anzueto A., Brozek J., Crothers K., Cooley L.A., Dean N.C., Fine M.J., Flanders S.A., Griffin M.R., Metersky M.L., Musher D.M., Restrepo M.I., Whitney C.G. Diagnosis and Treatment of Adults with Community-acquired Pneumonia. An Official Clinical Practice Guideline of the American Thoracic Society and Infectious Diseases Society of America. *Am J Respir Crit Care Med*. 2019 Oct 1; 200(7): e45e67. doi: 10.1164/rccm.201908-1581ST.
22. Russell C.D., Millar J.E., Baillie J.K. Clinical evidence does not support corticosteroid treatment for 2019-nCoV lung injury. *The Lancet*. 2020; 395(10223): 473–475. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30317-2.
23. Поддубная И.В., Сычев Д.А. Особенности ведения онкологических пациентов во время пандемии коронавирусной инфекции COVID-19 [Интернет]. URL: <https://rosoncweb.ru/news/COVID-19/2020/04/07-2/module.pdf> (дата обращения: 01.04.2020).
- [Poddubnaya I.V., Sychev D.A. Features of managing of oncological patients during a pandemic of coronavirus infection COVID-19. [Internet]. URL: <https://rosoncweb.ru/news/COVID-19/2020/04/07-2/module.pdf> (дата обращения: 01.04.2020). (in Russian)].
24. Hung I.F., Lung K.C., Tso E.Y., Liu R., Chung T.W., Chu M.Y., Ng Y.Y., Lo J., Chan J., Tam A.R., Shum H.P., Chan V., Wu A.K., Sin K.M., Leung W.S., Law W.L., Lung D.C., Sin S., Yeung P., Yip C.C., Zhang R.R., Fung A.Y., Yan E.Y., Leung K.H., Ip J.D., Chu A.W., Chan W.M., Ng A.C., Lee R., Fung K., Yeung A., Wu T.C., Chan J.W., Yan W.W., Chan W.M., Chan J.F., Lie A.K., Tsang O.T., Cheng V.C., Que T.L., Lau C.S., Chan K.H., To K.K., Yuen K.Y. Triple combination of interferon beta-1b, lopinavir-ritonavir, and ribavirin in the treatment of patients admitted to hospital with COVID-19: an open-label, randomised, phase 2 trial. *Lancet*. 2020 May 30; 395(10238): 1695–1704. doi: 10.1016/S0140-6736(20)31042-4.
25. COVID-19: Elective Case Triage Guidelines for Surgical Care. American College of Surgeons. March 24, 2020. <https://www.facs.org/COVID-19/clinical-guidance/elective-case/>.
26. Mayor S. COVID-19: impact on cancer workforce and delivery of care. *Lancet Oncol*. 2020 May; 21(5): 633. doi: 10.1016/S1470-2045(20)30240-0.
27. Simcock R., Thomas T.V., Estes C., Filippi A.R., Katz M.A., Pereira I.J., Saeed H. COVID-19: Global radiation oncology's targeted response for pandemic preparedness. *Clin Transl Radiat Oncol*. 2020 Mar 24; 22: 55–68. doi: 10.1016/j.ctro.2020.03.009.
28. Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19) у онкологических больных [Интернет]. URL: <https://oncology-association.ru/files/pdf/2020/COVID.pdf> (дата обращения: 01.04.2020). [Prevention, diagnostics and treatment of new coronavirus infection (COVID-19) in oncologic patients [Internet]. URL: <https://oncology-association.ru/files/pdf/2020/COVID.pdf> (cited: 01.04.2020). (in Russian)].
29. ESMO management and treatment adapted recommendations in the COVID-19 era: primary brain tumours [Internet]. URL: <https://www.esmo.org/guidelines/cancer-patient-management-during-the-COVID-19-pandemic/primary-brain-tumours-in-the-COVID-19-era> (cited: 01.04.2020).
30. ESMO management and treatment adapted recommendations in the COVID-19 era: diffuse large B-cell lymphoma, mantle cell lymphoma and aggressive T-cell lymphomas [Internet]. URL: <https://www.esmo.org/guidelines/cancer-patient-management-during-the-COVID-19-pandemic/haematological-malignancies-dlbcl-mcl-and-aggressive-t-cell-lymphoma-in-the-COVID-19-era> (cited: 01.04.2020).
31. ESMO management and treatment adapted recommendations in the COVID-19 era: multiple myeloma [Internet]. URL: <https://www.esmo.org/guidelines/cancer-patient-management-during-the-COVID-19-pandemic/haematological-malignancies-multiple-myeloma-in-the-COVID-19-era> (cited: 01.04.2020).
32. ESMO management and treatment adapted recommendations in the COVID-19 era: breast cancer [Internet]. URL: <https://www.esmo.org/guidelines/cancer-patient-management-during-the-COVID-19-pandemic/breast-cancer-in-the-COVID-19-era> (cited: 01.04.2020).
33. ESMO management and treatment adapted recommendations in the COVID-19 era: colorectal cancer [Internet]. URL: <https://www.esmo.org/guidelines/cancer-patient-management-during-the-COVID-19-pandemic/gastrointestinal-cancers-colorectal-cancer-crc-in-the-COVID-19-era> (cited: 01.04.2020).
34. ESMO management and treatment adapted recommendations in the COVID-19 era: renal cell cancer [Internet]. URL: <https://www.esmo.org/guidelines/cancer-patient-management-during-the-COVID-19-pandemic/genitourinary-cancers-renal-cell-cancer-in-the-COVID-19-era> (cited: 01.04.2020).
35. ESMO management and treatment adapted recommendations in the COVID-19 era: prostate cancer [Internet]. URL: <https://www.esmo.org/guidelines/cancer-patient-management-during-the-COVID-19-pandemic/genitourinary-cancers-prostate-cancer-in-the-COVID-19-era> (cited: 01.04.2020).
36. ESMO management and treatment adapted recommendations in the COVID-19 era: epithelial ovarian cancer [Internet]. URL: <https://www.esmo.org/guidelines/cancer-patient-management-during-the-COVID-19-pandemic/gynaecological-malignancies-epithelial-ovarian-cancer-in-the-COVID-19-era> (cited: 01.04.2020).
37. ESMO management and treatment adapted recommendations in the COVID-19 era: melanoma [Internet]. URL: <https://www.esmo.org/guidelines/cancer-patient-management-during-the-COVID-19-pandemic/melanoma-in-the-COVID-19-era> (cited: 01.04.2020).
38. Penel N., Bonvalot S., Minard V., Orbach D., Gouin F., Corradini N., Brahmi M., Marec-Bérard P., Briand S., Gaspar N., Llacer C., Carrère S., Dufresne A., Le Cesne A., Blay J.Y. French Sarcoma Group proposals for management of sarcoma patients during the COVID-19 outbreak. *Ann Oncol*. 2020 Apr 9; 31(7): 965–966. doi: 10.1016/j.annonc.2020.03.308.

39. Bersanelli M. Controversies about COVID-19 and anticancer treatment with immune checkpoint inhibitors. Immunotherapy. 2020 Apr; 12(5): 269–273. doi: 10.2217/imt-2020-0067.

40. Mei H., Dong X., Wang Y., Tang L., Hu Y. Managing patients with cancer during the COVID-19 pandemic: frontline experience from Wuhan. Lancet Oncol. 2020 May; 21(5): 634–636. doi: 10.1016/S1470-2045(20)30238-2.

41. Главный внештатный онколог Минздрава: рак не уходит на карантин [Интернет]. URL: <https://tass.ru/interviews/8391689> (дата обращения: 01.04.2020). [Chief freelance oncologist of the Ministry of Health: cancer does not go to quarantine [Internet]. URL: <https://tass.ru/interviews/8391689> (cited 01.04.2020). (in Russian)].

42. Геращенко Я.Л. Обзор клинических рекомендаций по ведению пациентов с подтвержденной коронавирусной болезнью (COVID-19) выпущенных Американским национальным центром иммунизации

и респираторных заболеваний (NCIRD). Русский медицинский журнал [Интернет]. URL: <https://www.rmj.ru/articles/infektsiya/obzor-klinicheskikh-rekomendatsiy-po-vedeniyu-patsientov-s-podtverzhdennoy-koronavirusnoy-boleznyu-COVID-19-vypushchennykh-amerikanskim-natsionalnym-tsentrom-immunizatsii-i-respiratornykh-zabolevaniy-ncird/> (дата обращения: 01.04.2020). [Gerashchenko Ya.L. Review of clinical guidelines for the management of patients with confirmed coronavirus disease (COVID-19) issued by the American national center for immunization and respiratory diseases (NCIRD). Russian Medical Journal [Internet]. URL: <https://www.rmj.ru/articles/infektsiya/obzor-klinicheskikh-rekomendatsiy-po-vedeniyu-patsientov-s-podtverzhdennoy-koronavirusnoy-boleznyu-COVID-19-vypushchennykh-amerikanskim-natsionalnym-tsentrom-immunizatsii-i-respiratornykh-zabolevaniy-ncird/> (cited 01.04.2020). (in Russian)].

Поступила/Received 26.05.2020
Принята в печать/Accepted 30.05.2020

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Каприн Андрей Дмитриевич, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, главный внештатный онколог Минздрава России; генеральный директор ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России; директор Московского научно-исследовательского онкологического института им. П.А. Герцена (г. Москва, Россия). E-mail: kaprin@mail.ru. ORCID: 0000-0001-8784-8415.

Гамеева Елена Владимировна, кандидат медицинских наук, заместитель директора по лечебной работе, Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России (г. Москва, Россия). ORCID: 0000-0002-8509-4338.

Поляков Александр Андреевич, клинический ординатор, Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России (г. Москва, Россия). ORCID: 0000-0003-4117-0041.

Корницкая Анна Леонидовна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отделения химиотерапии, Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России (г. Москва, Россия). ORCID: 0000-0003-0092-0459.

Рубцова Наталья Алефтиновна, доктор медицинских наук, заведующая отделом лучевой диагностики, Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России (г. Москва, Россия). ORCID: 0000-0001-8378-4338.

Феденко Александр Александрович, доктор медицинских наук, руководитель отдела лекарственного лечения опухолей, Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России (г. Москва, Россия). E-mail: fedenko@eesg.ru. ORCID: 0000-0003-4927-5585.

ВКЛАД АВТОРОВ

Каприн Андрей Дмитриевич: анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Гамеева Елена Владимировна: анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Поляков Александр Андреевич: разработка концепции научной работы, обзор публикаций по теме статьи, написание текста статьи.

Корницкая Анна Леонидовна: анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Рубцова Наталья Алефтиновна: анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Феденко Александр Александрович: анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Andrey D. Kaprin, MD, DSc, Professor, Member of the Russian Academy of Sciences, Chief Oncologist of Ministry of Health of Russia; General Director of National Medical Research Center of Radiology of Ministry of Health of Russia; Director of P.A. Hertsen Moscow Oncology Research Center (Moscow, Russia). E-mail: kaprin@mail.ru. ORCID: 0000-0001-8784-8415.

Elena V. Gameeva, MD, PhD, Deputy Director, P.A. Hertsen Moscow Oncology Research Center – branch of FSBI NMRRС of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0002-8509-4338.

Alexander A. Polyakov, MD, Clinical Resident, P.A. Hertsen Moscow Oncology Research Center – branch of FSBI NMRRC of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0003-4117-0041.

Anna L. Kornietzkaya, MD, PhD, Senior Researcher, Department of Chemotherapy of P.A. Hertsen Moscow Oncology Research Center – branch of FSBI NMRRC of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0003-0092-0459.

Natalia A. Rubtsova, MD, DSc, Head of Radiology Department, P.A. Hertsen Moscow Oncology Research Center – branch of FSBI NMRRC of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0001-8378-4338.

Alexander A. Fedenko, MD, DSc, Head of the Department of Drug Treatment of Tumors, P.A. Hertsen Moscow Oncology Research Center – branch of FSBI NMRRC of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia). E-mail: fedenko@eesg.ru. ORCID: 0000-0003-4927-5585.

AUTHOR CONTRIBUTION

Andrey D. Kaprin: data analysis, critical revision for important intellectual content.

Elena V. Gameeva: data analysis, critical revision for important intellectual content.

Alexander A. Polyakov: study conception, literature review, writing of the manuscript.

Anna L. Kornietzkaya: data analysis, critical revision for important intellectual content.

Natalia A. Rubtsova: data analysis, critical revision for important intellectual content.

Alexander A. Fedenko: data analysis, critical revision for important intellectual content.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

DOI: 10.21294/1814-4861-2020-19-2-23-37
УДК: 618.1-006.6(571.6)

Для цитирования: Гордиенко В.П., Леонтьева С.Н., Коробкова Т.Н. Рак репродуктивных органов у женщин Дальневосточного федерального округа. Сибирский онкологический журнал. 2020; 19(3): 23–37. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-2-23-37.

For citation: Gordienko V.P., Leontjeva S.N., Korobkova T.N. Cancer of the female reproductive system in the Far Eastern Federal District. Siberian Journal of Oncology. 2020; 19(3): 23–37. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-2-23-37.

РАК РЕПРОДУКТИВНЫХ ОРГАНОВ У ЖЕНЩИН ДАЛЬНЕВОСТОЧНОГО ФЕДЕРАЛЬНОГО ОКРУГА

В.П. Гордиенко¹, С.Н. Леонтьева², Т.Н. Коробкова²

ФГБОУ ВО «Амурская государственная медицинская академия» Минздрава России,
г. Благовещенск, Россия¹

Россия, 675000, г. Благовещенск, ул. Горького, 95. E-mail: agma@amur.ru¹

ГАУЗ АО «Амурский областной онкологический диспансер», г. Благовещенск, Россия²
Россия, 675000, г. Благовещенск, ул. Октябрьская, 110. E-mail: onko2@amur.ru²

Аннотация

Целью исследования явилась научная оценка основных показателей заболеваемости и смертности населения от рака женских репродуктивных органов в Дальневосточном федеральном округе за 2008–17 гг. **Материал и методы.** В процессе работы использованы показатели заболеваемости и смертности, отчетные формы статистического учета онкологических больных и регламентирующие документы вышестоящих организаций, информация о десятилетних наблюдениях за динамикой изменений цифровых показателей исследуемой патологии. **Результаты.** Приведены основные показатели заболеваемости и смертности больных раком женских репродуктивных органов в Дальневосточном федеральном округе, где в 2017 г. зарегистрировано 25 155 новых случаев злокачественных новообразований, что на 26,6 % больше, чем десять лет назад (2008 г. – 19 846). Под диспансерным наблюдением находились 128 776 пациенток, т.е. 2,1 % населения региона. За исследуемый период времени возросло количество больных с I–II стадиями заболевания при раке молочных желез (+4,8 %), шейки матки (+6,3 %), тела матки (+3,9 %) и раке яичников (+5,7 %) с одновременным снижением числа пациенток с запущенными формами, кроме рака яичников (+5,0 %) за счёт его уменьшения при выявлении III стадии болезни. За последние 10 лет заболеваемость постоянно увеличивалась, а смертность снижалась за исключением рака шейки матки (+13,7 %). Процент активно выявленных больных вырос при всех локализациях опухолей, так же как и индекс накопления контингентов больных на конец года. Морфологическое подтверждение диагноза (свыше 90 %) превысило среднереспубликанские показатели. Удельный вес больных, состоящих на учете 5 и более лет, оказался ниже среднероссийских значений, но улучшились показатели смертности на первом году с момента установления диагноза. Среди всех локализаций репродуктивных органов остается высоким уровень запущенности при раке яичников (22,9–27,9 %). **Выводы.** На фоне возрастающего общего числа больных со злокачественными новообразованиями на территории Дальневосточного федерального округа в начале XXI века отмечается постоянное увеличение заболеваемости и снижение смертности (кроме рака шейки матки) при раке органов женской репродуктивной системы.

Ключевые слова: рак женских репродуктивных органов, рак молочной железы, рак шейки матки, рак тела матки, рак яичников, заболеваемость, смертность, Дальневосточный федеральный округ.

CANCER OF THE FEMALE REPRODUCTIVE SYSTEM IN THE FAR EASTERN FEDERAL DISTRICT

V.P. Gordienko¹, S.N. Leontjeva², T.N. Korobkova²

Amur State Medical Academy, Ministry of Health of the Russian Federation, Blagoveshchensk, Russia¹
95, Gorkogo str., 675000, Blagoveshchensk, Russia. E-mail: Agma@amur.ru¹

Amur Regional Cancer Center, Blagoveshchensk, Russia²

110, Oktyabrskaya str., 675000, Blagoveshchensk, Russia, E-mail: Onko2@amur.ru²

Abstract

The aim of the study was to assess the incidence and mortality rates of female reproductive system cancer in the Far Eastern Federal District over the last ten years (2008–2017). **Material and Methods.** In our study we used statistical reports on the female reproductive system cancer incidence and mortality rates and 10-year follow-up data. **Results.** In 2017, 25155 new cases of female reproductive system cancer were diagnosed in the Far Eastern Federal District (26.6 % higher than in 2008). A total of 128776 patients (2.1 % of the population of the region) were followed up. Over the study period, there has been increase in the number of patients with stage I–II breast cancer (+4.8 %), cervical cancer (+6.3 %), uterine body (+3.9 %) and ovarian cancer (+5.7 %), with simultaneous reduction in the number of patients with advanced stages, except ovarian cancer (+5.0 %). For the past 10 years, cancer incidence rates have been steadily increasing, while cancer mortality rates have been decreasing with the exception of cervical cancer (+13.7 %). Morphological confirmation of the diagnosis (over 90 %) exceeded the national average ones. The number of patients followed-up for 5 or more years appeared to be lower than the average values in Russia; however the 1-year mortality rates after diagnosis improved. Ovarian cancer remains the most deadly of the gynecological cancers (22.9–27.9 %). **Conclusion.** Over the last ten years in the Far Eastern Federal District, in contrast to the overall decline in the mortality rates, there has been a steady increase in the incidence rates of female reproductive system cancer, except for cervical cancer.

Key words: cancer of the female reproductive system, cervical cancer, uterine body, ovarian cancer, cancer incidence, cancer mortality, the Far Eastern Federal District, breast cancer.

Ежегодный неуклонный рост абсолютного числа больных в Российской Федерации с установленным впервые в жизни диагнозом злокачественного новообразования (ЗНО) обусловлен крайне низким уровнем управляемости, прежде всего из-за невозможности связать заболевание (в подавляющем большинстве случаев) с конкретной причиной, а, следовательно, и устранить ее. Неравномерность распространения ЗНО в РФ подтверждает общепринятую в настоящее время концепцию Higgison и Muir (1999), когда не менее 80–90 % случаев онкологической патологии считаются следствием воздействия внешних факторов (любые факторы негенетической природы, причинно связанные либо с прямой индукцией рака, либо с модификацией риска развития неопластического процесса) [1, 2].

Отсюда становится понятной необходимость проведения на различных территориях страны эпидемиологических исследований, способных дать представление об индивидуальном и популяционном риске заболевания в связи с различными характеристиками индивидуума или целой популяционной группы. Эпидемиологические данные являются одним из главных источников информации о причинах развития ЗНО и в значительной мере определяют направления развития

фундаментальных и клинических исследований в онкологии [3, 4].

Медико-социальные особенности онкологической ситуации в Дальневосточном федеральном округе (ДФО) определяются рядом факторов, неблагоприятно влияющих на результаты медицинского обслуживания больных со злокачественными новообразованиями. Во-первых, это значительная площадь территории (6 216 000 км²) и малая плотность заселения (1,3 человека на 1 км²); во-вторых, отдаление от современных онкологических центров более одной трети жителей, преимущественно сельской местности, что снижает доступность медицинской помощи и оказывает отрицательное влияние на её качество; в-третьих, недостаточная обеспеченность лечебно-профилактических учреждений (ЛПУ) в отдельных областях подготовленными по онкологии специалистами [5, 6]. Все вышеперечисленное представляет определенный интерес в плане изучения качества оказания медицинской помощи больным с онкологической патологией в ДФО.

Целью исследования явилась научная оценка основных показателей заболеваемости и смертности женского населения от рака репродуктивных органов в Дальневосточном федеральном округе за 2008–17 гг.

Материал и методы

В рамках выполнения настоящей работы изучалась динамика показателей заболеваемости и смертности больных с онкологической патологией в соответствии с Международной статистической классификацией болезней десятого пересмотра [7], отчетные формы № 35 (до 27.12.2016 г.) и форма № 7 «Сведения о ЗНО» по региону и его административным территориям за 2008–17 гг., учетная форма № 030-6 «Контрольная карта диспансерного больного». Исследовались учетно-отчетные документы: «Извещение о больном злокачественным новообразованием» (форма 090/у), «Медицинская карта амбулаторного больного (форма 025/у)», «Протокол запущенности (форма 027-2/у)» и годовые отчеты ЛПУ отдельного региона. В качестве объекта для сопоставления данных использовались публикуемые в открытом доступе официальные справочные материалы МНИОИ им. П.А. Герцена [2, 6, 8, 9], информация Федеральной службы государственной статистики [10] и регламентирующие документы МЗ РФ, интерпретируемые авторами с учетом собственных предложений по совершенствованию онкологической помощи населению на территории отдельно взятого региона Российской Федерации [11, 12]. В ретроспективном анализе осуществлен расчет абсолютных, относительных и средних величин. Все полученные результаты были обработаны с помощью стандартных программ в системе EXEL и STATISTICA-10 с использованием информационных технологий онкологической статистики, предложенной В.М. Мерабишвили [13, 14].

Результаты

Основными причинами смертности населения РФ в последний год прошедшего десятилетия остаются заболевания органов кровообращения, выявленные у 862 895 (47,2 %) человек, злокачественные новообразования – у 294 587 (16,1 %) и внешние причины смерти – у 152 741 (8,4 %) [15].

В 2017 г. в России было выявлено 617 177 новых случаев злокачественных новообразований. Прирост данного показателя по сравнению с 2016 г. составил 3 %. В территориальных специализированных онкологических учреждениях страны под диспансерным наблюдением находились 3 630 567 пациентов (2016 г. – 3 518 842; 2008 г. – 2 607 223).

Злокачественные опухоли репродуктивной системы являются ведущей патологией (39,2 %) у женского населения на всем огромном пространстве Российского государства. Обобщенные данные эпидемиологических исследований свидетельствуют о том, что в 2017 г. в стране было учтено 70 569 случаев рака женских молочных желез (РМЖ), 26 081 рака тела матки (РТМ), 17 587 рака шейки матки (РШМ) и 14 567 случаев

рака яичников (РЯ). Интенсивный показатель составлял при РМЖ – 89,60 ‰_{0000} , РТМ – 33,11 ‰_{0000} , РШМ – 22,33 ‰_{0000} и РЯ – 18,50 ‰_{0000} , а стандартизованный (мировой стандарт) – 51,95 ‰_{0000} , 18,35 ‰_{0000} , 15,76 ‰_{0000} , 11,40 ‰_{0000} соответственно. Вне конкуренции среди ЗНО у женщин на протяжении многих лет остается рак молочной железы (21,1 %) и на третьем месте – рак тела матки (7,8 %). Причиной смерти рак репродуктивных органов в 2017 г. стал у 44 607 женщин (2008 г. – 42 808), что составило 15,3 % (2008 г. – 14,9 %) от общего числа ушедших из жизни в стране от онкологических заболеваний [6].

На территории ДВФО в 2017 г. заболело злокачественными новообразованиями 25 155 человек (2008 г. – 19 846), из них мужчин – 11 683 (46,4 %) и женщин – 13 472 (53,6 %). Уровень заболеваемости мужского населения соответствует второму месту среди регионов Российской Федерации, тогда как у женщин – четвертому. Темпы прироста числа заболевших среди женщин были выше, чем среди мужчин. За последние 10 лет количество заболевших ЗНО увеличилось на 26,6 %. По России подобное увеличение произошло на 25,7 % (мужчин – на 23,2 %, женщин – на 29,9 %).

Структура основных локализаций ЗНО в 2017 г. по округу выглядит следующим образом: на первом месте рак кожи с меланомой – 13,9 % (2016 г. – 12,5 %), на втором – рак трахеи, бронхов и легкого – 12,6 % (2016 г. – 12,6 %), на третьем – рак молочной железы – 10,5 % (2016 г. – 11,2 %).

Ежегодно здесь регистрируется около 5 000 (4 906) новых случаев злокачественных новообразований женской репродуктивной системы, из них РМЖ – 2599, РШМ – 849, РТМ – 814, РЯ – 539. Интенсивный («грубый») показатель на 100 000 населения по раку молочной железы составил 80,96 ‰_{0000} , по раку шейки матки – 26,45 ‰_{0000} , по раку тела матки – 25,36 ‰_{0000} и по раку яичников – 16,79 ‰_{0000} , а стандартизованный (мировой стандарт) – 49,30 ‰_{0000} , 18,74 ‰_{0000} , 14,78 ‰_{0000} и 11,03 ‰_{0000} соответственно. Регионы ДВФО характеризуются разными уровнями распространения данной патологии. Наиболее высокие стандартизованные показатели по РМЖ и РШМ регистрировались в Магаданской (68,06 ‰_{0000} , 40,82 ‰_{0000}) и Сахалинской (55,06 ‰_{0000} , 22,23 ‰_{0000}) областях, по РТМ – в Чукотском автономном округе (20,67 ‰_{0000}) и Хабаровском крае (19,30 ‰_{0000}), по РЯ – в Еврейской автономной области (18,90 ‰_{0000}) и Хабаровском крае (12,28 ‰_{0000}). Низкие уровни заболеваемости отмечены по РМЖ, РТМ и РЯ в Якутии (37,68 ‰_{0000} , 6,69 ‰_{0000} , 8,82 ‰_{0000} соответственно), по РШМ – в Еврейской автономной области – 9,93 ‰_{0000} (табл. 1).

В работе онкологических учреждений значительная роль отводится оценке качества оказания медицинской помощи больным со злокачественными новообразованиями, в основе которой лежат

Таблица 1/Table 1

Рак женских репродуктивных органов (С 50,53,54,56) в ДВФО. Заболеваемость, смертность на 100 000 населения (стандартизованные показатели), индекс достоверности учета (2017 г.)

Cancer of the female reproductive system in the Far Eastern Federal District. Incidence and morbidity rates per 100,000 population (standardized rates), confidence index (2017)

Территория/ Territory	Заболеваемость/Incidence rate				Смертность/Mortality rate				Индекс достоверности учета/ Confidence index			
	РМЖ/ Breast cancer (BC)	РШМ/ Cervical cancer (CC)	РТМ/ Endometrial cancer (EC)	РЯ/ Ovarian cancer (OC)	РМЖ/BC	РШМ/CC	РТМ/EC	РЯ/OC	РМЖ/BC	РШМ/CC	РТМ/EC	РЯ/OC
Приморский край/ Primorsky Krai	48,82	17,03	13,79	12,28	15,47	7,49	4,74	5,19	0,32	0,44	0,34	0,42
Хабаровский край/ Khabarovsk region	51,94	15,29	19,30	10,54	11,69	6,55	3,94	5,83	0,23	0,43	0,20	0,55
Амурская область/ Amur region	53,87	20,58	16,24	9,80	14,96	7,99	4,09	4,45	0,28	0,39	0,25	0,45
Камчатский край/ Kamchatka Krai	49,94	21,29	17,34	9,71	14,01	8,02	2,12	4,88	0,28	0,38	0,12	0,50
Магаданская обл./ Magadan region	68,06	40,82	18,59	10,00	10,67	9,08	3,55	6,00	0,16	0,19	0,19	0,60
Сахалинская обл./ Sakhalin region	55,06	22,23	14,15	11,92	15,07	6,88	3,92	6,68	0,27	0,31	0,28	0,56
Чукотский АО/Chukotka Autonomous Okrug	49,56	13,11	20,67	10,14	2,71	3,11	4,78	0,00	0,05	0,24	0,23	–
Саха (Якутия)/ Sakha (Yakutia)	37,68	20,20	6,69	8,82	10,35	6,11	1,79	3,94	0,27	0,30	0,27	0,45
Еврейская АО/ Jewish Autonomous region	42,20	9,93	16,71	18,90	12,39	1,90	6,56	4,80	0,29	0,19	0,39	0,25
ДВФО/Far Eastern Federal District	49,30	18,74	14,78	11,03	13,40	7,03	3,92	5,19	0,11	0,38	0,26	0,47
Россия/Russia	51,95	15,76	18,35	11,40	14,24	5,18	4,00	5,14	0,27	0,33	0,22	0,45

Таблица 2/Table 2

Динамика заболеваемости раком женских репродуктивных органов в ДВФО (С 50,53,54,56) на 100 000 населения

Changes in the female reproductive system cancer incidence in Far Eastern Federal District

Показатель/Value		Абсолютное число/ Absolute number				«Грубый» показатель/ Crude rate				Стандартизованный показатель/ Standardized rate			
		РМЖ/ BC	РШМ/ CC	РТМ/ EC	РЯ/ OC	РМЖ/ BC	РШМ/ CC	РТМ/ EC	РЯ/ OC	РМЖ/ BC	РШМ/ CC	РТМ/ EC	РЯ/ OC
Год/year	2008	2058	720	668	502	61,25	21,43	19,88	14,94	41,26	15,73	13,12	10,32
	2011	2357	775	729	501	72,25	23,76	22,,35	15,36	46,14	17,12	13,96	10,42
	2013	2510	749	760	528	77,45	23,11	23,45	16,29	49,13	16,65	14,49	10,61
	2016	2666	947	788	531	82,86	29,43	24,49	16,50	51,39	21,36	14,46	10,79
	2017	2599	849	814	539	80,96	26,45	25,36	16,79	49,30	18,74	14,78	11,03
Среднее арифметическое M=/ Arythmetic mean M=		2438,0	808,00	751,80	520,20	74,95	24,84	23,11	15,98	47,44	17,92	14,16	10,63
Ошибка среднего арифметического m=/ Error of the mean m=		108,18	40,81	25,29	7,84	3,87	1,40	0,95	0,35	1,76	0,99	0,29	0,13
Стандартное отклонение (сигма) s=/ Standard deviation (sigma) s=		241,89	91,26	56,54	17,54	8,66	3,14	2,13	0,79	3,93	2,21	0,65	0,29
Прирост/убыль, %/ Increase/decrease, %		+26,28	+17,92	+21,85	+7,37	+32,17	+23,42	+27,56	+12,38	+19,48	+19,13	+12,65	+6,87
Среднегодовой прирост/убыль, %/ Mean increase/decrease, %		+2,63	+1,79	+2,18	+0,74	+3,22	+2,34	+2,76	+1,24	+1,95	+1,91	+1,26	+0,69

Таблица 3/Table 3

Показатели активного выявления рака женских репродуктивных органов в ДВФО, %
Rates of detection of female reproductive system cancer in Far Eastern Federal District, %

Территория/ Territory	2008 г.						2011 г.						2013 г.						2016 г.						2017 г.																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																
	РМЖ/BC	РШМ/CC	РТМ/EC	РЯ/OC	РМЖ/BC	РШМ/CC	РТМ/EC	РЯ/OC	РМЖ/BC	РШМ/CC	РТМ/EC	РЯ/OC	РМЖ/BC	РШМ/CC	РТМ/EC	РЯ/OC	РМЖ/BC	РШМ/CC	РТМ/EC	РЯ/OC	РМЖ/BC	РШМ/CC	РТМ/EC	РЯ/OC																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																	
Приморский край/ Primorsky Krai	16,8	20,0	10,3	9,5	10,2	11,7	4,6	2,0	10,1	13,1	2,7	3,4	18,0	22,3	11,3	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	44,1	54,2	44,1	5,8	4

Динамика распределения случаев рака репродуктивных органов у женщин ДВФО (С 50,53,54,56) по стадиям заболевания
Distribution of cases with cancer of the female reproductive system in FEFD

Годы/ Years	Локализа- ция/ Localization	Стадия опухоли/Stage tumors									
		I – II		III		IV		Не установлена/ Not established		Всего/Total	
		Абс./Abs.	%	Абс./Abs.	%	Абс./Abs.	%	Абс./Abs.	%	Абс./Abs.	%
2008	РМЖ/BC	1249	64,5	472	24,4	204	10,5	11	0,6	1936	100
	РШМ/CC	456	66,2	153	22,2	69	10,0	12	1,6	689	100
	РТМ/EC	479	75,6	87	13,7	46	7,3	22	3,5	634	100
2011	РЯ/OC	149	32,2	195	42,1	106	22,9	13	2,8	463	100
	РМЖ/BC	1544	65,7	591	25,1	188	8,0	28	1,2	2351	100
	РШМ/CC	497	64,5	178	23,2	81	10,4	14	1,8	770	100
2013	РТМЕС	555	77,8	89	12,5	43	5,9	27	3,8	714	100
	РЯ/OC	175	35,0	168	33,6	134	26,8	23	4,6	500	100
	РМЖ/BC	1633	65,3	640	25,6	215	8,6	12	0,5	2500	100
2016	РШМ/CC	480	64,7	171	23,0	87	11,7	4	0,5	742	100
	РТМ/EC	591	80,5	75	10,2	56	7,5	13	1,8	735	100
	РЯ/OC	184	36,0	179	35,0	136	26,6	12	2,3	511	100
2017	РМЖ/BC	1802	67,8	641	24,1	207	7,8	8	0,3	2658	100
	РШМ/CC	646	69,3	166	17,8	115	12,3	5	0,5	932	100
	РТМ/EC	587	77,3	101	13,3	60	7,9	11	1,4	759	100
2017	РЯ/OC	194	38,2	177	34,9	130	25,6	6	1,2	507	100
	РМЖ/BC	1798	69,3	593	22,9	187	7,2	17	0,7	2595	100
	РШМ/CC	608	72,5	148	17,7	75	8,9	7	0,8	838	100
2017	РТМ/EC	625	79,5	101	12,8	49	6,2	11	1,4	786	100
	РЯ/OC	197	37,9	175	33,7	145	27,9	3	0,6	520	100

Таблица 5/Table 5

Индекс накопления контингентов (ИНК) больных раком женских репродуктивных органов в ДВФО (С 50,53,54,56)

Index of accumulation of patients (IAP) with cancer of the female reproductive system in FEFD

Годы/Years		2008	2011	2013	2016	2017	Россия/ Russia 2017
ИНК (РМЖ)/IAP (BC)		8,0	8,2	8,6	9,5	10,3	10,3
Количество случаев на конец года/ Number of cases at the end of the year	Абс./Abs. На 100 тыс./ Per 100,000	15 476 238,0	18 332 284,6	20 084 320,9	23 474 378,4	24 525 396,3	669 636 456,5
ИНК (РШМ)/IAP (CC)		7,9	8,0	8,8	7,9	8,9	10,7
Количество случаев на конец года/ Number of cases at the end of the year	Абс./Abs. На 100 тыс./ Per 100,000	5446 83,8	6072 94,3	6318 100,9	7153 115,3	7247 117,1	179440 123,3
ИНК (РТМ)/IAP (EC)		7,3	8,1	8,8	10,0	10,0	10,9
Количество случаев на конец года/ Number of cases at the end of the year	Абс./Abs. На 100 тыс./ Per 100,000	4615 71,0	5452 84,7	6106 97,6	7111 114,6	7268 117,4	257 429 175,5
ИНК (РЯ)/IAP (OC)		5,8	6,6	6,9	8,2	8,0	8,4
Количество случаев на конец года/ Number of cases at the end of the year	Абс./Abs. На 100 тыс./ Per 100,000	2673 41,1	3037 47,2	3332 53,2	3825 61,7	3866 62,5	10 9361 74,6

Таблица 6/Table 6

Удельный вес больных раком женских репродуктивных органов в ДВФО (С 50,53,54,56), состоящих на учете 5 и более лет

Number of patients with cancer of the female reproductive cancer system, who were followed up for ≥5 years

Годы/Years		2008	2011	2013	2016	2017	Россия/ Russia 2017
(РМЖ) Количество случаев на конец года/ (BC)/Number of cases at the end of the year	Абс./Abs. %	8 055 52,1	9 708 53,0	11 108 55,3	13 401 57,1	14107 57,5	404 367 60,4
(РШМ) Количество случаев на конец года/ (CC) Number of cases at the end of the year	Абс./Abs. %	3 339 61,3	3 463 57,0	3 732 59,1	4 399 61,5	4 411 60,9	117 408 65,4
(РТМ) Количество случаев на конец года/ (EC) Number of cases at the end of the year	Абс./Abs. %	2 568 55,6	2 973 54,5	3 294 53,9	4 326 60,8	4 423 60,9	159 972 62,1
(РЯ) Количество случаев на конец года/ (OC) Number of cases at the end of the year	Абс./Abs. %	1443 54,0	1 637 53,9	1 695 50,9	2 225 58,2	2 362 61,1	67 353 61,6

Динамика удельного веса морфологически подтвержденных диагнозов у больных раком женских репродуктивных органов в ДВФО*
Number of morphologically confirmed cases with cancer of the female reproductive system in FEFD *

Морфологически подтвержденные диагнозы/ Morphologically confirmed cases	2008 г.				2011 г.				2013 г.				2016 г.				2017 г.			
	РМЖ/BC	РШМ/CC	РЯ/EC	ПТМ/EC	РМЖ/BC	РШМ/CC	РЯ/EC	ПТМ/EC	РМЖ/BC	РШМ/CC	РЯ/EC	ПТМ/EC	РМЖ/BC	РШМ/CC	РЯ/EC	ПТМ/EC	РМЖ/BC	РШМ/CC	РЯ/EC	ПТМ/EC
Абсолютное число/ Absolute number	1936	689	634	463	2351	770	714	500	2500	742	735	511	2658	932	759	507	2595	838	786	520
%	94,8	93,6	96,4	86,2	92,7	96,2	96,9	83,6	93,4	96,1	96,6	89,4	97,7	97,9	97,2	89,2	97,4	98,0	97,6	93,7

Примечание: * – удельный вес морфологически подтвержденных диагнозов по Российской Федерации в 2017 г.: РМЖ – 96,6 %, РШМ – 98,1 %, РТМ – 97,0 %, РЯ – 90,1 %.

Notes: * – number of morphologically confirmed cases in Russia (2017) – 96.6 %: BC, 98.1 %: CC, 97.0 %: EC, 90.1 %: OC.

Динамика смертности женского населения ДВФО от рака репродуктивных органов (С 50,53,54,56) на 100 000 населения
Female reproductive cancer mortality rates per 100,000 population of FEFD

Показатель/Values	Абсолютное число/ Absolute number					«Грубый» показатель/ Crude rate					Стандартизованный показатель/ Standardized rate				
	РМЖ/ BC	РШМ/ CC	РЯ/ EC	ПТМ/ EC	РМЖ/ BC	РШМ/ CC	РЯ/ EC	ПТМ/ EC	РМЖ/ BC	РШМ/ CC	РЯ/ EC	ПТМ/ EC			
Год/Year	2008 г.	834	305	227	285	24,82	9,08	6,76	8,48	16,15	6,08	4,22	5,52		
	2011 г.	824	330	259	261	25,26	10,12	7,94	8,00	15,15	7,00	4,80	5,00		
	2013 г.	910	343	243	275	28,08	10,58	7,50	8,49	16,43	7,02	4,27	5,28		
	2016 г.	759	349	241	251	23,59	10,85	7,49	7,80	13,36	7,19	4,02	4,49		
	2017 г.	781	344	239	295	24,33	10,72	7,45	9,19	13,40	7,03	3,92	5,19		
Среднее арифметическое M=/ Arithmetic mean M=	821,6	334,2	241,8	273,4	25,22	10,27	7,43	8,39	14,90	6,86	4,25	5,10			
Ошибка среднего арифметического m=/ Error of the mean m=	26,02	7,95	5,12	7,93	0,77	0,32	0,19	0,24	0,66	0,20	0,15	0,17			
Стандартное отклонение (сигма) s=/ Standard deviation (sigma) s=	58,18	17,77	11,45	17,74	1,72	0,72	0,42	0,54	1,47	0,44	0,34	0,39			
Прирост/убыль, %/ Increase/decrease, %	-6,36	+12,78	+5,28	+3,51	-1,98	+18,06	+10,21	+8,37	-17,03	+13,75	-7,11	-5,98			
Среднегодовой прирост/убыль, %/ Mean increase/decrease, %	-0,64	+1,28	+0,53	+0,35	-0,19	+1,81	+1,02	+0,84	-1,70	+1,37	-0,71	-0,59			

Таблица 9/Table 9
Динамика показателей летальности (%) на первом году с момента установления диагноза ЗНО в ДВФО (С 50,53, 54, 56)
Mortality rates (%) within 1 year after diagnosis

Территория/ Territory	2008 г.						2011 г.						2013 г.						2016 г.						2017 г.					
	РМЖ/BC	РШМ/CC	ПТМ/EC	РЯ/OC	РМЖ/BC	РШМ/CC	ПТМ/EC	РЯ/OC	РМЖ/BC	РШМ/CC	ПТМ/EC	РЯ/OC	РМЖ/BC	РШМ/CC	ПТМ/EC	РЯ/OC	РМЖ/BC	РШМ/CC	ПТМ/EC	РЯ/OC	РМЖ/BC	РШМ/CC	ПТМ/EC	РЯ/OC	ПТМ/EC	РЯ/OC	РМЖ/BC	РШМ/CC	ПТМ/EC	РЯ/OC
Приморский край/ Primorsky Krai	10,9	20,9	16,0	26,2	7,6	22,5	5,0	24,7	7,8	17,7	9,4	28,1	7,6	17,3	14,3	23,8	7,2	21,6	11,8	23,4										
Хабаровский край/ Khabarovsk region	10,0	23,4	20,8	20,7	4,4	22,8	9,1	18,7	4,4	14,7	5,8	17,0	6,3	7,8	5,8	25,0	5,9	19,3	10,1	14,7										
Амурская область/ Amur region	10,0	20,0	11,4	31,0	8,6	18,3	9,2	18,4	6,4	19,3	12,7	16,7	8,2	25,9	7,3	15,3	5,5	25,9	10,0	17,8										
Камчатский край/ Kamchatka Krai	6,5	7,9	3,6	29,2	5,1	8,5	2,0	13,8	6,3	10,8	5,0	15,4	6,6	5,2	0,0	21,4	6,0	8,3	0,0	7,4										
Магаданская область/ Magadan region	10,6	18,2	16,7	20,0	9,8	16,7	7,7	25,0	10,2	9,1	0,0	0,0	8,6	12,0	15,0	14,3	8,0	6,3	10,5	21,4										
Сахалинская область/ Sakhalin region	8,4	21,3	13,7	30,0	9,0	14,9	20,0	26,1	6,9	22,4	6,9	30,4	9,9	18,7	11,1	19,7	6,9	15,1	10,9	29,5										
Чукотский АО/ Chukotka Autonomous Okrug	7,1	0,0	0,0	0,0	7,1	0,0	0,0	0,0	11,1	9,1	0,0	0,0	11,1	37,5	0,0	16,7	0,0	25,0	0,0	50,0										
Саха (Якутия)/ Sakha (Yakutia)	8,4	27,5	11,5	29,2	7,5	22,5	10,4	32,1	14,5	14,1	14,1	30,4	6,3	6,8	12,0	25,4	2,2	13,6	16,9	25,5										
Еврейская АО/ Jewish Autonomous region	8,5	6,3	13,3	9,1	24,5	31,8	23,8	0,0	11,5	43,8	16,7	26,7	2,5	26,1	27,8	13,3	9,2	23,1	13,6	22,2										
ДВФО/ Far Eastern Federal District	9,8	20,8	15,1	25,7	7,4	20,3	8,6	22,7	7,4	16,8	8,6	23,4	7,3	15,1	10,4	22,2	6,2	18,2	10,8	21,2										
Россия/Russia	9,7	19,4	11,2	26,2	8,7	17,4	10,4	24,6	7,4	16,5	9,4	23,7	6,4	14,6	8,6	22,0	6,0	14,3	8,2	20,9										

Отношение показателей годовой летальности отчетного года и запущенности (IV ст.) предыдущего отчетного года при раке женских репродуктивных органов в ДВФО (С 50,53, 54, 56)

The ratio of the 1-year mortality rates of the reporting year and the incidence of advanced stage cancer (stage IV) of the previous reporting year in women with reproductive system cancer in the Far Eastern Federal District

Территория/ Territory	2008 г.				2011 г.				2013 г.				2016 г.				2017 г.			
	РМЖ/ BC	РШМ/ CC	РТМ/ EC	РЯ/ OC	РМЖ/ BC	РШМ/ CC	РТМ/ EC	РЯ/ OC	РМЖ/ BC	РШМ/ CC	РТМ/ EC	РЯ/ OC	РМЖ/ BC	РШМ/ CC	РТМ/ EC	РЯ/ OC	РМЖ/ BC	РШМ/ CC	РТМ/ EC	РЯ/ OC
Приморский край/ Primorsky Krai	0,76	1,92	1,35	0,83	0,66	2,14	0,91	0,89	0,81	1,40	1,09	0,75	0,90	1,12	0,93	0,63	0,85	1,37	1,27	0,71
Хабаровский край/ Khabarovsk region	0,96	2,36	2,77	0,77	1,00	1,55	1,44	0,81	0,54	1,37	1,93	0,56	0,82	1,04	1,11	0,82	0,74	1,25	1,03	0,73
Амурская область/ Amur region	2,00	2,98	1,50	1,28	1,46	1,21	1,00	1,51	0,74	1,05	2,95	0,95	1,26	3,54	1,62	1,89	1,08	7,62	3,45	1,71
Камчатский край/ Kamchatka Krai	0,54	3,04		1,75	0,43	1,39	0,24	1,34	0,56	1,77	1,00	1,00	1,06	0,51	1,00	1,00	0,77	1,00		0,31
Магаданская область/ Magadan region	1,39	1,00		0,50	0,75	0,75	1,00	0,79	0,70	3,03			1,72	0,78	1,58	1,43	0,82	1,00	2,10	1,61
Сахалинская область/ Sakhalin region	0,80	1,77	1,75	1,00	1,12	1,29	2,00	4,01	0,75	2,63	0,79	1,94	0,88	2,87	1,34	1,08	0,80	1,84	2,14	1,62
Чукотский АО/ Chukotka Autonomous Okrug	0,25				0,16				0,66	0,50			1,00	1,51		0,50		0,50		1,00
Саха (Якутия)/ Sakha (Yakutia)	0,87	4,36	3,02	1,75	0,73	2,25	0,71	1,42	1,02	1,28	0,97	2,09	0,63	1,01	0,92	0,90	0,29	0,92	1,24	0,71
Еврейская АО/ Jewish Autonomous region	0,55	0,33	1,98	0,33	1,85	3,49	1,66	-	1,31	1,75	2,17	0,80	0,57	3,00	5,79	0,33	1,23	1,64		0,66
ДВФО/ Far Eastern Federal District					0,83	1,72	1,79	1,05	0,76	1,42	1,24	0,86	0,90	1,42	1,09	0,79	0,79	1,48	1,37	0,83
Россия/Russia	0,92	1,98	1,77	1,21	0,87	1,91	1,62	1,13	0,80	1,81	1,71	1,17	0,79	1,55	1,59	1,10	0,73	1,54	1,41	0,99

показатели заболеваемости и смертности (их соотношение), ошибки при первичном обращении заболевших (стадия опухолевого процесса) и недостатки учета. Несмотря на огромную территорию ДВФО, индекс достоверности учета (ИДУ) всего перечисленного выше сопоставим в разных областях региона. Усредненные данные этого показателя практически не выходят за рамки среднероссийских, хотя колебания между минимальными и максимальными цифровыми значениями в отдельных локализациях женской репродуктивной системы несколько разнятся: РМЖ – 0,05–0,32, РШМ – 0,190,44, РТМ – 0,12–0,39, РЯ – 0,25–0,60 (табл. 1). Индекс достоверности учета характеризует и активность проведения скрининговых программ на изучаемых территориях, где показатели заболеваемости и смертности могут существенно отличаться в зависимости от места проживания.

Изучение динамики заболеваемости раком органов женской репродуктивной системы показало, что с 2008 г. происходил постоянный рост числа больных при всех локализациях злокачественного процесса, что, в свою очередь, подтверждалось абсолютными, интенсивными («грубыми») и стандартизованными цифровыми значениями. Уровни повышения стандартизованных показателей заболеваемости наиболее выражены у больных РМЖ (19,5 ‰₀₀₀₀) и РШМ (19,1 ‰₀₀₀₀). Анализ заболеваемости на территории ДВФО отметил её снижение в 2017 г. относительно данных 2016 г. у больных раком молочных желез и шейки матки, тогда как при раке тела матки и яичников количество больных продолжило свой динамический прирост по всем трем цифровым показателям (табл. 2).

Уровень заболеваемости и смертности обусловлен в основном качеством работы лечебных учреждений первичного звена по активному выявлению больных со злокачественными новообразованиями и фоновой патологией, что особенно актуально в последние годы, когда в практическое здравоохранение стало возвращаться в прежнем объеме профилактическое направление, т.е. один из главных видов оказания медицинской помощи населению в плане предотвращения болезни и выявления её на ранних этапах развития онкологического процесса (табл. 3). Активная выявляемость в ДВФО ЗНО женской репродуктивной системы в 2017 г. составила: РМЖ – 47,7 % (РФ – 43,5 %); РШМ – 45,6 % (РФ – 42,2 %); РТМ – 35,8 % (РФ – 29,1 %) и РЯ – 23,9 % (РФ – 18,4 %).

Выбор специального метода лечения любого онкологического больного зависит от распространённости злокачественного процесса, т.е. характеристики первичной опухоли и наличия вторичных изменений (как правило, метастатического поражения отдельных органов или лимфатической системы). Степень выраженности этих поражений определяет стадию заболевания, от которой в большинстве случаев зависит дальнейший прогноз

и качество жизни пациента. В 2017 г. среди впервые зарегистрированных больных рак молочной железы I–II стадии был выявлен в 69,3 % (2008 г. – 64,5 %), РШМ – в 72,5 % (2008 г. – 66,2 %), РТМ – в 79,5 % (2008 г. – 75,6 %) и РЯ – в 37,9 % (2008 г. – 32,2 %). Последние годы характеризуются увеличением числа больных РЯ запущенной стадии (IV ст.) при уменьшении заболевших РЯ III стадии, что возможно объяснить не только отсутствием патогномичной симптоматики, характерной для этой локализации, но и регистрацией опухолей яичников даже у детей. Причинами омоложения могут быть участвовавшие у них воспалительные заболевания, частые нарушения менструальной функции и появление опухолей яичников.

Некоторое снижение количества женщин со злокачественным поражением органов репродуктивной системы в запущенных стадиях (РМЖ, РШМ, РТМ) за последние 10 лет не дает повода ослабить внимание к данной патологии как социально значимой и играющей огромную (основную) роль в улучшении демографической ситуации в Российской Федерации (табл. 4).

Контингент больных раком органов женской репродуктивной системы (табл. 5) в 2017 г. на 100 тыс. населения составил при РМЖ – 396,3, при РШМ – 117,1, при РТМ – 117,4 и при РЯ – 62,5. Анализ возрастных особенностей показал, что за весь период наблюдения основное количество больных, представляющих данную патологию, приходилось на возраст 50 лет и старше. Индекс накопления контингентов во всех случаях имел динамику увеличения показателей начиная с 2008 г. Аналогичная картина отмечалась и при оценке абсолютного числа наблюдавшихся больных.

Снижение числа больных в запущенных стадиях злокачественного процесса является важным моментом в улучшении показателей удельного веса пациентов, состоявших на учете 5 и более лет и получивших медицинскую помощь в специализированных клиниках ДВФО начиная с 2008 г.: РМЖ – 52,1 %, РШМ – 61,3 %, РТМ – 55,6 %, РЯ – 54,0 %. К 2017 г. этот показатель несколько снизился у больных раком шейки матки (2008 г. – 61,3 %, 2017 г. – 60,9 %). Использование современных методов радикального лечения ЗНО позволило увеличить удельный вес больных, состоящих на учете 5 лет и более, при РМЖ, РТМ и РЯ (табл. 6).

Выбор оптимального метода лечения больных раком отдельных органов женской репродуктивной системы является, как правило, сложной проблемой, он должен быть обусловлен четким пониманием патофизиологических процессов, лежащих в основе развития гормональной зависимости и гормонорезистентности злокачественных новообразований различной локализации, существующих между ними связей и регуляторных механизмов,

а также должен подтверждаться обязательным морфологическим исследованием с детальной характеристикой клеточных структур данного вида опухоли. Удельный вес больных с верифицированным диагнозом злокачественного новообразования органов репродуктивной системы в 2017 г. представлен цифровыми значениями (табл. 7), которые превышают среднероссийские (РМЖ – 97,4 %, РФ – 96,6 %; РТМ – 97,6 %, РФ – 97,0 %; РЯ – 93,7 %, РФ – 90,1 %) и лишь незначительно ниже они при РШМ – 98,0 % (РФ – 98,1 %).

Одним из наиболее объективных критериев здоровья населения является показатель смертности, который, в отличие от заболеваемости, возможно скорректировать различными вариантами комбинированного или комплексного подходов к лечению в процессе оказания медицинской помощи онкологическим больным. Абсолютное число умерших от ЗНО за прошедшее десятилетие уменьшилось на 53 при РМЖ, но увеличилось при РШМ – 39, РТМ – 12, РЯ – 10, и прирост/убыль при этом составили – 6,36 %, +12,78 %, +5,28 % и +3,51 соответственно (табл. 8). В противоположность абсолютным и интенсивным цифровым значениям смертности стандартизованные показатели выросли только у больных РШМ (+13,75 %), что свидетельствует о недостаточной работе лечебно-профилактических учреждений первичного звена по выявлению визуальных локализаций злокачественных новообразований репродуктивной системы у женщин ДВФО. Некоторые колебания в количестве умерших в отдельные временные отрезки не повлияли на общие и среднегодовые значения прироста/убыли больных женщин с опухолями репродуктивной системы. Высокие уровни смертности характерны для тех же территорий, где регистрировался и высокий уровень заболеваемости. Показательной в этом плане является смертность от ЗНО репродуктивной системы у больных РМЖ в Приморском крае (15,47 ‰₀₀₀₀), РШМ в Магаданской (9,08 ‰₀₀₀₀), РТМ в Еврейской автономной (6,56 ‰₀₀₀₀) и РЯ (6,68 ‰₀₀₀₀) в Сахалинской областях [6].

Приведенные в работе данные по ранней диагностике и запущенности злокачественного процесса, характеризующие основные показатели противораковых мероприятий, могут быть объединены сведениями о динамике одногодичной летальности за 2008–17 гг. (табл. 9). В отчетном году в ДВФО среди всех выявленных больных умерло в течение первых 12 мес от рака молочных желез 6,2 % (РФ – 6,0 %), шейки матки – 18,2 % (РФ – 14,3 %), тела матки – 10,8 % (РФ – 8,2 %) и рака яичников 21,2 % (РФ – 20,9 %). При общей тенденции к снижению показателей прироста/убыли следует отметить существенное уменьшение числа умерших от РМЖ – 2,2 % (2008 г. – 8,4 %) в Якутии, РШМ – 6,3 % (2008 г. – 10,6 %) в Магаданской области, РТМ – 0,0 % (2008 г. – 6,5 %) в Камчатском крае, но очень высоким этот показатель остается в Чукотском автономном округе при РЯ – 50 %.

в Камчатском крае, но очень высоким этот показатель остается в Чукотском автономном округе при РЯ – 50 %.

Отношение показателей одногодичной летальности отчетного года по раку органов репродуктивной системы и запущенности предыдущего отчетного года согласно общепринятому стандарту (1,0) в Дальневосточном федеральном округе в 2017 г. составило при РМЖ – 0,79, при РШМ – 1,48, при РТМ – 1,37, при РЯ – 0,86 (среднероссийские показатели – 0,73, 1,54, 1,41 и 0,99 соответственно). Данный показатель, превышающий единицу, объясняет увеличение количества смертей на ранних сроках развития злокачественного процесса из-за часто неправильной оценки распространенности заболевания и может быть следствием ошибок в учете онкологических больных. Лучшие результаты зарегистрированы по раку МЖ (0,29) в Республике Саха (Якутия), РШМ (0,50) в Чукотском автономном округе, РТМ (1,03) в Хабаровском крае и РЯ (0,66) в Еврейской автономной области (табл. 10).

Обсуждение

Российская Федерация, находясь в условиях демографического кризиса в последние десятилетия, должна стремиться к сокращению прямых и косвенных человеческих потерь, в том числе и за счет снижения заболеваемости злокачественными новообразованиями, которые занимают не последнее место в причинах уменьшения трудоспособного населения, его инвалидизации и смертности.

В Дальневосточном федеральном округе заболеваемость раком женских репродуктивных органов за исследуемый период времени представлена постоянно увеличивающимся количеством больных с темпами прироста, наиболее выраженными при РМЖ (+19,5 %) и РШМ (+19,1 %). Рост онкологической заболеваемости, в частности женских половых органов, обусловлен не только постарением населения, ухудшением качества жизни и экологической обстановки, но и улучшением выявляемости онкологических больных. На фоне снижения числа больных в запущенных стадиях при РМЖ, РШМ и РТМ отмечается динамическое увеличение этого показателя при РЯ (2008 г. – 22,9 %, 2017 г. – 27,9 %), что, несмотря на улучшение возможностей диагностики начальных проявлений заболевания, не позволяет исключить данную патологию из поля зрения медицинских работников, оставляя её в раздле важнейших проблем онкологии.

Ежегодный прирост контингента больных со злокачественными новообразованиями женской репродуктивной системы (РШМ +1,26 %; РМЖ +2,87 %; РТМ +3,69 %; РЯ +3,79 %) дает ДВФО возможность претендовать в исследуемом периоде времени на «лидирующие позиции» среди всех регионов Российской Федерации по этому виду статистической отчетности. Максимальное

приближение к показателям ежегодного прироста численности этой категории больных, в Дальневосточном федеральном округе среди всех регионов РФ отмечено: по РМЖ (1,86 %) и РТМ (1,76 %) в Южном ФО, по РШМ (0,23 %) в Центральном и по РЯ (4,03 %) в Приволжском федеральных округах.

Активное выявление ЗНО в 2017 г. составило по раку молочных желез 47,7 %, РШМ – 45,6 %, РТМ – 35,8 %, РЯ – 23,9 и существенно улучшило показатели 2016 г. Несмотря на положительную динамику за прошедшее десятилетие, следует отметить почти полное отсутствие сведений об активном выявлении рака женских репродуктивных органов до 2013 г. в Камчатском крае и Еврейской автономной области (табл. 3).

Практически все показатели по верификации опухолевого процесса в ДВФО были выше среднероссийских и находились в интервале 93,7–98,0 %, (РФ – 90,1–98,1 %), что не исключает необходимости дальнейшего совершенствования морфологических методов диагностики.

Обеспокоенность вызывает полное отсутствие данных Росстата по структурным составляющим злокачественных новообразований женской репродуктивной системы, которое, по-видимому, объясняется непредоставлением статистической отчетности о летальности на первом году с момента установления диагноза, а интерпретация имеющихся разрозненных показателей не подлежит сравнительной оценке в Чукотском автономном округе, где как свидетельство низкого качества специализированной помощи онкологическим больным следует рассматривать и уровни морфологической верификации РШМ (60 %) и РТМ (66,7 %) при ста процентах диагностики рака яичников.

Постоянное уменьшение показателей смертности от рака репродуктивных органов характеризовалось неоднозначными темпами убыли при различных локализациях ЗНО (РМЖ – 17,03 %, РТМ – 7,11 %, РЯ – 5,98 %) и только при РШМ за исследуемый период времени произошел внушительный прирост ушедших из жизни женщин (+13,75 %).

При общей тенденции к улучшению цифровых значений летальности на первом году с момента установления диагноза во многих регионах ДВФО она не во всех случаях соответствовала современным возможностям профилактики и диагностики опухолей женской репродуктивной системы на ранних этапах развития злокачественного процесса.

При заболевании органов репродуктивной системы у женщин ДВФО остается высоким показатель отношения одногодичной летальности

отчетного года и запущенности предыдущего отчетного года, который в ряде регионов превышает единицу (1), что дает повод сомневаться в качестве работы учреждений онкологического профиля при составлении статистических отчетов и регистрации причин смерти.

Заключение

Проведенный анализ статистических данных о заболеваемости и смертности населения ДВФО от злокачественных новообразований женской репродуктивной системы позволяет сделать выводы о динамическом увеличении числа заболевших (2008 г.: РМЖ – 41,26, РШМ – 15,73, РТМ – 13,12, РЯ – 10,32; 2017 г.: 49,30, 18,74, 14,78, 11,03 соответственно) и снижении числа умерших (2008 г.: РМЖ – 16,15, РТМ – 4,22, РЯ – 5,52; 2017 г.: РМЖ – 13,40, РТМ – 3,92, РЯ – 5,19 соответственно) на 100 тыс. населения в период 2008–17 гг., за исключением РШМ, когда все три показателя по смертности были ориентированы в направлении увеличения цифровых значений (2008 г.: абсолютное число – 305 чел.; интенсивный – 9,08 и стандартизованный показатели – 6,08; 2017 г. – 344, 10,72, 7,03 соответственно).

Средний 10-летний уровень первичной заболеваемости злокачественными новообразованиями органов репродуктивной системы у женщин ДВФО в стандартизованных показателях (мировой стандарт) на 100 тыс. населения составил: при РМЖ – 47,4, РШМ – 17,9, РТМ – 14,2 и РЯ – 10,6 (минимально-максимальные колебания цифровых значений от 41,3 до 51,4; от 15,7 до 21,4; от 13,1 до 14,8; от 10,3 до 11,0 соответственно) в различные годы исследуемого периода.

В структуре первичной заболеваемости женского населения в 2008–17 гг. наибольший удельный вес в стандартизованных показателях имели злокачественные новообразования молочных желез (2008 г. – 41,26; 2017 – 49,30), при общем снижении числа умерших от этой патологии (2008 г. – 16,15; 2017 г. – 13,4).

Для улучшения основных показателей заболеваемости и смертности от онкопатологии ЛПУ первичного звена здравоохранения в каждом регионе ДВФО необходимы совершенствование образовательной и кадровой политики в области онкологии и укрепление материально-технической базы с одновременным созданием групп онкологического риска и факторов риска онкологических заболеваний, характерных для данной территории. Обязательными должны стать максимально раннее выявление ЗНО с динамическим ведением «канцер-регистров», «семейных раковых регистров» и постоянная санитарно-просветительная работа среди населения.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Агаджанян Н.А., Уйба В.В., Куликова М.П., Кочеткова А.В. Актуальные проблемы адаптационной, экологической и восстановительной медицины. М., 2006. 208 с. [Agadzhanian N.A., Uyba V.V., Kulikova M.P., Kochetkova A.V. Actual problems of adaptation, environmental and rehabilitation medicine. Moscow, 2006. 208 p. (in Russian)].
2. Балашов П.Ю., Старинский В.В., Александрова Л.М. Кадровые ресурсы онкологической службы России. Европейский онкологический журнал. 2014; 3(03): 976. [Balashov P.Yu., Starinsky V.V., Alexandrova L.M. Human resources of the oncological service of Russia. European Oncology Journal. 2014; 3 (03): 976. (in Russian)].
3. Гордиенко В.П., Вахненко А.А. Возможные факторы социального риска онкологической патологии в отдельно взятом регионе. Сибирский медицинский журнал (Иркутск). 2012; 115(8): 86–89. [Gordienko V.P., Vakhnenko A.A. Probable factors of social risk of oncological pathology in a separately taken region. Siberian Medical Journal (Irkutsk). 2012; 115(8): 86–89. (in Russian)].
4. Гордиенко В.П., Вахненко А.А., Сапегина О.В., Ролько Е.М. Основные направления совершенствования медицинской помощи онкологическим больным в современных социально-экономических условиях отдельно взятого региона. Электронный научный журнал «Социальные аспекты здоровья населения». 2014; (3) [Internet]. URL: <http://vestnik.mednet.ru/content/view/568/30/lang.ru/> (дата обращения 17.01.2017). [Gordienko V.P., Vakhnenko A.A., Sapagina O.V., Rolko E.M. Major avenues of work for improving medical care for cancer patients in the context of modern social and economic conditions in a particular region. Electronic Scientific Journal «Social aspects of population health». 2014; (3) [Internet]. URL: <http://vestnik.mednet.ru/content/view/568/30/lang.ru/> (cited 17.01.2017). (in Russian)].
5. Чиссов В.И., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2008 году (заболеваемость и смертность). М., 2009. 255 с. [Chissov V.I., Starinsky V.V., Petrova G.V. Malignant neoplasms in Russia in 2008 (morbidity and mortality). Moscow, 2009. (in Russian)].
6. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2017 году (заболеваемость и смертность). М., 2018. 255 с. [Kaprin A.D., Starinsky V.V., Petrova G.V. Malignant neoplasms in Russia in 2017 (morbidity and mortality). Moscow, 2018. 255 p. (in Russian)].
7. Международная статистическая классификация болезней и проблем, связанных со здоровьем. X пересмотр. ВОЗ. Женева. 1995. 1: 698. [International Statistical Classification of Diseases and Health Problems. X revision. WHO. Geneva. 1995. 1: 698. (in Russian)].
8. Мерабишвили В.М. Онкологическая статистика (традиционные методы, новые информационные технологии): руководство для врачей. СПб., 2011. Ч. 1. 224 с. [Merabishvili V.M. Oncological statistics (traditional methods, new information technologies). Saint-Petersburg, 2011. Part 1. 224 p. (in Russian)].
9. Давыдов М.И., Петровский А.В. Онкология. Клинические рекомендации. М., 2018. 976 с. [Davydov M.I., Petrovsky A.V. Oncology. Clinical recommendations. Moscow, 2018. 976 p. (in Russian)].
10. Плетнев В.В. Выявление предрасположенности к раку и методика его первичной профилактики. М., 2015. 160 с. [Pletnev V.V. Identification of cancer susceptibility and methods of its primary prevention. Moscow, 2015. 160 p. (in Russian)].
11. Россия в цифрах. 2019: Краткий статистический сборник. М., 2019. 549 с. [Russia in numbers. 2019: A Brief Statistical Digest. Moscow, 2019. 549 p. (in Russian)].
12. Чиссов В.И., Старинский В.В., Петрова Г.В. Состояние онкологической помощи населению России в 2008 году. М., 2009. 191 с. [Chissov V.I., Starinsky V.V., Petrova G.V. The state of cancer care in Russia in 2008. Moscow, 2009. 191 p. (in Russian)].
13. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Состояние онкологической помощи населению России в 2017 году. М., 2018. 236 с. [Kaprin A.D., Starinsky V.V., Petrova G.V. The status of cancer care for the population of Russia in 2017. Moscow, 2018. 236 p. (in Russian)].
14. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel R.L., Torre L.A., Jemal A. Global Cancer Statistics: 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.
15. Swerdlow A.J., Harvey C.E., Milne R.L., Pottinger C.A., Vachon C.M., Rwigyema L., Winn D. The national cancer institute cohort consortium: An international pooling collaboration of 58 cohorts from 20 countries. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2018 Nov; 27(11): 1307–1319. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-18-0182.

Поступила/Received 27.03.2019
Принята в печать/Accepted 17.01.2020

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Гордиенко Виктор Петрович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой лучевой диагностики, лучевой терапии с курсом онкологии, Амурская государственная медицинская академия (г. Благовещенск, Россия). E-mail: gen-45@rambler.ru.

Леонтьева Светлана Николаевна, главный врач, Амурский областной онкологический диспансер (г. Благовещенск, Россия).

Коробкова Татьяна Николаевна, заведующая поликлиникой, Амурский областной онкологический диспансер (г. Благовещенск, Россия).

ВКЛАД АВТОРОВ

Гордиенко Виктор Петрович: разработка концепции научной работы, анализ литературных источников, обобщение и анализ данных, написание статьи.

Леонтьева Светлана Николаевна: сбор и статистическая обработка данных.

Коробкова Татьяна Николаевна: сбор и статистическая обработка данных.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы объявляют, что у них нет конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Viktor P. Gordienko, MD, Professor, Head of Imaging Diagnostic Department, Amur State Medical Academy, Ministry of Health of the Russian Federation (Blagoveshchensk, Russia). E-mail: gen-45@rambler.ru

Svetlana N. Leontjeva, MD, Chief Physician, Amur Regional Cancer Center (Blagoveshchensk, Russia).

Tatiana N. Korobkova, MD, Head of the Outpatient Department, Amur Regional Cancer Center (Blagoveshchensk, Russia).

AUTHOR CONTRIBUTION

Viktor P. Gordienko: study conception and design, analysis and interpretation of data, writing of manuscript.

Svetlana N. Leontjeva: data collection and statistical analysis.

Tatiana N. Korobkova: data collection and statistical data analysis.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

DOI: 10.21294/1814-4861-2020-19-3-38-46
УДК: 616.33-006.6-08:615.28+615.849.1

Для цитирования: Скоропад В.Ю., Кудрявцев Д.Д., Титова Л.Н., Мозеров С.А., Агабабян Т.А., Иванов С.А., Каприн А.Д. Лечебный патоморфоз после неoadъювантной химиолучевой терапии у больных местнораспространенным раком желудка. Сибирский онкологический журнал. 2020; 19(3): 38–46. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-3-38-46.
For citation: Skoropad V. Yu., Kudriavtsev D. D., Titova L. N., Moserov S. A., Agababayan T. A., Ivanov S. A., Kaprin A. D. Pathological complete response to neoadjuvant chemoradiotherapy in patients with locally advanced gastric cancer. Siberian Journal of Oncology. 2020; 19(3): 38–46. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-3-38-46.

ЛЕЧЕБНЫЙ ПАТОМОРФОЗ ПОСЛЕ НЕОАДЬЮВАНТНОЙ ХИМИЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ У БОЛЬНЫХ МЕСТНОРАСПРОСТРАНЕННЫМ РАКОМ ЖЕЛУДКА

В.Ю. Скоропад, Д.Д. Кудрявцев, Л.Н. Титова, С.А. Мозеров, Т.А. Агабабян,
С.А. Иванов, А.Д. Каприн

Медицинский радиологический научный центр имени А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Россия, 249031, г. Обнинск, ул. Жукова, 10. E-mail: skoropad@mrrc.obninsk.ru

Аннотация

Введение. В работе представлен анализ лечебного патоморфоза (закономерности развития, влияния на отдаленные результаты лечения) после проведения пролонгированной неoadъювантной химиолучевой терапии у больных местнораспространенным раком желудка (РЖ). Лучевая терапия в СОД 45 Гр проводилась по методике дневного дробления дозы на фоне химиотерапии препаратами капецитабин и оксалиплатин. **Материал и методы.** В исследование включено 45 больных. Преобладали мужчины, медиана возраста пациентов составила 62 года. Наиболее часто опухоль располагалась в верхней (46 %) и средней (38 %) третях желудка. Среди морфологических вариантов преобладали низкодифференцированная аденокарцинома и перстневидно-клеточный рак. По данным комплексного обследования, включая СКТ и лапароскопию, опухоль желудка в пределах субсерозного слоя стенки желудка была диагностирована у 17 (37,8 %) больных, прорастание серозной оболочки либо вовлечение окружающих структур – у 28 (62,2 %) больных. Метастатическое поражение регионарных лимфатических узлов было выявлено в 38 (84,4 %) случаях. **Результаты и обсуждение.** У абсолютного большинства больных была выполнена гастрэктомия – в 43 (96 %) случаях. Показано, что лечебный патоморфоз (ЛП) Ia и Ib степени имел место практически у половины больных – в 45,4 % случаев. Преобладающим путем прогрессирования опухоли были перитонеальные метастазы, развитие которых чаще наблюдалось при низкодифференцированных формах РЖ. При монофакторном анализе не выявлено влияния на степень лечебного патоморфоза ни одного из факторов, характеризующих больного, опухоль и завершенность лечения. В то же время отмечена корреляция между клинической и морфологической оценкой регрессии опухоли: в тех случаях, когда был зафиксирован полный либо частичный ответ первичной опухоли и регионарных лимфатических узлов на химиолучевую терапию, ЛП Ia и Ib степени наблюдали значимо чаще. Также показано наличие прямой корреляции между степенью лечебного патоморфоза и патоморфологической стадией опухоли (yp), категориями ypT и ypN. Анализ отдаленных результатов лечения продемонстрировал, что показатели как общей, так и безрецидивной выживаемости были статистически значимо выше в группе больных, у которых был зарегистрирован лечебный патоморфоз Ia и Ib степени. Общая 3-летняя выживаемость составила $70 \pm 10 \%$ и $41 \pm 11 \%$ соответственно ($p=0,003$). Многофакторный анализ с использованием регрессионной модели Кокса подтвердил статистически значимое независимое влияние степени лечебного патоморфоза на общую выживаемость ($p=0,015$). **Заключение.** Выраженный лечебный патоморфоз (Ia и Ib степени по Becker) имеет место практически у половины больных после проведения неoadъювантной химиолучевой терапии по поводу местнораспространенного рака желудка. Не выявлено клинико-морфологических факторов, влияющих на степень лечебного патоморфоза. Отмечена корреляция между клинической и

морфологической оценкой регрессии опухоли. Больные, у которых отмечен патоморфоз Ia и Ib степени, имеют статистически значимо более высокие показатели общей и безрецидивной выживаемости.

Ключевые слова: рак желудка, неоадъювантная химиолучевая терапия, комбинированное лечение, лечебный патоморфоз, выживаемость.

PATHOLOGICAL COMPLETE RESPONSE TO NEOADJUVANT CHEMORADIO THERAPY IN PATIENTS WITH LOCALLY ADVANCED GASTRIC CANCER

Skoropad V.Yu., Kudriavtsev D.D., Titova L.N., Moserov S.A., Agababyan T.A., Ivanov S.A., Kaprin A.D.

A. Tsyb Medical Radiological Research Centre – branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation, Obninsk, Russia
10, Zhukov Street, Obninsk, 249031, Russia. E-mail: skoropad@mrrc.obninsk.ru

Abstract

The impact of pathological complete response (pCR) on long-term treatment outcomes was analyzed in patients with locally advanced gastric cancer, who received prolonged neoadjuvant chemoradiotherapy. **Material and Methods.** The study included 45 patients with locally advanced gastric cancer. Neoadjuvant hyperfractionated accelerated radiotherapy at a total dose of 45 Gy was given concurrently with capecitabine and oxaliplatin chemotherapy. There were more men than women. The median age of the patients was 62 years. Tumors were most commonly located in the upper (46 %) and middle (38 %) thirds of the stomach. Low-grade adenocarcinoma and signet-ring cell carcinoma were the most common (65 %). According to a comprehensive examination, including CT and laparoscopy, tumors which invaded the subserous layer of the stomach wall were diagnosed in 17 (37.8 %) patients, and tumors which penetrated the serous layer or surrounding structures were found in 28 (62.2 %) patients. Regional lymph node metastases were detected in 38 (84.4 %) cases. **Results.** The absolute majority of patients underwent gastrectomy (43 patients, 96 %). Grade IaIb pathological response occurred in almost half of the patients (45.4 % of cases). Peritoneal metastases were found to be the most common mode of cancer dissemination; they were mostly observed in patients with poorly differentiated gastric cancer. Multivariate analysis revealed no effect of any of the factors characterizing the patient, tumor and completeness of treatment on the pathological response grade. However, a correlation between the clinical and morphological assessments of tumor regression was observed. In cases with complete or partial responses of the primary tumor and regional lymph nodes to chemoradiotherapy, IaIb grades of pathological response were more frequently observed. It was also demonstrated a direct correlation between the pathological response grade and pathomorphological stage of the tumor (yp), as well as ypT and ypN categories. Analysis of long-term treatment outcomes showed that the overall and relapse-free 5-year survival rates were significantly higher in patients with 1a and Ib grades of pathological response. The overall 3-year survival rates were 70 ± 10 % and 41 ± 11 %, respectively ($p=0.003$). Multivariate analysis using the Cox regression model confirmed a statistically significant independent effect of the pathological response grade on the overall survival ($p=0.015$). **Conclusion.** Grade IaIb pathological response was observed in almost half of the patients, who received neoadjuvant chemoradiotherapy for locally advanced gastric cancer. No clinical and morphological factors influencing the pathological response grade were found. A correlation between the clinical and morphological assessments of tumor regression was observed. Patients with Ia-Ib pathological response had significantly higher overall and disease-free survival rates.

Key words: gastric cancer, neoadjuvant chemoradiotherapy, combined modality treatment, pathological response, survival.

Введение

Несмотря на значительное снижение заболеваемости, рак желудка (РЖ) является одной из наиболее частых злокачественных опухолей человека [1]. В 2017 г. в Российской Федерации рак желудка занимал 6-е место (6,0 %) среди ведущих локализаций в общей структуре онкологической заболеваемости и 2-е место (9,8 %) в структуре смертности от злокачественных новообразований [2]. В лечении рака желудка хирургический метод является основным, однако его результаты

остаются неутешительными: абсолютное большинство больных умирает от прогрессирования заболевания. В связи с этим в настоящее время общепризнанным стандартом в лечении местнораспространенного РЖ является применение наряду с операцией дополнительных методов противоопухолевого воздействия в пред- и/или послеоперационном периоде.

По данным многих авторов, проведение терапии в неоадъювантном режиме имеет существенные преимущества по сравнению с адъювантной

терапией, поскольку позволяет увеличить частоту радикальных (R0) операций, а также приводит к достижению полного или выраженного лечебного патоморфоза (ЛП) у ряда больных раком желудка. В свою очередь, ряд исследователей демонстрируют прямую корреляцию между степенью патоморфоза и показателями выживаемости [3–5]. Следует отметить, что работ, посвященных изучению особенностей ЛП после неоадьювантной химиолучевой терапии рака желудка и его влиянию на отдаленные результаты лечения, в мировой литературе немного, а в отечественной литературе они практически отсутствуют. В МРНЦ разработана и внедрена в рамках 2-й фазы клинического исследования оригинальная методика неоадьювантной химиолучевой терапии (НХЛТ) с последующей гастрэктомией D2 при лечении местнораспространенного рака желудка [6].

Целью исследования явился анализ лечебного патоморфоза, включая факторный анализ закономерностей его развития и влияния на отдаленные результаты лечения больных местнораспространенным раком желудка.

Материал и методы

Основным критерием включения больных в исследование были: подписанное информированное добровольное согласие, морфологически подтвержденный рак желудка cT3–4N0, cT2–4N1–3; M0. Клинический диагноз выставлялся на основании комплексного обследования, включая СКТ и лапароскопию. Лучевая терапия проводилась в СОД 45 Гр с дневным дроблением дозы (1 Гр + 1,5 Гр с интервалом 4–5 ч). Одновременная химиотерапия проводилась препаратами капецитабин (в дозе 1850 мг/м² per os за 2 приема с интервалом 12 ч в течение всего курса лучевой терапии) и оксалиплатин (в дозе 85 мг/м² вводился внутривенно в 1-й и 21-й дни). Контрольное обследование и хирургическое лечение планировали через 4–6 нед после завершения курса химиолучевой терапии.

В исследование включено 45 больных: 28 мужчин и 17 женщин. Возраст пациентов – 40–77 лет (медиана – 62 года). Наиболее часто опухоль располагалась в верхней (46 %) и средней (38 %) третях желудка. Среди морфологических вариантов преобладали низкодифференцированная аденокарцинома и перстневидно-клеточный рак (65 %). По данным комплексного обследования, РЖ в пределах субсерозного слоя стенки желудка диагностирован у 17 (37,8 %), прорастание серозной оболочки либо вовлечение окружающих структур – у 28 (62,2 %) больных. Метастатическое поражение регионарных лимфоузлов выявлено в 38 (84,4 %) случаях. В большинстве случаев выполнялась гастрэктомия – у 43 (96 %) больных. В 1 (2 %) наблюдении выполнена дистальная субтотальная резекция желудка, в 1 (2 %) – хирургическое вмешательство ограничилось лапаротомией. Операция

расценена как радикальная у 43 (96 %) больных, в 1 случае она носила паллиативный характер ввиду наличия отдаленных метастазов.

При анализе материала применяли международную классификацию TNM, 8 издание (2017 г.). Для оценки лечебного патоморфоза использовали четырехуровневую систему оценки ответа опухоли, предложенную Becker [7] и рекомендуемую Японским обществом исследования рака желудка (The Japanese Research Society for Gastric Cancer) [8]: Ia – отсутствие резидуальных опухолевых элементов; Ib – сохранено менее 10 % элементов опухоли; II – сохранено 10–50 %; III – сохранено 50 % и более объема опухолевой ткани.

Статистическая обработка проведена с использованием статистического пакета SPSS 22.0. Анализ общей и безрецидивной выживаемости больных производили по методу Kaplan–Meier. Для сравнения кривых выживаемости использовали логарифмический ранговый критерий (log-rank test). Достоверность различий между показателями оценивали с помощью точного критерия Фишера, между средними значениями – с помощью двустороннего непарного критерия p и теста Mann–Whitney. Для выявления независимых факторов прогноза применяли многофакторный анализ с использованием регрессионной модели Кокса. Различия считали статистически значимыми, если величина p была меньше 0,05.

Результаты и обсуждение

Лечебный патоморфоз первичной опухоли и регионарных лимфатических узлов изучен у 44 больных, поскольку в 1 случае хирургическое вмешательство было ограничено эксплоративной лапаротомией (табл. 1). Патоморфоз Ia и Ib степени имел место практически у половины больных (45,4 % случаев). Такие случаи в зарубежной литературе принято относить к «респондентам», то есть больным, опухоли которых отреагировали на НХЛТ.

В табл. 2 представлены методики неоадьювантной химиолучевой терапии и непосредственные результаты лечения (завершенность НХЛТ и степени лечебного патоморфоза), полученные в зарубежных клинических исследованиях I–II фазы в сравнительном аспекте с результатами нашего исследования. Как следует из представленных данных, количество включенных в исследования больных было относительно небольшим (12–43 больных). Лучевая терапия, как правило, проводилась в СОД 45 Гр за 25 фракций. Химиотерапевтический компонент наиболее часто включал в себя 5-фторурацил и лейковорин, а также препараты платины. У ряда больных применялись таксаны и препарат S-1. Следует отметить весьма высокий показатель завершенности НХЛТ – 83–100 %. Частота полной морфологической регрессии варьировала в широких пределах – 5–26 %, а вместе со

Таблица 1/Table 1

Степень лечебного патоморфоза опухоли
Pathological response grades

Степень патоморфоза/ Pathological response grades	Количество пациентов/ Number of patients
Ia	3 (6,8 %)
Ib	17 (38,6 %)
II	6 (13,6 %)
III	18 (41,0 %)

Таблица 2/Table 2

Методика и непосредственные результаты лечения, полученные в клинических исследованиях в рамках I–II фаз

Radiation therapy and chemotherapy regimens and immediate treatment outcomes obtained in phase I–II clinical trials

Автор, год публикации/ Authors, publication years	Количество больных (завершенность НХЛТ)/ Number of patients (completeness of NACH)	Методика лучевой терапии/ Regime of radiation therapy	Методика химиотерапии/ Regime of chemotherapy	Ia + Ib степени патоморфоза (%) / Ia + Ib grades of pathological response
Lowy et al., 2001 [9]	24 (96 %)	45 Гр/25 фракций/ 45 Gy/25 fractions	5ФУ (длительная инфузия, 300 мг/м ² , в день)/ 5FU (long infusion, 300 mg/m ² /day)	11 + 16=27
Roth et al., 2003 [10]	19 (95 %)	31/38/45 Гр/Gy	5ФУ (800мг/м ²), лейковорин (60 мг/м ²); дни 1–4 и 22–25; цисплатин (100 мг/м ²), дни 1, 22/ 5FU (800 mg/m ²), leucovorin (60 mg/m ²), days 1–4 and 22–25; cisplatin (100 mg/m ²) days 1, 22	5 + НД/ND
Klautke et al., 2004 [11]	21 (100 %)	45 Гр/25 фракций + 5,4 Гр/ 45 Gy/25 fr + 5.4 Gy «boost»	5ФУ (800 мг/м ²), цисплатин (20 мг/м ²); дни 1–5 и 29–33 или паклитаксел (135 мг/м ²); дни 1 и 29/ 5FU (800 mg/m ²), cisplatin (20 mg/m ²), days 1–5 and 29–33 or paclitaxel (135 mg/m ²), days 1 and 29	14 + 10=24
Ajani et al., 2006 [12]	43 (100 %)	45 Гр/25 фракций/ 45 Gy/25 fractions	5ФУ (длительная инфузия, 300 мг/м ² , в день), паклитаксел (45 мг/м ² , 1 раз в нед)/ 5FU (long infusion, 300 mg/m ² /day), paclitaxel (45 mg/m ² , once a week)	26 + НД/ND
Wydmański et al., 2007 [13]	40 (95 %)	45 Гр/25 фракций/ 45 Gy/25 fractions	5ФУ (325 мг/м ²) ± лейковорин (20 мг/м ²); дни 1–3 и 29–33/ 5FU (325 mg/m ² ± leucovorin (20 mg/m ²); days 1–3 and 29–33.	17 + 20=37
Chakravarty et al., 2012 [14]	25 (100 %)	45 Гр/25 фракций/ 45 Gy/25 fractions	5ФУ + оксалиплатин/капецитабин/ 5FU + oxaliplatin/capecitabine	20 + НД/ND
Inoue et al., 2012 [15]	12 (83 %)	50 Гр/ 25 фракций/ 50 Gy/25 fractions	S-1 (65 мг/м ² /день); 1–14 и 22–35 дни. S-1 (65 mg/m ²); days 1–14 and 22–35	8 + НД/ND
Lee et al., 2012 [16]	12 (83 %)	41,4 Гр/23 фракций/ 41.4 Gy/23 fractions	S-1 (6080 мг/м ² /день) + оксалиплатин (40 мг/м ²) – 1, 8, 15 и 22 дни/ S-1 (6080 mg/m ²) + oxaliplatin (40 mg/m ²) – days 1, 8, 15 and 22	8 + 43=51
Trip et al., 2014 [17]	25 (92 %)	45 Гр/25 фракций/ 45 Gy/25 fractions	Карбоплатин (AUC 2) + паклитаксел (50 мг/м ²); 1, 8, 15, 22, 29 дни/ Carboplatin (AUC 2) + paclitaxel (50 mg/m ²) – days 1, 8, 15, 22 and 29	16 + 24=40
Настоящее исследование/ Our study	45 (87 %)	45 Гр/18 фракций (1 + 1,5 Гр)/ 45 Gy/18 fractions (1 + 1,5 Gy)	Капецитабин (1850 мг/м ² /день) + оксалиплатин (85 мг/м ² , 1 и 21 дни)/ Capecitabine (1850 mg/m ² /day) + oxaliplatin (85 mg/m ² , days 1 and 21)	7 + 38=45

Примечание: НД – данные отсутствуют; Notes: ND – no dates.

Таблица 3/Table 3

Пути реализации рецидивов и метастазов в зависимости от степени лечебного патоморфоза и морфологического строения опухоли

Sites of relapse and metastasis with respect to the grade of pathological response and morphological structure of the tumor

Локализация развития рецидива/метастазов/ Sites of relapse and metastasis	Патоморфоз Ia/в степени/ Grade Ia/b pathological response			Патоморфоз II–III степени/ Grade II–III pathological response		
	Всего/ Total	G1–2	G3–4	Всего/ Total	G1–2	G3–4
Перитонеальные метастазы/ Peritoneal metastases	3	0	3	9	1	8
Гематогенные метастазы/ Hematogenous metastases	2	1	1	5	2	3
Регионарный рецидив/ Regional metastases	0	0	0	1	1	0
Всего больных с рецидивами/метастазами/ Total number of patients with recurrences and metastases	5	1	4	15	4	11

Таблица 4/Table 4

Корреляция между степенью лечебного патоморфоза и патоморфологической стадией опухоли, категориями ypT и ypN

The correlation between the pathological response grade and pathomorphological stage of the tumor, categories of ypT and ypN

Стадия (yp), категории ypT и ypN/ Stage(yp), ypT and ypN categories	Степень лечебного патоморфоза/Pathological response grade		p
	Ia/b (n=20)	II–III (n=24)	
Стадия/Stage			
0	3	0	0,012
I	9	4	
II	6	11	
III	2	7	
IV	0	2	
ypT			
0–1B	7	1	0,015
2–4B	13	23	
ypN			
0	18	13	0,018
1	0	2	
2	2	8	
3a/в	0	1	

случаями выраженной регрессии, когда в препарате обнаруживали менее 10 % жизнеспособных раковых клеток, составляла 24–51 %. Таким образом, полученные в настоящем исследовании результаты соответствуют данным мировой литературы.

У 20 больных сроки развития и локализация рецидивов и метастазов были достоверно установлены в МРНЦ методами визуализации (СКТ, МРТ, УЗИ), при гистологическом исследовании, а также при выполнении повторных операций (табл. 3). Локального (внутрипросветного) рецидива не зафиксировано ни в одном случае. Регионарный рецидив был выявлен и морфологически подтверж-

ден у 1 больного (ЛП III степени). Преобладали перитонеальные метастазы, развитие которых чаще всего наблюдалось при низкодифференцированных формах рака желудка.

Нами проведен анализ зависимости степени лечебного патоморфоза от различных факторов, характеризующих больного, опухоль и лечение. При монофакторном анализе не было выявлено влияния на степень лечебного патоморфоза таких характеризующих больного факторов, как пол, возраст, статус ECOG, индекс массы тела ($p=0,63–0,90$). Факторы, характеризующие опухоль (локализация, макроскопический тип роста,

Таблица 5/Table 5

Клинико-морфологические характеристики и продолжительность жизни больных, у которых была зарегистрирована полная морфологическая регрессия опухоли после неoadъювантной химиолучевой терапии

Clinical/morphological characteristics and survival of patients with complete pathological response after neoadjuvant chemoradiotherapy

Пол, возраст/ Gender, age	Клиническая стадия, морфология/ Clinical stage, morphology	Локализация/ Localization	Интервал до операции, дни/ Interval before surgery, days	Выживаемость, мес/ Survival, months
М., 72	cT4aN0M0 G2	B/3 + пищевод/ Proximal part + esophagus	48	36+
Ж., 70	cT3N0M0 G1	B/3 + пищевод/ Proximal part + esophagus	75	76+
М., 60	cT3N1M0 G3	B/3/ Proximal part	42	80+

Таблица 6/Table 6

Отдаленные результаты лечения в зависимости от степени лечебного патоморфоза
Long-term treatment outcomes with respect to the pathological response grade

Параметр/ Parameter	Степень патоморфоза/Pathological response grade		p
	Ia/Ib (n=20)	II/III (n=24)	
Безрецидивная выживаемость, мес/ Disease-free survival, months	7,6–122,0 (Me – 64,6)	4,9–78,0 (Me – 11,6)	0,0001
Общая выживаемость, мес/ Overall survival, months	8,6–122,0 (Me – 65,3)	6,1–78,0 (Me – 19,0)	0,0001

степень дифференцировки, тип опухоли по классификации Laugen, клинические категории T, N, стадия), также достоверного влияния на степень лечебного патоморфоза не оказывали ($p=0,36–0,79$). Тем не менее следует отметить, что в 7 из 11 случаев проксимальной локализации опухоли с распространением на пищевод был выявлен патоморфоз Ia и Ib степени (а в отношении первичной опухоли – в 8 из 11 случаев). В то же время при диффузно-инфильтративном типе роста опухоли желудка в большинстве случаев (10 из 14) выявлен ЛП II–III степени.

Факт завершенности химиолучевой терапии в целом и ее компонентов, а также интервал времени до операции не отразились на степени патоморфоза. В связи с этим следует отметить, что химиолучевая терапия была завершена в полном объеме у абсолютного большинства больных. В то же время нами отмечена корреляция между клинической (по данным СКТ) и морфологической оценкой регрессии опухоли. Так, в тех случаях, когда был зафиксирован полный либо частичный клинический ответ первичной опухоли и регионарных лимфатических узлов на проведенную химиолучевую терапию, ЛП Ia и Ib степени наблюдали в 3 раза чаще; в случаях стабилизации либо прогрессирования опухоли имела место противоположная ситуация – значительно чаще преобладал ЛП II и III степени ($p=0,002$). Полученные результаты подтвердили ранее опубликованные данные об эффективности СКТ в объективной количественной оценке регрессии опухоли после неoadъювантной терапии [18].

Ожидается, наше исследование продемонстрировало наличие прямой корреляции между степенью лечебного патоморфоза и патоморфологической стадией опухоли (yp), а также категориями ypT и ypN (табл. 4). В тех случаях, когда патоморфологическая стадия была 0–I, лечебный патоморфоз Ia и Ib степени наблюдали в 3 раза чаще (12 vs 4); в то время как при наличии у больного II–IV стадии преобладал патоморфоз II–III степени (20 vs 8). Аналогичная зависимость имела место и для категорий ypT (0–1B vs 2–4B) и ypN (0 vs 1–3), все различия статистически значимы.

Влияние степени лечебного патоморфоза на отдаленные результаты лечения рака желудка продолжает оставаться предметом исследования. Cho et al. [3] проанализировали данные о 22 больных с полной морфологической регрессией первичной опухоли и регионарных лимфатических узлов после неoadъювантной химиотерапии. При этом показатели 5-летней общей и безрецидивной выживаемости оказались весьма высокими и составили 85 % и 75 % соответственно. В нашем исследовании трое больных с ЛП Ia степени живы без признаков прогрессирования более 3 лет после лечения (табл. 5).

Для дальнейшего анализа случаи ЛП Ia и Ib степени, как это принято в зарубежных публикациях, были объединены в одну группу («респонденты»), как и случаи ЛП II и III степени («не-респонденты»). При этом показатели как общей, так и безрецидивной выживаемости были значительно выше в группе больных, у которых заре-

гистрирован ЛП Ia и Ib степени (табл. 6). Общая 3-летняя выживаемость составила $70 \pm 10\%$ и $41 \pm 11\%$ соответственно ($p=0,003$). Многофакторный анализ с использованием регрессионной модели Кокса подтвердил статистически значимое независимое влияние степени лечебного патоморфоза на общую выживаемость ($p=0,015$).

Полученные в нашем исследовании результаты хорошо коррелируют с данными зарубежных исследований. Blank et al. [4] проанализировали отдаленные результаты лечения 607 больных, из которых неoadъювантная терапия была проведена 281, в том числе химиотерапия – 190, химиолучевая терапия – 91 пациенту. Медиана выживаемости у «респондентов» составила 43,5 мес и была значимо выше, чем у «не-респондентов» – 24,3 мес и при хирургическом лечении – 20,8 мес. Kumagai et al. [19] представили результаты метаанализа, включившего 14 исследований I–II фазы, посвященных неoadъювантной химио- и химиолучевой терапии при гастроэзофагеальном раке. Авторы подтвердили отсутствие роста частоты послеоперационных осложнений и послеоперационной летальности и продемонстрировали значимое увеличение показателя выживаемости больных после неoadъювантной

терапии ($p=0,001$) по сравнению с хирургическим лечением. Tomasello et al. [20] при метаанализе 17 клинических исследований (3 145 пациентов) также показали, что выраженный морфологический ответ опухоли (Gr Ia/Ib) после неoadъювантной терапии по поводу гастроэзофагеального рака был связан с достоверным увеличением общей и безрецидивной выживаемости ($p<0,001$).

Заключение

Выраженный лечебный патоморфоз (Ia и Ib степени по Becker) имеет место практически у половины больных с местнораспространенным раком желудка после неoadъювантной химиолучевой терапии (СОД 45 Гр на фоне капецитабина и оксалиплатина). Не выявлено клинико-морфологических факторов, влияющих на степень лечебного патоморфоза. Отмечена корреляция между клинической (по данным СКТ) и морфологической оценкой регрессии опухоли. Пути прогрессирования определяются в первую очередь морфологическим строением опухоли желудка. Больные, у которых отмечен патоморфоз Ia и Ib степени, имеют статистически значимо более высокие показатели общей и безрецидивной выживаемости.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Rawla P., Barsouk A. Epidemiology of gastric cancer: global trends, risk factors and prevention. *Prz Gastroenterol.* 2019; 14(1): 26–38. doi: 10.5114/pg.2018.80001.
2. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Состояние онкологической помощи населению России в 2017 году. М., 2018. 250 с. [Kaprin A.D., Starinsky V.V., Petrova G.V. The status of cancer care for the population of Russia in 2017. Moscow, 2018. 250 p. (in Russian)].
3. Cho H., Nakamura J., Asaumi Y., Yabusaki H., Sakon M., Takasu N., Kobayashi T., Aoki T., Shiraishi O., Kishimoto H., Nunobe S., Yanagisawa S., Suda T., Ueshima S., Matono S., Maruyama H., Tatsumi M., Seya T., Tanizawa Y., Yoshikawa T. Long-term survival outcomes of advanced gastric cancer patients who achieved a pathological complete response with neoadjuvant chemotherapy: a systematic review of the literature. *Ann Surg Oncol.* 2015 Mar; 22(3): 787–92. doi: 10.1245/s10434-014-4084-9.
4. Blank S., Stange A., Sisic L., Roth W., Grenacher L., Stiering F., Burian M., Jäger D., Büchler M., Ott K. Preoperative therapy of esophago-gastric cancer: the problem of nonresponding patients. *Langenbecks Arch Surg.* 2013 Feb; 398(2): 211–20. doi: 10.1007/s00423-012-1034-5.
5. Афанасьев С.Г., Августинович А.В., Давыдов И.М., Волков М.Ю. Неoadъювантная химиотерапия при комбинированном лечении рака желудка. *Онкология. Журнал им. П.А. Герцена.* 2014; 2(6): 13–18. [Afanasyev S.G., Avgustinovich A.V., Davydov I.M., Volkov M.Yu. Neoadjuvant chemotherapy in the combined treatment of gastric cancer. *P.A. Herzen Journal of Oncology.* 2014; 2(6): 13–18. (in Russian)].
6. Бердов Б.А., Скоропад В.Ю., Титова Л.Н., Евдокимов Л.В. Способ комбинированного лечения местно-распространенного рака желудка. Патент на изобретение № 2478407. Заявл. 05.09.2011. Опубл. от 10.04.2013. [Berdov B.A., Skoropad V.Yu., Titova L.N., Evdokimov L.V. A method for the combined treatment of locally advanced cancer of the stomach. Patent for invention № 2478407. 09.05.2011. Publ. from 04.10.2013. (in Russian)].
7. Becker K., Mueller J.D., Schulmacher C., Ott K., Fink U., Busch R., Böttcher K., Siewert J.R., Höfler H. Histomorphology and grading of regression in gastric carcinoma treated with neoadjuvant chemotherapy. *Cancer.* 2003; 98(7): 1521–30. doi: 10.1002/cncr.11660.
8. Japanese Gastric Cancer Association. Japanese gastric cancer treatment guidelines 2010. *Gastric Cancer.* 2011; 14(2): 113–23. doi: 10.1007/s10120-011-0042-4.
9. Lowy A.M., Feig B.W., Janjan N., Rich T.A., Pisters P.W., Ajani J.A., Mansfield P.F. A pilot study of preoperative chemoradiotherapy for resectable gastric cancer. *Ann Surg Oncol.* 2001; 8: 519–524. doi: 10.1007/s10434-001-0519-1.
10. Roth A.D., Allal A.S., Bründler M.A., de Peyer R., Mermillod B., Morel P., Huber O. Neoadjuvant radiochemotherapy for locally advanced

gastric cancer: a phase 1-2 study. *Ann Oncol.* 2003; 14: 110–5. doi: 10.1093/annonc/mdg023.

11. Klautke G., Foitzik T., Ludwig K., Ketterer P., Klar E., Fietkau R. Neoadjuvant radiochemotherapy in locally advanced gastric carcinoma. *Strahlenther Onkol.* 2004 Nov; 180(11): 695–700. doi: 10.1007/s00066-004-9194-z.

12. Ajani J.A., Winter K., Okawara G.S., Donohue J.H., Pisters P.W., Crane C.H., Greskovich J.F., Anne P.R., Bradley J.D., Willett C., Rich T.A. Phase II trial of preoperative chemoradiation in patients with localized gastric adenocarcinoma (RTOG 9904): quality of combined modality therapy and pathologic response. *J Clin Oncol.* 2006 Aug 20; 24(24): 3953–8. doi: 10.1200/JCO.2006.06.4840.

13. Wydmański J., Suwinski R., Poltorak S., Maka B., Miszczyk L., Wolny E., Bielaczyc G., Zajusz A. The tolerance and efficacy of preoperative chemoradiotherapy followed by gastrectomy in operable gastric cancer, a phase II study. *Radiother Oncol.* 2007; 82(2): 132–6. doi: 10.1016/j.radonc.2007.01.009.

14. Chakravarty T., Crane C.H., Ajani J.A., Mansfield P.F., Briere T.M., Beddar A.S., Mok H., Reed V.K., Krishnan S., Delclos M.E., Das P. Intensity-modulated radiation therapy with concurrent chemotherapy as preoperative treatment for localized gastric adenocarcinoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2012 Jun 1; 83(2): 581–6. doi: 10.1016/j.ijrobp.2011.07.035.

15. Inoue T., Yachida S., Usuki H., Kimura T., Hagiiike M., Okano K., Suzuki Y. Pilot feasibility study of neoadjuvant chemoradiotherapy with S-1 in patients with locally advanced gastric cancer featuring adjacent tissue invasion or JGCA bulky N2 lymph node metastases. *Ann Surg Oncol.* 2012 Sep; 19(9): 2937–45. doi: 10.1245/s10434-012-2332-4.

16. Lee D.J., Sohn T.S., Lim do H., Ahn H.K., Park S.H., Lee J., Park J.O., Park Y.S., Lim H.Y., Choi D.I., Kim K.M., Choi M.G., Noh J.H., Bae J.M., Kim S., Min B.H., Kang W.K. Phase I study of neoadjuvant chemoradiotherapy with S-1 and oxaliplatin in patients with locally advanced gastric cancer. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2012; 69(5): 1333–8. doi: 10.1007/s00280-012-1836-8.

17. Trip A.K., Poppema B.J., van Berge Henegouwen M.I., Siemerink E., Beukema J.C., Verheij M., Plukker J.T., Richel D.J., Hulshof M.C., van Sandick J.W., Cats A., Jansen E.P., Hospers G.A. Preoperative chemoradiotherapy in locally advanced gastric cancer, a phase I/II feasibility and efficacy study. *Radiother Oncol.* 2014 Aug; 112(2): 284–8. doi: 10.1016/j.radonc.2014.05.003.

18. Силантьева Н.К., Агабабян Т.А., Скоропад В.Ю., Гришина О.Г. Задачи компьютерной томографии при обследовании больных раком желудка в онкорadiологической клинике. *Сибирский онкологический журнал.* 2015; 5: 5–13. [Silanteva N.K., Agababian T.A., Skoropad V.Y., Grishina O.G. The role of computed tomography in patients with gastric

cancer in radiooncological hospital. Siberian Journal of Oncology. 2015; 5: 5–13. (in Russian)].

19. Kumagai K., Rouvelas I., Tsai J.A., Mariosa D., Lind P.A., Lindblad M., Ye W., Lundell L., Schuhmacher C., Mauer M., Burmeister B.H., Thomas J.M., Stahl M., Nilsson M. Survival benefit and additional value of preoperative chemoradiotherapy in resectable gastric and gastro-oesophageal junction cancer: a direct and adjusted indirect comparison

meta-analysis. Eur J Surg Oncol. 2015 Mar; 41(3): 282–94. doi: 10.1016/j.ejso.2014.11.039.

20. Tomasello G., Petrelli F., Ghidini M., Pezzica E., Passalacqua R., Steccanella F., Turati L., Sgroi G., Barni S. Tumor regression grade and survival after neoadjuvant treatment in gastro-esophageal cancer: A meta-analysis of 17 published studies. Eur J Surg Oncol. 2017; 43(9): 1607–16. doi: 10.1016/j.ejso.2017.03.001.

Поступила/Received 28.10.2019
Принята в печать/Accepted 13.02.2020

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Скоропад Виталий Юрьевич, доктор медицинских наук, заведующий отделом торако-абдоминальной онкологии, Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения РФ (г. Обнинск, Россия). E-mail: skoropad@mrc.obninsk.ru. SPIN-код: 2283-1111. Researcher ID (WOS): E-2200-2018. ORCID: 0000-0002-2136-1994.

Кудрявцев Дмитрий Дмитриевич, научный сотрудник, Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения РФ (г. Обнинск, Россия). SPIN-код: 1680-5735. Researcher ID (WOS): C-8505-2018. ORCID: 0000-0003-0406-0046.

Титова Людмила Николаевна, кандидат медицинских наук, врач-радиолог, Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения РФ (г. Обнинск, Россия). ORCID: 0000-0002-6038-2851.

Мозеров Сергей Алексеевич, доктор медицинских наук, Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения РФ (г. Обнинск, Россия). SPIN-код: 1604-0795. Researcher ID (WOS): G-3860-2016. AuthorID (РИНЦ): 639658, ORCID: 0000-0002-2168-2616.

Агабабян Татев Артаковна, кандидат медицинских наук, Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения РФ (г. Обнинск, Россия). SPIN-код: 5752-3393.

Иванов Сергей Анатольевич, доктор медицинских наук, профессор РАН, директор, Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения РФ (г. Обнинск, Россия). ORCID: 0000-0001-7689-6032.

Каприн Андрей Дмитриевич, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, генеральный директор ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России (г. Обнинск, Россия). ORCID: 0000-0001-8784-8415. Researcher ID (WOS): K-1445-2014.

ВКЛАД АВТОРОВ

Скоропад Виталий Юрьевич: разработка концепции научной работы, набор клинического материала, анализ полученных результатов, составление черновика рукописи.

Кудрявцев Дмитрий Дмитриевич: набор клинического материала, анализ полученных результатов, статистическая обработка, составление черновика рукописи.

Титова Людмила Николаевна: планирование и проведение лучевой терапии, анализ данных, составление черновика рукописи.

Мозеров Сергей Алексеевич: проведение гистологических исследований, анализ данных гистологических исследований и степени патоморфоза, составление черновика рукописи.

Агабабян Татев Артаковна: проведение СКТ, анализ данных СКТ, статистическая обработка, составление черновика рукописи.

Иванов Сергей Анатольевич: анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Каприн Андрей Дмитриевич: анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы объявляют, что у них нет конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Vitaliy Yu. Skoropad, MD, DSc, Leading Researcher, A. Tsyb Medical Radiological Research Centre – branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation (Obninsk, Russia). Researcher ID (WOS): E-2200-2018. ORCID: 0000-0002-2136-1994.

Dmitriy D. Kudryavtsev, MD, Researcher, A. Tsyb Medical Radiological Research Centre – branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation (Obninsk, Russia). Researcher ID (WOS): C-8505-2018. ORCID: 0000-0003-0406-0046.

Lyudmila N. Titova, MD, PhD, A. Tsyb Medical Radiological Research Centre – branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation (Obninsk, Russia). ORCID: 0000-0002-6038-2851.

Sergey A. Mozerov, MD, DSc, A. Tsyb Medical Radiological Research Centre – branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation (Obninsk, Russia). Researcher ID (WOS): G-3860-2016. ORCID: 0000-0002-2168-2616.

Tatev A. Agababyan, MD, PhD, A. Tsyb Medical Radiological Research Centre – branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation (Obninsk, Russia).

Sergey A. Ivanov, MD, PhD, DSc, Director of A. Tsyb Medical Radiological Research Centre – Branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation (Obninsk, Russia). ORCID: 0000-0001-7689-6032.

Andrey D. Kaprin, MD, DSc, Professor, Member of the Russian Academy of Sciences, General Director of National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation (Obninsk, Russia). ORCID: 0000-0001-8784-8415. Researcher ID (WOS): K-1445-2014.

AUTHOR CONTRIBUTION

Vitaliy Yu. Skoropad: study design and conception, data collection, analysis of study results, drafting of the manuscript.

Dmitriy D. Kudryavtsev: data collection, analysis of the study results, statistical data analysis, drafting of the manuscript.

Lyudmila N. Titova: planning of the radiation therapy, data analysis, drafting of the manuscript.

Sergey A. Mozerov: histological studies, data analysis, drafting of the manuscript.

Tatev A. Agababyan: SCT data analysis, statistical data processing, drafting of the manuscript.

Sergey A. Ivanov: analysis of the study results, critical revision for the important intellectual content.

Andrey D. Kaprin: analysis of the manuscript, critical revision for the important intellectual content.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

Для цитирования: Селиверстов Р.Ю., Зарайский М.И., Тюрин Р.В., Нарышкин А.Г., Валерко В.Г., Семиглазов В.В., Takahachi Ch. МикроРНК в мониторинге эволюции глиальных церебральных опухолей. Сибирский онкологический журнал. 2020; 19(3): 47–53. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-3-47-53.

For citation: Seliverstov R.Yu., Zaraitskiy M.I., Tyurin R.V., Naryshkin A.G., Valerko V.G., Semiglazov V.V., Takahachi Ch. MicroRNA in monitoring of the evolution of glial cerebral tumors. Siberian Journal of Oncology. 2020; 19(3): 47–53. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-3-47-53.

МИКРОРНК В МОНИТОРИНГЕ ЭВОЛЮЦИИ ГЛИАЛЬНЫХ ЦЕРЕБРАЛЬНЫХ ОПУХОЛЕЙ

Р.Ю. Селиверстов^{1,3}, М.И. Зарайский², Р.В. Тюрин¹, А.Г. Нарышкин³,
В.Г. Валерко³, В.В. Семиглазов², Ch. Takahachi⁴

Институт мозга человека им. Н.П. Бехтеревой Российской академии наук,
г. Санкт-Петербург, Россия¹

Россия, 197376, г. Санкт-Петербург, ул. Акад. Павлова, 9¹

ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет
им. академика И.П. Павлова», г. Санкт-Петербург, Россия²

Россия, 197022, г. Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 68. E-mail: mzaraiski@yandex.ru²

ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова»,
г. Санкт-Петербург, Россия³

Россия, 191015, г. Санкт-Петербург, ул. Кирочная, 41³

Cancer Research Institute, Kanazawa University, Ishikawa, Japan⁴

Japan, Ishikawa, Kanazawa City, 920-1192⁴

Аннотация

Глиальные церебральные опухоли (ГЦО) – это первичные опухоли центральной нервной системы, развивающиеся из глиальной ткани. Несмотря на применение стандартов современного комбинированного лечения, общая медиана выживаемости пациентов с наиболее злокачественными формами ГЦО (глиобластомами) остается невысокой. МикроРНК – это большой класс эндогенных малых молекул РНК, ингибирующих трансляцию мРНК целевых генов, участвующих в эволюционировании ГЦО. Показано, что микроРНК-21 обладает антиапоптотической и проинвазивной функцией, посредством сайлесинга онкосупрессора PTEN. МикроРНК-128 может активировать ряд генов, отвечающих за механизмы подавления опухолевого роста, а микроРНК-342, модулируя экспрессию гена PAK4, участвует в контроле пролиферации клеток опухоли, инвазии и апоптоза. **Цель исследования** состояла в изучении возможности клинического использования оценки экспрессии микроРНК-21, -128 и -342 в плазме крови и слюне пациентов в мониторинге течения ГЦО на стадии их прогрессирования или стабилизации на фоне комбинированного лечения. **Материал и методы.** Основную группу составили 56 пациентов (34 мужчины и 22 женщины) в возрасте от 25 до 72 лет (средний возраст 48,5 лет) на этапах комплексного лечения супратенториальных ГЦО. Группу контроля составили 50 человек (45 – волонтеров и 5 нейрохирургических больных с экстрацеребральными менигиомами). Исследование экспрессии микроРНК-21, -128 и -342 проводили по полуколичественному протоколу StemLoop-RealTime, используя в качестве референс-гена малую РНК U6. Данные обрабатывали с использованием компьютерной системы Statistica for Windows. **Результаты.** У 70 % пациентов при наличии прогрессирования согласно магнитно-резонансной томографии, без нарастания общемозговой и очаговой неврологической симптоматики уровень экспрессии микроРНК-21 превосходил значения контроля как в плазме крови, так и в слюне, а экспрессия микроРНК-128 и -342 была значимо снижена. При стабилизации ГЦО уровни экспрессии микроРНК-21, -128 и -342 не выходили за рамки референтных значений. Диагностическая значимость микроРНК-128, -342 для ГЦО составила 69 %, что позволяет использовать эти микроРНК в клинике. Таким образом, повышение экспрессии микроРНК-21 и снижение экспрессии микроРНК-128 и -342 в сравнении с референтными значениями как в плазме крови, так и в слюне указывают на наличие у пациента активной (прогрессирующей) церебральной глиомы.

Ключевые слова: глиальные церебральные опухоли, глиобластома, микроРНК-21, микроРНК-128, микроРНК-342, плазма крови, слюна, профилирование экспрессии, StemLoop-RealTime.

MICRORNA IN MONITORING OF THE EVOLUTION OF GLIAL CEREBRAL TUMORS

R.Yu. Seliverstov^{1,3}, M.I. Zاراискиy², R.V. Tyurin¹, A.G. Naryshkin³, V.G. Valerko³, V.V. Semiglazov², Ch. Takahachi⁴

N.P. Bekhtereva Institute of the Human Brain of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia¹
9, Pavlova Street, 197376, St. Petersburg, Russia¹
Pavlov First St. Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russia²
68, Lev Tolstoy Street, 197022, St. Petersburg, Russia. E-mail: mzaraiski@yandex.ru²
North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russia³
41, Kirochnaya Street, 191015, St. Petersburg, Russia³
Cancer Research Institute, Kanazawa University, Kanazawa City, Ishikawa, Japan⁴
Kanazawa City, Ishikawa 920-1192, Japan⁴

Abstract

Glial cerebral tumors (GCT) are primary tumors of the central nervous system that develop from glial tissue. Despite the use of combination treatment, the overall median survival rate in patients with glioblastoma, the most malignant form of HCC, is low. MicroRNA is a large class of endogenous small RNA molecules that inhibit mRNA translation of target genes involved in the evolution of GCT. It was shown that miRNA-21 has antiapoptotic and invasive functions by means of silencing of the PTEN tumor suppressor. MicroRNA-128 can activate a number of genes that are responsible for the mechanisms of suppression of tumor growth. MicroRNA-342, modulating PAK4 gene expression, is involved in the control of tumor cell proliferation, invasion and apoptosis. **The aim of the work** was to study the feasibility of using the assessment of miRNA-21, -128 and -342 expressions in the blood plasma and saliva of patients to monitor GCT progression or stabilization during combined modality treatment. **Material and Methods.** The main group consisted of 56 patients with GCTs. (34 men and 22 women), aged 25 to 72 years (average age 48.5 years) GCTs. The control group consisted of 50 people (45 volunteers and 5 neurosurgical patients with extracerebral meningiomas). The study of miRNA-21, -128, and -342 expressions was carried out according to the semiquantitative StemLoop-RealTime protocol, using small U6 RNA as a reference gene. Data was processed using the STATISTICA for Windows computer system. **Results.** In 70 % of patients with disease progression assessed by magnetic resonance imaging, without progression in cerebral and focal neurological signs, the expression level of miRNA-21 exceeded the control values both in blood plasma and saliva, and the expression levels of miRNA-128 and -342 were significantly reduced. In patients with GCT stabilization, the expression levels of miRNA-21, -128, and -342 did not go beyond the reference values. The diagnostic significance of miRNA-128, -342 for GCT was 69 %; therefore these miRNAs can be used in a clinical setting. Thus, the increased expression of miRNA-21 and decreased expressions of miRNA-128 and -342 in both blood plasma and saliva indicate cerebral glioma progression.

Keywords: glial cerebral tumors, glioblastoma, miRNA-21, -128, -342, blood plasma, saliva, expression profiling, StemLoop-RealTime.

Введение

Глиальные церебральные опухоли (ГЦО) – первичные опухоли центральной нервной системы, развивающиеся из глиальной ткани. По данным центрального регистра новообразований головного мозга США, они встречаются примерно в 26 % всех первичных опухолей центральной нервной системы. Среди всех злокачественных опухолей головного мозга доля глиом достигает до 81 % [1]. Согласно классификации опухолей центральной нервной системы, опубликованной Всемирной организацией здравоохранения в 2016 г. [2], к диффузным глиомам взрослых относятся астроцитарные опухоли, олигодендроглиомы и глиобластомы (ГБ). Встречаемость ГБ составляет 47,7 % среди злокачественных опухолей головного мозга и 56,6 % всех случаев глиом. Средний

возраст пациентов с ГБ на момент постановки диагноза составляет 60–65 лет [3]. Стандартная терапия ГБ подразумевает комбинированное применение хирургических методов, лучевой терапии и химиотерапии с использованием базового препарата темозоломида. Тем не менее общая медиана выживаемости таких пациентов составляет 4,9 мес [2, 4]. Для наиболее часто поражаемых возрастных групп (55–64 и 65–74 года) показатели 1-годовой выживаемости составляют 45,6 % и 28,7 % соответственно, снижаясь до 4,6 % и 2,4 % через 5 лет после установления диагноза [5].

Такое положение дел объясняется высокой степенью злокачественности, агрессивным характером роста и высокой инвазивностью ГЦО и особенно ГБ, что делает прогноз течения заболевания крайне неблагоприятным [6]. Кроме того, ухудше-

нию прогноза способствуют: наличие «функционально значимых вариантов» локализации ГЦО, что затрудняет возможность максимально полного удаления опухоли; высокая склонность к рецидивированию; развитие осложнений комбинированного лечения, включая постлучевой патоморфоз; а также нередко малая эффективность химиотерапии [7–9]. Все это заставляет вести поиск новых маркеров для ранней диагностики, мониторинга течения и прогноза ГЦО.

МикроРНК – это большой класс эндогенных малых молекул РНК длиной 20–25 нуклеотидов [10], которые регулируют экспрессию генов, приводя к прямому разрушению целевых мРНК или ингибируя трансляцию посредством комплементарности к целевым мРНК [11]. Эти целевые гены контролируют множественные биологические процессы, включая патологические, такие как онкогенез [12].

В литературе активно обсуждается роль различных микроРНК, участвующих в эволюционировании ГЦО. Было показано, что микроРНК-21 обладает антиапоптотической и проинвазивной функцией, способствуя росту и пролиферации опухолевых клеток посредством сайленсинга онкосупрессора PTEN [13, 14]. Напротив, микроРНК-128 может активировать ряд генов, отвечающих за механизмы подавления опухолевого роста, ингибирование ангиогенеза глиальных клеток, их самообновление и пролиферацию [15, 16], а микроРНК-342, модулируя экспрессию гена RAK4, участвует в контроле пролиферации клеток ГЦО, инвазии и апоптоза [17]. Не вызывает сомнения тот факт, что клетки ГЦО являются активными и преимущественными продуцентами указанных микроРНК. Так, повышенная экспрессия микроРНК-21 в клетках глиомы была подтверждена исследованиями *in vitro* [18] и на клеточной линии глиобластомы T98G. Подобные исследования проведены также в отношении микроРНК-128 [19] и микроРНК-342 [17]. Таким образом, микроРНК в качестве маркеров могут не только отражать состояние опухоли в целом, но и быть использованы для мониторинга ГЦО на фоне комплексного лечения.

Однако большинство исследований посвящено лишь некоторым аспектам значения уровней экспрессии различных микроРНК при глиомах без сопряжения с общей клинической характеристикой пациентов на различных этапах комплексного лечения ГЦО [20, 21].

Цель исследования – изучить возможности клинического использования оценки экспрессии микроРНК-21, -128 и -342 в плазме крови и слюне пациентов для оперативного мониторинга течения ГЦО на стадии их прогрессирования или стабилизации на фоне использования комбинированного лечения.

Материал и методы

Основную группу составили 56 пациентов (34 мужчины и 22 женщины) в возрасте от 25 до 72 лет (средний возраст – 48,5 лет) в процессе комплексного лечения супратенториальных ГЦО.

Всем больным основной группы на начальном этапе лечения ГЦО произведено хирургическое вмешательство с использованием интраоперационной компьютерной нейронавигации, интраоперационного электрофизиологического и последующего нейровизуализационного контроля головного мозга в динамике. В зависимости от резектабельности новообразования у 81,6 % пациентов выполнено тотальное и субтотальное удаление ткани новообразования (не менее 75 % объема опухолевой ткани), а у 10,4 % – парциальное (не менее 50 % объема опухоли). Стереотаксическая биопсия применена у 8 % больных. Согласно гистотипу [2], церебральные опухоли распределились следующим образом: анапластическая астроцитома (n=28), пилоцитарная астроцитома (n=11), глиобластома (n=17). Чаще опухоль была расположена в лобной (36,3 %) и височной (32,4 %), реже в теменной (24,6 %) и затылочной (4,7 %) долях головного мозга, мультифокальный рост встречался в 2 % случаев. Через 2–4 нед после операции назначалась дистанционная лучевая терапия (ЛТ) в режиме стандартного фракционирования в разовой дозе 1,8–2,0 Гр 5 раз в неделю, СОД 55–60 Гр. Комбинированное химиолучевое лечение проводили при злокачественных (Grade IV) ГЦО в виде ежедневного приема темозоломида в течение курса ЛТ. В последующем периоде проводили поддерживающую цикловую монокимиотерапию темозоломидом или полихимиотерапию с применением препаратов нитрозометилмочевины (по схемам PCV, CV).

Клинические данные пациентов, а также результаты позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ), МРТ и компьютерной томографии были изучены в контексте исследования уровней экспрессии микроРНК-21, -128, -342 в плазме крови и слюне на различных этапах комплексного лечения ГЦО.

Группу контроля составили 50 человек, из них 45 потенциально здоровых волонтеров и 5 нейрохирургических больных с экстрацеребральными опухолями (конвекситальными и парасагитальными менигиомами). В контрольной группе во всех случаях оценивался уровень экспрессии микроРНК-21, -128, -342 в плазме крови и слюне.

Исследование относительной экспрессии микроРНК-21, -128 и -342 проводили по полуколичественному протоколу, используя в качестве референц-гена малую РНК U6 [22]. Тотальную РНК выделяли из биоматериала (слюна, кровь) с помощью реактива ExtractRNA (Евроген, Москва) в соответствии с инструкцией. Для приготовления копийной ДНК (кДНК) и полимеразной цепной

Таблица 1/Table 1

Последовательности праймеров для обратной транскрипции
The sequence of primers for reverse transcription

микроРНК/ microRNA	Последовательности праймеров/ The sequence of primers
микроРНК-21/ microRNA-21	GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACTGGATACGACTCAAC
микроРНК-128/ microRNA-128	GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACTGGATACGACAAAGAG
микроРНК-342/ microRNA-342	GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACTGGATACGACACGGGT
РНК U-6/ RNA U-6	GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACTGGATACGACAAAAATATG

Таблица 2/Table 2

Последовательности праймеров для ПЦР
The sequence of primers for PCR

микроРНК/ microRNA	Последовательности праймеров/ The sequence of primers
микроРНК-21 (прямой)/ microRNA-21 (forward)	GCCCGCTAGCTTATCAGACTGATG
микроРНК-128 (прямой)/ microRNA-128 (forward)	GCCCGCTCAGTGAACCGGTC
микроРНК-342 (прямой)/ microRNA-342 (forward)	GCCCGCTCTCACACAGAAATCGCA
РНК U6 (прямой)/ RNA U6 (forward)	GCGCGTCGTGAAGCGTTC
Общий обратный/ Common reverse	GTGCAGGGTCCGAGGT

реакции (ПЦР) использовались оригинальные праймеры (табл. 1 и 2). Для приготовления кДНК была использована технология StemLoop со специфическими праймерами, отдельно для каждой микроРНК с использованием набора для обратной транскрипции «ОТ-1» (Синтол, Москва) согласно инструкции. Температурный профиль реакции был следующий: 16 °С – 30 мин, 42 °С – 30 мин, 85 °С – 5 мин. В качестве ПЦР смеси была использована 2,5× реакционная смесь с интелекалирующим красителем EVA Green (Синтол, Москва). Амплификацию проводили в режиме RealTime на приборе DTLite-4 (ДНК-Технология, Москва) по стандартной двухпраймерной схеме по полуколичественному протоколу.

Температурный профиль амплификации: 95 °С – 5 мин, затем 45 циклов (95 °С – 15 сек и 60 °С – 1 мин). Оценка относительного уровня экспрессии генов микроРНК проводилась по протоколу ΔC_t и рассчитывалась по формуле $2^{-(A-B)}$, где А – C_t гена микроРНК, а В – C_t гена U6 [23]. Полученный результат выражали в условных единицах экспрессии (УЕ).

Сравниваемые группы были статистически сопоставимы. Полученную в процессе исследования информацию обрабатывали с использованием компьютерной программной системы Statistica for Windows. Критерием статистической достоверности считали величину $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

В контрольной группе экспрессия исследуемых микроРНК была принята за лабораторный референт. Данные, полученные при обследовании пациентов в основной группе в зависимости от биологического материала, представлены в табл. 3.

В основной группе обращало на себя внимание частое несоответствие между степенью нейровизуализационных изменений и клиническим статусом пациентов, т.е. нередко наблюдалась нейровизуализационная прогрессия заболевания при клинической стабилизации. У 70 % пациентов при наличии прогрессии по МРТ не наблюдалось значимых изменений общемозговой и очаговой неврологической симптоматики. В то же время уровень экспрессии микроРНК-21 превосходил значения референта как в плазме крови, так и в слюне. Напротив, экспрессия микроРНК-128 и -342 была сниженной в 32 % наблюдений.

В основной группе распределение показателей микроРНК по квартилям представлено в табл. 4. Распределение степеней экспрессии микроРНК-21 по квартилям было сопряжено со степенью злокачественности глиом (Grade I–IV): $r = +0,94$, а микроРНК-128 и -342: $r = +0,65$.

При скрининге с учетом данных экспрессии микроРНК контрольной группы была построена модель с итоговой точностью различий, равной 74 % (между контрольной и основной группами).

Таблица 3/Table 3

Данные экспрессии по группам (УЕ)
Groups expression data (UE)

микроРНК/ microRNA	Группы/Groups	Пациенты/Patients
микроРНК-21 (плазма)/ microRNA-21 (plasma)	Контроль/Control	
	0,06 ± 0,041*	3,56 ± 0,654
микроРНК-21 (слюна)/ microRNA-21 (saliva)	0,05 ± 0,039*	2,45 ± 0,731
микроРНК-128 (плазма)/ microRNA-128 (plasma)	2,33 ± 0,033*	0,01 ± 0,002
микроРНК-128 (слюна)/ microRNA-128 (saliva)	0,13 ± 0,042*	0,04 ± 0,004
микроРНК-342 (плазма)/ microRNA-342 (plasma)	1,32 ± 0,021*	0,31 ± 0,027
микроРНК-342 (слюна)/ microRNA-342 (saliva)	0,09 ± 0,018*	0,04 ± 0,003

Примечание: * – различия между группами статистически значимые (p<0,001).

Note: * – differences between the groups is a statistical significance (p<0.001).

Таблица 4/Table 4

Распределение УЕ микроРНК в группе пациентов по квартилям
The distribution of UE microRNAs in a group of patients by quartiles

Квартили, микроРНК/ Quartiles, microRNA	I квартиль 0–25 % экспрессии/ I quartile 0–25 % expression	II квартиль 25–50 % экспрессии/ II quartile 25–50 % expression	III квартиль 50–75 % экспрессии/ III quartile 50–75 % expression	IV квартиль 75–100 % экспрессии/ IV quartile 75–100 % expression
микроРНК-21 (плазма)/ microRNA-21 (plasma)	0,057 ± 0,033 – 0,32 ± 0,02	0,32 ± 0,02 – 1,45 ± 0,08	1,45 ± 0,08 – 1,79 ± 0,07	1,79 ± 0,67 – 3,56 ± 0,65
микроРНК-21 (слюна)/ microRNA-21 (saliva)	0,037 ± 0,053 – 0,1 ± 0,014	0,1 ± 0,014 – 1,28 ± 0,077	0,28 ± 0,077 – 1,6 ± 0,04	1,6 ± 0,4 – 2,45 ± 0,73
микроРНК-128 (плазма)/ microRNA-128 (plasma)	>0,07	0,008 ± 0,002	<0,07	Не выявляются/ no detected
микроРНК-128 (слюна)/ microRNA-128 (saliva)	>0,01	0,04 ± 0,004	<0,01	Не выявляются/ no detected
микроРНК-342 (плазма)/ microRNA-342 (plasma)	>0,31	0,31 ± 0,027	<0,31	Не выявляются/ no detected
микроРНК-342 (слюна)/ microRNA-342 (saliva)	>0,01	0,04 ± 0,0034	<0,01	Не выявляются/ no detected

Уровни экспрессии микроРНК-21, -128 и -342 не выходили за рамки референтных значений, высоко коррелируя со стабилизацией ГЦО.

Более чем у половины больных (55 %) основной группы нарастание размеров опухоли при нейровизуализации сопровождалось увеличением индекса накопления (ИН) радиофармакологического препарата ¹¹C метионина при ПЭТ, что отражало рост метаболической активности ГЦО. Средний ИН при прогрессии ГЦО составил 2,5 ± 0,41 и значимо отличался от такового в группе больных со стабилизацией и высокой стабилизацией опухоли: ИН=1,42 ± 0,16 (p=0,02).

Прогрессия ГЦО, выявленная при нейровизуализационном (МРТ) и ПЭТ исследованиях, также коррелировала со степенью экспрессии микроРНК-

21 (r=+0,74), -128 и -342 (r=+0,69). Однако при наличии сопутствующего церебрального лучевого поражения после проведенной лучевой терапии ГЦО, наоборот, повышалась до r=+0,78. Данное обстоятельство, возможно, объясняется массивным разрушением клеток опухоли, которые являются основными продуцентами микроРНК-21, что может компенсаторно модулировать экспрессию микроРНК-128 и -342. Для более полного освещения этого вопроса нами планируется дальнейшее расширение диагностической панели микроРНК.

Диагностическая значимость для ГЦО микроРНК-128, -342 на фоне дополнительной верификации статистических методов исследования составила 69 %, что предполагает использование этих микроРНК в клинической практике.

Заключение

Таким образом, результатом проведенного исследования является получение данных по уровням экспрессии микроРНК-21, -128 и -342 в контрольной группе. В качестве референтных эти данные можно использовать для оценки уровней микроРНК в группе пациентов с ГЦО. Показано, что уровень экспрессии проопухолевой микроРНК-21 значимо повышался при прогрессировании ГЦО и нормализовался при стабилизации опухолевого процесса. Однако при возникновении у пациентов сопутствующего лучевого церебрального поражения диагностическая значимость микроРНК-21 снижалась. Уровни экспрессии микроРНК-128 и -342 имели обратную корреляцию с прогрессированием ГЦО. Причем эти уровни были статистически значимы при исследовании как плазмы крови, так и слюны пациентов, что дает возможность валидации малоинвазивного мониторинга процессов эволюции глиом. Для увеличения клинической информативности разработанная панель планируется к расширению с добавлением как про-, так и антиопухолевых микроРНК.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Ostrom Q.T., Gittleman H., Truitt G., Boscia A., Kruchko C., Barnholtz-Sloan J.S. CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Other Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2011-2015. *Neuro Oncol.* 2018 Oct 1; 20(suppl_4): iv1iv86. doi: 10.1093/neuonc/now131.
2. Мацко Д.Е., Мацко М.В., Имянитов Е.Н. Нейроонкология. Практическая онкология. 2018; 18(1): 103–114. [Matsko D.E., Matsko M.V., Imyanitov E.N. Neurooncology. Practical Oncology. 2018; 18(1): 103–114. (in Russian)]. doi: 10.31917/1801103.
3. Vartanian A., Singh S.K., Agnihotri S., Jalali S., Burrell K., Aldape K.D., Zadeh G. GBM's multifaceted landscape: highlighting regional and microenvironmental heterogeneity. *Neuro Oncol.* 2014 Sep; 16(9): 1167–75. doi: 10.1093/neuonc/nou035.
4. Карпашев А.В., Якубович Е.И. Генетические маркеры злокачественных глиом. Медицинский академический журнал. 2016; 3(3): 64–71. [Kartashev A.V., Yakubovich E.I. The genetic markers of malignant gliomas. *Medical Academic Journal.* 2016; 3(3): 64–71. (in Russian)].
5. Ostrom Q.T., Gittleman H., Xu J., Kromer C., Wolinsky Y., Kruchko C., Barnholtz-Sloan J.S. CBTRUS statistical report: primary brain and central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2009-2013. *Neuro Oncol.* 2016 Oct 1; 18(suppl_5): v1v75. doi: 10.1093/neuonc/now207.
6. Okolie O., Bago J.R., Schmid R.S., Irvin D.M., Bash R.E., Miller C.R., Hingtgen S.D. Reactive astrocytes potentiate tumor aggressiveness in a murine glioma resection and recurrence model. *Neuro Oncol.* 2016 Dec; 18(12): 1622–1633. doi: 10.1093/neuonc/now117.
7. Franceschi S., Lessi F., Aretini P., Mazzanti C.M., Menicagli M., La Ferla M., De Gregorio V., Caramella D., Naccarato A.G., Bevilacqua G., Bonadio A.G., Pasqualetti F. Molecular portrait of a rare case of metastatic glioblastoma: somatic and germline mutations using whole-exome sequencing. *Neuro Oncol.* 2016 Feb; 18(2): 298–300. doi: 10.1093/neuonc/now314.
8. Mair D.B., Ames H.M., Li R. Mechanisms of invasion and motility of high-grade gliomas in the brain. *Mol Biol Cell.* 2018; 29(21): 2509–2515. doi: 10.1091/mbc.E18-02-0123.
9. Perazzoli G., Prados J., Ortiz R., Caba O., Cabeza L., Berdasco M., González B., Melguizo C. Temozolomide resistance in glioblastoma cell lines: implication of MGMT, MMR, P-Glycoprotein and CD133 expression. *PLoS One.* 2015 Oct 8; 10(10): e0140131. doi: 10.1371/journal.pone.0140131.
10. Zhang J., Li S., Li L., Li M., Guo C., Yao J., Mi S. Exosome and exosomal microRNA: trafficking, sorting, and function. *Genomics Proteomics Bioinformatics.* 2015 Feb; 13(1): 17–24. doi: 10.1016/j.gpb.2015.02.001.
11. Sarvazadeh M., Malekshahi Z.V., Razi E., Sharifi H., Moussavi N., Taghizadeh M. MicroRNA: A new player in response to therapy for

colorectal cancer. *J Cell Physiol.* 2019 Jun; 234(6): 8533–8540. doi: 10.1002/jcp.27806.

12. Gokulnath P., de Cristofaro T., Manipur I., Di Palma T., Soriano A.A., Guarracino M.R., Zannini M. Long Non-Coding RNA MAGI2-AS3 is a New Player with a Tumor Suppressive Role in High Grade Serous Ovarian Carcinoma. *Cancers (Basel).* 2019 Dec 12; 11(12): pii: E2008. doi: 10.3390/cancers11122008.
13. He X.Y., Liao Y.D., Guo X.Q., Wang R., Xiao Z.Y., Wang Y.G. Prognostic role of microRNA-21 expression in brain tumors: a meta-analysis. *Mol Neurobiol.* 2016 Apr; 53(3): 1856–1861. doi: 10.1007/s12035-015-9140-3.
14. Chai C., Song L.J., Han S.Y., Li X.Q., Li M. MicroRNA-21 promotes glioma cell proliferation and inhibits senescence and apoptosis by targeting SPRY1 via the PTEN/PI3K/AKT signaling pathway. *CNS Neurosci Ther.* 2018 May; 24(5): 369–380. doi: 10.1111/cns.12785.
15. Lin Y., Wu Z. MicroRNA-128 inhibits proliferation and invasion of glioma cells by targeting COX-2. *Gene.* 2018; 658: 63–69. doi: 10.1016/j.gene.2018.03.020.
16. Li M., Fu W., Wo L., Shu X., Liu F., Li C. miR-128 and its target genes in tumorigenesis and metastasis. *Exp Cell Res.* 2013 Dec 10; 319(20): 3059–64. doi: 10.1016/j.yexcr.2013.07.031.
17. Lu X., Wang H., Su Z., Cai L., Li W. MicroRNA-342 inhibits the progression of glioma by directly targeting PAK4. *Oncol Rep.* 2017 Aug; 38(2): 1240–1250. doi: 10.3892/or.2017.5783.
18. Quintavalle C., Donnarumma E., Iaboni M., Roscigno G., Garofalo M., Romano G., Fiore D., De Marinis P., Croce C.M., Condorelli G. Effect of miR-21 and miR-30b/c on TRAIL-induced apoptosis in glioma cells. *Oncogene.* 2013 Aug 22; 32(34): 4001–8. doi: 10.1038/ncr.2012.410.
19. Wu N., Wu G.C., Hu R., Li M., Feng H. Ginsenoside Rh2 inhibits glioma cell proliferation by targeting microRNA-128. *Acta Pharmacol Sin.* 2011 Mar; 32(3): 345–53. doi: 10.1038/aps.2010.220.
20. Liu D.K., Wei Y.J., Guo Y., Wang J., Wang G.H. MiRNA-93 functions as an oncogene in glioma by directly targeting RBL2. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2018 Apr; 22(8): 2343–2350. doi: 10.26355/eurev.201804.14825.
21. Xiong W., Ran J., Jiang R., Guo P., Shi X., Li H., Lv X., Li J., Chen D. miRNA-320a inhibits glioma cell invasion and migration by directly targeting aquaporin 4. *Oncol Rep.* 2018 Apr; 39(4): 1939–1947. doi: 10.3892/or.2018.6274.
22. Sazanov A.A., Kiselyova E.V., Zakharenko A.A., Romanov M.N., Zaraysky M.I. Plasma and saliva miR-21 expression in colorectal cancer patients. *J Appl Genet.* 2017 May; 58(2): 231–237. doi: 10.1007/s13353-016-0379-9.
23. Rao X., Huang X., Zhou Z., Lin X. An improvement of the 2⁻(delta delta CT) method for quantitative real-time polymerase chain reaction data analysis. *Biostat Bioinform Biomath.* 2013 Aug; 3(3): 71–85.

Поступила/Received 06.05.2020

Принята в печать/Accepted 19.05.2020

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Селиверстов Роман Юрьевич, кандидат медицинских наук, нейрохирург клиники, научный сотрудник лаборатории нейро-реабилитации, Институт мозга человека им. Н.П. Бехтерева Российской академии наук; ассистент кафедры нейрохирургии им проф. А.Л. Поленова, ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» (г. Санкт-Петербург, Россия). E-mail: ruslrv@mail.ru. AuthorID: (РИНЦ): 789767. ORCID: 0000-0002-9284-1119.

Зарайский Михаил Игоревич, доктор медицинских наук, профессор кафедры клинической лабораторной диагностики с курсом молекулярной медицины, ПСПбГМУ им. И.П. Павлова (г. Санкт-Петербург, Россия). E-mail: mzaraiski@yandex.ru. Researcher ID (WOS): N-4146-2015. Author ID (Scopus): 6506478421. ORCID: 0000-0002-7605-4369.

Тюрин Роман Викторович, заведующий нейрохирургическим отделением клиники, Институт мозга человека им. Н.П. Бехтерева Российской академии наук; ассистент кафедры нейрохирургии и неврологии медицинского факультета, Санкт-Петербургский государственный университет (г. Санкт-Петербург, Россия). AuthorID (РИНЦ): 814972. SPIN-код: 1430-1799.

Нарышкин Александр Геннадьевич, доктор медицинских наук, профессор кафедры нейрохирургии им. проф. А.Л. Поленова, ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» (г. Санкт-Петербург, Россия). AuthorID (РИНЦ): 117602. SPIN-код 3742-4152.

Валерко Виталий Геннадьевич, кандидат медицинских наук, доцент кафедры нейрохирургии им. проф. А.Л. Поленова, ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова»; нейрохирург, СПб ГБУЗ «Александровская больница» (г. Санкт-Петербург, Россия). AuthorID (РИНЦ): 1009526.

Семиглазов Владислав Владимирович, доктор медицинских наук, заведующий кафедрой онкологии, ПСПбГМУ им. И.П. Павлова (г. Санкт-Петербург, Россия). Researcher ID (WOS): AAH-9574-2020. Author ID (Scopus): 7006310596. ORCID: 0000-0002-8825-5221.

Takahashi Chiaki, профессор, руководитель отдела онкологии и молекулярной биологии, Научно-исследовательский институт рака, Университет Канадзава (Канадзава, Япония). Author ID (Scopus): 7103131053.

ВКЛАД АВТОРОВ

Селиверстов Роман Юрьевич: сбор и обработка материала.

Зарайский Михаил Игоревич: разработка концепции научной работы.

Тюрин Роман Викторович: сбор и обработка материала, составление черновика рукописи.

Нарышкин Александр Геннадьевич: сбор и обработка материала.

Валерко Виталий Геннадьевич: статистическая обработка.

Семиглазов Владислав Владимирович: анализ научной работы.

Takahashi Chiaki: разработка концепции научной работы, анализ научной работы.

Финансирование

Работа выполнена в ИМЧ РАН в рамках государственного задания Минобрнауки.

Конфликт интересов

Авторы объявляют, что у них нет конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Roman Yu. Seliverstov, MD, PhD, Neurosurgeon, Researcher, Nuerorehabilitation Laboratory, N.P. Bekhtereva Institute of the Human Brain of the Russian Academy of Sciences; Neurosurgery Department, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov (St. Petersburg, Russia). E-mail: rusrliv@mail.ru. ORCID: 0000-0002-9284-1119.

Mikhail I. Zaraysky, MD, Professor, Department of Clinical Laboratory Diagnostics with a course of molecular medicine, Pavlov First St. Petersburg State Medical University (St. Petersburg, Russia). Researcher ID (WOS): N-4146-2015. Author ID (Scopus): 6506478421. ORCID: 0000-0002-7605-4369.

Roman V. Tyurin, MD, Neurosurgeon, Head of Neurosurgery Department, N.P. Bekhtereva Institute of the Human Brain of the Russian Academy of Sciences; Neurosurgery and Neurology Department of State University (St. Petersburg, Russia).

Alexander G. Naryshkin, MD, Professor, Neurosurgery Department, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov (St. Petersburg, Russia).

Vitaliy G. Valerko, MD, PhD, Neurosurgery Department, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov; Neurosurgeon, Aleksandrovskaya Hospital (St. Petersburg, Russia).

Vladislav V. Semiglazov, MD, DSc, Head of Oncology Department, Pavlov First St. Petersburg State Medical University (St. Petersburg, Russia). Researcher ID (WOS): AAH-9574-2020. Author ID (Scopus): 7006310596. ORCID: 0000-0002-8825-5221.

Ch. Takahashi, Professor, Head of the Department of Oncology and Molecular Biology, Cancer Research Institute, Kanazawa University (Kanazawa, Japan).

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Roman Yu. Seliverstov: data collection and analysis.

Mikhail I. Zaraysky: study design and concept.

Roman V. Tyurin: data collection and analysis, drafting of the manuscript.

Alexander G. Naryshkin: data collection and analysis.

Vitaliy G. Valerko: statistical data processing.

Vladislav V. Semiglazov: study supervision.

Ch. Takahashi: study concept, study supervision.

Funding

The work was carried out at the IMCh RAS within the framework of the state task of the Ministry of Education and Science.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

Для цитирования: Письменный Д.С., Савельева О.Е., Завьялова М.В., Родионов Е.О., Таширева Л.А., Тузиков С.А., Панкова О.В., Перельмутер В.М. Связь параметров воспалительного статуса с развитием лимфогенных метастазов у больных немелкоклеточным раком лёгкого. Сибирский онкологический журнал. 2020; 19(3): 54–63. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-3-54-63.

For citation: Pismenny D.S., Savelieva O.E., Zavyalova M.V., Rodionov E.O., Tashireva L.A., Tuzikov S.A., Pankova O.V., Perelmutter V.M. The inflammatory status and lymph node metastases in non-small cell lung cancer. Siberian Journal of Oncology. 2020; 19(3): 54–63. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-3-54-63.

THE INFLAMMATORY STATUS AND LYMPH NODE METASTASES IN NON-SMALL CELL LUNG CANCER

D.S. Pismenny^{1,2}, O.E. Savelieva¹, M.V. Zavyalova^{1,2}, E.O. Rodionov^{1,2},
L.A. Tashireva¹, S.A. Tuzikov^{1,2}, O.V. Pankova¹, V.M. Perelmutter¹

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

5, Kooperativny Street, 634009, Tomsk, Russia. E-mail: Pismenniy.dmitry@gmail.ru¹

Siberian State Medical University, Tomsk, Russia²

2, Moskovsky trakt, 634055, Tomsk, Russia²

Abstract

Introduction. The development of inflammation is characterized by changes in blood hematology parameters and indices. Various inflammatory parameters are used to assess the inflammatory status (IS) during cancer treatment. Recent studies have revealed a relationship between tumor progression and the presence of chronic inflammation. Consequently, there have been many attempts to predict the risk of tumor recurrence and distant metastases, as well as patient's survival assessing the various inflammatory markers. The relationship between IS parameters and lymph node metastasis remains poorly understood in non-small cell lung cancer (NSCLC). **Material and Methods.** The prospective study included 35 patients with NSCLC (T1–4N0–2M0). Seventeen patients received 2–3 cycles of neoadjuvant chemotherapy (NAC). A leukocyte formula was determined in the peripheral blood and inflammatory indices, such as neutrophils to lymphocytes ratio (NLR), platelets to lymphocytes ratio (PLR), lymphocytes to monocytes ratio (LMR) and systemic immuno-inflammatory index (SII) were calculated. In addition, the concentrations of fibrinogen, C-reactive protein (CRP) and cortisol were evaluated. **Results.** NAC alone did not significantly change the parameters of patients' IS. Lymph node metastases were associated with changes in parameters indicating the enhanced IS. In the group of patients who did not receive NAC, lymph node metastasis was associated with fibrinogen blood levels (cut-off value 5.35 g/L), PLR index value (cut-off value 7.18) and cortisol blood concentration (cut-off value 414 nmol/mL). The confidence level was $\chi^2=10.118$; $p=0.018$. In the group of patients who received NAC, lymph node metastasis was associated with the leukocyte count (cut-off value $7.1 \times 10^9/L$), PLR index value (cut-off value is 7.18) and CRP blood concentration (cut-off value is 8.5 mg/L). The confidence level was $\chi^2=8.193$; $p=0.042$. **Conclusion.** Risk of lymph node metastasis in NSCLC is associated with IS. Parameters of IS can be used to predict the risk of lymph node metastases.

Key words: non-small cell lung cancer, inflammatory status, neoadjuvant chemotherapy, lymph node metastasis.

СВЯЗЬ ПАРАМЕТРОВ ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО СТАТУСА С РАЗВИТИЕМ ЛИМФОГЕННЫХ МЕТАСТАЗОВ У БОЛЬНЫХ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНЫМ РАКОМ ЛЁГКОГО

Д.С. Письменный^{1,2}, О.Е. Савельева¹, М.В. Завьялова^{1,2}, Е.О. Родионов^{1,2},
Л.А. Таширева¹, С.А. Тузиков^{1,2}, О.В. Панкова¹, В.М. Перельмутер¹

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

Россия, 634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5. E-mail: Pismenniy.dmitry@gmail.ru¹

ФГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет», г. Томск, Россия²
Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2²

Аннотация

Введение. Развитие воспаления находит отражение в изменении ряда гематологических показателей и индексов, объединенных понятием воспалительный статус (ВС). Исследования последних десятилетий выявили связь прогрессии опухолей с наличием хронического воспаления. Предпринимаются попытки прогнозировать риск возникновения рецидивов и отдаленных метастазов опухоли, а также выживаемости пациентов на основе различных воспалительных индексов. Наименее изученной остается ассоциация ВС с лимфогенным метастазированием немелкоклеточного рака лёгких (НМРЛ). **Материал и методы.** Исследование проведено на 35 больных, прооперированных по поводу НМРЛ T1–4N0–2M0 стадии, 17 больным было проведено 2–3 курса неoadъювантной химиотерапии (НАХТ). В периферической крови определяли лейкоцитарную формулу и рассчитывали «воспалительные» индексы: отношение количества нейтрофилов к количеству лимфоцитов (NLR), количества тромбоцитов к количеству лимфоцитов (PLR), количества лимфоцитов к количеству моноцитов (LMR) и системный иммуно-воспалительный индекс (SII) как отношения произведения числа нейтрофилов и тромбоцитов к числу лимфоцитов. Кроме этого, оценивали концентрацию фибриногена, С-реактивного белка (СРБ) и кортизола. **Результаты.** Неoadъювантная химиотерапия существенно не изменяет параметры ВС у пациентов. Наличие лимфогенных метастазов ассоциировано с изменением параметров, свидетельствующих об усилении ВС. У больных, не получавших НАХТ, значимыми для лимфогенного метастазирования были изменения уровня фибриногена (пороговый уровень – 5,35 г/л), величины индекса PLR (пороговый уровень – 7,18) и кортизола (пороговый уровень – 414 нмоль/мл). Степень достоверности $\chi^2=10,118$; $p=0,018$. В группе пациентов, получавших НАХТ, лимфогенное метастазирование было ассоциировано с количеством лейкоцитов (пороговый уровень – $7,1 \times 10^9$ /л), величиной индекса PLR и концентрацией СРБ (пороговый уровень – 8,5 мг/л). Степень достоверности данной модели: $\chi^2=8,193$; $p=0,042$. **Заключение.** Риск лимфогенного метастазирования при НМРЛ ассоциирован с ВС, его параметры, с учетом НАХТ, могут быть использованы для прогноза риска развития лимфогенных метастазов.

Ключевые слова: немелкоклеточный рак легких, воспалительный статус, неoadъювантная химиотерапия, лимфогенное метастазирование.

Introduction

Chronic inflammation contributes to the onset and progression of the tumor (recurrence, metastasis). It has been shown that the chronic inflammation often precedes the development of some malignant tumors [1]. The focus of chronic persistent inflammation may be the site of the pre-niche formation [2], then the pre-metastatic niche [3] and, subsequently, metastasis. Additionally, it is known that surgical removal of a primary tumor is a stressor, on the one hand, and the cause of local inflammation and a source of pro-inflammatory factors on the other hand. Thereby, the risk of metastases and relapses in the early postoperative period is increased. The use of anti-inflammatory drugs during this period prevents their occurrence [4].

The term «inflammatory status» (IS) is rarely used. Inflammatory status is the state of the macroorganism characterized by elevated biochemical, cytokine,

and cellular parameters traditionally associated with the development of inflammation and determined in peripheral blood. The counts of neutrophils, lymphocytes, monocytes and platelets, as well as their ratios – inflammatory indices (NLR [5, 6], PLR [7, 8], SII [9–11], LMR [12, 13] and others) are used as the parameters of IS.

It has been shown that the values of these inflammatory indices are associated with the patient's survival in various types of cancer. Recently, there have been many attempts to predict the risk of recurrence and distant metastases, as well as patient's survival after assessing the various inflammatory indices. The systemic immuno-inflammatory index (SII) is the most informative among these indices [10, 11]. However, it should be noted that the relationship between IS parameters and lymph node metastasis remains poorly understood.

Although inflammatory indices as well as the count of different forms of blood leukocytes characterize systemic IS, it is well known that all these parameters are sensitive to changes in the concentration of glucocorticoids and other hormones that reflect the general adaptation syndrome. In this regard, the level of IS indices simultaneously reflects the activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis [14, 15]. The patient's IS parameters are influenced by the primary tumor, neoadjuvant chemotherapy (NAC), as well as the development of recurrence and metastases, which are inducers of the pro-inflammatory cytokine synthesis and other pro-inflammatory factors, on the one hand, and stressors, on the other hand.

The purpose of our study was to examine the relationship between the IS parameters and lymph node metastasis in NSCLC before and after NAC.

Material and Methods

The prospective study included 35 patients, male – 27 (77 %), female – 8 (23 %) with T1–4N0–2M0 NSCLC treated at Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center (tabl. 1). The study was approved by the Local Committee for Medical Eth-

ics of our Institute, and informed consent was obtained from all patients prior to analysis. Seventeen (49 %) of the 35 patients received 2–3 courses of neoadjuvant chemotherapy (paclitaxel 175 mg/m², IV day 1 + carboplatin AUC 6, IV day 1 with a 3-week interval). Dexamethasone was given to patients to reduce adverse reactions to paclitaxel + carboplatin. Patients were followed up for 5 years after treatment initiation.

The histological diagnosis of lung cancer was made according to «Histological classification of lung tumors» (WHO, Geneva, 2003). Squamous cell carcinoma was diagnosed in 20 (57 %) cases and lung adenocarcinoma was diagnosed in 14 (40 %) cases. Squamous cell carcinoma was more frequently observed in men (20 cases, 74 %). Adenocarcinoma was revealed in 7 women and mucoepidermoid carcinoma in 1 woman. Synchronous lymph node metastases were detected in 13 patients (37 %).

Venous ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) blood samples were taken 12 days before surgery, but not earlier than 23 weeks after the last course of NAC and glucocorticoids in the scheme «paclitaxel + carboplatin». Indicators of the general blood test and the leukocyte formula, as well as the concentration of the

Таблица 1/Table 1

Клинико-патологические показатели пациентов с немелкоклеточным раком легкого

The clinicopathological parameters of the patients with the non-small cell lung cancer

Клинико-патологические показатели/ Clinicopathological parameters		Число больных (n=35)/ Number of patients (n=35)
Возраст (лет)/Age (year)	62 ± 6.87	
Пол/Sex	Мужской/Male	27 (77 %)
	Женский/Female	8 (23 %)
Тип НМРЛ/NSCLC variant	Плоскоклеточный рак /Squamous cell carcinoma	20 (57 %)
	Аденокарцинома/Adenocarcinoma	14 (40 %)
	Мукоэпидермоидный рак/Мукоэпидермоид carcinoma	1 (3 %)
Лимфатический статус/ Lymph node status	N-	22 (63 %)
	N+	13 (37 %)
Неoadъювантная химиотерапия/ Neoadjuvant chemotherapy	Нет/No	18 (51 %)
	Да/Yes	17 (49 %)
Операция/ Surgery	Лобэктомия/Lobectomy	26 (74 %)
	Пневмоэктомия/Pulmonectomy	9 (26 %)
Размер опухоли/Tumor size	T1	2 (5.7 %)
	T2	11 (31.4 %)
	T3	19 (54.3 %)
	T4	3 (8.6 %)
Стадия/Stage	I	2 (5.7 %)
	IIa	9 (25.7 %)
	IIb	2 (5.7 %)
	IIIa	19 (54.3 %)
	IIIb	3 (8.6 %)

acute phase of inflammation protein – fibrinogen, were determined by standard hematological methods. The concentration of another «inflammatory» C-reactive protein (CRP) and cortisol was determined by enzyme immunoassay in accordance with the protocols of manufacturers («HEMA» and «VECTOR-BEST», Russia). The «inflammatory» indices, such as NLR – neutrophil-to-lymphocyte ratio, PLR – platelet-to-lymphocyteratio, LMR – lymphocyte-to-monocyte ratio and systemic immune-inflammation index SII – (neutrophil count $\times$ platelet count / lymphocyte count) were calculated.

All statistical analyses were performed in the GraphPad Prism version 8.3.0 (GraphPad Software, USA). The assessment of the normal distribution of the results was performed using the Shapiro–Wilk test. The significance was assessed using the nonparametric Mann–Whitney test (for independent samples). The data were presented as the median (Me) and the upper and lower quartiles (Q1–Q3). The logistic regression models were developed for predicting lymph node

metastases. The threshold level of indicators was determined using ROC analysis for development of the logistic regression models. Two-sided p-values of <0.05 were considered statistically significant, p-values of ≤ 0.1 were considered as trends.

Results

The IS parameters were analyzed in patients with NSCLC before surgical treatment. The clinicopathological parameters of the patients with NSCLC are presented in Tabl. 1. A tentative comparison of patients' parameters with regard to the age, gender, and NSCLC type showed no statistical differences. This made it possible to exclude the influence of these parameters on the study results.

Effects of neoadjuvant chemotherapy on the IS parameters

Neoadjuvant chemotherapy did not cause significant changes in the IS parameters in patients with NSCLC regardless of the presence or absence of lymph node metastases (fig. 1).

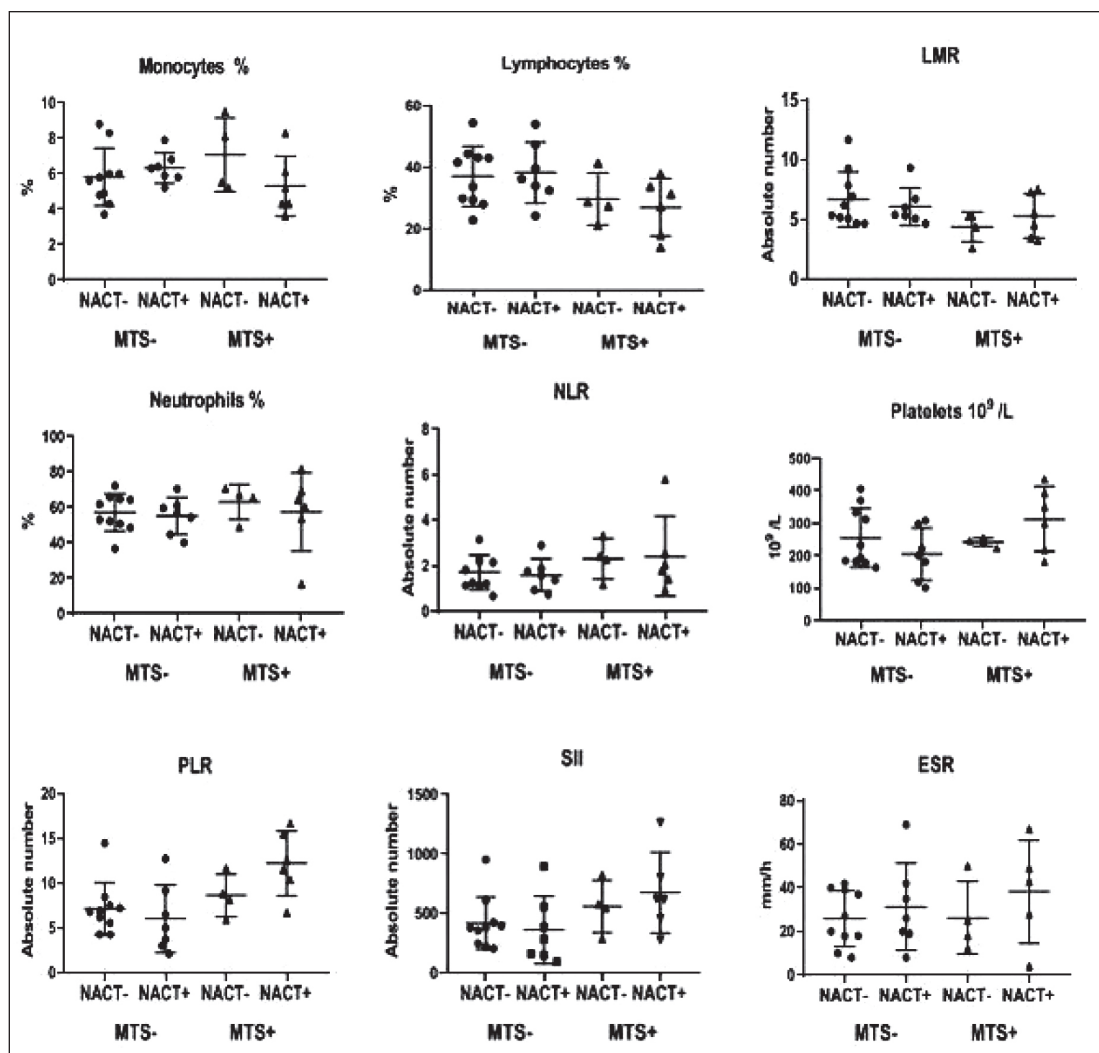


Рис. 1. Параметры воспалительного статуса у пациентов с НМРЛ с наличием или отсутствием метастазов в лимфатических узлах в зависимости от HAXT

Fig. 1. IS parameters in NSCLC patients with presence or absence of lymph node metastases depending on NAC administration

Association of IS parameters with lymph node metastasis in patients without NAC

The relationship between the IS parameters and lymph node metastasis was analyzed in patients, who did not receive NAC before surgical treatment. Lymph node metastases in NSCLC patients were shown to be associated with decreased lymphocyte count ($p=0.09$) and LMR index ($p=0.09$) compared to patients without lymph node metastases (fig. 2). Besides, the neutrophil ($p=0.1$) and monocyte ($p=0.1$) counts and the NLR index ($p=0.1$) were tended to increase (fig. 2). The platelet count and PLR index, as well as the SII index and ESR (fig. 2) were not associated with the presence of lymph node metastases.

Thus, lymph node metastasis was associated with a strong trend towards enhanced IS, in which the lymphocyte count and the LMR index were decreased and the neutrophil count and the NLR index were increased. However, similar changes (drift in the lymphocyte and neutrophil ratio in favor of neutrophils) were also typical for the glucocorticoid effects.

Association of the IS parameters with lymph node metastasis in patients with NAC

After NAC, a strong trend towards decrease in the lymphocyte count ($p=0.06$) and increase in the platelet count ($p=0.07$) and SII index ($p=0.08$) was observed. The PLR index was significantly higher ($p=0.02$) in NSCLC patients with lymph node metastases compared to patients without lymph node metastases (fig. 3). Thus, IS parameters were higher in patients with lymph node metastases compared to patients without metastases regardless of NAC administration.

Prediction of lymph node metastasis in patients with NSCLC depending on the NAC administration

Differences in the IS parameters associated with lymph node metastases allowed us to use a multi-factor analysis to predict NSCLC progression. The method of logistic regression revealed a complex of relationships between the studied parameters, which was associated with a high risk of lymph node metastases in patients with NSCLC. The logistic regression model also included parameters which did not differ in groups with the presence and absence of lymph node metastases after the Mann-Whitney test (tabl. 2). The cut-off value of indicators was determined using ROC analysis for development of the logistic regression

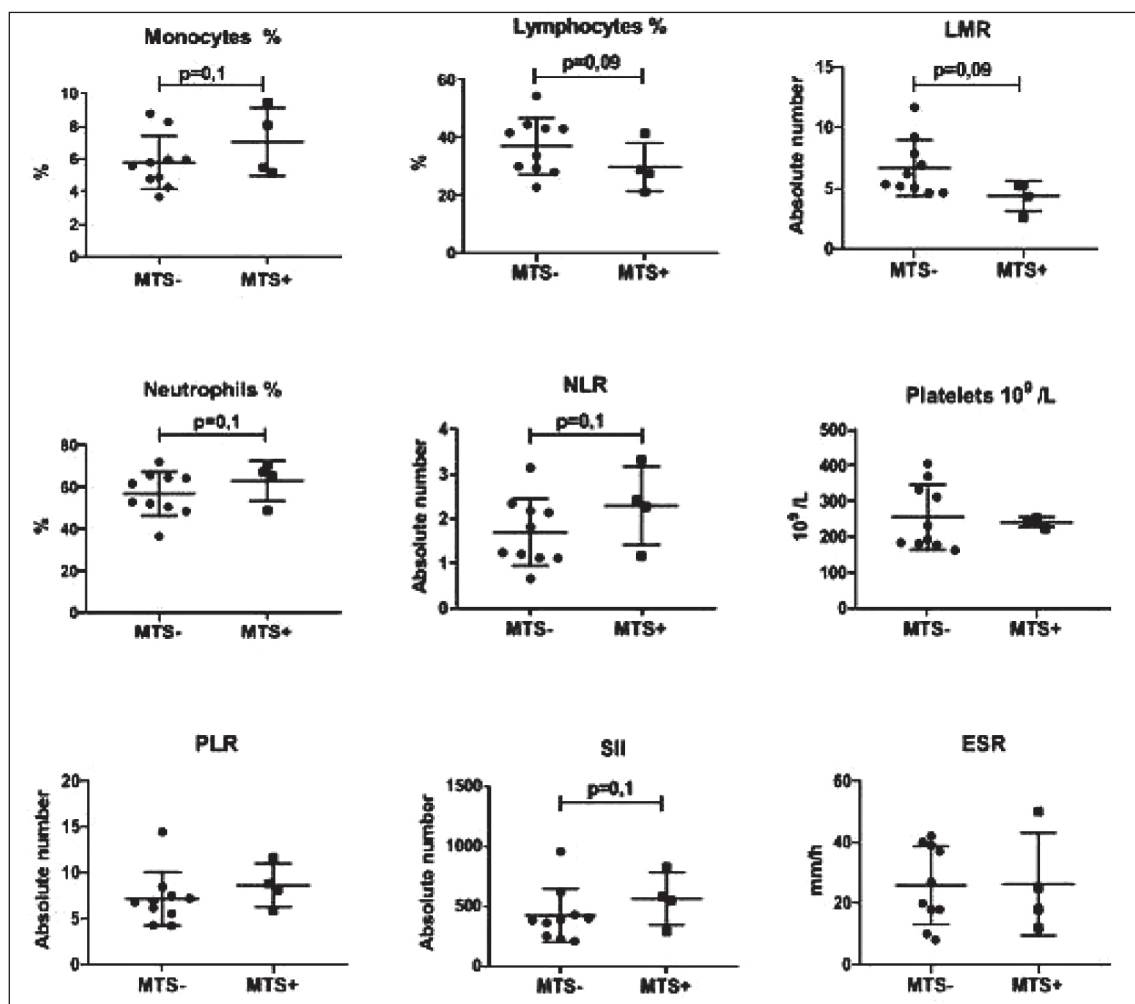


Рис. 2. Параметры ВС в зависимости от наличия метастазов в лимфатических узлах у пациентов с НМРЛ, которые не получали HAXT
Fig. 2. The IS parameters depending on the presence of lymph node metastases in NSCLC patients, who did not receive NAC

Таблица 2/Table 2

Концентрации СРБ, кортизола и фибриногена у больных НМРЛ в зависимости от метастазов в лимфатических узлах и НАХТ

The CRP, cortisol and fibrinogen concentrations in NSCLC patients depending on the lymph node metastases and NAC administration

Параметры/ Parameters	НАХТ-/NAC-		НАХТ+/NAC+	
	N-	N+	N-	N+
СРБ, мг/л/ CRP, mg/L	5.6 (2.8–7.8)	8.8 (4.5–9.1) p=0.8	6.3 (4.2–8.3)	11.4 (4.7–18.0) p=0.7
Кортизол, nmol/L/ Cortisol, nmol/L	403 (312–488)	350 (307–364) p=0.3	387 (321–454)	377 (231–524) p=0.4
Фибриноген, g/L/ Fibrinogen, g/L	5.4 (4.7–6.8)	5.4 (4.7–6.6) p=0.6	6.9 (5.7–7.0)	6.5 (5.6–7.6) p=0.8

Таблица 3/Table 3

Площадь под кривой (AUC), пороговые значения, чувствительность и специфичность для параметров ВС у пациентов с НМРЛ

Area under curve (AUC), cut-off values, sensitivity and specificity for IS parameters in NSCLC patients

Параметры/ Parameters	AUC	Стандартная ошибка/ Std Error	P значение/ P value	Пороговые значения/ Cut-off value	Чувствительность – Специфичность/ Sensitivity – Specificity
Лейкоциты/ Leukocytes	0.731	0.095	0.028	7.1	91.67 % – 59.09 %
PLR	0.818	0.074	0.003	7.18	83.33 % – 68.18 %
Фибриноген/ Fibrinogen	0.604	0.108	0.359	5.35	81.82 % – 47.06 %
Кортизол/ Cortisol	0.708	0.172	0.307	414	100.00 % – 50.00 %
СРБ/CRP	0.583	0.156	0.640	8.5	66.67 % – 87.50 %

models. The fibrinogen blood level (cut-off value: 5.35 g/L), PLR index value (cut-off value: 7.18) and cortisol blood concentration (cut-off value: 414 nmol/mL) before surgical treatment were included in the logistic regression model for patients without NAC. Regression model confidence level was $\chi^2=10.118$; $p=0.018$. The sensitivity of this model was 87.5 %, the specificity – 100 %. The parameters of ROC curve analysis are demonstrated in Tabl. 3 and Fig. 4.

The leukocyte blood count (cut-off value: $7.1 \times 10^9/L$), PLR index value (cut-off value: 7.18) and CRP blood concentration (cut-off value: 8.5 mg/L) before surgical treatment were included in the logistic regression model for patients with NAC administration. Regression model confidence level was $\chi^2=8.193$; $p=0.042$. The sensitivity of this model was 100 %, the specificity was 100 %.

Discussion

The levels of different leukocyte forms and inflammatory indices, such as CRP, fibrinogen and ESR are a combination of parameters characterizing the IS. In recent years, an increasing number of studies have shown a relationship between inflammatory indices and cancer progression [5, 6, 9–13]. Based on these data, some inflammatory indices are recommended as the prognostic factors of carcinoma progression [16, 17].

The IS parameters reflect not only the influence of various factors that can cause inflammation, but also a variety of stressful effects. Our data indicate that changes in the studied IS parameters in NSCLC are associated with lymph node metastases and NAC. Moreover, each of these factors simultaneously has a potential pro-inflammatory and a stressor effect that changes the concentration of adaptive hormones, including cortisol.

The results of our study suggest that lymph node metastasis is associated with a more pronounced level of IS. This is confirmed by changes in the studied parameters, indicating the enhanced IS in patients who did not receive NAC. Apparently, the stress plays a significant role in the mechanism of changes in pro-inflammatory markers. This may explain why the cortisol concentration, along with other parameters, was included in the regression model for predicting lymph node metastases in NSCLC patients who did not receive NAC; and the total leukocyte count was included in the prediction model in patients who received NAC. Changes in the leukocyte count, if they are not associated with a clinically inflammatory process, may be explained by glucocorticoid effects. An increase in the leukocyte count in this case is due to an increase in the neutrophil count [16, 18].

The influence of NAC on the IS parameters is ambivalent. On the one hand, preoperative chemotherapy

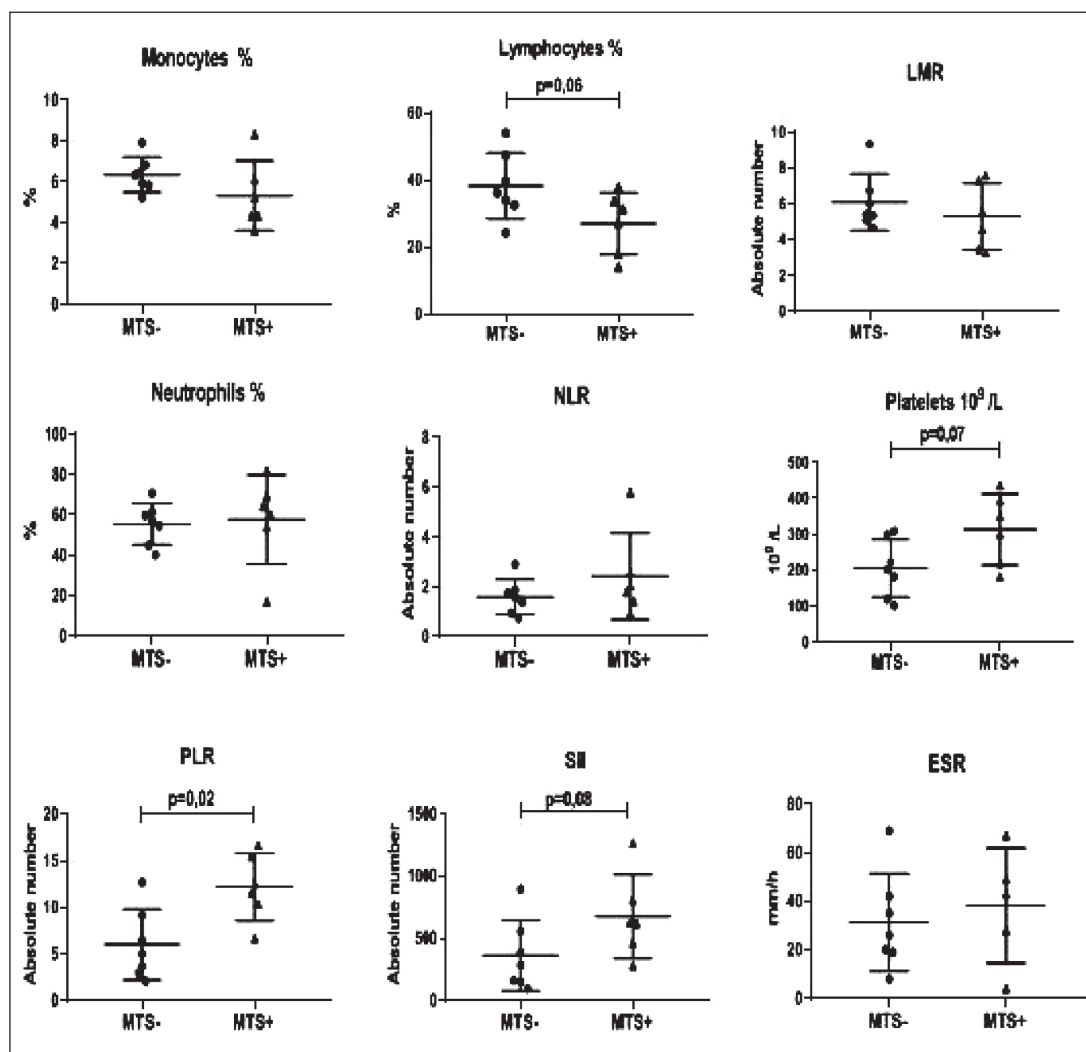


Рис. 3. Параметры ВС у пациентов с НМРЛ в зависимости от наличия метастазов в лимфатических узлах после HAXT
 Fig. 3. The IS parameters in NSCLC patients depending on presence of the lymph node metastases after NAC

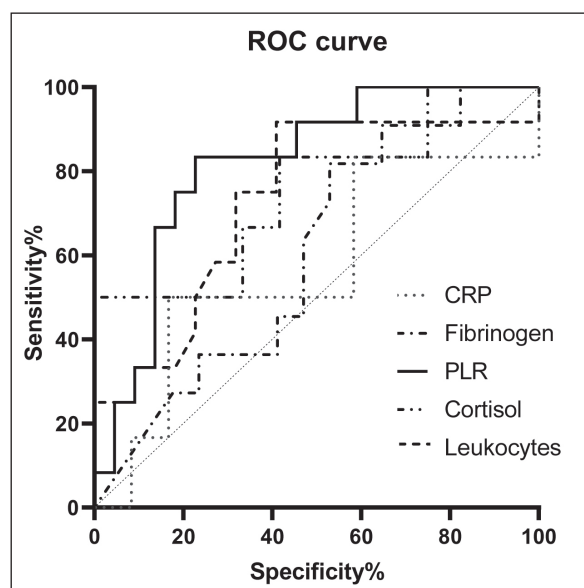


Рис. 4. Кривая ROC демонстрирует AUC параметров ВС у пациентов с НМРЛ

Fig. 4. ROC curve demonstrates AUC of parameters of IS in NSCLC patients

does not cause significant quantitative changes in the studied IS factors. On the other hand, there are no significant differences in the values of the IS indices associated with the lymph node metastases in patients treated with NAC. These results indicate that NAC has a significant impact on the processes underlying the regulation of the studied IS parameters.

Conclusion

The IS parameters are integral values associated with lymph node metastasis and NAC in patients with NSCLC. The presence of synchronous lymph node metastases in NSCLC can be predicted using mathematical models based on the appropriate IS parameters before surgical treatment. To predict the presence of lymph node metastases in patients treated and not treated with NAC, different prognostic models have been developed. Further studies are needed to clarify the contribution of inflammation itself and stress changes into the IS parameters.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. *Candido J., Hagemann T.* Cancer-related inflammation. *J Clin Immunol.* 2013 Jan; 33 Suppl 1: S79–84. doi: 10.1007/s10875-012-9847-0.
2. *Перельмутер В.М., Манских В.Н.* Прениша как отсутствующее звено концепции метастатических ниш, объясняющее избирательное метастазирование злокачественных опухолей и форму метастатической болезни. *Биохимия.* 2012; 77(1): 130–139. [*Perelmutter V.M., Manskih V.N.* Preniche as missing link of the metastatic niche concept explaining organ-preferential metastasis of malignant tumors and the type of metastatic disease. *Biochemistry.* 2012; 77(1): 130–139. (in Russian)]. doi: 10.1134/S0006297912010142.
3. *Barcellos-Hoff M.H., Lyden D., Wang T.C.* The evolution of the cancer niche during multistage carcinogenesis. *Nat Rev Cancer.* 2013 Jul; 13(7): 511–8. doi: 10.1038/nrc3536.
4. *Retsky M., Demicheli R., Hrushesky W.J., Forget P., De Kock M., Gukas I., Rogers R.A., Baum M., Pachmann K., Vaidya J.S.* Promising development from translational or perhaps anti-translational research in breast cancer. *Clin Transl Med.* 2012 Aug 28; 1(1): 17. doi: 10.1186/2001-1326-1-17.
5. *Zhao Z., Zhao X., Lu J., Xue J., Liu P., Mao H.* Prognostic roles of neutrophil to lymphocyte ratio and platelet to lymphocyte ratio in ovarian cancer: a meta-analysis of retrospective studies. *Arch Gynecol Obstet.* 2018 Apr; 297(4): 849–857. doi: 10.1007/s00404-018-4678-8.
6. *Yu X., Wen Y., Lin Y., Zhang X., Chen Y., Wang W., Wang G., Zhang L.* The value of preoperative Glasgow Prognostic Score and the C-Reactive Protein to Albumin Ratio as prognostic factors for long-term survival in pathological T1N0 esophageal squamous cell carcinoma. *J Cancer.* 2018 Feb 12; 9(5): 807–815. doi: 10.1150/jca.22755.
7. *Chen S., Guo J., Feng C., Ke Z., Chen L., Pan Y.* The preoperative platelet-lymphocyte ratio versus neutrophil-lymphocyte ratio: which is better as a prognostic factor in oral squamous cell carcinoma? *Ther Adv Med Oncol.* 2016 May; 8(3): 160–7. doi: 10.1177/1758834016638019.
8. *Sun H., Yin C.Q., Liu Q., Wang F., Yuan C.H.* Clinical Significance of Routine Blood Test-Associated Inflammatory Index in Breast Cancer Patients. *Med Sci Monit.* 2017 Oct 25; 23: 5090–5095. doi: 10.12659/msm.906709.
9. *Feng J.F., Chen S., Yang X.* Systemic immune-inflammation index (SII) is a useful prognostic indicator for patients with squamous cell carcinoma of the esophagus. *Medicine (Baltimore).* 2017; 96(4): e5886. doi: 10.1097/MD.00000000000005886.
10. *Geng Y., Shao Y., Zhu D., Zheng X., Zhou Q., Zhou W., Ni X., Wu C., Jiang J.* Systemic Immune-Inflammation Index Predicts Prognosis of Patients with Esophageal Squamous Cell Carcinoma: A Propensity Score-matched Analysis. *Sci Rep.* 2016 Dec 21; 6: 39482. doi: 10.1038/srep39482.
11. *Ma M., Yu N., Wu B.* High systemic immune-inflammation index represents an unfavorable prognosis of malignant pleural mesothelioma. *Cancer Manag Res.* 2019 May 2; 11: 3973–3979. doi: 10.2147/CMAR.S201269.
12. *Stotz M., Pichler M., Absenger G., Szkandera J., Armingier F., Schaberl-Moser R., Samonigg H., Stojakovic T., Gerger A.* The preoperative lymphocyte to monocyte ratio predicts clinical outcome in patients with stage III colon cancer. *Br J Cancer.* 2014 Jan 21; 110(2): 435–40. doi: 10.1038/bjc.2013.785.
13. *Chan J.C., Chan D.L., Diakos C.I., Engel A., Pavlakakis N., Gill A., Clarke S.J.* The Lymphocyte-to-Monocyte Ratio is a Superior Predictor of Overall Survival in Comparison to Established Biomarkers of Resectable Colorectal Cancer. *Ann Surg.* 2017 Mar; 265(3): 539–546. doi: 10.1097/SLA.0000000000001743.
14. *Селье Г., Саарма Ю.М., Лыка А.Н., Хорол И.С.* Стресс без дистресса. М., 1979. 126 с. [*Selye H., Saarma Ju.M., Luka A.N., Horol I.S.* Stress without Distress. Moscow, 1979. 126 p. (in Russian)].
15. *Гаркави Л.Х., Квакуна Е.Б., Уколова М.А.* Адаптационные реакции и резистентность организма. Ростов-на-Дону, 1990. 256 с. [*Garkavi L.H., Kvakuna E.B., Ukolova M.A.* Adaptation reactions and body resistance. Rostov-on-Don, 1990. 256 p. (in Russian)].
16. *Karagiannis G.S., Pastoriza J.M., Wang Y., Harney A.S., Entenberg D., Pignatelli J., Sharma V.P., Xue E.A., Cheng E., D'Alfonso T.M., Jones J.G., Anampa J., Rohan T.E., Sparano J.A., Condeelis J.S., Oktay M.H.* Neoadjuvant chemotherapy induces breast cancer metastasis through a TME-mediated mechanism. *Sci Transl Med.* 2017 Jul 5; 9(397): eaan0026. doi: 10.1126/scitranslmed.aan0026.
17. *Zhang Y., Xiao G., Wang R.* Clinical significance of systemic immune-inflammation index (SII) and C-reactive protein-to-albumin ratio (CAR) in patients with esophageal cancer: a meta-analysis. *Cancer Manag Res.* 2019 May 7; 11: 4185–200. doi: 10.2147/CMAR.S190006.
18. *Shoenfeld Y., Gurewich Y., Gallant L.A., Pinkhas J.* Prednisone-induced leukocytosis. Influence of dosage, method and duration of administration on the degree of leukocytosis. *Am J Med.* 1981 Nov; 71(5): 773–8. doi: 10.1016/0002-9343(81)90363-6.

Поступила/Received 09.04.2020

Принята в печать/Accepted 30.05.2020

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Письменный Дмитрий Сергеевич, аспирант кафедры патологической анатомии, Сибирский государственный медицинский университет; врач клинической лабораторной диагностики отделения общей и молекулярной патологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). E-mail: Pismenniy.dmitry@gmail.ru. SPIN-код: 7441-0790. AuthorID (РИНЦ): 913773.

Савельева Ольга Евгеньевна, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник отделения общей и молекулярной патологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук. SPIN-код: 9633-9449. AuthorID (РИНЦ): 527049. Researcher ID (WOS): A-6690-2014. ORCID: 0000-0002-0301-8455. Author ID (Scopus): 14065805800.

Завьялова Марина Викторовна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой патологической анатомии, Сибирский государственный медицинский университет; ведущий научный сотрудник отделения общей и молекулярной патологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук; Национальный исследовательский Томский государственный университет (г. Томск, Россия). SPIN-код: 1229-0323. AuthorID (РИНЦ): 323615. Researcher ID (WOS): C-8580-2012. ORCID: 0000-0001-9429-9813. Author ID (Scopus): 36711031100.

Родионов Евгений Олегович, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отделения торакальной онкологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия); ассистент кафедры онкологии, Сибирский государственный медицинский университет (г. Томск, Россия). SPIN-код: 7650-2129. AuthorID (РИНЦ): 805452. Researcher ID (WOS): B-7280-2017. ORCID: 0000-0003-4980-8986. Author ID (Scopus): 57189622130.

Таширева Любовь Александровна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отделения общей и молекулярной патологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 4371-5340, AuthorID (РИНЦ): 632803. Researcher ID (WOS): C-8222-2012. Author ID (Scopus): 55234960400. ORCID: 0000-0003-2061-8417.

Тузилов Сергей Александрович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделением торакальной онкологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия); профессор кафедры онкологии, Сибирский государственный медицинский университет

(г. Томск, Россия). SPIN-код: 5662-6431. AuthorID (РИНЦ): 455003. Researcher ID (WOS): D-1176-2012. ORCID: 0000-0002-0884-1838. Author ID (Scopus): 6507842873.

Панкова Ольга Владимировна, доктор биологических наук, старший научный сотрудник отделения общей и молекулярной патологии, Томский НИИ онкологии (г. Томск, Российская Федерация). SPIN-код: 3355-7118. AuthorID (РИНЦ): 403867. Researcher ID (WOS): C-8216-2012. ORCID: 0000-0002-5510-1808. Author ID (Scopus): 6603043604.

Перельмутер Владимир Михайлович, доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник отделения общей и молекулярной патологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 6252-5319. AuthorID (РИНЦ): 86909. Researcher ID (WOS): C-8227-2012. ORCID: 0000-0002-7633-9620. Author ID (Scopus): 8091317300.

ВКЛАД АВТОРОВ

Письменный Дмитрий Сергеевич: проведение экспериментальной части исследования, статистическая обработка, анализ полученных результатов, составление черновика рукописи.

Савельева Ольга Евгеньевна: разработка концепции научной работы, проведение экспериментальной части исследования, статистическая обработка материала, анализ полученных результатов, составление черновика рукописи.

Завьялова Марина Викторовна: редактирование статьи, обсуждение результатов исследования.

Родионов Евгений Олегович: набор клинического материала, анализ научной работы.

Таширева Любовь Александровна: редактирование статьи, обсуждение результатов исследования.

Тузиков Сергей Александрович: анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Панкова Ольга Владимировна: анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Перельмутер Владимир Михайлович: руководство научной работой; критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Финансирование

Исследование выполнено при поддержке гранта Президента РФ НШ-2701.2020.7.

Конфликт интересов

Авторы объявляют, что у них нет конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Dmitry S. Pismenny, MD, Postgraduate, Department of Pathological Anatomy, Siberian State Medical University; Physician, Department of General and Molecular Pathology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences; Tomsk State University (Tomsk, Russia). E-mail: Pismenniy.dmitry@gmail.ru.

Olga E. Savelyeva, MD, DSc, Leading Researcher, Department of General and Molecular Pathology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences; Tomsk State University (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): A-6690-2014. ORCID: 0000-0002-0301-8455. Author ID (Scopus): 14065805800.

Marina V. Zavyalova, MD, DSc, Professor, Head of Department of Pathological Anatomy, Siberian State Medical University; Leading Researcher, Department of General and Molecular Pathology, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences; Tomsk State University (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): C-8580-2012. ORCID: 0000-0001-9429-9813. Author ID (Scopus): 36711031100.

Evgeny O. Rodionov, MD, PhD, Senior Researcher, Department of Thoracic Oncology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia); Assistant, Department of Oncology, Siberian State Medical University (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): B-7280-2017. ORCID: 0000-0003-4980-8986. Author ID (Scopus): 57189622130.

Liubov A. Tashireva, MD, PhD, Senior Researcher, Department of General and Molecular Pathology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): C-8222-2012. ORCID: 0000-0003-2061-8417. Author ID (Scopus): 55234960400.

Sergey A. Tuzikov, MD, DSc, Professor, Head of Department of Thoracic Oncology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia); Professor of the Department of Oncology, Siberian State Medical University (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): D-1176-2012. ORCID: 0000-0002-0884-1838. Author ID (Scopus): 6507842873.

Olga V. Pankova, DSc, Senior Researcher, Department of General and Molecular Pathology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences; Tomsk State University (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): C-8216-2012. ORCID: 0000-0002-5510-1808. Author ID (Scopus): 6603043604.

Vladimir M. Perelmutter, MD, DSc, Professor, Chief Researcher, Department of General and Molecular Pathology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): C-8227-2012. ORCID: 0000-0002-7633-9620. Author ID (Scopus): 8091317300.

AUTHOR CONTRIBUTION

Dmitry S. Pismenny: data analysis and interpretation, statistical data analysis, drafting of the manuscript.

Olga E. Savelieva: study concept and design, implementation of the studies, data analysis and interpretation, statistical data analysis, drafting of the manuscript.

Marina V. Zavyalova: editing of the manuscript, discussion of the study results.

Evgeny O. Rodionov: clinical data collection, data analysis.

Liubov A. Tashireva: editing of the manuscript, discussion of the study results.

Sergey A. Tuzikov: data analysis, critical review with valuable intellectual content.

Olga V. Pankova: data analysis critical review with valuable intellectual content.

Vladimir M. Perelmutter: supervision, data analysis, critical review with valuable intellectual content.

Funding

The study was supported by The Council for grants of President of Russian Federation (grant HHI-2701.2020.7).

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

DOI: 10.21294/1814-4861-2020-19-3-64-77
УДК: 616-006-018-036.4:576.3

Для цитирования: Данилова А.Б., Нехаева Т.Л., Мисюрин В.А., Авдонкина Н.А., Емельянова Н.В., Балдуева И.А. Сравнительный анализ миграционной активности и инвазивного потенциала культивируемых клеток солидных опухолей человека. Сибирский онкологический журнал. 2020; 19(3): 64–77. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-3-64-77.

For citation: Danilova A.B., Nekhaeva T.L., Misyurin V.A., Avdonkina N.A., Emelyanova N.V., Baldueva I.A. Comparative analysis of migration activity and invasive potential of cultured solid tumor cells. Siberian Journal of Oncology. 2020; 19(3): 64–77. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-3-64-77.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ МИГРАЦИОННОЙ АКТИВНОСТИ И ИНВАЗИВНОГО ПОТЕНЦИАЛА КУЛЬТИВИРУЕМЫХ КЛЕТОК СОЛИДНЫХ ОПУХОЛЕЙ ЧЕЛОВЕКА

А.Б. Данилова¹, Т.Л. Нехаева¹, В.А. Мисюрин², Н.А. Авдонкина¹,
Н.В. Емельянова¹, И.А. Балдуева¹

ФБГУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России,
г. Санкт-Петербург, пос. Песочный, Россия¹
Россия, 197758, г. Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, 68.
E-mail: anna_danilova@bk.ru¹

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, г. Москва, Россия²
Россия, 115478, г. Москва, Каширское шоссе, 24²

Аннотация

Введение. Понимание последовательности событий, обеспечивающих инвазивность малигнизированных клеток, имеет важное прогностическое значение. Изучение клеточных и молекулярных основ метастатического процесса закладывает основу для дальнейшего прогресса в лечении онкологических больных. **Цель исследования** – провести сравнительный анализ *in vitro* процессов миграции и инвазии культивируемых клеток солидных опухолей человека, выделенных из первичных и метастатических очагов. **Материал и методы.** Исследование проведено на клеточных культурах меланомы кожи (МК, n=29), рака почки (РП, n=2), колоректального рака (КРР, n=1), сарком мягких тканей (СМТ) и остеогенных сарком (ОС, n=39), выделенных из операционного материала пациентов, получавших лечение в НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова. Миграцию и инвазию оценивали в режиме реального времени на приборе xCelligence (ACEA Bioscience Inc., США). Осуществляли корреляционный анализ экспрессии раковых тестикулярных антигенов и продукции опухолевыми клетками спектра иммуносупрессивных факторов с параметрами миграции и инвазии. **Результаты.** Все исследованные культуры клеток солидных опухолей (n=65) демонстрировали *in vitro* инвазивный потенциал (IP), который составил для клеток РП 73,79 %; МК – 53,16 %; СМТ и ОС – 43,96 %; КРР – 5,16 %. Скорость миграции (MS) и инвазии (SlopeInv) была выше у клеток СМТ и ОС по сравнению с МК – 39,33 и 25,3 мкм/ч (p<0,05), 95,32 и 59,82e⁻³ соответственно (p<0,05). Для клеток СМТ и ОС выявили зависимость IP от источника происхождения культивируемых клеток (первичная опухоль, рецидив, метастаз): 18,11 ± 3,05 %, 25,75 ± 5,57 %, 52,97 ± 5,64 % соответственно (p<0,05). Получены данные о корреляции параметров миграции и инвазии клеток солидных опухолей с экспрессией спектра факторов, обеспечивающих их подвижность, а также воздействующих на другие клеточные компоненты опухолевого микроокружения, в том числе на клетки иммунной системы. **Заключение.** Биологически «агрессивный» фенотип клеток МК, СМТ и ОС связан с экспрессией раково-тестикулярных генов *PRAME*, *PASD1*, *SSX1* и продукцией HB-EGF, IGFBP, PLGF, PECAM-1, FST, SCF, IL-8, которые возможно рассматривать как новые мишени для терапевтических технологий, имеющих целью воздействовать на метастатическую болезнь.

Ключевые слова: солидные опухоли, клеточные культуры, миграция, инвазия.

COMPARATIVE ANALYSIS OF MIGRATION ACTIVITY AND INVASIVE POTENTIAL OF CULTURED SOLID TUMOR CELLS

A.B. Danilova¹, T.L. Nekhaeva¹, V.A. Misyurin², N.A. Avdonkina¹,
N.V. Emelyanova¹, I.A. Baldueva¹

N.N. Petrov National Medical Cancer Research Center, Saint-Petersburg, Russia¹
68, Leningradskaya Street, Pesochniy, 197758-Saint-Petersburg, Russia. E-mail: anna_danilova@bk.ru¹
N.N. Blokhin National Medical Cancer Research Center, Moscow, Russia²
24, Kashirskoe shosse, 115478-Moscow, Russia²

Abstract

Background. Understanding of the sequence of events that ensure invasiveness of malignant cells is important for prognostic purposes. The study of the cellular and molecular pathways in the metastatic process lays the foundation for further progress in the treatment of cancer patients. **Purpose:** a comparative analysis of in vitro migration and invasion of human solid tumor cells isolated from primary and metastatic lesions. **Material and Methods.** Cell cultures of skin melanoma (SM, n=29), renal cell cancer (RCC, n=2), colorectal cancer (CRC, n=1), soft tissue and bone sarcomas (STBS, n=39) isolated from solid human tumors were studied. Cell migration and invasion were assessed using xCelligence (ACEA Bioscience Inc., USA). **Results.** All solid tumor cell cultures demonstrated in vitro invasive potential (IP), which was 73.79 % for RCC; 53.16 % for SM; 43.96 % for STBS and 5.16 % for CRC. The rates of migration and invasion (SlopeInv) in STBS cells were higher than those in SM cells (39.33 and 25.3 $\mu\text{m/h}$ ($p<0.05$), 95.32 and 59.82e-3, respectively ($p<0.05$). The differences in IP values depending on the origin of STBS cells (primary tumor, relapse, and metastasis) were revealed: 18.11 ± 3.05 %, 25.75 ± 5.57 %, 52.97 ± 5.64 %, respectively ($p<0.05$). We found a correlation between migration and invasion parameters of solid tumor cells and the expression of factors ensuring their mobility and affecting other cellular components of the tumor microenvironment, including cells of the immune system. **Conclusion.** The biologically «aggressive» phenotype of SM and STBS cells is associated with the expression of the cancer-testis genes, such as *PRAME*, *PASD1*, *SSX1* and with the production of HB-EGF, IGFBP, PLGF, PECAM-1, FST, SCF, IL-8. These products can be considered as new targets for therapeutic technologies aimed at influencing metastatic disease.

Key words: solid tumors, cell cultures, migration, invasion.

Введение

Миграция клеток – эволюционно консервативный, многогранный процесс, который позволяет отдельным клеткам и их группам менять положение в трехмерном пространстве. Клеточная миграция является неотъемлемой частью процессов формирования тканей и органов при эмбриональном развитии, поддержания гомеостаза и регенерации [1]. Фактически любая клетка, содержащая ядро, в состоянии мигрировать после получения определенных промиграционных стимулов, это справедливо, в том числе, для стволовых, эпителиальных, эндотелиальных, стромальных клеток, нейронов и лейкоцитов [2].

В процессе опухолевой прогрессии малигнизированные клетки могут приобрести способность к миграции, в результате чего сначала меняется их локализация в ткани опухоли, а затем они способны выйти за ее пределы. Миграция опухолевых клеток характеризуется пластичностью с большими адаптационными возможностями и объединяет динамические изменения клеточного цитоскелета, клеточного и внеклеточного матрикса, клеточную адгезию, периклеточный протеолиз и тканевое ремоделирование [3]. Движущиеся малигнизиро-

ванные клетки вынуждены приспосабливаться к внешним стимулам микроокружения, таким как архитектура окружающей ткани, структура и тип субстрата, в котором они осуществляют движение, молекулярные триггеры, в частности компоненты экстрацеллюлярного матрикса, цитокины и хемокины [4].

В ответ на химические и физические сигналы, поступающие из опухолевого микроокружения в ходе метастатической диссеминации, злокачественные клетки реализуют универсальный репертуар механизмов инвазии, включающий функциональные программы как минимум двух уровней: на уровне одной клетки и популяционные. Генетическая гетерогенность опухолевых клеток приводит к формированию разнообразия механизмов миграции, что лежит в основе их адаптации к терапевтическим воздействиям.

Миграция и инвазия опухолевых клеток, безусловно, являются критическими процессами в метастатическом каскаде. Механизмы этих явлений многообразны, пластичны, имеют сходство с механизмами перемещения клеток в ходе эмбриогенеза, которые реализуются злокачественными клетками и микроокружением опухоли [5]. Прогресс в по-

нимании молекулярных механизмов, лежащих в основе миграции и инвазии малигнизированных клеток в экспериментальных системах, должен быть дополнен пониманием реальных процессов, происходящих в организме онкологических больных. В настоящее время этот разрыв между клинико-патологическими и экспериментальными наблюдениями в основном связан с отсутствием соответствующих маркеров и комплексной модели *in vivo*, которая надлежащим образом повторяла бы стохастический канцерогенез у человека. В этой ситуации решением проблемы могут быть текущие клеточные биологические исследования *in vitro* по миграции опухолевых клеток, которые будут способствовать разработке методов улучшенной диагностики, прогноза и, в конечном итоге, инновационных методов лечения.

В статье представлены результаты сравнительного изучения процессов миграции и инвазии клеток солидных опухолей пациентов, выделенных из первичных, рецидивных и метастатических очагов, в клеточных экспериментальных системах *in vitro*.

Материал и методы

Исследование было проведено на клеточных культурах меланомы кожи (n=29), рака почки (n=2), колоректального рака (n=1), сарком мягких тканей и остеогенных сарком (n=39), выделенных из операционного материала 65 больных, получавших лечение в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России. Большая часть образцов (n=53) была представлена метастатическими образованиями, 11 образцов – первичной опухолью и 7 – местным рецидивом заболевания (табл. 1).

Культивирование опухолевых клеток осуществляли, руководствуясь методами R.I. Freshney [6] с собственными модификациями [7]. В качестве селективного агента, предотвращающего рост фибробластов в первичной культуре опухолевых клеток, использовали препарат Human FibrOuttm 9 (Chi Scientific Inc., США). Непрерывно культивировали малигнизированные клетки не менее 10 пассажей, после чего использовали полученные клеточные культуры для исследования.

Для количественного анализа опухолевых клеток, способных к миграции и инвазии, клетки высаживали в специальные вставки с диаметром пор 8 мкм с/без матрикеля (BD Bioscience, США) по технологии, предложенной К.А. Moutasim et al. (2011) [8]. Анализ скорости миграции опухолевых клеток проводили по методу, описанному в руководстве А.Ю. Александровой (2008) [9]. Для оценки процессов миграции использовали автоматическую систему наблюдения за живыми клетками Cell-IQ (Chip Man Technologies, Финляндия).

Для наблюдения за процессом миграции и инвазии опухолевых клеток в режиме реального

времени был использован автоматический клеточный анализатор xCelligence (ACEA Bioscience Inc., США). Для осуществления экспериментов использовали планшеты CIM-16 (ACEA Bioscience Inc., США). Вносили в каждую лунку нижней камеры по 160 мкл питательной среды DMEM/F12 с 20 % СЭКПС в качестве хемоаттрактанта, затем присоединяли верхнюю камеру и добавляли 30 мкл бессывороточной среды или матрикеля, чтобы покрыть дно лунок с мембранами. Оставляли планшеты на 1 ч в CO₂-инкубаторе при 37 °С. Далее проводили фоновые измерения. Опухолевые клетки в количестве 4×10⁴ вносили в верхние камеры, расположенные над мембраной, оставляли на 30 мин, чтобы исключить турбулентные возмущения жидкости в лунках, и начинали регистрацию электрических сигналов. Качество процессов миграции и инвазии с течением времени оценивали по изменению клеточного индекса CI и тангенса угла касательной к кривой динамики CI Slope в цифровом и графическом выражении.

В супернатантах опухолевых клеточных культур с помощью мультиплексного анализа определяли количественное содержание гепарин-связывающего эпидермального фактора роста HB-EGF, протеина I, связывающего инсулиноподобный фактор роста IGFBP-I, плацентарного фактора роста PLGF, гликопротеина PECAM-1 (platelet/endothelial cell adhesion molecule 1) CD31, фактора роста гепатоцитов HGF, фактора роста фибробластов FGF, сосудистого эндотелиального фактора роста VEGF, фактора роста стволовых клеток SCF, фоллистатина FST, лиганда активационного рецептора NKG2D MICA, трансформирующего фактора роста TGFβ1, интерлейкинов IL-6, -8, -10 на приборе BioPlex (Bio-Rad, США). В работе были использованы наборы реагентов Bio-Plex ProTM Human Cancer Biomarker Panel 1, 16-plex (#171AC500M, Bio-Rad, США) и Bio-Plex ProTM Human Cancer Biomarker Panel 2, 18-plex (#171AC600M, Bio-Rad, США). Определение количественного содержания хемокина CCL2 проводили методом непрямого иммуноферментного анализа в «сэндвич»-варианте с использованием набора производства R&D, США. Контролем служили супернатанты культуры нормальных фибробластов кожи человека.

Методом проточной цитофлуориметрии на приборе FACS Canto II (BD, США) определяли поверхностные молекулы на опухолевых клетках CD304 (Neuropilin-1), хемокиновые рецепторы CCR4, CCR7, CCR10, рецептор к VEGF CD309 (VEGFR-2); маркеры стволовых клеток опухоли CD133, CD338 (ABCG2); маркер пролиферации Ki67. Были использованы реагенты BD Bioscience, США.

Молекулярно-генетический анализ экспрессии раково-тестикулярных генов проводили методом ПЦР в реальном времени. В качестве референс-

Таблица 1/Table 1

**Гистотип и локализация образцов солидных опухолей,
из которых были получены клеточные культуры**

Histological verification and localization of samples of solid tumors from which cell cultures were obtained

	Опухоль/ Tumor	Первичная/ Primary	Рецидив/ Recurrence	Метастатическая/ Metastatic	Всего/ Total
Меланома кожи/Skin melanoma					
Пигментная/ Pigmented	Веретенокле- точная/ Spindle cell	1	0	3 Мягкие ткани (1)/ soft tissues (1) Лимфатические узлы (1)/lymph nodes (1) Головной мозг (1)/brain (1)	4
	Эпителиоидно- клеточная/ Epithelioid cell	1	0	13 Мягкие ткани (2)/soft tissue (2) Лимфатические узлы (10)/lymph nodes (10) Щитовидная железа (1)/thyroid (1)	14
Беспигментная/ Pigmentless	Веретенокле- точная/ Spindle cell	0	0	2 Мягкие ткани (1)/soft tissues (1) Легкое (1)/lung (1)	2
	Эпителиоидно- клеточная/ Epithelioid cell	1	2	6 Мягкие ткани (1)/soft tissues (1) Лимфатические узлы (4)/lymph nodes (4) Легкое (1)/lung (1)	9
Саркомы мягких тканей и остеогенные саркомы/Soft tissue and bone sarcomas					
	Остеосаркома/ Osteosarcoma	0	0	6 Легкое (5)/lung (5) Мягкие ткани (1)/soft tissues (1)	6
	Липосаркома/Liposarcoma	2	1	1 Легкое (1)/lung (1)	4
	Синовиальная саркома/ Synovial sarcoma	0	2	5 Легкое (1)/lung (1) Мягкие ткани (1)/soft tissues (1) Молочная железа (1)/breast (1)	7
	Миксофибросаркома/ Muxofibrosarcoma	1	1	6 Легкое (3)/lung (3) Мягкие ткани (3)/soft tissues (3)	8
	Лейомиосаркома/Leiomyosarcoma	0	0	2 Легкое (2)/lung (2)	2
	Рабдомиосаркома/Rhabdomyosarcoma	0	0	2 Легкое (2)/lung (2)	2
	Светлоклеточная саркома/Clear cell sarcoma	0	0	1 Мягкие ткани (1)/soft tissues (1)	1
	Хондросаркома/ Chondrosarcoma	2	1	3 Легкое (1)/lung (1) Мягкие ткани (2)/soft tissues (2)	6
	Дерматофибросаркома/ Dermatofibrosarcoma	1	0	0	1
	Веретеноклеточная саркома/ Spindle cell sarcoma	1	0	0	1
	Шваннома/Schwannoma	0	0	1 Легкое (1)/lung (1)	1
Колоректальный рак/Colorectal cancer					
	Аденокарцинома/Adenocarcinoma	0	0	1 Брюшная стенка (1)/abdominal wall (1)	1
Рак почки/Renal cell cancer					
	Светлоклеточный почечноклеточный рак/ Clear cell renal cell carcinoma	1	0	1 Легкое (1)/lung (1)	2
	Всего/Total	11	7	53	71

ного использовали контрольный ген *ABL*. Изучали экспрессию следующих генов: *GAGE*, *HAGE*, *NY-ESO1*, *MAGEA1*, *PASD1*, *SCP1*, *SEMG1*, *SLLP1*, *SPANX1*, *SSX1* и *PRAME*, как описано ранее [10]. Использовали специфические праймеры и флуоресцентные зонды, разработанные с использовани-

ем последовательностей ресурса NCBI GenBank, и программы для сравнения последовательностей нуклеотидов и аминокислот BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) [11].

Анализ полученных данных проводили с помощью систем статистической обработки IBMSPSS

Таблица 2/Table 2

Характеристики миграционных и инвазивных свойств культивируемых клеток солидных опухолей

Characteristics of the migratory and invasive properties of solid tumors cells

Тип клеточной культуры/ Type of cell culture	Скорость миграции (мкм/ч)/ Rate of migration M (min-max)	Инвазивный потенциал (%)/ Invasive potential M (min-max)	Slope в процессе миграции e^{-3} (48 ч)/ Slope in the migration process M (min-max)	Slope в процессе инвазии e^{-3} (48 ч)/ Slope in the invasion process M (min-max)
МК/SM	25,30* 3,00–64,50	53,16 8,92–88,90	128,38 10,80 – 335,00	59,82* 3,20–197,70
СМТ и ОС/STBS	39,33* 9,60–68,90	43,96 1,96–99,50	125,84 17,40 – 369,20	95,32* 5,80–314,60
РП/RCC	39,00 28,80 ; 49,20	73,79 72,92 ; 74,67	249,75 159,50 ; 340,00	107,65 93,50 ; 120,00
КРР/CRC	20,40	5,16	79,00	132,00

Примечание: * – различия по скорости миграции и инвазии (slope) культивируемых клеток МК и СМТК статистически значимы, $p < 0,05$ (согласно критерию Манна–Уитни).

Notes: * – differences in the rate of migration and invasion (slope) of cultured SM and STBS cells are statistically significant, $p < 0.05$ (according to the Mann–Whitney test).

Таблица 3/Table 3

Анализ состава клеточных популяций в культурах меланомы кожи, выявленных методом проточной цитофлуориметрии

Analysis of the composition of cell populations in cultures of skin melanoma identified by flow cytometry

Кол-во образцов/ Number of samples	Популяции/ Populations	Число клеток (%) / Number of cells	Ki67 (%)	CD133 (%)	CD338 (%)	CCR10 (%)	CCR7 (%)	CCR4 (%)	CD304 (%)
11 (64,7 %)	P1	70,85 ± 3,92*	12,97 ± 3,38*	3,78 ± 1,20*	3,69 ± 1,98	6,93 ± 2,16*	4,83 ± 1,74*	0,81 ± 0,42	3,22 ± 1,09
	P2	20,81 ± 3,52*	49,5 ± 5,64*	1,05 ± 0,30*	15,0 ± 5,38	70,65 ± 3,78*	24,3 ± 4,45*	2,8 ± 0,89	21,84 ± 11,7
6 (35,3 %)	P1	18,23 ± 2,51**	7,16 ± 3,42**	14,68 ± 4,22**	4,01 ± 1,70	18,26 ± 5,04**	3,72 ± 1,66**	3,3 ± 0,64	10,38 ± 3,44**
	P2	53,55 ± 6,13**	33,9 ± 5,46**	1,06 ± 0,36**	2,13 ± 1,56	51,88 ± 10,00**	25,42 ± 3,85**	16,16 ± 2,57	31,66 ± 7,59**

Примечание: * – различия статистически значимы ($p < 0,05$); ** – различия статистически значимы ($p < 0,05$) согласно критерию Манна–Уитни.

Notes: * – differences are statistically significant, $p < 0,05$; ** – differences are statistically significant, $p < 0,05$, according to the Mann–Whitney criterion.

19.0 и Microsoft Excel 2010. Использовали методы описательной статистики, непараметрической статистики для оценки различий между двумя независимыми выборками с использованием критериев Спирмена и Манна–Уитни, для многогруппового сравнения медиан – с использованием критерия Краскела–Уоллеса [12].

Результаты

Все исследованные клеточные культуры солидных опухолей, полученные от разных больных, проявляли инвазивные свойства и демонстрировали различный инвазивный потенциал (IP) (табл. 2, рис. 1). Сравнительный анализ миграционных свойств клеток МК, СМТ и ОС показал, что в целом клетки СМТ и ОС обладали большей ско-

ростью миграции (MS), определяемой по времени застывания «экспериментальной раны»: для клеток меланомы MS составила 25,3 мкм/ч, для клеток СМТ и ОС – 39,33 мкм/ч ($p < 0,05$). IP МК и СМТ и ОС, отражающий количество клеток, проникающих через трехмерную среду матригель за определенный промежуток времени (48 ч), составил 53,16 и 43,96 % соответственно. Наибольшим IP характеризовались клетки РП – 72,92 и 74,67 %. Средняя скорость инвазии, определяемая по параметру slope, была значимо выше у клеточных культур СМТ и ОС, чем у клеточных культур МК – $95,32e^{-3}$ и $59,82e^{-3}$ соответственно ($p < 0,05$). Статистически значимых различий скорости миграции и инвазии от длительности культивирования клеток (числа пассажей) выявлено не было. Согласно методу

Краскела – Уоллиса обнаружены различия в величине ИР опухолевых клеток в зависимости от источника происхождения культивируемых клеток СМТ и ОС (первичная опухоль, рецидив, метастаз): $18,11 \pm 3,05 \%$, $25,75 \pm 5,57 \%$, $52,97 \pm 5,64 \%$ соответственно, $p < 0,05$ (рис. 2А). Для культур МК данный анализ провести не удалось, так как злокачественные клетки были получены в основном из метастатических образцов.

Выявление корреляционных связей между параметрами миграции и инвазии клеток солидных

опухолей человека и продукцией ими иммуносупрессивных факторов, факторов, ассоциированных с метастазированием, а также экспрессией хемокиновых рецепторов, позволило установить прямую корреляцию высокой силы между MS и количеством клеток МК, несущих рецепторы CCR10 ($\rho = 0,682$, $p = 0,007$), а также продукцией PLGF ($\rho = 0,772$, $p = 0,009$). Скорость инвазии клеток МК, определяемая по slope (SlopeInv), коррелировала с MS ($\rho = 0,541$, $p = 0,002$), продукцией IGFBP ($\rho = 0,717$, $p = 0,03$). Обратная корреляция

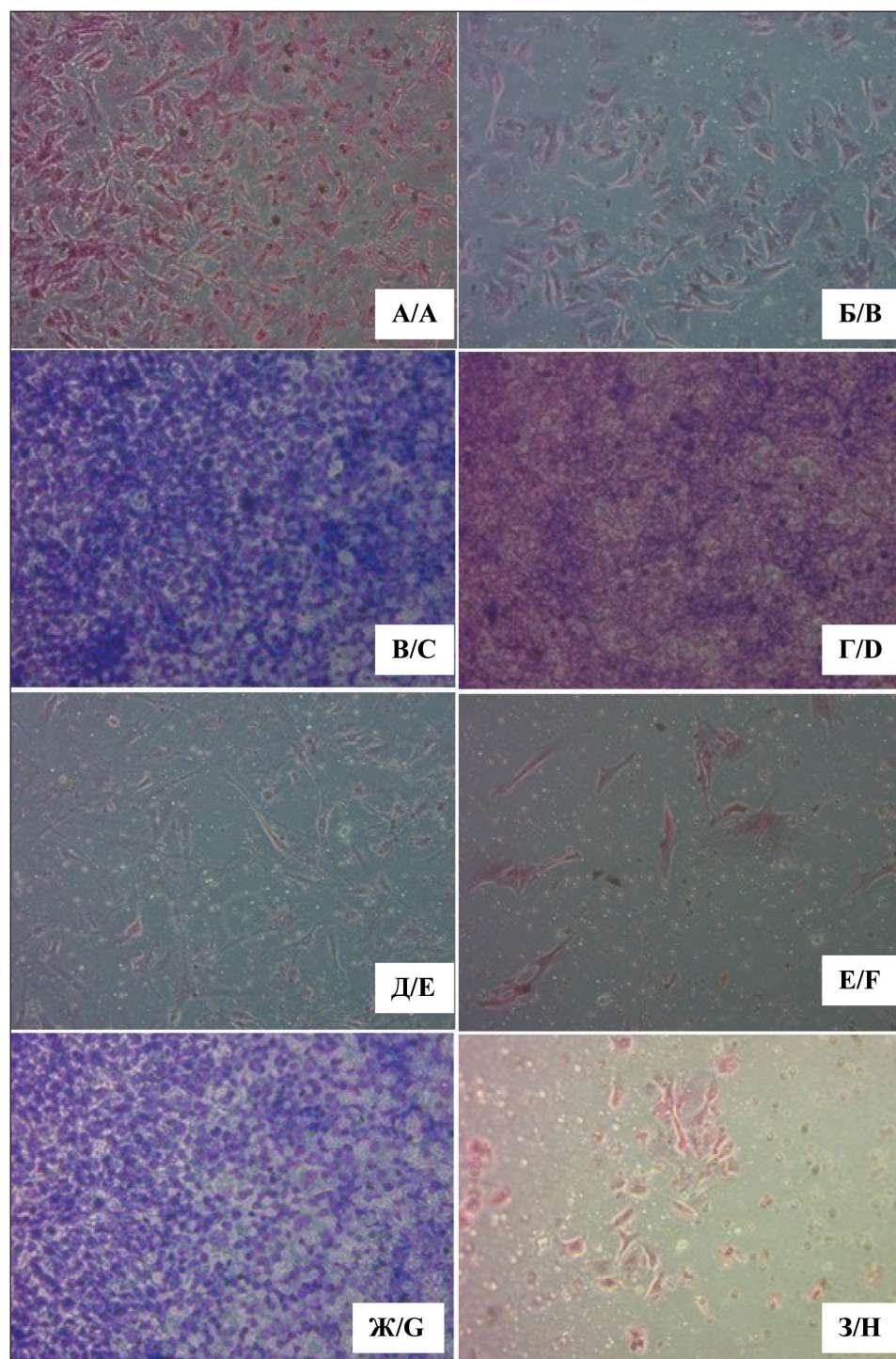


Рис. 1. Цитологические препараты опухолевых клеток, полученные в процессе миграции и инвазии с использованием технологии культивирования на пористой мембране в течение 48 ч: А, Б – культура МК #686, 31 пассаж, инвазивный потенциал 51,25 %; В, Г – культура МК #520, 106 пассаж, инвазивный потенциал 72,92 %; Д, Е – культура рабдомиосаркомы #862, 12 пассаж, инвазивный потенциал 17,34 %; Ж, 3 – клеточная культура КРР #485, 56 пассаж, инвазивный потенциал 5,16 %. А, В, Д, Ж – миграция клеток, Б, Г, Е, 3 – инвазия клеток. Окраска по Гимза, инвертированный микроскоп, $\times 100$

Fig. 1. Cytological preparations of tumor cells obtained during migration and invasion using technology of cultivation on a porous membrane for 48 hours. А, В – melanoma cell culture #686, passage 31, invasive potential 51,25 %; С, D – melanoma cell culture #520, passage 106, invasive potential 72,92 %; E, F – rhabdomyosarcoma cell culture #862, passage 12, invasive potential 17,34 %; G, H – Colorectal cancer cell culture #485, passage 56, invasive potential – 5,16 %. А, С, Е, G – cell migration, В, D, F, H – cell invasion. Giemsa stain, inverted microscope, $\times 100$

средней силы наблюдалась для SlopeInv и продукции хемокина CCL2 ($\rho=-0,550$, $p=0,018$). Кроме того, процентное содержание CCR10⁺ клеток было ассоциировано с продукцией PECAM-1 ($\rho=0,782$, $p=0,004$), а продукция PLGF оказалась связана с количеством CD133⁺ клеток ($\rho=0,705$, $p=0,023$). Интересно, что количественное содержание CCL2, определяемое в супернатантах клеточных культур

МК, коррелировало с продукцией клетками МК иммуносупрессивного фактора IL-10 ($\rho=0,665$, $p=0,029$).

IP клеток CMT и ОС коррелировал с MS, определяемой по скорости застывания «экспериментальной раны» ($\rho=0,600$, $p=0,000$), с SlopeInv ($\rho=0,588$, $p=0,000$) и скоростью миграции, определяемой с помощью прибора xCelligence (SlopeMigr) ($\rho=0,532$, $p=0,001$) (рис. 2Б, В). Для клеток CMT и ОС обнаружили также положительную корреляцию высокой силы между IP и продукцией факторов HB-EGF ($\rho=0,643$, $p=0,010$), IGFBP-1 ($\rho=0,857$, $p=0,014$), PLGF ($\rho=0,786$, $p=0,036$), PECAM-1 ($\rho=0,882$, $p=0,000$), FST ($\rho=0,685$, $p=0,014$), IL8 ($\rho=0,733$, $p=0,025$) и SCF ($\rho=0,883$, $p=0,002$). SlopeInv коррелировал с количественным содержанием FST в супернатантах культивируемых клеток CMT и СО ($\rho=0,678$, $p=0,015$) и SCF ($\rho=0,767$, $p=0,016$). Выявленные статистические закономерности указывают на наличие сложных реципрокных коррелятивных взаимодействий, позволяющих опухолевым клеткам реализовывать свой инвазивный и метастатический потенциалы (рис. 3).

Согласно данным измерения электрического импеданса на приборе xCelligence, в большинстве случаев наблюдали «скачкообразный переход» малигнизированных клеток через поры мембраны (миграция) и через матрикель (инвазия) (рис. 4А, Б, В, Г). В диапазоне времени 20–40 ч большая часть клеток перемещалась через пористую мембрану и расплаывалась на ее обратной по-

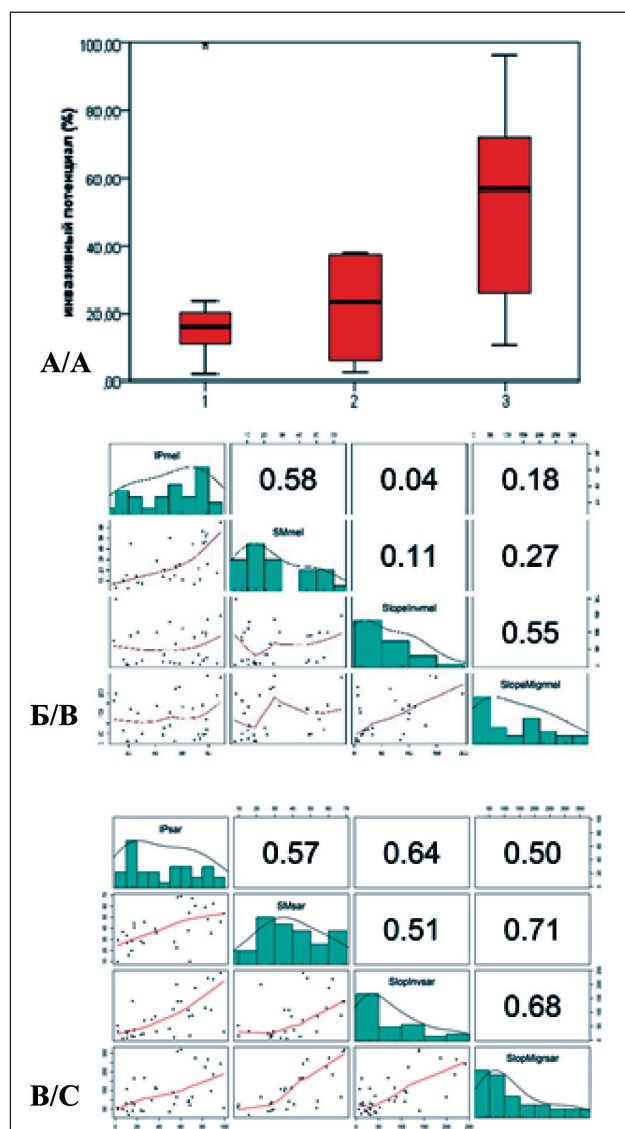


Рис. 2. Графическое изображение статистических закономерностей, связанных с процессами миграции и инвазии опухолевых клеток:

А – различия инвазивного потенциала в зависимости от источника происхождения культивируемых клеток CMT и ОС (1 – первичная опухоль, 2 – рецидив, 3 – метастаз); Б – корреляция между инвазивным потенциалом и скоростью миграции клеток МК; В – корреляция между инвазивным потенциалом и скоростью миграции клеток CMT и ОС

Fig. 2. Graphic representation of statistical patterns associated with the migration and invasion processes of tumor cells.

А – differences of STBS invasive potential depending on the cells origin (1 – primary tumor, 2 – tumor recurrence, 3 – metastasis); Б – the correlation between the invasive potential and the rate of migration of melanoma cells; В – correlation between the invasive potential and the rate migration of STBS cells

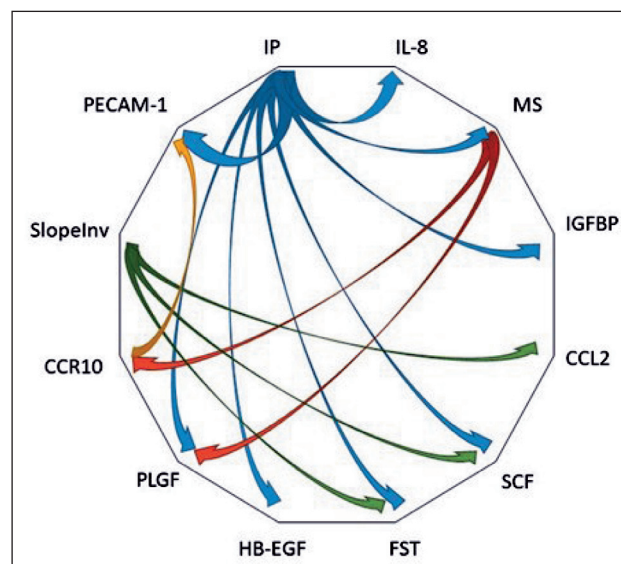


Рис. 3. Схематическое изображение выявленных корреляционных связей между параметрами миграционных, инвазивных свойств культивируемых клеток солидных опухолей человека и количественным содержанием активных молекул в супернатантах культур опухолевых клеток

Fig. 3. Schematic representation of correlation relations between the parameters of migratory, invasive properties of cultivated tumor cells and quantitative content of active molecules in tumor cell culture supernatants

верхности, покрытой электродами, что нашло выражение в резком, скачкообразном изменении CI, который в дальнейшем практически не менялся. При измерении Slope в 3 временных периодах (5–20 ч, 20–40 ч, 40–48 ч) быстрое массовое перемещение клеток соответствовало значительному увеличению этого параметра (рис. 4A1, B1, B1, Г1).

Среди культур клеток солидных опухолей, исследованных на предмет экспрессии РТА, только 4 культуры СМТ были негативны и исключены из

поиска возможных корреляционных связей между экспрессией РТА и параметрами миграции и инвазии культивируемых малигнизированных клеток. В случае МК была обнаружена положительная корреляция средней силы между количественным выражением интенсивности экспрессии гена *PRAME* и величиной SlopeMigr ($r=0,485$, $p=0,048$), а также обратная корреляция средней силы между экспрессией гена *PASDI* и SlopeInv ($r=-0,486$, $p=0,048$). Для клеток СМТ и ОС была обнаружена

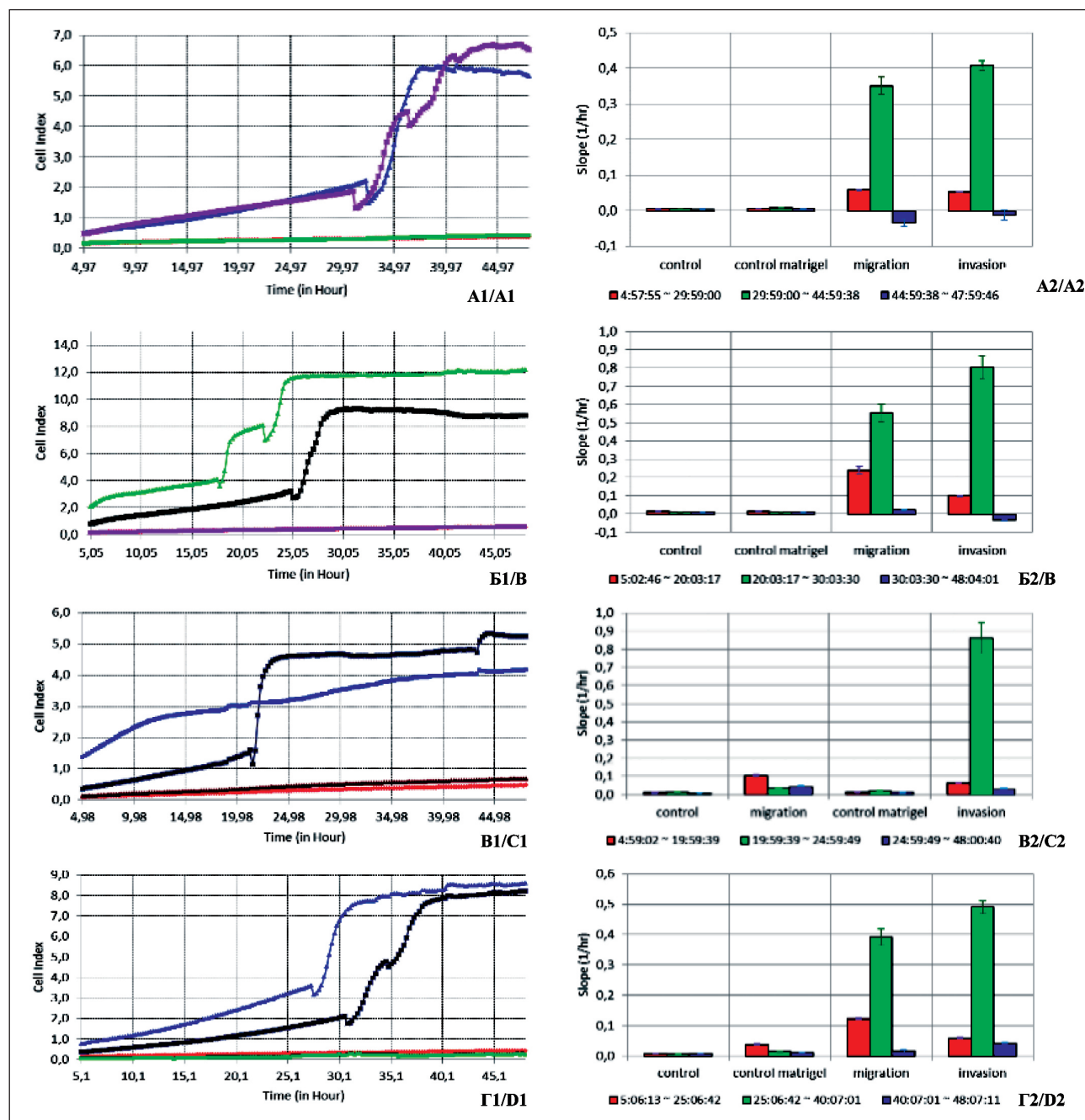


Рис. 4. Графическое изображение динамики CI и Slope в процессе миграции и инвазии культивируемых клеток солидных опухолей: A1, A2 – клеточная культура МК #283, 40 пассаж; B1, B2 – клеточная культура рабдомиосаркомы #919, 10 пассаж; B1, B2 – клеточная культура КРР #485, 30 пассаж; Г1, Г2 – клеточная культура леймиосаркомы #699, 20 пассаж
Fig. 4. Graphical representation of the CI and Slope dynamics during the migration and invasion of solid tumors cells culture.
A1, A2 – Melanoma cell culture #283, 40 passage; B1, B2 – rhabdomyosarcoma cell culture #919, passage 10; C1, C2 – Colorectal cancer cell culture #485, 30 passage; D1, D2 – leiomyosarcoma cell culture #699, passage 20

взаимосвязь между интенсивностью экспрессии *SSX1* и *SlopeInv* ($r=0,469$, $p=0,043$).

При изучении методом проточной цитометрии состава популяции культивируемых клеток солидных опухолей человека, для которых были определены параметры миграции и инвазии, было обнаружено, что 65,3 % (17 из 26) клеточных культур МК и 72,7 % (8 из 11) СМТ и СО распадались по размеру клеток и их гранулярности на две субпопуляции, которые различались по пролиферативной активности (Ki67), характеру

экспрессии маркеров стволовых клеток CD133, CD338, хемокиновых рецепторов CCR7, CCR10 и нейропиллина 1 (CD304) (рис. 5). При этом в целом наблюдали статистически значимые различия между выявленными субпопуляциями в количестве CD133⁺, CCR10⁺, CCR7⁺-клеток и в количестве клеток, позитивных по Ki67 ($p<0,05$).

Количество опухолевых клеток, формирующих данные субпопуляции в случае СМТ и СО, было одинаковым, но наблюдали статистически значимые различия между ними по относитель-

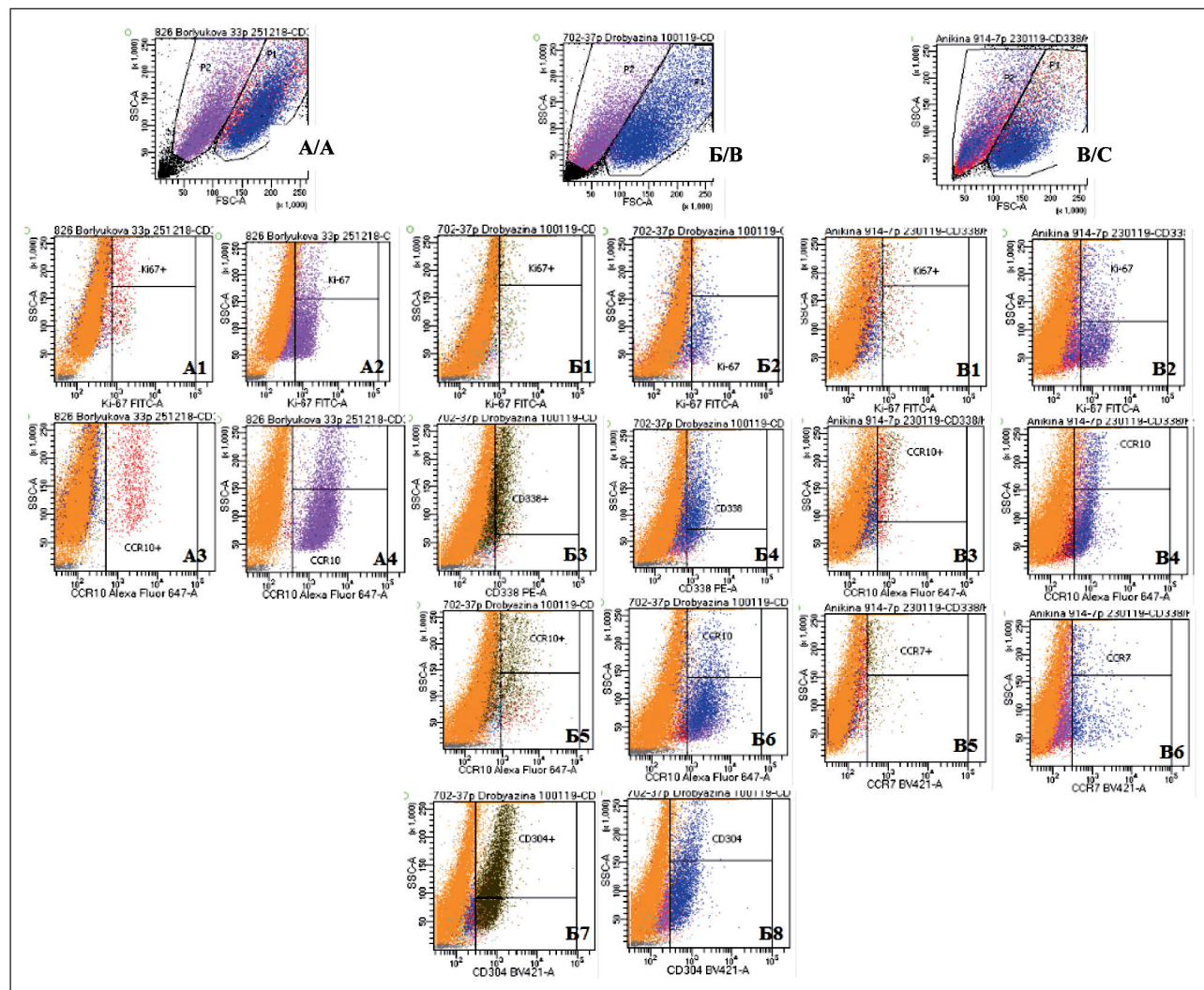


Рис. 5. Выявление особенностей популяции культивируемых клеток солидных опухолей методом проточной цитометрии: А – две субпопуляции P1 и P2 в клеточной культуре МК #826, 30 пассаж; А1, А2 – экспрессия Ki67 в популяциях P1 и P2 культуры #826; А3, А4 – экспрессия CCR10 в популяциях P1 и P2 культуры #826; Б – две субпопуляции P1 и P2 в клеточной культуре липосаркомы #702, 37 пассаж; Б1, Б2 – экспрессия Ki67 в популяциях P1 и P2 культуры #702; Б3, Б4 – экспрессия CD338 в популяциях P1 и P2 культуры #702; Б5, Б6 – экспрессия CCR10 в популяциях P1 и P2 культуры #702; Б7, Б8 – экспрессия CD304 в популяциях P1 и P2 культуры #702; В – две субпопуляции P1 и P2 в клеточной культуре синовиальной саркомы #914, 7 пассаж; В1, В2 – экспрессия Ki67 в популяциях P1 и P2 культуры #914; В3, В4 – экспрессия CCR10 в популяциях P1 и P2 культуры #914; В5, В6 – экспрессия CCR7 в популяциях P1 и P2 культуры #914

Fig. 5. Identification of the population characteristics of solid tumors cells culture by flow cytometry. А – two subpopulations of P1 and P2 in melanoma cell culture # 826, passage 30; А1, А2 – Ki67 expression in populations P1 and P2 of culture #826; А3, А4 – CCR10 expression in populations P1 and P2 of culture #826; Б – two subpopulations P1 and P2 in liposarcoma cell culture #702, passage 37; Б1, Б2 (Б1, Б2) – Ki67 expression in populations P1 and P2 of culture #702; Б3, Б4 (Б3, Б4) – CD338 expression in populations P1 and P2 of culture #702; Б5, Б6 (Б5, Б6) – CCR10 expression in populations P1 and P2 of culture #702; Б7, Б8 (Б7, Б8) – CD304 expression in populations of P1 and P2 culture #702; С – two subpopulations of P1 and P2 in synovial sarcoma cell culture #914, passage 7; С1, С2 (Б1, Б2) – Ki67 expression in populations P1 and P2 of culture #914; С3, С4 (Б3, Б4) – CCR10 expression in populations of P1 and P2 of culture #914; С5, С6 (Б5, Б6) – CCR7 expression in populations P1 and P2 of culture #914

ному количеству CD133⁺-клеток ($13,63 \pm 2,63$ % и $4,66 \pm 1,73$ % соответственно) и CCR10⁺-клеток ($11,95 \pm 1,44$ % и $48,52 \pm 9,50$ % соответственно, $p < 0,05$ согласно методу Манна–Уитни).

В то же время среди клеточных культур МК можно было выделить две группы, где количественное соотношение этих субпопуляций было различным: в 64,7 % (11 из 17) клеточных культур МК та популяция, которая преобладала численно (P1), имела большее количество CD133-позитивных клеток, в то время как численно меньшая популяция (P2) характеризовалась повышенным пролиферативным потенциалом и имела большее количество клеток, несущих хемокиновые рецепторы CCR10, CCR7, CCR4, а также молекул нейропиллина-1 ($p < 0,05$ согласно критерию Манна–Уитни) (табл. 3).

В 35,3 % клеточных культур МК (6 из 17) соотношение между числом клеток в популяциях P1 и P2 было обратным, однако выявленные статистически значимые различия между популяциями сохранялись. Интересно, что в клеточной популяции двух культур МК были выявлены CCR10⁺-клетки, которые имели различную плотность данных рецепторов и разделялись на две субпопуляции по интенсивности флуоресценции: CCR10^{bright+} и CCR10^{dim+}. Дальнейшее гейтирование по субпопуляции CCR10^{bright+} позволило обнаружить, что эта субпопуляция опухолевых клеток характеризуется более высоким содержанием CD338⁺ и CD304⁺-клеток, в то время как пролиферативный потенциал, определяемый по экспрессии Ki67, был выше в субпопуляции CCR10^{dim+} (рис. 6).

Обсуждение

Результаты многочисленных исследований указывают на высокую пластичность опухолевых клеток, которые способны синтезировать и секретировать в микроокружение разнообразные факторы, формирующие среду, благоприятствующую их диссеминации. В нашем исследовании в условиях *in vitro* были изучены параметры миграции и инвазии культивируемых клеток солидных опухолей человека в связи с экспрессией и продукцией ими спектра молекул, ассоциированных с метастазированием. Изучали 4 основных параметра: IP, представляющий соотношение количества инвазивных клеток к мигрирующим, выраженное в процентах, MS опухолевых клеток, соответствующей скорости застания «экспериментальной раны», SlopeMigr и SlopeInv, параметров, характеризующих скорость инвазии и миграции малигнизированных клеток, вычисляемую с помощью клеточного анализатора в режиме реального времени.

Для клеток МК, СМТ и ОС наблюдали корреляцию изучаемых параметров миграции и инвазии опухолевых клеток. Как известно, миграция опухолевых клеток представляет собой адаптивный процесс, который связан с особенностями клеточной адгезии и перестройки цитоскелета, взаимодействием клеток с межклеточным матриксом и его ремоделированием, и является основой для инвазии и метастатической диссеминации [13]. В нашей работе клетки СМТ и ОС демонстрировали более высокую MS и более высокий SlopeInv по сравнению с культивируемыми клетками МК. Точечные измерения, которые удалось провести в отношении клеток МК, РП, КРР и СМТ и ОС, также показали, что СМТ и СО характеризуются более высокими инвазивными способностями. Это гетерогенная группа злокачественных опухолей, происходящих из трансформированных клеток мезенхимального происхождения, которые характеризуются агрессивным течением и метастатическими процессами. Недавно стало очевидно, что инвазия и метастазирование сарком ассоциированы

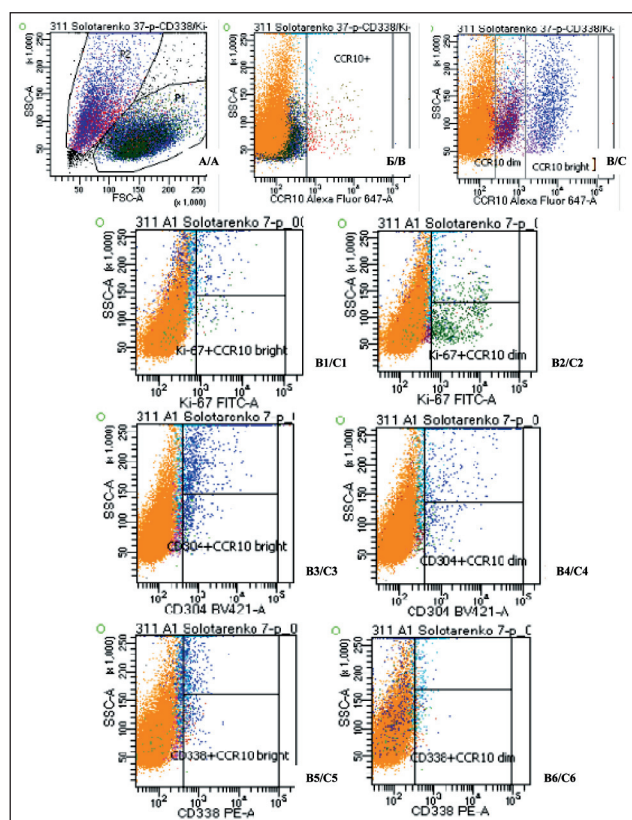


Рис. 6. Выявление особенностей популяции культивируемых клеток МК #311 методом проточной флуориметрии: А – выявление двух субпопуляций по размеру и гранулярности P1 и P2; Б – экспрессия CCR10 в субпопуляции P1; В – экспрессия CCR10 в субпопуляции P2; Б1, Б2 – выявление Ki67 в субпопуляциях CCR10^{bright} и CCR10^{dim}; В3, В4 – выявление CD304 в субпопуляциях CCR10^{bright} и CCR10^{dim}; В5, В6 – выявление CD338 в субпопуляциях CCR10^{bright} и CCR10^{dim}

Fig. 6. Identification of the population characteristics of melanoma cell culture #311 by flow cytometry. А – identification of two subpopulations P1 and P2 in size and granularity; В – CCR10 expression in a P1 subpopulation; С – CCR10 expression in a P2 subpopulation; D1, D2 – Ki67 detection in the CCR10^{bright} and CCR10^{dim} subpopulations; D3, D4 – CD304 detection in the CCR10^{bright} and CCR10^{dim} subpopulations; D5, D6 – CD338 detection in the CCR10^{bright} and CCR10^{dim} subpopulations

с разнообразными стимулами опухолевого микроокружения, связанными с ремоделированием экстрацеллюлярного матрикса, модуляцией жесткости клеточного цитоскелета, взаимодействием клеток с матриксом, влиянием многих сигнальных факторов и пространственных молекулярных градиентов [14]. В то же время, вероятно, метастатический потенциал злокачественных клеток генетически детерминирован, на что указывают статистически достоверные результаты по различию IP, определяемого в экспериментальных условиях *in vitro* для образцов СМТ и ОС, полученных из первичного опухолевого очага, рецидива и метастатических образований, при этом наиболее высоким инвазивным потенциалом характеризовались именно метастатические клетки.

Известно, что хемокины и факторы роста являются ключевыми факторами опухолевой инвазии и облегчают интра- и экстравазацию малигнизированных клеток, инициируя образование метастазов. Опухолевые клетки продуцируют множество хемоаттрактантов для макрофагов, нейтрофилов, лимфоцитов, фибробластов и мезенхимальных стволовых клеток, которые, в свою очередь, продуцируют вещества, стимулирующие миграцию злокачественных клеток [15].

В нашем исследовании был выявлен целый спектр корреляционных связей между параметрами миграции и инвазии клеток солидных опухолей в системе *in vitro* и опухолеассоциированными факторами, способствующими иммуносупрессии, метастазированию, пролиферации малигнизированных клеток, при этом для клеток МК, СМТ и ОС этот спектр был несколько различным. MS, определенная в культурах МК, коррелировала с относительным количеством CCR10⁺ опухолевых клеток. В исследовании L. Kühnelt-Leddihn et al. были выявлены прогностические факторы, связанные с гиперэкспрессией хемокиновых рецепторов CCR7 и CCR10 при меланоме кожи [16]. Обнаружено, что избыточная экспрессия этих рецепторов связана с неблагоприятным течением заболевания независимо от толщины опухоли по Бреслоу и уровня инвазии по Кларку. Корреляция количества клеток МК, несущих рецепторы CCR10, с продукцией ими PECAM-1, а также корреляция IP клеток СМТ и количественного содержания в их клеточных супернатантах PECAM-1 подтверждают факт участия этого фактора в прогрессии солидных опухолей, который был выявлен ранее [17].

При исследовании механизмов иммуносупрессии у больных СМТ и ОС ранее нами было установлено, что клетки метастатических СМТ и ОС способны продуцировать высокие уровни хемокина CCL2, количество которого находится в прямой зависимости от содержания в периферической крови больных CCR4⁺-регуляторных Т-лимфоцитов [18]. В этой связи интересен факт обнаружения обратной корреляции между про-

дукцией клетками МК CCL2 и SlopeInv. Можно предполагать, что опухоль представлена несколькими субпопуляциями злокачественных меланцитозов, обладающих разными потенциями, что подтверждается данными, полученными в процессе анализа культивируемых клеток МК, СМТ и ОС с помощью проточной цитофлуорометрии. Наличие среди культивируемых клеток МК и СМТК как минимум двух субпопуляций, статистически значимо различающихся по экспрессии маркера стволовых клеток CD133, маркера пролиферации Ki67, хемокиновых рецепторов CCR10, CCR7 и нейропиллина-1, позволяет предполагать наличие группы опухолевых клеток с выраженным метастатическим потенциалом и группы покоящихся злокачественных клеток, несущих «зародышевый» потенциал и формирующих иммуносупрессивное микроокружение, тем более, что была обнаружена корреляция между продукцией клетками МК CCL2 и IL-10.

В нашем исследовании содержание PLGF в надосадочной жидкости культур МК и СМТ и СО было ассоциировано с MS клеток МК и IP клеток СМТ и ОС. Как известно, PLGF относится к семейству сосудистого эндотелиального фактора роста и играет важную роль в неопластическом процессе, находясь в сложном скоординированном взаимодействии с другими факторами этого семейства [19]. N. Song et al. показали, что избыточная экспрессия PLGF значительно увеличивала инвазивность культивируемых клеток рака яичника через активацию транскрипционного фактора ZEB2, ответственного, наряду с другими факторами, за индукцию эпителиально-мезенхимального перехода и поддержание адаптированного мезенхимального фенотипа злокачественных клеток [20].

Интересно, что для некоторых опухолей отмечена высокая экспрессия HB-EGF, лиганда рецептора эпидермального фактора роста, например для клеточных культур и ткани рака яичников [21]. Было доказано, что HB-EGF играет важную роль в онкогенезе рака яичников и может служить прогностическим маркером [22]. В нашем исследовании мы обнаружили, что клетки СМТ и ОС, демонстрировавшие высокий IP, продуцировали значительные количества HB-EGF.

Также нами были получены данные о том, что клетки СМТ и ОС с гиперпродукцией фоллистатина демонстрировали высокий IP и SlopeInv. Фоллистатин представляет собой белок, который связывает димеры активина с высокой аффинностью, реализуя эндогенный селективный механизм ингибирования передачи сигналов активина [23]. Его роль, как и активина, в онкогенезе и метастазировании остается неизученной [24, 25]. Однако среди противоречивых данных есть сведения, указывающие на прогностическую роль секреции фоллистатина при злокачественных новообразованиях. Так, повышенный уровень этого белка в сы-

воротке крови пациентов с раком предстательной железы коррелировал с наличием костных метастазов и увеличенным уровнем PSA, что позволило исследователям предложить фоллистатин как терапевтическую мишень при этом заболевании [26]. Интересна обнаруженная нами корреляция между SlopeInv клеток CMT и СО и продукцией ими фактора стволовых клеток SCF, который является мультифункциональным цитокином, участвующим в прогрессировании опухоли [27]. В последнее время было продемонстрировано, что система SCF/c-kit выполняет важные функции в неоангиогенезе, пролиферации и инвазии злокачественных клеток [28]. С. Gao et al. показали, что уровень SCF коррелировал со стадией метастазирования (pTNM) при раке поджелудочной железы [29]. Группа пациентов с высокой экспрессией SCF имела значительно более низкие показатели выживаемости по сравнению с больными, которые имели низкую экспрессию SCF.

Анализ экспрессии раково-тестикулярных генов, принадлежащих к основным наиболее изученным семействам, продемонстрировал, что для культивируемых клеток МК существует положительная корреляция между активностью гена *PRAME* и величиной SlopeMigr и обратная корреляция между экспрессией гена *PASDI* и SlopeInv. Для клеток CMT и ОС была обнаружена взаимосвязь между интенсивностью экспрессии *SSX1* и SlopeInv. Эти данные согласуются с имеющим место представлением о способности малигнизированных клеток реализовать программы функционирования аномально экспрессируемых генов для формирования инвазивного фенотипа. В частности, показано, что такие раково-тестикулярные гены, как *SPANX-A/C/D* и *CTAG2*, регулируют различные аспекты инвазивного поведения клеток рака молочной железы [30]. D. Wang et al. обнару-

жили, что активация гена *MAGEA1* ассоциирована с пролиферацией, миграцией и метастазированием клеток МК [31]. Недавние исследования продемонстрировали, что в 90 % синовиальных сарком функционируют слитые гены *SS18-SSX1/SSX2*, продукты которых участвуют в регуляции клеточного роста и пролиферации, ремоделировании хроматина, способствуя онкогенезу [32]. Z.S. Xu et al. показали, что сверхэкспрессия *PASDI* активировала транскрипционный фактор STAT3, регуляция функционирования которого тесно связана с такими физиологическими процессами, как пролиферация клеток, выживание и дифференцировка, и потенцировала IL-6-индуцированную активацию STAT3, тогда как нокдаун по *PASDI* давал противоположный эффект [33]. G. Al-Khadairi et al. обнаружили, что *PRAME* индуцирует миграцию и инвазию клеток трижды негативного рака молочной железы через изменение экспрессии основных маркеров эпителиально-мезенхимального перехода E-кадгерина, N-кадгерина, виментина и ZEB1 [34].

Заключение

Инвазивный потенциал клеток солидных опухолей человека ассоциирован с экспрессией спектра факторов, обеспечивающих их подвижность, а также воздействующих на другие клеточные компоненты опухолевого микроокружения, в том числе на клетки иммунной системы. Биологически «агрессивный» фенотип культивируемых клеток МК, CMT и ОС связан с экспрессией раково-тестикулярных генов *PRAME*, *PASDI*, *SSX1*, продукцией HB-EGF, IGFBP, PLGF, PECAM-1, FST, SCF, IL-8, которые возможно рассматривать как новые мишени для терапевтических технологий, способных воздействовать на метастатическую болезнь.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Sonnemann K.J., Bement W.M. Wound repair: toward understanding and integration of single-cell and multicellular wound responses. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 2011; 27: 237–63. doi: 10.1146/annurev-cellbio-092910-154251.
2. Friedl P. Prespecification and plasticity: shifting mechanisms of cell migration. *Curr Opin Cell Biol.* 2004 Feb; 16(1): 14–23. doi: 10.1016/j.cceb.2003.11.001.
3. Te Boekhorst V., Friedl P. Plasticity of Cancer Cell Invasion: Mechanisms and Implications for Therapy. *Adv Cancer Res.* 2016; 132: 209–64. doi: 10.1016/bs.acr.2016.07.005.
4. Friedl P., Wolf K. Plasticity of cell migration: a multiscale tuning model. *J Cell Biol.* 2010 Jan 11; 188(1): 11–9. doi: 10.1083/jcb.200909003.
5. Yilmaz M., Christofori G. Mechanisms of motility in metastasizing cells. *Mol Cancer Res.* 2010 May; 8(5): 629–42. doi: 10.1158/1541-7786.MCR-10-0139.
6. Freshney R.I. Culture of animal cells: a manual of basic technique and specialized applications. 6th ed. John Wiley & Sons. 2010. 732p.
7. Danilov A.O., Larin S.S., Danilova A.B., Moiseenko V.M., Balduyeva I.A., Kiselev S.L., Tourkevich Y.E.A., Bartchuk A.S., Anisimov V.V., Gaflov G.I., Kochnev V.A., Hanson K.P. An improved procedure for autologous gene-modified vaccine preparation for active specific immunotherapy of disseminated solid tumors. *Problems in Oncology.* 2004; 50(2): 219–227.
8. Moutasim K.A., Nystrom M.L., Thomas G.J. Cell migration and invasion assays. *Methods Mol Biol.* 2011; 731: 333–343. doi: 10.1007/978-1-61779-080-5_27.
9. Александрова А.Ю. Механизмы миграции культивируемых клеток. Методы культивирования клеток. СПб., 2008. С. 40–55. [Alexandrova A.Yu. The mechanisms of propagation of cultured cells. Cell cultivation methods. Saint-Peterburg, 2008. P. 40–55. (in Russian)].
10. Danilova A., Misyurin V., Novik A., Girdyuk D., Avdonkina N., Nekhaeva T., Emelyanova N., Pipia N., Misyurin A., Balduyeva I. Cancer/testis antigens expression during cultivation of melanoma and soft tissue sarcoma cells. *Clin Sarcoma Res.* 2020 Feb 4; 10: 3. doi: 10.1186/s13569-020-0125-2.
11. Basic Local Alignment Search Tool [Internet]. URL: <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> (cited 11.02.2020).
12. Everitt B.S., Pickles A. Statistical Aspects of the Design and Analysis of Clinical Trials. London. Imperial College Press, 2004. 322.
13. Odenthal J., Takes R., Friedl P. Plasticity of tumor cell invasion: governance by growth factors and cytokines. *Carcinogenesis.* 2016 Dec; 37(12): 1117–1128. doi: 10.1093/carcin/bgw098.
14. Lewis D.M., Park K.M., Tang V., Xu Y., Pak K., Eisinger-Mathason T.S., Simon M.C., Gerecht S. Intratumoral oxygen gradients mediate sarcoma cell invasion. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2016 Aug 16; 113(33): 9292–7. doi: 10.1073/pnas.1605317113.
15. Roussos E.T., Condeelis J.S., Patsialou A. Chemotaxis in cancer. *Nat Rev Cancer.* 2011 Jul 22; 11(8): 573–87. doi: 10.1038/nrc3078.
16. Kühnelt-Leddihn L., Müller H., Eisendle K., Zelger B., Weinlich G. Overexpression of the chemokine receptors CXCR4, CCR7, CCR9, and CCR10 in human primary cutaneous melanoma: a potential prognostic value for CCR7 and CCR10? *Arch Dermatol Res.* 2012 Apr; 304(3): 185–93. doi: 10.1007/s00403-012-1222-8.

17. Abraham V., Cao G., Parambath A., Lawal F., Handumrongkul C., Debs R., DeLisser H.M. Involvement of TIMP-1 in PECAM-1-mediated tumor dissemination. *Int J Oncol.* 2018; 53(2): 488–502. doi: 10.3892/ijo.2018.4422.
18. Пипиа Н.П., Балдуева И.А., Данилова А.Б., Авдонкина Н.А., Новак А.В., Нехаева Т.Л., Гафтон Г.И., Емельянова Н.В. Иммуносупрессивный потенциал периферических регуляторных Т-лимфоцитов в процессе опухолевой прогрессии у больных метастатическими саркомами мягких тканей. *Вопросы онкологии.* 2018; 64(3): 400–407. [Pipia N.P., Baldueva I.A., Danilova A.B., Avdonkina N.A., Novik A.V., Nekhaeva T.L., Gafton G.I., Emelyanova N.V. Immunosuppressive potential of peripheral regulatory T-lymphocytes in the process of tumor progression in patients with metastatic soft tissue sarcomas. *Problems in Oncology.* 2018; 64(3): 400–407. (in Russian)].
19. Albonici L., Giganti M.G., Modesti A., Manzari V., Bei R. Multifaceted Role of the Placental Growth Factor (PlGF) in the Antitumor Immune Response and Cancer Progression. *Int J Mol Sci.* 2019 Jun 18; 20(12): 2970. doi: 10.3390/ijms20122970.
20. Song N., Liu H., Ma X., Zhang S. Placental Growth Factor Promotes Ovarian Cancer Cell Invasion via ZEB2. *Cell Physiol Biochem.* 2016; 38(1): 351–8. doi: 10.1159/000438635.
21. Shen Y., Ruan L., Lian C., Li R., Tu Z., Liu H. Discovery of HB-EGF binding peptides and their functional characterization in ovarian cancer cell lines. *Cell Death Discov.* 2019 Mar 25; 5: 82. doi: 10.1038/s41420-019-0163-9.
22. Yagi H., Yotsumoto F., Miyamoto S. Heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor promotes transcoelomic metastasis in ovarian cancer through epithelial-mesenchymal transition. *Mol Cancer Ther.* 2008 Oct; 7(10): 3441–51. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-08-0417.
23. Seachrist D.D., Sizemore S.T., Johnson E., Abdul-Karim F.W., Weber Bonk K.L., Keri R.A. Follistatin is a metastasis suppressor in a mouse model of HER2-positive breast cancer. *Breast Cancer Res.* 2017 Jun 5; 19(1): 66. doi: 10.1186/s13058-017-0857-y.
24. Kudo-Saito C. FSTL1 promotes bone metastasis by causing immune dysfunction. *Oncotarget.* 2013; 2(11): e26528. doi: 10.4161/onc.26528.
25. Kudo-Saito C., Fujiwara T., Murakami K., Kawakami Y. Targeting FSTL1 prevents tumor bone metastasis and consequent immune dysfunction. *Cancer Res.* 2013 Oct 15; 73(20): 6185–93. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-13-1364.
26. Sepporta M.V., Tumminello F.M., Flandina C., Crescimanno M., Giammanco M., La Guardia M., di Majo D., Leto G. Follistatin as potential therapeutic target in prostate cancer. *Target Oncol.* 2013 Dec; 8(4): 215–23. doi: 10.1007/s11523-013-0268-7.
27. Vazquez-Mellado M.J., Monjaras-Embriz V., Rocha-Zavaleta L. Erythropoietin, Stem Cell Factor, and Cancer Cell Migration. *Vitam Horm.* 2017; 105: 273–296. doi: 10.1016/bs.vh.2017.02.008.
28. Zhang M., Ma Q., Hu H., Zhang D., Li J., Ma G., Bhat K., Wu E. Stem cell factor/c-kit signaling enhances invasion of pancreatic cancer cells via HIF-1 α under normoxic condition. *Cancer Lett.* 2011 Apr 28; 303(2): 108–17. doi: 10.1016/j.canlet.2011.01.017.
29. Gao C., Li S., Zhao T., Chen J., Ren H., Zhang H., Wang X., Lang M., Liu J., Gao S., Zhao X., Sheng J., Yuan Z., Hao J. SCF, regulated by HIF-1 α , promotes pancreatic ductal adenocarcinoma cell progression. *PLoS One.* 2015 Mar 23; 10(3): e0121338. doi: 10.1371/journal.pone.0121338.
30. Maine E.A., Westcott J.M., Precht A.M., Dang T.T., Whitehurst A.W., Pearson G.W. The cancer-testis antigens SPANX-A/C/D and CTAG2 promote breast cancer invasion. *Oncotarget.* 2016 Mar 22; 7(12): 14708–26. doi: 10.18632/oncotarget.7408.
31. Wang D., Wang J., Ding N., Li Y., Yang Y., Fang X., Zhao H. HIF-1 α promotes melanoma proliferation and migration through C-JUN activation. *Biochem Biophys Res Commun.* 2016 May 13; 473(4): 959–965. doi: 10.1016/j.bbrc.2016.03.161.
32. Przybyl J., Jurkowska M., Rutkowski P., Debiec-Rychter M., Siedlecki J.A. Downstream and intermediate interactions of synovial sarcoma-associated fusion oncoproteins and their implication for targeted therapy. *Sarcoma.* 2012; 2012: 249219. doi: 10.1155/2012/249219.
33. Xu Z.S., Zhang H.X., Zhang Y.L., Liu T.T., Ran Y., Chen L.T., Wang Y.Y., Shu H.B. PASD1 promotes STAT3 activity and tumor growth by inhibiting TC45-mediated dephosphorylation of STAT3 in the nucleus. *J Mol Cell Biol.* 2016 Jun; 8(3): 221–31. doi: 10.1093/jmcb/mjw005.
34. Al-Khadairi G., Naik A., Thomas R., Al-Sulaiti B., Rizly S., De-cock J. PRAME promotes epithelial-to-mesenchymal transition in triple negative breast cancer. *J Transl Med.* 2019 Jan 3; 17(1): 9. doi: 10.1186/s12967-018-1757-3.

Поступила/Received 11.02.2020
Принята в печать/Accepted 30.05.2020

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Данилова Анна Борисовна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела онкоиммунологии, НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова Минздрава России (г. Санкт-Петербург, пос. Песочный, Россия). E-mail: anna_danilova@bk.ru. SPIN-код: 9387-8328. Researcher ID (WOS): H-7828-2014. Author ID (Scopus): 7005563064. ORCID: 0000-0003-4796-0386.

Нехаева Татьяна Леонидовна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отдела онкоиммунологии, НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова Минздрава России (г. Санкт-Петербург, пос. Песочный, Россия). SPIN-код: 5366-8969. Author ID (РИНЦ): 759111. Researcher ID (WOS): L-7268-2018. ORCID: 0000-0002-7826-4861.

Мисюрин Всеволод Андреевич, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории экспериментальной диагностики и биотерапии опухолей, НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 1362-8871. Researcher ID (WOS): N-9167-2016. Author ID (Scopus): 56328032000. ORCID: 0000-0002-0762-5631.

Авдонкина Наталья Александровна, научный сотрудник отдела онкоиммунологии, НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). SPIN-код: 7352-9350. Researcher ID (WOS): P-3886-2015. Author ID (Scopus): 57194491563. ORCID: 0000-0002-3533-2721.

Емельянова Наталья Викторовна, лаборант-исследователь отдела онкоиммунологии, НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). SPIN-код: 3765-4666. Researcher ID (WOS): E-4436-2019. Author ID (Scopus): 57194504903. ORCID: 0000-0002-0125-9263.

Балдуева Ирина Александровна, доктор медицинских наук, руководитель отдела онкоиммунологии, НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). SPIN-код: 7512-8789. Researcher ID (WOS): H-9574-2014. Author ID (Scopus): 6602224742. ORCID: 0000-0002-7472-4613.

ВКЛАД АВТОРОВ

Данилова Анна Борисовна: разработка концепции научной работы, планирование и осуществление экспериментов, микроскопический анализ цитологических объектов, статистическая обработка результатов, создание черновика рукописи.

Нехаева Татьяна Леонидовна: анализ научной работы, описание полученных результатов.

Мисюрин Всеволод Андреевич: анализ научной работы, статистическая обработка, описание полученных результатов.

Авдонкина Наталья Александровна: создание клеточных линий солидных опухолей, описание полученных результатов.

Емельянова Наталья Викторовна: анализ научной работы, описание полученных результатов.

Балдуева Ирина Александровна: анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Финансирование

Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта РФФИ № 18-29-09014.

Конфликт интересов

Авторы объявляют, что у них нет конфликта интересов.

Благодарности

*Авторы выражают глубокую признательность доктору медицинских наук Георгию Ивановичу Гаф-
тону за помощь в организации сбора образцов опухолевой ткани; доктору биологических наук Андрею
Витальевичу Мисюрину за помощь в организации молекулярно-генетических исследований; магистру
физико-математических наук Дмитрию Викторовичу Гирдюку за консультации по математической
обработке полученных данных; бакалавру биологических наук Елизавете Андреевне Просекиной за по-
мощь в подготовке рукописи статьи.*

ABOUT THE AUTHORS

Anna B. Danilova, PhD, Senior Researcher, Department of Cancer Immunology, N.N. Petrov National Medical Cancer Research Center (St-Petersburg, Russia). E-mail: anna_danilova@bk.ru. Researcher ID (WOS): H-7828-2014. Author ID (Scopus): 7005563064. ORCID: 0000-0003-4796-0386.

Tatiana L. Nekhaeva, MD, PhD, Senior Researcher, Department of Cancer Immunology, N.N. Petrov National Medical Cancer Research Center (St-Petersburg, Russia). Researcher ID (WOS): L-7268-2018. Author ID (Scopus): 759111. ORCID: 0000-0002-7826-4861.

Vsevolod A. Misyurin, PhD, Senior Researcher, Laboratory of Experimental Diagnosis and Biotherapy of Tumors, N.N. Blokhin National Medical Cancer Research Center (Moscow, Russia). Researcher ID (WOS): N-9167-2016. Author ID (Scopus): 56328032000. ORCID: 0000-0002-0762-5631.

Natalia A. Avdonkina, Researcher, Department of Cancer Immunology, N.N. Petrov National Medical Cancer Research Center (St-Petersburg, Russia). Researcher ID (WOS): P-3886-2015. Author ID (Scopus): 57194491563. ORCID: 0000-0002-3533-2721.

Natalia V. Emelyanova, Laboratory Assistant, Department of Cancer Immunology, N.N. Petrov National Medical Cancer Research Center (St-Petersburg, Russia). Researcher ID (WOS): E-4436-2019. Author ID (Scopus): 57194504903. ORCID: 0000-0002-0125-9263.

Irina A. Baldueva, MD, DSc, Head of Department of Cancer Immunology, N.N. Petrov National Medical Cancer Research Center (St-Petersburg, Russia). Researcher ID (WOS): H-9574-2014. Author ID (Scopus): 6602224742. ORCID: 0000-0002-7472-4613.

AUTHOR CONTRIBUTION

Anna B. Danilova: study conception and design, microscopic analysis of cytological specimens, statistical data analysis, drafting of the manuscript.

Tatiana L. Nekhaeva: analysis of the study results, data analysis.

Vsevolod A. Misyurin: analysis of the study result, statistical data analysis, description of the results.

Natalia A. Avdonkina: creation of cell lines of solid tumors, description of the results.

Natalia V. Emelyanova: analysis of the study results, description of the results.

Irina A. Baldueva: study surveillance, critical revision of the manuscript for important intellectual content.

Funding

The study was supported by the RFBR grant № 18-29-09014.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

Acknowledgement

The authors are deeply grateful to G.I. Gafton for help in organizing the collection of tumor tissue samples, A.V. Misyurin for help in organizing molecular genetic studies, D.V. Girdyuk for consultations on the mathematical processing of the obtained data, and E.A. Prosekina for assistance in preparing the manuscript of the article.

Для цитирования: Литвяков Н.В., Ибрагимова М.К., Цыганов М.М., Дерюшева И.В., Певзнер А.М., Гарбуков Е.Ю., Дорошенко А.В., Слонимская Е.М. Ассоциация сочетания aberrаций числа копий генов WNT-сигналинга и амплификаций генов стволовости в опухоли молочной железы с метастазированием. Сибирский онкологический журнал. 2020; 19(3): 78–88. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-3-78-88.

For citation: Litviakov N.V., Ibragimova M.K., Tsyganov M.M., Deriusheva I.V., Pevsner A.M., Garbukov E.Yu., Doroshenko A.V., Slonimskaya E.M. Association of the combination of stemness gene amplifications and copy number aberrations of WNT-signaling genes in breast tumors with metastasis. Siberian Journal of Oncology. 2020; 19(3): 78–88. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-3-78-88.

ASSOCIATION OF THE COMBINATION OF STEMNESS GENE AMPLIFICATIONS AND COPY NUMBER ABERRATIONS OF WNT-SIGNALING GENES IN BREAST TUMORS WITH METASTASIS

N.V. Litviakov^{1,2}, M.K. Ibragimova¹, M.M. Tsyganov¹, I.V. Deriusheva¹,
A.M. Pevsner¹, E.Yu. Garbukov¹, A.V. Doroshenko¹, E.M. Slonimskaya³

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

5, Kooperativny Street, 634050-Tomsk, Russia. E-mail: nvlitv72@yandex.ru¹

National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia²

36, Lenin Ave., 634050-Tomsk, Russia²

Saint-Petersburg State University, Saint-Petersburg, Russia³

13B, Universitetskaya Emb., St Petersburg-199034, Russia³

Abstract

We studied the association between the presence of 2 or more stemness gene amplifications as well as copy number aberrations (CNAs) of WNT signaling genes in residual breast tumor and metastasis. WNT pathway genes associated with metastasis were identified. **Material and Methods.** The study included 30 patients with breast cancer, who had 2 or more stemness gene amplifications in the residual tumor after neoadjuvant chemotherapy. Fifteen of the thirty patients developed hematogenous metastases; they constituted a group with metastases, the remaining 15 patients entered the second group without metastases. The tumor DNA was examined using a CytoScanHD Array microarray (Affymetrix, USA). **Results.** By subtracting amplification and deletion frequencies in 852 cytobands between groups with metastases and without metastases, 21 cytobands were identified with the largest difference in deletion and amplification frequencies. They contain 19/150 of WNT genes (12 activators: *SKP1*, *WNT8A*, *MAPK9*, *CCND3*, *FZD9*, *WNT8B*, *CCND1*, *PLCB2*, *PRKCB*, *FZD2*, *WNT3*, *WNT9B* and 7 negative regulators: *GSK3B*, *APC*, *CSNK2B*, *SFRP5*, *BTRC*, *TCF7L2*, *CSNK2A2*). A point system was developed: when amplifying WNT-signaling activators or deletion of negative regulators, one point was added to the total score, and vice versa when deleting WNT-signaling activators or amplification of negative regulators, one point was taken from the total amount. It was shown that 93% (14/15) of patients with metastases had a total score higher than 0, while 93% (14/15) of patients without metastases had a total score of zero or less than zero. The differences between the groups were statistically significant according to the two-sided Fisher test with a high level of confidence probability ($p=0.000003$) and the log-rank test ($p=0.00004$) when assessing non-metastatic survival by the Kaplan-Mayer method. **Conclusion** Nineteen WNT signaling genes were identified. Copy number aberrations of these genes in combination with stemness gene amplifications in residual tumors were associated with metastasis. A new highly effective prognostic factor for breast cancer was identified.

Key words: breast cancer, WNT-pathway, metastasis, copy number aberration, residual tumor.

АССОЦИАЦИЯ СОЧЕТАНИЯ АБЕРРАЦИЙ ЧИСЛА КОПИЙ ГЕНОВ WNT-СИГНАЛИНГА И АМПЛИФИКАЦИЙ ГЕНОВ СТВОЛОВОСТИ В ОПУХОЛИ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ С МЕТАСТАЗИРОВАНИЕМ

Н.В. Литвяков^{1,2}, М.К. Ибрагимова¹, М.М. Цыганов¹, И.В. Дерюшева¹,
А.М. Певзнер¹, Е.Ю. Гарбуков¹, А.В. Дорошенко¹, Е.М. Слонимская³

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

Россия, 634050, г. Томск, пер. Кооперативный, 5. E-mail: nvlity72@yandex.ru¹

Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск, Россия²
Россия, 634050, Томск, пр. Ленина, 36²

Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург, Россия³
Россия, 199034, г. Санкт-Петербург, Университетская набережная, 7–9³

Аннотация

Введение. Изучена ассоциация с гематогенным метастазированием наличия 2 и более амплификаций генов стволовости и CNA (Copy Number Aberration) локусов генов WNT-сигнального пути в остаточной резидуальной опухоли молочной железы. Идентифицированы гены WNT-pathway, ассоциированные с метастазированием. **Материал и методы.** В исследование были включены 30 больных раком молочной железы, в резидуальной опухоли которых после неoadъювантной химиотерапии были 2 и более амплификации генов стволовости. У 15 из 30 больных развились гематогенные метастазы, они составили группу с метастазами, во вторую группу без метастазов вошли остальные 15 пациентов. ДНК опухоли была исследована при помощи микроматрицы CytoScanHD Array (Affymetrix, USA). **Результаты.** Путем вычитания частот амплификаций и делеций по 852 цитобандам между группами с метастазами и без метастазов был установлен 21 цитобанд с наибольшей разницей частот делеций и амплификаций. В них находятся 19 из 150 генов WNT (14 активаторов: *SKP1*, *WNT8A*, *MAPK9*, *CCND3*, *FZD9*, *WNT8B*, *CCND1*, *PLCB2*, *PRKCB*, *FZD2*, *WNT3*, *WNT9B* и 7 негативных регуляторов: *GSK3B*, *APC*, *CSNK2B*, *SFRP5*, *BTRC*, *TCF7L2*, *CSNK2A2*). Была разработана балльная система, при амплификации активаторов WNT-сигналинга или делеции негативных регуляторов к общей сумме баллов прибавлялся один балл, и, наоборот, при делеции активаторов WNT-сигналинга или амплификации негативных регуляторов от общей суммы отнимался один балл. Показано, что 93 % (14/15) больных с метастазами имеют суммарный балл больше 0, в то время как 93 % (14/15) больных без метастазов имеют суммарный балл, равный нулю или меньше нуля. Различия между группами статистически значимы по двустороннему критерию Фишера с высоким уровнем достоверной вероятности ($p=0,000003$) и по лог-ранговому тесту ($p=0,00004$) при оценке безметастатической выживаемости по методу Каплана – Майера. **Заключение.** Были идентифицированы 19 генов WNT-сигналинга, CNA которых в резидуальной опухоли, совместно с амплификациями генов стволовости ассоциированы с метастазированием и могут использоваться в качестве прогностического фактора.

Ключевые слова: рак молочной железы, WNT-сигналинг, метастазирование, абберация числа копий, остаточная опухоль.

Introduction

Previously, we showed the association of amplifications of chromosome regions of stemness genes localization (3q (26.33), 5p (15.33; 13.1), 6p (24.3; 22.3; 21.33; 21.32), 7q (11.23; 21.13; 31.2; 32.1), 8q (11.21; 24), 9p (21.2), 9q (34.3; 21.13; 31.2, 22.33), 10p (15.2; 13; 12.2; 11.22), 10q22.1, 12p (13.31) 13q (34; 32.3; 22.1; 13.3; 12.2), 16p (11.2; 13.3), 18q (21.1; 21.2) 19p (13.3; 13.2; 13.12) with hematogenous metastasis. It was found that in cases when tumor cell clones with 2 or more amplifications of the above chromosomal regions remained in a residual tumor after neoadjuvant chemotherapy, 50 % of the patients developed metastases. When all amplifications were eliminated or only one amplification remained,

100 % of patients did not develop metastases [1]. The results of this study showed that the presence of 2 or more amplifications at regions of stemness gene localization in residual tumors was a necessary, but not sufficient condition for metastasis development. There are some other genetic changes that, along with amplification of stemness genes, are necessary and sufficient for development of metastases after pre-surgery chemotherapy.

Milanovic et al. (2018) reported that replicative aging of breast tumor cells occurred after treatment with doxorubicin and tamoxifen. After cancellation of doxorubicin and tamoxifen, the activity of the WNT signaling pathway significantly increased in tumor cells and the number of stem tumor cells increased

sharply. Tumor growth became even more active than it was before chemo- and hormone therapy [2]. It remains unknown why in some cases WNT signaling pathways are activated, while in other cases they are not activated and some tumors do not progress.

Our working hypothesis is that activation of WNT signaling pathway in tumor cells is due to the presence of copy number aberration (CNA) of WNT signaling pathway genes. We believe that a tumor emerges from replicative aging caused by NAC and metastasizes if there are 2 or more amplifications of stemness genes (a necessary condition) and CNA genes of WNT signaling pathway. If there are only amplifications of stemness genes or CNA genes of WNT signaling pathway, a tumor does not metastasize.

In addition to emerging from replicative aging, WNT can directly induce stemness genes, thereby providing a significant increase in the number of tumor stem cells and the likelihood of metastasis. Some authors have shown that MYC, which is one of the stemness genes and is part of the Yamanaki cocktail, is directly connected to WNT signaling pathway and when WNT is attached to Frizzled receptors, expression of markers of epithelial-mesenchymal transition and stemness of *SNAIL2*, *MYC* and others is activated. Canonical WNT signaling caused by *LRP6* Cyclin Y/CDK14 priming helps stabilize β -catenin-independent proteins, block polyphosphorylation and polyubiquitination of target proteins, including c-Myc [3, 4]. Activation of β -catenin in WNT signaling pathway also stimulates hyperexpression of *MYC* [5].

In accordance with the working hypothesis, we identified WNT pathway genes, whose CNA together with the amplification of stemness genes, were associated with metastasis.

Material and Methods

Between 2009 and 2014, 30 patients with IIbIIIa (T2–3N0–1M0) luminal B breast cancer were treated at Cancer Research Institute of Tomsk NRMC (Tomsk, Russia). The age of the patients ranged from 35 to 62 years (average age 52.4 ± 0.5). All procedures followed were in accordance with the Helsinki Declaration (1964, amended in 1975 and 1983). This study was approved by the institutional review board, and all patients signed an informed consent for voluntary participation (tabl. 1). All patients received 6 to 8 cycles of systemic neoadjuvant chemotherapy with the AC (Adriamycin, and Cyclophosphamide) or AT/ACT (Adriamycin and Taxotere or Adriamycin, Cyclophosphamide and Taxotere), or Taxotere. Clinical and imaging responses were categorized according to WHO and International Union Against Cancer criteria [7]. A partial response (PR) was determined as a tumor reduction $>50\%$ and stable disease (SD) as a tumor reduction $<50\%$ or a tumor size increase of $<25\%$ and progressive disease (PD) as a tumor size increase of $>25\%$. Physical examination was performed before NAC and before surgery to determine the clinical

response. Surgery (radical resection, sectoral resection or mastectomy) was performed within three to four weeks after the last administration of chemotherapy in responsive patients. After surgery hormonal therapy was given.

DNA was extracted from fresh samples of post-NAC residual tumor tissues using the QIAamp DNA mini Kit (Qiagen, Germany #51304).

Microarray analysis. To study CNAs of breast tumor, microarray analysis was performed using high density microarray platform Affymetrix (USA) CytoScan™ HD Array, (<http://www.affymetrix.com/eseach/search.jsp?pd=prod520004&N=4294967292>). Procedures of sample preparation, hybridization and scanning were performed in accordance with the manufacturer's protocol using the system Affymetrix GeneChip® Scanner 3000 7G (Affymetrix, USA). The Chromosome Analysis Suite 4.0 software (Affymetrix, USA), which was specifically devised for analyzing microarray results from the CytoScan™ HD Array, was used. Unbalanced chromosomal aberrations (deletions and amplifications, or Loss and Gain) were detected in all chromosomal regions.

Bioinformatics Methods. For each of 852 cytobands of patient groups with 2 or more amplifications of stemness genes with metastases and without metastases, the frequency of amplifications and deletions was determined and a histogram was constructed for each group. Afterwards, these histograms were combined. Thus, cytobands were calculated with the greatest difference in amplification and deletion frequencies. These data are shown in Figure 1. Using the KEGG GSEA database (http://software.broadinstitute.org/gsea/msigdb/cards/KEGG_WNT_SIGNALING_PATHWAY), 150 human WNT signaling genes were selected which are presented in Table 2. Using the GeneCards database (<https://www.genecards.org/>) the localization of each gene was determined. We found genes that were localized in cytobands with the highest frequency of amplifications and deletions according to the data presented in Fig. 1. These genes are highlighted in table 2 in different colors. At the next stage, each of the selected genes was annotated using several databases: Reactome (<https://reactome.org/>), UniProt (<https://www.uniprot.org/>), GeneCards (<https://www.genecards.org/>), OMIM (<https://omim.org/>), Wnt signaling pathway Gene Ontology Term (http://www.informatics.jax.org/vocab/gene_ontology/GO:0016055), KEGG PATHWAY: Wnt signaling pathway – Homo sapiens (human) (https://www.genome.jp/kegg/pathway/hsa/hsa_04310.html) and the role of the gene in the regulation of WNT-pathway was determined. Also, articles were used for annotation.

Statistical analysis. A two-sided p -value was calculated using Fisher's exact test <http://vassarstats.net/odds2x2.html>. Metastasis-free survival was calculated using the Kaplan-Meier method, and differences among patient groups were evaluated using the log-rank test.

Results

By subtracting the frequencies of cytoband amplifications and deletions in residual tumors of patients with 2 or more amplifications of stemness

genes between groups with metastases (patients B1, G1, D1, E1, K1, K2, K7, L1, R1, S1, S2, S3, Ch1, Ch3, Yu1) and without metastases (patients D3, J1, J2, K6, L2, L3, M4, N1, P1, P3, P2, S7, S10, Ch2,

Таблица 1/Table 1

Клинико-патологические параметры больных раком молочной железы и амплификации генов стволовости в остаточной резидуальной опухоли

The clinicopathological parameters of breast cancer patients and stemness gene amplifications in residual tumors

Пациенты/ Patients	Амплификации локусов генов ство- ловости в резидуальной опухоли/ Stemness genes loci amplifications in residual tumor	T	N	Ответ на HAXT/ NAC response		Метастазы/ Metastasis	Безметастатическая выживаемость, мес/ Metastasis-free survival, month
				%	По ВОЗ/ WHO		
B1	5p16p	2	1	74	PR	Да/Yes	25
G1	3q5p8q	2	0	7	SD	Да/Yes	62
D1	5p8q9q10q	2	1	86	PR	Да/Yes	19
E1	3q16p18q	2	2	-66	PD	Да/Yes	47
K1	7q8q	2	1	75	PR	Да/Yes	28
K2	8q12p16p	2	0	0	SD	Да/Yes	105
K7	3q6p8q9q13q	2	1	80	PR	Да/Yes	12
L1	5p8q10p	2	3	28	SD	Да/Yes	10
R1	5p7q9p10p	3	2	21	SD	Да/Yes	12
S1	5p7q16p18q19p	2	2	45	SD	Да/Yes	11
S2	5p6p8q9p10p18q19p	2	1	-5	SD	Да/Yes	20
S3	5p6p7q8q13q19p	3	3	-35	PD	Да/Yes	17
Ch1	5p7q10q8q16p	2	0	42	SD	Да/Yes	23
Ch3	5p8q16p19p	3	3	60	PR	Да/Yes	21
Yu1	6p8q13q	2	3	59	PR	Да/Yes	43
D3	5p8q	2	1	35	SD	Нет/No	24
J1	8q16p	4	0	75	PR	Нет/No	115
J2	8q16p19p	2	1	0	SD	Нет/No	26
K6	3q8q	2	1	36	SD	Нет/No	12
L2	5p8q	2	0	58	PR	Нет/No	56
L3	8q13q16p	2	0	60	PR	Нет/No	30
M4	3q8q	2	0	76	PR	Нет/No	48
N1	6p7q8q10p10q16p	2	2	57	PR	Нет/No	32
P1	6p7q8q9p	4	1	67	PR	Нет/No	63
P3	3q8q	2	1	65	PR	Нет/No	13
P2	6p8q18q	2	0	55	PR	Нет/No	31
S7	8q10p	2	1	55	PR	Нет/No	96
S10	5p6p8q10p	2	0	67	PR	Нет/No	12
Ch2	5p7q8q10p16p	2	0	49	SD	Нет/No	41
Sh1	3q7q18q	2	0	71	PR	Нет/No	89

Примечание: PR – частичная регрессия, SD – стабилизация, PD – прогрессирование; все пациентки имели люминальный В молекулярный подтип РМЖ. Люминальный В подтип определялся как позитивный по ER и PR статусу и Ki67 > 30 %. ER+ экспрессия эстрогеновых рецепторов больше 0, PR+ экспрессия прогестероновых рецепторов больше 0. HER2 тестировали в соответствии с рекомендациями American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists Guideline 2007 Recommendation [6].

Note: PR – partial response, SD – stable disease, PD – progressive disease; All patients had a luminal B subtype. Luminal B subtype was determined when positive ER and PR status and Ki67 > 30 % were observed. ER+ expression of estrogen receptors more than 0, PR+ expression of progesterone receptors more than 0. HER2 testing is performed in accordance with American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists Guideline 2007 Recommendation [6].

Таблица 2/Table 2

Гены WNT-сигналинга: их локализация, наличие высокой разности в частоте CNA в одной из групп с метастазами или без метастазов и функция в WNT-сигналинге

WNT-signaling genes: their localization, presence of a big difference in CNA frequency in one of the groups with or without metastases and function in WNT-signaling

Гены/ Genes	Локализация/ Cytoband	Наличие метастазов/ Yes metastasis	Отсутствие метастазов/ No metastasis	Функция/Function
<i>GSK3B</i>	3q13.33	Del 13%	Amp 33%	Один из ключевых негативных регуляторов канонического WNT-пути/ One of the key negative regulators of canonical WNT-pathway
<i>APC</i>	5q22.2	Amp 20%	Del 33%	Негативный регулятор канонического WNT-пути/ Negative regulator of canonical WNT-pathway
<i>PPP2CA</i>	5q31.1	Amp 20%	Del 20%	Позитивный регулятор канонического WNT-пути/ Positive regulator of WNT-pathway
<i>SKP1</i>	5q31.1	Amp 20%	Del 20%	Участвует в трансдукции сигнала WNT-пути, активатор/ Participates in WNT-pathway signal transduction, activator
<i>TCF7</i>	5q31.1	Amp 20%	Del 20%	Негативный регулятор канонического WNT-пути/ Negative regulator of apoptosis through WNT-pathway
<i>WNT8A</i>	5q31.2	Amp 20%	Del 20%	Активатор WNT-пути/WNT-pathway activator
<i>MAPK9</i>	5q35.3	Amp 20%	Del 0%	Участвует в трансдукции сигнала WNT-пути, активатор/ Participates in WNT-pathway signal transduction, activator
<i>CSNK2B</i>	6p21.33	Del 0%	Amp 20%	Активатор TP53/Activator of TP53
<i>PPARD</i>	6p21.31	Del 0%	Amp 20%	Позитивный регулятор канонического WNT-пути/ Positive regulator of WNT-pathway
<i>PPP2R5D</i>	6p21.1	Amp 0%	Del 27%	Позитивный регулятор канонического WNT-пути/ Positive regulator of WNT-pathway
<i>CCND3</i>	6p21.1	Amp 0%	Del 27%	Активация пролиферации через WNT-путь/ Activation of proliferation via WNT-pathway
<i>FZD9</i>	7q11.23	Amp 20%	Del 0%	Активатор WNT-пути/WNT-pathway activator
<i>CUL1</i>	7q36.1	Amp 20%	Del 0%	Позитивный регулятор канонического WNT-пути/ Positive regulator of WNT-pathway
<i>FRAT1</i>	10q24.1	Del 27%	Amp 7%	Позитивный регулятор канонического WNT-пути/ Positive regulator of WNT-pathway
<i>FRAT2</i>	10q24.1	Del 27%	Amp 7%	Позитивный регулятор канонического WNT-пути/ Positive regulator of WNT-pathway
<i>SFRP5</i>	10q24.2	Del 27%	Amp 0%	Негативный регулятор канонического WNT-пути/ Negative regulator of canonical WNT-pathway
<i>WNT8B</i>	10q24.31	Del 27%	Amp 7%	Активатор WNT-пути/WNT-pathway activator
<i>BTRC</i>	10q24.32	Del 27%	Amp 7%	Негативный регулятор канонического WNT-пути/ Negative regulator of canonical WNT-pathway
<i>TCF7L2</i>	10q25.2-q25.3	Del 27%	Amp 0%	Негативный регулятор канонического WNT-пути/ Negative regulator of canonical WNT-pathway
<i>CCND1</i>	11q13.3	Amp 33% Del 7%	Del 0%	Активация пролиферации через WNT-путь/ Activation of proliferation via WNT-pathway
<i>CHP1</i>	15q15.1	Amp 7%	Del 33%	Ингибитор NFAT неканонического WNT-пути/ NFAT inhibitor of noncanonical WNT-pathway
<i>PLCB2</i>	15q15.1	Amp 7%	Del 33%	Активатор WNT-пути/WNT-pathway activator
<i>CSNK2A2</i>	16q21	Del 27%	Amp 7%	Активатор TP53/Activator of TP53
<i>PRKCB</i>	16p12.2-p12.1	Amp 20% Del 7%	Del 0%	Активатор WNT-пути/WNT-pathway activator
<i>FZD2</i>	17q21.31	Amp 27%	Del 27%	Активатор WNT-пути/WNT-pathway activator
<i>WNT3</i>	17q21.31-q21.32	Amp 27%	Del 20%	Активатор WNT-пути/WNT-pathway activator
<i>WNT9B</i>	17q21.32	Amp 27%	Del 20%	Активатор WNT-пути/WNT-pathway activator

WNT2B 1p13.2, VANGL1 1p13.1, DVL1 1p36.33, CACYBP 1q25.1, JUN 1p32.1, WNT4 1p36.12, PPP2R5A 1q32.3, PRKACB 1p31.1, CTNBP1, 1p36.22, VANGL2 1q23.2, WNT9A 1q42.13, WNT3A 1q42.13, PPP3R1 2p14, WNT6 2q35, FZD5 2q33.3, WNT10A 2q35, FZD7 2q33.1, TCF7L1 2p11.2, ROCK2 2p25.1, CTNNB1 3p22.1, PRICKLE2 3p14.1, DVL3 3q27.1, RHOA 3p21.31, SENP2 3q27.2, WNT5A 3p14.3, WNT7A 3p25.1, RUVBL1 3q21.3, TBL1XR1 3q26.32, CTBP1 4p16.3, DKK2 4q25, LEF1 4q25, PPP3CA 4q24, MAPK10 4q21.3, SFRP2 4q31.3, CXXC4 4q24, CAMK2D 4q26, CSNK1A1 5q32, CAMK2A 5q32, FBXW1 5q35.1, NKD2 5p15.33, DAAM2 6p21.2, MAP3K7 6q15, WNT16 7q31.31, RAC1 7p22.1, SFRP4 7p14.1, WNT2 7q31.2, CAMK2B 7p13, FZD1 7q21.13, DKK4 8p11.21, MYC 8q24.21, PPP2CB 8p12, PPP3CC 8p21.3, SFRP1 8p11.21, SOX17 8q11.23, FZD3 8p21.1, FZD6 8q22.3, PPP3R2 9q31.1, PRKACG 9q21.11, CER1 9p22.3, CTBP2 10q26.13, PPP3CB 10q22.2, MAPK8 10q11.22, CAMK2G 10q22.2, FZD8 10p11.21, LRP5 11q13.2, MMP7 11q22.2, PLCB3 11q13.1, PPP2R1B 11q23.1, PPP2R5B 11q13.1, CCND1 11q13.3, WNT11 11q13.5, FOSL1 11q13.1, FZD4 11q14.2, WIF1 12q14.3, FZD10 12q24.33, PRICKLE1 12q12, LRP6 12p13.2, SKP1P2 12p12.3, WNT1 12q13.12, WNT10B 12q13.12, WNT5B 12p13.33, CCND2 12p13.32, CSNK1A1L 13q13.3, DAAM1 14q23.1, NFATC4 14q12, PPP2R5C 14q32.31, PPP2R5E 14q23.2, PSEN1 14q24.2, CHD8 14q11.2, SMAD3 15q22.33, NFAT5 16q22.1, CREBBP 16p13.3, NFATC3 16q22.1, CHP2 16p12.2, SIAH1 16q12.1, AXIN1 16p13.3, NKD1 16q12.1, DVL2 17p13.1, NLK 17q11.2, PRKCA 17q24.2, RAC3 17q25.3, TP53 17p13.1, AXIN2 17q24.1, SMAD2 18q21.1, SMAD4, 18q21.2, NFATC1 18q23, ROCK1 18q11.1, APC2 19p13.3, PPP2R1A 19q13.41, PRKACA 19p13.1, PRKCG 19q13.42, CSNK2A1 20p13, PLCB1 20p12.3, NFATC2 20q13.2, PLCB4 20p12.3-p12.2, CSNK1E 22q13.1, EP300 22q13.2, RAC2 22q13.1, WNT7B 22q13.31, RBX1 22q13.2, PORCN Xp11.23, PRKX Xp22.33, TBLIX Xp22.31-p22.2, TBL1Y Yp11.2

Примечание: гены, для которых не была показана высокая разница в частотах CNA, собраны внизу таблицы. Зеленым цветом выделены негативные регуляторы WNT-pathway, красным цветом – позитивные регуляторы WNT-pathway, лиловым цветом – активаторы WNT-pathway и темно-синим – нейтральные факторы.

Note: genes for which a big difference in CNA frequencies was not shown are presented at the bottom of the table. Negative WNT-pathway regulators are highlighted in green, WNT-pathway positive regulators are red, WNT-pathway activators are lilac, and WNT-pathway neutral factors are dark blue.

Sh1) chromosomal regions were detected with the highest difference in the frequencies of deletions and amplifications. Graphically, this is shown in Figure 1, which superimposes deletion and amplification frequencies of these two groups of patients. 21 cytobands (3q13.33, 5q22.2, 5q31.1, 5q31.2, 5q35.3, 6p21.33, 6p21.31, 6p21.1, 7q11.23, 7q36.1, 10q24.1, 10q24.2, 10q24.31, 10q24.32, 10q25.2, 11q13.3, 15q15.1, 16q21, 16p12.2-p12.1, 17q21.31, 17q21.32) were identified with the greatest difference in the frequency of deletions and amplifications between groups of patients with metastases and without metastases (fig. 1, tabl. 2). The first top 3 genes were taken based on the difference in CNA frequencies between the groups with metastasis and without metastasis. For amplifications these were 33, 27 and 29%; for deletions – 27, 33 and 40 %.

Table 2 also lists all 150 genes of human WNT signaling in accordance with http://software.broadinstitute.org/gsea/msigdb/cards/KEGG_WNT_SIGNALING_PATHWAY and their chromosome localization, as well as genes with the top 3 differences in deletion and/or amplification frequencies between groups of patients with metastases and without metastases, and the function of these genes.

In total, in the chromosomal regions with the largest difference in deletion and amplification frequencies, 27 WNT signaling genes were localized: *GSK3B, APC, PPP2CA, SKP1, TCF7, WNT8A, MAPK9, CSNK2B, PPARD, PPP2R5D, CCND3, FZD9, CUL1, FRAT1, FRAT2, SFRP5, WNT8B, BTRC, TCF7L2, CCND1, CHP1, PLCB2, CSNK2A2, PRKCB, FZD2, WNT3, WNT9B* (tabl. 2).

We divided all identified WNT-signaling genes into three large groups. The first group included activators of WNT-signaling (lilac); it was composed of receptor genes of the WNT signal pathway, receptor ligands,

secondary messengers and transcription factors that play a key role in the work of the WNT-pathway. Also, this group included two cyclins D3 and D1, which trigger the cell cycle via WNT-signaling and are the endpoint of the WNT signaling pathway. In total, this group included 12 genes: *SKP1, WNT8A, MAPK9, CCND3, FZD9, WNT8B, CCND1, PLCB2, PRKCB, FZD2, WNT3, WNT9B*. Activation of WNT signaling should be substantially facilitated by amplification of chromosomal regions of localization of these genes and substantially hindered by deletions. The second group of genes included genes whose products, according to OMIM and GeneCards, negatively regulate the WNT signaling pathway (green). This group included 7 genes: *GSK3B, APC, CSNK2B, SFRP5, BTRC, TCF7L2, CSNK2A2*. Activation of WNT signaling should be significantly facilitated by deletions of chromosomal regions of these genes localization and significantly hindered by their amplifications. The third group was composed of positive regulators of canonical and noncanonical WNT signaling pathways (*PPP2CA, TCF7, PPARD, PPP2R5D, CUL1, CHP1, FRAT1, FRAT2*). It included some transcription factors, secondary messengers, kinases. They can exert a noticeable but not as critical effect as activators on the WNT-signaling pathway, while the activity of the products of these genes can either be suppressed by other factors, or they belong to the noncanonical pathway, or they regulate the manifestations of WNT signaling little associated with proliferation, migration, adhesion and stemming, i.e. those mechanisms that are necessary for metastasis. CNA regions of localization of these genes were excluded from further analysis due to the high pleiotropy of mutual influences and low significance for metastasis mechanisms. *CHP1* belong to the noncanonical WNT-signaling pathway.

After such preliminary bioinformatics selection of WNT-signaling genes, the relationship with metastasis was assessed only for the first (lilac) and second (green) gene groups (tabl. 2). In accordance with the working hypothesis, metastasis should be facilitated by amplification of gene loci of the first group and deletion of loci of genes of the second group, while inhibition of metastasis should be done by deletion of gene loci of the first group and amplification of loci of genes of the second group. In accordance with this formulation, a point system was developed. One point was added to the total score when amplifying WNT-signaling activators or deletion of negative regulators, and vice versa, when deleting WNT-signaling activators or amplification of negative regulators, one point was taken from the total amount. The distribution of amplifications and deletions at all loci of the genes of the first and second groups and the total score for all 30 patients studied are presented in Fig. 2. As seen in Fig. 2, 93 % (14/15) of patients with metastases have a total score greater than 0, while 93 % (14/15) of patients without metastases have a total score of zero or less than zero. The differences between the groups are statistically significant according to the two-sided Fisher test with a high level of confidence probability ($p=0.000003$) and the log-rank test ($p=0.00004$) when assessing metastasis-free survival by the Kaplan-Mayer method (fig. 3).

Thus, our data indicate that CNA genes of WNT-signaling are associated with metastasis and the prognostic value of CNA genes of WNT-signaling in residual tumors is highly predictive, which confirms our working hypothesis that CNA genes of WNT signaling are involved in the implementation of the metastasis process. Amplifications of stemness genes give tumor cells the ability to do stem transition [1], amplifications of activators *SKP1*, *WNT8A*, *MAPK9*, *CCND3*, *FZD9*,

WNT8B, *CCND1*, *PLCB2*, *PRKCB*, *FZD2*, *WNT3*, *WNT9B* and / or deletions of negative regulators of WNT signaling genes: *GSK3B*, *APC*, *CSNK2B*, *SFRP5*, *BTRC*, *TCF7L2*, *CSNK2A2*, contribute to the release of tumor cells from replicative aging and dormant state, and activation of stem transition.

Discussion

The association of the combination of stemness gene amplifications and WNT-signaling genes in residual tumors with hematogenous metastasis was studied. Based on the microarray study and using bioinformatics methods, the most important WNT-signaling genes were identified for 12 WNT signaling activator genes and 7 negative regulator genes, amplification and deletion (respectively) of which were associated with metastasis (according to the Fisher's two-sided criterion, $p=0.000003$ and the log-rank test, $p=0.00004$, when evaluated by the Kaplan-Mayer method).

According to modern recommendations, adjuvant chemotherapy (ACH) is given to patients, who have not previously received 6–8 cycles of NACH. Current methods for predicting the risk of relapse (in particular, the Oncotype DX platform), which show the need for ACT are often inefficient, and even if they are used, the majority of patients (more than 40–50 % of patients) receive postoperative chemotherapy [8], while according to our data, only 25 % of patients need adjuvant chemotherapy. These are patients with 2 or more amplifications of stemness genes and a positive total CNA score of WNT signaling genes. Our new prognostic factor is currently one of the most highly effective for breast cancer.

Some of the WNT signaling genes that we have identified are considered in the modern literature in terms of metastasis mechanisms. Gene *FZD9* gene

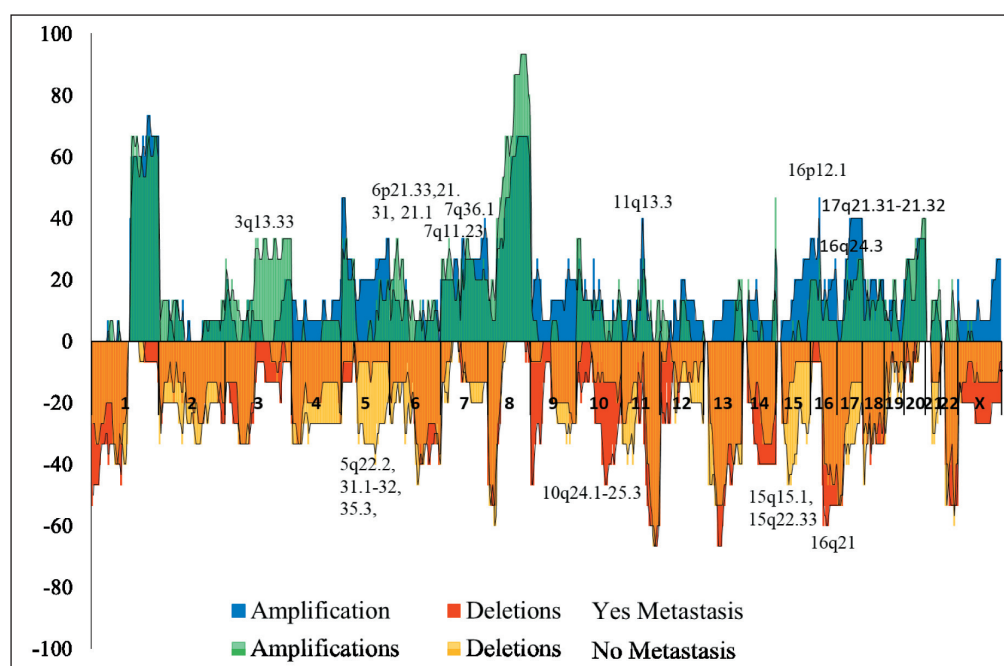


Рис. 1. Частота опухолевых CNA (амплификации и делеции) у пациенток с метастазами и без них
Fig. 1 Tumor CNA (amplifications and deletions) frequencies in patients with and without metastases

	Patients#	Positive regulation score	WNT-pathway activators (ligands, receptors, messengers)										Negative regulation score	Negative regulator of WNT-pathway										Σ score
			SKP1, PPP2CA, TCF7	WNT8A	MAPK9	CCND3, PPP2R5D	FZD9	WNT8B	CCND1	PLCB2	PRKCB	FZD2, WNT3		WNT3, WNT9B	GSK3B	APC	CSNK2B	SFRP5	BTIRC	TCF7L2	CSNK2A2			
Yes metastasis	B1	1	5q31.1	5q31.2	5q35.3	6p21.1	7q11.23	10q24.31	11q13.3	15q15.1	16p12.1	17q21.31	17q21.32	3q13.33	5q22.2	6p21.33	10q24.32	10q25.2	16q21	4				
	G1	4	Gain	Gain	Gain	n	gain	Loss	Gain	n	n	Gain	n	n	n	n	Loss	Loss	n	7				
	D1	2	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	1	n	n	n	n	n	3				
	E1	0	n	n	n	n	Gain	n	n	n	Gain	n	n	1	n	n	n	n	n	1				
	K1	3	n	n	n	n	Gain	n	n	n	n	Gain	Gain	1	n	n	n	n	n	4				
	K2	0	n	n	n	n	n	n	n	Loss	Gain	n	n	1	n	n	n	n	n	1				
	K7	6	Gain	Gain	Gain	n	n	n	n	n	n	Gain	Gain	-1	n	n	n	n	n	5				
	L1	-1	n	n	Loss	Loss	n	Loss	n	n	n	Gain	Gain	5	n	Loss	Loss	Loss	4					
	R1	-2	n	n	Loss	Loss	n	Gain	n	n	Loss	Loss	Loss	3	Loss	Loss	n	n	1					
	S1	7	Gain	Gain	Gain	n	Gain	n	Gain	Gain	Gain	n	n	-2	Gain	n	n	n	n	5				
No metastasis	S2	-6	Loss	Loss	Loss	Gain	Gain	n	n	Loss	Loss	Loss	2	n	Loss	Gain	Loss	Loss	n	-4				
	S3	3	n	n	n	Gain	Gain	Loss	n	n	n	Gain	Gain	4	n	n	Loss	Loss	Loss	7				
	Ch1	8	Gain	Gain	Gain	n	Gain	n	Gain	n	Gain	Gain	-2	n	Gain	n	Gain	Loss	Gain	6				
	Ch3	3	n	n	Gain	n	Gain	n	Gain	n	Gain	n	n	1	n	n	n	n	Loss	4				
	Yul	-3	n	n	n	n	Loss	Loss	n	n	n	Loss	Gain	4	Loss	n	Loss	Loss	n	1				
	D3	-3	Loss	Loss	Gain	Loss	n	n	Gain	n	n	Loss	Loss	2	n	Loss	n	n	n	-1				
	J1	0	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	0	n	n	n	n	n	0				
	J2	3	n	n	n	n	n	n	Gain	n	Gain	Gain	n	1	n	n	n	n	n	4				
	K6	-2	n	n	Loss	Loss	n	n	Loss	n	Loss	Loss	Gain	1	Loss	Loss	n	n	Gain	-1				
	L2	-1	n	n	Loss	Loss	n	n	n	n	n	n	n	0	n	n	n	n	n	-1				
Yes metastasis	L3	-1	n	n	n	n	n	n	n	Loss	n	n	n	0	Gain	n	n	n	n	Loss	-1			
	M4	2	Gain	Gain	Gain	n	Loss	n	Gain	n	n	n	-2	Gain	n	n	n	n	Gain	0				
	N1	5	n	n	n	Gain	Gain	Gain	n	Loss	Gain	Gain	-6	Gain	n	Gain	Gain	Gain	Gain	-1				
	P1	-1	Loss	Loss	Loss	Gain	Gain	n	n	Loss	n	Gain	-1	Gain	Gain	n	n	n	n	-2				
	P3	-3	n	n	Loss	Loss	n	n	n	n	n	Loss	Gain	-2	Gain	n	n	n	n	-5				
	P2	-2	n	n	Loss	Loss	n	n	n	n	n	n	Gain	0	n	n	n	n	n	-2				
	S7	-2	Loss	Loss	n	n	n	n	Loss	n	n	n	1	n	n	n	n	n	Loss	-1				
	S10	-5	n	n	Loss	Loss	n	Loss	n	Loss	n	Loss	Loss	3	n	Loss	Loss	Loss	n	-2				
	Ch2	-4	n	n	n	n	n	Loss	n	Loss	n	Loss	Loss	2	n	n	Loss	Loss	Loss	-1				
	Sh1	-5	Loss	Loss	Loss	n	Gain	n	n	Loss	n	Loss	Loss	2	n	n	n	n	Loss	-3				

Рис. 2. Распределение амплификаций (Gain) и делеций (Loss) по всем локусам генов активаторов WNT (red) и негативных регуляторов (green) и суммарный балл по 30 обследованным больным. Примечание: серые ячейки с суммарным баллом >0; n – нормальное состояние локуса

Fig. 2. Distribution of amplifications (Gain) and deletions (Loss) among all loci of WNT activator genes (red) and negative regulators (green) and the total score for 30 examined patients. Note: gray cell with a total score> 0; n is the normal state of the locus

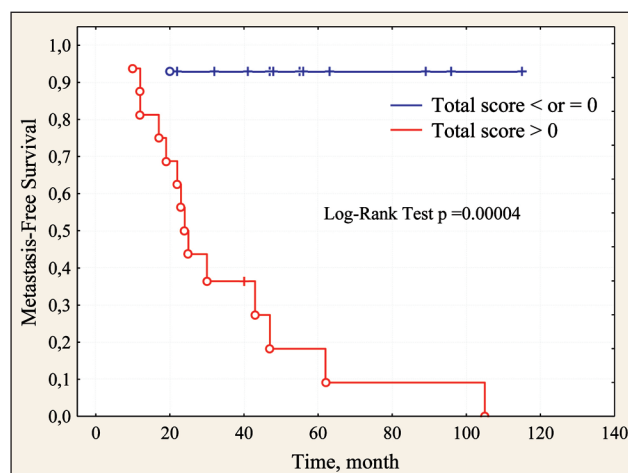


Рис. 3. Безметастатическая выживаемость больных раком молочной железы с 2 и более амплификациями генов стволовости в зависимости от суммарного балла по CNA генов WNT-pathway Fig. 3. Metastasis-free survival of patients with breast cancer with 2 or more amplifications of stemness genes depending on the total score on the CNA of the WNT pathway genes

is activated after exposure of breast tumor cells to chemotherapy and is involved in the induction of the stem phenotype in these cells [9]. Amplification of gene *CCND1* gene is associated with a poor outcome in breast cancer [10]. Knockdown of *CCND1* inhibits mammosphere formation of breast cancer cells [11]. MiR-4779 inhibits *CCND3* in colon cancer cells, causing cell cycle arrest and apoptosis [12]. Inhibition of *SKP1* leads to mitotic arrest of lung cancer cells [13]. Inhibitors of other activators of WNT signaling genes are being developed: *PPP2CA* [14], *WNT3* [15] and others. For *FZD2*, on the contrary, it was shown that its hyperexpression was accompanied by suppression of metastasis of salivary adenoid cystic carcinomas [16]. Previous studies have shown that during EMT and metastasis, Wnt5a/b ligand and/or its cognate receptor Fzd2 are generally overexpressed in cell lines derived from late-stage mesenchymal-type cancers, such as melanoma and cancers of the, lung, colon, liver, and the gastric tract [17–19]. The *WNT8A* gene is associated with an unfavorable prognosis in patients with breast cancer treated with NAC [20].

As for negative regulators, there is much less information. The SNP of *BTRC* rs61873997 G>A gene

was associated with the prognosis for skin cancer, and the presence of the wild allele had an unfavorable effect with HR=0.61 (0.46–0.80), $p=0.00031$ [21]. Suppression of negative WNT regulators does not always lead to inhibition of metastasis. In some cases, WNT activation inhibits metastasis. Thus, it was shown that pharmacological inhibition of *GSK3B* activity stabilized the *TRAF6* protein, promoted *CTNNB1* degradation, and effectively suppressed EMT and CRC metastasis [22]. On the other hand, tamoxifen treatment of breast cancer cells increases the phosphorylation of *GSK3B* and, therefore, its activity [23]. Low expression of *SFRP5* in human pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC) was a poor prognostic factor for human PDAC [24]. Epigenetic inactivation of the *SFRP5* gene in human breast cancer is associated with unfavorable prognosis [25]. The *APC* gene is a known tumor suppressor gene and in breast cancer its deletion is associated with resistance to doxorubicin and cisplatin [26, 27].

The indirect effect of negative regulators should also not be neglected. It is well known that *TP53* and *CDKN2A* genes are considered the main barrier to efficient conversion of normal cells into induced pluripotent stem cells. They inhibit spontaneous transformation of differentiated cells into pluripotent ones [28]. Some negative regulators are able to activate *TP53* [3]. Apparently, deletions of these genes lead to a decrease in TP53 activity and, as a result, thresholds for transition of differentiated tumor cells to tumor stem cells are reduced. This may be one of the explanations of the effect observed by Milanovic [2] which consists in a sharp increase in the number of tumor stem cells upon activation of WNT signaling after cancellation of chemo and hormonal therapy.

Conclusion

The results of the study confirm the working hypothesis that CNAs of WNT signaling genes are involved in the metastatic process. Nineteen WNT signaling genes were identified. Copy number aberrations of these genes in combination with stemness gene amplifications in residual tumors were found to be associated with metastasis. A new highly effective prognostic factor for breast cancer was developed.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Litviakov N., Ibragimova M., Tsyganov M., Kazantseva P., Deryusheva I., Pevzner A., Doroshenko A., Garbukov E., Tarabanovskaya N., Slonimskaya E. Amplifications of stemness genes and the capacity of breast tumors for metastasis. *Oncotarget*. 2020; 11: 1988–2001. doi: 10.18632/oncotarget.27608.
2. Milanovic M., Fan D.N.Y., Belenki D., Däbritz J.H.M., Zhao Z., Yu Y., Dörr J.R., Dimitrova L., Lenze D., Monteiro Barbosa I.A., Mendoza-Parra M.A., Kanashova T., Metzner M., Pardon K., Reimann M., Trumpp A., Dörken B., Zuber J., Gronemeyer H., Hummel M., Dittmar G., Lee S., Schmitt C.A. Senescence-associated reprogramming promotes cancer stemness. *Nature*. 2018 Jan 4; 553(7686): 96–100. doi: 10.1038/nature25167.
3. Zhan T., Rindtorff N., Boutros M. Wnt signaling in cancer. *Oncogene*. 2017 Mar; 36(11): 1461–1473. doi: 10.1038/ncr.2016.304.
4. Acebron S.P., Karaulanov E., Berger B.S., Huang Y.-L., Niehrs C. Mitotic wnt signaling promotes protein stabilization and regulates cell size. *Molecular cell*. 2014; 54(4): 663–74. doi.org/10.1016/j.molcel.2014.04.014

5. Kaveri D., Kastner P., Dembélé D., Nerlov C., Chan S., Kirstetter P. β -Catenin activation synergizes with Pten loss and Myc overexpression in Notch-independent T-ALL. *Blood*. 2013 Aug 1; 122(5): 694–704. doi: 10.1182/blood-2012-12-471904.
6. Wolff A.C., Hammond M.E., Hicks D.G., Dowsett M., McShane L.M., Allison K.H., Allred D.C., Bartlett J.M., Bilous M., Fitzgibbons P., Hanna W., Jenkins R.B., Mangu P.B., Paik S., Perez E.A., Press M.F., Spears P.A., Vance G.H., Viale G., Hayes D.F.; American Society of Clinical Oncology; College of American Pathologists. Recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists clinical practice guideline update. *J Clin Oncol*. 2013 Nov 1; 31(31): 3997–4013. doi: 10.1200/JCO.2013.50.9984.
7. Hayward J.L., Carbone P.P., Heusen J.C., Kumaoka S., Segaloff A., Rubens R.D. Assessment of response to therapy in advanced breast cancer. *Br J Cancer*. 1977 Mar; 35(3): 292–8. doi: 10.1038/bjc.1977.42.
8. Dodson A., Okonji D., Assersohn L., Rigg A., Sheri A., Turner N., Smith I., Parton M., Dowsett M. Discordance between oncotype DX

- recurrence score and RSPC for predicting residual risk of recurrence in ER-positive breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment*. 2018; 168(1): 249–58. doi: 10.1007/s10549-017-4514-z.
9. Tudoran O., Soritau O., Balacescu L., Visan S., Barbos O., Cojoc-neanu-Petric R., Balacescu O., Berindan-Neagoe I. Regulation of stem cells-related signaling pathways in response to doxorubicin treatment in Hs578T triple-negative breast cancer cells. *Mol Cell Biochem*. 2015 Nov; 409(1–2): 163–76. doi: 10.1007/s11010-015-2522-z.
10. Roy P.G., Thompson A.M. Cyclin D1 and breast cancer. *Breast*. 2006 Dec; 15(6): 718–27. doi: 10.1016/j.breast.2006.02.005.
11. Adorno-Cruz V., Hoffmann A.D., Liu X., Dashzeveg N.K., Taftaf R., Wray B., Liu H. ITGA2 promotes expression of ACLY and CCND1 in enhancing breast cancer stemness and metastasis. *Genes & Diseases*. 2020. doi: 10.1016/j.gendis.2020.01.015.
12. Koo K.H., Kwon H. MicroRNA miR-4779 suppresses tumor growth by inducing apoptosis and cell cycle arrest through direct targeting of PAK2 and CCND3. *Cell Death Dis*. 2018; 9(2): 77. doi: 10.1038/s41419-017-0100-x.
13. Liu Y.Q., Wang X.L., Cheng X., Lu Y.Z., Wang G.Z., Li X.C., Zhang J., Wen Z.S., Huang Z.L., Gao Q.L., Yang L.N., Cheng Y.X., Tao S.C., Liu J., Zhou G.B. Skp1 in lung cancer: clinical significance and therapeutic efficacy of its small molecule inhibitors. *Oncotarget*. 2015; 6(33): 34953–67. doi: 10.18632/oncotarget.5547.
14. D'Arcy B.M., Swingle M.R., Papke C.M., Abney K.A., Bouska E.S., Prakash A., Honkanen R.E. The Antitumor Drug LB-100 Is a Catalytic Inhibitor of Protein Phosphatase 2A (PPP2CA) and 5 (PPP5C) Coordinating with the Active-Site Catalytic Metals in PPP5C. *Mol Cancer Ther*. 2019 Mar; 18(3): 556–566. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-17-1143.
15. Wu Y., Tran T., Dwabe S., Sarkissyan M., Kim J., Nava M., Clayton S., Pietras R., Farias-Eisner R., Vadgama J.V. A83-01 inhibits TGF- β -induced upregulation of Wnt3 and epithelial to mesenchymal transition in HER2-overexpressing breast cancer cells. *Breast Cancer Res Treat*. 2017 Jun; 163(3): 449–460. doi: 10.1007/s10549-017-4211-y.
16. Ding L.C., Huang X.Y., Zheng F.F., Xie J., She L., Feng Y., Su B.H., Zheng D.L., Lu Y.G. FZD2 inhibits the cell growth and migration of salivary adenoid cystic carcinomas. *Oncol Rep*. 2016; 35(2): 1006–12. doi: 10.3892/or.2015.3811.
17. Zhang Y., Du J., Zheng J., Liu J., Xu R., Shen T., Zhu Y., Chang J., Wang H., Zhang Z., Meng F., Wang Y., Chen Y., Xu Y., Gu L. EGF-reduced Wnt5a transcription induces epithelial-mesenchymal transition via Arf6-ERK signaling in gastric cancer cells. *Oncotarget*. 2015 Mar 30; 6(9): 7244–61. doi: 10.18632/oncotarget.3133.
18. Yamamoto H., Oue N., Sato A., Hasegawa Y., Yamamoto H., Matsubara A., Yasui W., Kikuchi A. Wnt5a signaling is involved in the aggressiveness of prostate cancer and expression of metalloproteinase. *Oncogene*. 2010 Apr 8; 29(14): 2036–46. doi: 10.1038/ncr.2009.496.
19. Gujral T.S., Chan M., Peshkin L., Sorger P.K., Kirschner M.W., MacBeath G. A noncanonical Frizzled2 pathway regulates epithelial-mesenchymal transition and metastasis. *Cell*. 2014; 159(4): 844–56. doi: 10.1016/j.cell.2014.10.032.
20. Wong A.L.A., Tan K.T., Sundar R., Ow S., Pang A., Yap H-L., Chan C-W., Hartman M., Lau P., Buhari S.A. Genomic predictors of neoadjuvant chemotherapy (NACT) response in breast cancer (BC). *J Clin Oncol*. 2017; 35: 15 suppl. doi: 10.1200/JCO.2017.35.15_suppl.e12122.
21. Shi Q., Liu H., Han P., Li C., Wang Y., Wu W., Zhu D., Amos C.I., Fang S., Lee J.E., Han J., Wei Q. Genetic Variants in WNT2B and BTRC Predict Melanoma Survival. *J Invest Dermatol*. 2017; 137(8): 1749–56. doi: 10.1016/j.jid.2017.04.023.
22. Wu H., Lu X.X., Wang J.R., Yang T.Y., Li X.M., He X.S., Li Y., Ye W.L., Wu Y., Gan W.J., Guo P.D., Li J.M. TRAF6 inhibits colorectal cancer metastasis through regulating selective autophagic CTNNB1/ β -catenin degradation and is targeted for GSK3B/GSK3 β -mediated phosphorylation and degradation. *Autophagy*. 2019 Sep; 15(9): 1506–22. doi: 10.1080/15548627.2019.1586250.
23. Chen I.C., Hsiao L.P., Huang I.W., Yu H.C., Yeh L.C., Lin C.H., Wei-Wu Chen T., Cheng A.L., Lu Y.S. Phosphatidylinositol-3 Kinase Inhibitors, Buparlisib and Alpelisib, Sensitize Estrogen Receptor-positive Breast Cancer Cells to Tamoxifen. *Sci Rep*. 2017; 7(1): 9842. doi: 10.1038/s41598-017-10555-z.
24. Zhou W., Tian M., Hu J., Li L., He Y. SFRP5 as a prognostic biomarker for patients with pancreatic ductal adenocarcinoma. *Int J Clin Exp Pathol*. 2016; 9(3): 3442–3447.
25. Veeck J., Geisler C., Noetzel E., Alkaya S., Hartmann A., Knüchel R., Dahl E. Epigenetic inactivation of the secreted frizzled-related protein-5 (SFRP5) gene in human breast cancer is associated with unfavorable prognosis. *Carcinogenesis*. 2008 May; 29(5): 991–8. doi: 10.1093/carcin/bgn076.
26. Van Klompenberg M.K., Leyden E., Arnason A.H., Zhang J.T., Stefanski C.D., Prosperi J.R. APC loss in breast cancer leads to doxorubicin resistance via STAT3 activation. *Oncotarget*. 2017; 8(61): 102868–79. doi: 10.18632/oncotarget.22263.
27. Stefanski C.D., Keffler K., McClintock S., Milac L., Prosperi J.R. APC loss affects DNA damage repair causing doxorubicin resistance in breast cancer cells. *Neoplasia*. 2019; 21(12): 1143–50. doi.org/10.1016/j.neo.2019.09.002.
28. Onder T.T., Kara N., Cherry A., Sinha A.U., Zhu N., Bernt K.M., Cahan P., Marcacci B.O., Unternaehrer J., Gupta P.B., Lander E.S., Armstrong S.A., Daley G.Q. Chromatin-modifying enzymes as modulators of reprogramming. *Nature*. 2012 Mar 4; 483(7391): 598–602. doi: 10.1038/nature10953.

Поступила/Received 03.02.2020
Принята в печать/Accepted 30.05.2020

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Литвяков Николай Васильевич, доктор биологических наук, заведующий лабораторией онковирусологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 2546-0181. AuthorID (РИНЦ): 183820. Researcher ID (WOS): C-3263-2012. ORCID: 0000-0002-0714-8927. Author ID (Scopus): 6506850698.

Ибрагимова Марина Константиновна, младший научный сотрудник лаборатории онковирусологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 2340-1628. Researcher ID (WOS): C-8609-2012. Author ID (Scopus): 57130579200. ORCID: 0000-0001-8815-2786.

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). SPIN-код: 1253-0240. Researcher ID (WOS): A-7212-2014. Author ID (Scopus): 55366377400. ORCID: 0000-0001-7419-4512.

Дерюшева Ирина Валерьевна, младший научный сотрудник лаборатории онковирусологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 5560-6131. AuthorID (РИНЦ): 881749. Researcher ID (WOS): Q-5607-2017. Author ID (Scopus): 57194535404. ORCID: 0000-0002-9568-3371.

Певзнер Алина Михайловна, лаборант-исследователь лаборатории онковирусологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 3847-352. Researcher ID (WOS): AAD-2192-2019. Author ID (Scopus): 57209511993. ORCID: 0000-0002-9657-9058

Гарбуков Евгений Юрьевич, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отделения общей онкологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 3630-2324. AuthorID (РИНЦ): 557911. Researcher ID (WOS): C-8299-2012. Author ID (Scopus): 6504255124. ORCID: 0000-0002-2917-8158.

Дорошенко Артем Васильевич, кандидат медицинских наук, научный сотрудник отделения общей онкологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 7874-7606. AuthorID (РИНЦ): 214813. Researcher ID (WOS): D-2348-2012. Author ID (Scopus): 7402005343. ORCID: 0000-0001-8846-9636.

Слонимская Елена Михайловна, доктор медицинских наук, профессор, Санкт-Петербургский государственный университет (г. Санкт-Петербург, Россия). SPIN-код: 7763-6417. Researcher ID (WOS): C-7405-2012. Author ID (Scopus): 6603658443. ORCID: 0000-0003-4382-5697.

ВКЛАД АВТОРОВ

Литвяков Николай Васильевич: анализ научной работы, написание статьи.

Ибрагимова Марина Константиновна: сбор и интерпретация данных.

Цыганов Матвей Михайлович: сбор и интерпретация данных.

Дерюшева Ирина Валерьевна: сбор и интерпретация данных, формирование базы данных.

Певзнер Алина Михайловна: сбор и интерпретация данных, формирование базы данных.

Гарбуков Евгений Юрьевич: подбор и обработка клинического материала.

Дорошенко Артем Васильевич: подбор и обработка клинического материала.

Слонимская Елена Михайловна: общее руководство, критическая редакция с внесением важного интеллектуального содержания.

Финансирование

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 18-29-09131 «Феномен «замирания» опухолей в процессе химиотерапии».

Конфликт интересов

Авторы объявляют, что у них нет конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Nikolai V. Litviakov, DSc, Head of Laboratory of Viral Oncology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). E-mail: nvlitv72@yandex.ru. Researcher ID (WOS): C-3263-2012. ORCID: 0000-0002-0714-8927. Author ID (Scopus): 6506850698

Marina K. Ibragimova, Junior Researcher, Laboratory of Viral Oncology, 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.

Matvey M. Tsyganov, PhD, Researcher, Laboratory of Viral Oncology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): A-7212-2014. Author ID (Scopus): 55366377400. ORCID: 0000-0001-7419-4512.

Irina V. Deriusheva, Junior Researcher, Laboratory of Viral Oncology, 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.

Alina M. Pevsner, Junior Researcher, Laboratory of Viral Oncology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): AAD-2192-2019. Author ID (Scopus): 57209511993. ORCID: 0000-0002-9657-9058.

Eugeny Yu. Garbukov, MD, PhD, Senior Researcher, Department of General Oncology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): C-8299-2012. Author ID (Scopus): 6504255124. ORCID: 0000-0002-2917-8158.

Artem V. Doroshenko, MD, PhD, Researcher, Department of General Oncology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): D-2348-2012. Author ID (Scopus): 7402005343. ORCID: 0000-0001-8846-9636.

Elena M. Slonimskaya, MD, DSc, Professor, Saint-Petersburg State University (Saint-Petersburg, Russia). Researcher ID (WOS): C-7405-2012. Author ID (Scopus): 6603658443. ORCID: 0000-0003-4382-5697.

AUTHOR CONTRIBUTION

Nikolai V. Litviakov: analysis of scientific work, writing the manuscript.

Marina K. Ibragimova: data collection and analysis.

Matvey M. Tsyganov: data collection and analysis.

Irina V. Deriusheva: data collection and analysis, database formation.

Alina M. Pevsner: data collection and analysis, database formation.

Eugeny Yu. Garbukov: selection of clinical material.

Artem V. Doroshenko: selection of clinical material.

Elena M. Slonimskaya: management, critical revision for the important intellectual content.

Funding

This study was carried out with the financial support of the grant of the Russian Foundation for Basic Research № 18-29-09131 «The phenomenon of tumor «fading» during chemotherapy».

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

Для цитирования: Волков А.Ю., Сафронова В.М., Неред С.Н., Любченко Л.Н., Стилиди И.С. Генетический полиморфизм забрюшинных миксоидных липосарком. Сибирский онкологический журнал. 2020; 19(3): 89–96. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-3-89-96.

For citation: Volkov A. Yu., Safronova V. M., Nered S. N., Lyubchenko L. N., Stilidi I. S. Genetic polymorphism of retroperitoneal myxoid liposarcoma. Siberian Journal of Oncology. 2020; 19(3): 89–96. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-3-89-96.

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ ЗАБРЮШИННЫХ МИКСОИДНЫХ ЛИПОСАРКОМ

А.Ю. Волков¹, В.М. Сафронова¹, С.Н. Неред¹, Л.Н. Любченко^{1,2},
И.С. Стилиди¹

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, г. Москва, Россия¹

Россия, 115478, г. Москва, Каширское шоссе, 23. E-mail: 79164577128@yandex.ru¹

ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)»,
г. Москва, Россия²

Россия, 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, 8/2²

Аннотация

Цель исследования – выявление новых молекулярно-генетических маркеров и терапевтических целей при забрюшинных миксоидных липосарcomaх. **Материал и методы.** В качестве материала для исследования были использованы образцы ДНК, выделенные из опухолевой ткани, полученной из срезов парафиновых блоков. Экстракция ДНК производилась с помощью набора «GeneRead DNA FFPE Kit (50)» (Qiagen). Молекулярно-генетическое исследование проводилось методом высокопроизводительного секвенирования (NGS) с использованием коммерческой панели для целевого обогащения генов GeneReader Actionable Insights Tumor Panel (GRTP – 101X) на платформе QCI Analyser version 1.1 (Qiagen), позволяющей анализировать 12 генов, вовлеченных в канцерогенез: KRAS, NRAS, KIT, BRAF, PDGFRA, ALK, EGFR, ERBB2, PIK3CA, ERBB3, ESR1, RAF1. **Результаты.** Таргетное секвенирование забрюшинных неорганных миксоидных липосарком продемонстрировало генетическую гетерогенность. Нами впервые выявлены мутации и полиморфные варианты в генах EGFR, PIK3CA, ALK, BRAF, ERBB2/3, ESR1, KIT, PDGFRA. **Заключение.** Данное исследование демонстрирует широкий спектр молекулярно-генетических перестроек при забрюшинных неорганных миксоидных липосарcomaх. Синонимичные мутации в генах EGFR (Q787Q) и PDGFRA (P567P) выявлены во всех случаях (100 %), миссенс-мутация в гене ERBB2 (P1170A) и синонимичные мутации в генах ALK (G845G) и BRAF (G643G) – в 75 %, а миссенс-мутация в гене PIK3CA (I391M) обнаружена в 25 % случаев. Представленные в работе полиморфизмы генов, вероятнее всего, вовлечены в канцерогенез ретроперитонеальных миксоидных липосарком. Необходимы дальнейшие исследования с включением большего количества пациентов и многофакторным анализом отдаленных результатов лечения.

Ключевые слова: липосаркома, миксоидные липосаркомы, неорганные забрюшинные опухоли, высокопроизводительное секвенирование (NGS), полиморфизм, мутации, EGFR, PDGFRA, ERBB2, BRAF.

GENETIC POLYMORPHISM OF RETROPERITONEAL MYXOID LIPOSARCOMA

A.Yu. Volkov¹, V.M. Safronova¹, S.N. Nered¹, L.N. Lyubchenko^{1,2}, I.S. Stilidi¹

N.N. Blokhin National Medical Research Centre of Oncology of the Health Ministry of Russia,
Moscow, Russia¹

23, Kashirskoye Shosse, 115478, Moscow, Russia. E-mail: 79164577128@yandex.ru¹

I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation
(Sechenov University), Moscow, Russia²

8/2, Trubetskaya str., 119991, Moscow, Russia²

Abstract

Objective: to detect new molecular genetic markers and therapeutic targets in retroperitoneal myxoid liposarcoma. **Material and Methods.** DNA samples isolated from tumor tissue and obtained from formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) slides were used. DNA was extracted using the GeneRead DNA FFPE Kit (50) (Qiagen). High-throughput next generation sequencing (NGS) using the GeneReader Actionable Insights Tumor Panel (GRTP – 101X) on the QCI Analyzer version 1.1 platform (Qiagen) was used for molecular genetic analysis of 12 genes involved in carcinogenesis: KRAS, NRAS, KIT, BRAF, PDGFRA, ALK, EGFR, ERBB2, PIK3CA, ERBB3, ESR1, RAF1. **Results.** Targeted sequencing of retroperitoneal extra-organ myxoid liposarcoma demonstrated genetic heterogeneity. Our study was the first to describe mutations and polymorphic variants in genes, such as EGFR, PIK3CA, ALK, BRAF, ERBB2/3, ESR1, KIT, PDGFRA in myxoid liposarcoma. **Conclusion.** This study demonstrated a wide range of molecular genetic rearrangements in retroperitoneal extra-organ myxoid liposarcoma. Synonymous mutations in the EGFR (Q787Q) and PDGFRA (P567P) genes were detected in all cases (100 %). Missense mutations in the ERBB2 gene (P1170A) and synonymous mutations in the ALK (G845G) and BRAF genes were identified in 75 % of cases. Missense mutation in the PIK3CA gene (I391M) was detected in 25 % of cases. The gene polymorphisms presented in this paper are most likely involved in the carcinogenesis of retroperitoneal myxoid liposarcoma. Further studies with larger patient groups and multivariate analysis of long-term treatment results are required.

Key words: liposarcoma, myxoid liposarcoma, extra-organ retroperitoneal tumor, next-generation sequencing (NGS), polymorphism, mutation, EGFR, PDGFRA, ERBB2, BRAF.

Введение

Саркомы мягких тканей относятся к редким опухолям, развивающимся из разных типов соединительной ткани. Ежегодно в России регистрируется около 3,5 тысяч новых случаев, что составляет менее 1 % от всех онкологических заболеваний [1]. В 10–15 % случаев саркомы мягких тканей расположены ретроперитонеально [2, 3]. Липосаркома является наиболее часто встречаемой забрюшинной мезенхимальной опухолью, на долю которой приходится более 50 % случаев от общего числа сарком [4].

Отдельным гистологическим типом представлены миксоидные липосаркомы, которые составляют 30–35 % от всех липосарком [5–7]. В 95 % случаев при этом гистологическом типе присутствует реципрокная транслокация хромосом 12 и 16 t(12;16)(q13;p11), выявление которой помогает дифференцировать данную опухоль от других гистологических типов липосарком [6–8]. Основным методом лечения забрюшинных неорганных липосарком является хирургический. У большинства пациентов после радикально выполненной операции возникают рецидивы, являющиеся причиной смерти [9–14]. При лечении распространенной или метастатической формы заболевания применяют антрациклины (доксорубин и эпирубин) и алкилирующий агент ифосфамид [14]. Несмотря на то, что по сравнению с другими гистотипами липосарком для миксоидных характерна высокая частота ответа на проводимую химиотерапию (48 % против 18 %, $p=0,012$) [15], отдаленные результаты лечения данной категории пациентов неудовлетворительны.

В настоящее время отсутствуют убедительные данные об эффективности таргетной терапии в лечении липосарком. Недавние исследования показали наличие определенных генетических перестроек в липосаркомах, одни из которых влияют на

прогноз, общую и безрецидивную выживаемость, а роль других не определена. По мере накопления данных выявленные изменения, предположительно, могут стать предикторами прогноза и новыми терапевтическими целями. В исследовании, проведенном в Китае, показаны мутации в гене PIK3CA при миксоидных липосаркомах, частота встречаемости которых составляет 11 % [16]. Аналогичная работа из США по генотипированию образцов миксоидных липосарком продемонстрировала мутации в генах cMET и PIK3CA [18]. Следующее исследование, проведенное в США, экспонирует не только наличие мутаций в гене PIK3CA в 18,3 % случаев миксоидных/круглоклеточных липосарком, но и значимую корреляцию с плохим прогнозом – у больных с PIK3-ассоциированными липосаркомами отмечены более низкие показатели общей выживаемости, чем у пациентов с диким типом гена PIK3CA в опухоли ($p=0,036$) [19]. База данных COSMIC (catalog of somatic mutations in cancer) демонстрирует молекулярно-генетическую гетерогенность миксоидных липосарком: мутации в генах Trp53 (7 %), cKIT (3 %), EGFR (2 %), KRAS (2 %) и др., клиническая значимость которых не оценена при забрюшинных неорганных липосаркомах.

С целью поиска новых молекулярно-генетических маркеров и терапевтических решений мы выполнили пилотное исследование с использованием высокопроизводительного секвенирования (NGS) образцов опухолевой ткани миксоидных липосарком. В работе представлены полученные результаты проведенного исследования и обзор мировой литературы по выявленным маркерам.

Материал и методы

В исследование были включены пациенты с забрюшинными неорганными миксоидными липосаркомами, которым выполнялось хирургическое

лечение в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России в 2011, 2012, 2015 и 2016 гг. После пересмотра морфологических образцов сертифицированным патоморфологом и подтверждения гистологического типа липосаркомы выделены зоны, содержащие наибольшее количество опухолевых клеток (не менее 40 %).

Следующим этапом с использованием микродиссектора был сделан срез толщиной 10 микрон с каждого образца опухолевой ткани, фиксированной в формалине и заключенной в парафин (FFPE). Из данного среза выделили ДНК с помощью набора «GeneRead DNA FFPE Kit (50)» (Qiagen) согласно инструкции.

Молекулярно-генетическое исследование проводилось методом высокопроизводительного секвенирования (NGS) с использованием коммерческой панели для целевого обогащения генов GeneReader Actionable Insights Tumor Panel (GRTP – 101X) на платформе QCI Analyser version 1.1 (Qiagen), позволяющей анализировать 12 генов, вовлеченных в канцерогенез: KRAS, NRAS, KIT, BRAF, PDGFRA, ALK, EGFR, ERBB2, PIK3CA, ERBB3, ESR1, RAF1. Дизайн используемой панели позволяет эффективно выявлять клинически значимые мутации и полиморфные варианты с глубиной покрытия 5 000 для каждого ампликона.

Технологические этапы секвенирования включали: выделение образцов ДНК, таргетное обогаще-

ние, клональную амплификацию, секвенирование, интерпретацию результатов. Библиотеки образцов ДНК нормализовали по концентрации с последующим пулированием. В результате секвенирования были получены прочтения с качеством выше Q25 для более чем 70 % исследованной ДНК. Программное обеспечение автоматически производило фильтрацию полученных фрагментов по качеству, тримминг адаптеров и картирование полученных фрагментов на референсный геном hg19.

Поиск информационных источников произведен в системах NCBI, включая PubMed, SNP database, ClinVar, Ensemble, COSMIC cancer database. Проанализированы данные ретроспективных и проспективных клинических исследований.

Результаты

В работе исследован послеоперационный материал (парафиновые блоки и гистологические стекла) 4 пациентов, оперированных по поводу забрюшинных миксоидных липосарком в 2011–16 г. Выполнено таргетное секвенирование с целью молекулярного профилирования. Нами впервые выявлены ранее не описанные в мировой литературе при миксоидных липосарcomaх мутации и полиморфные варианты в генах EGFR, PIK3CA, ALK, BRAF, ERBB2/3, ESR1, KIT, PDGFRA (рис. 2). Также для каждого образца сформирован валидный результат (рис. 1).

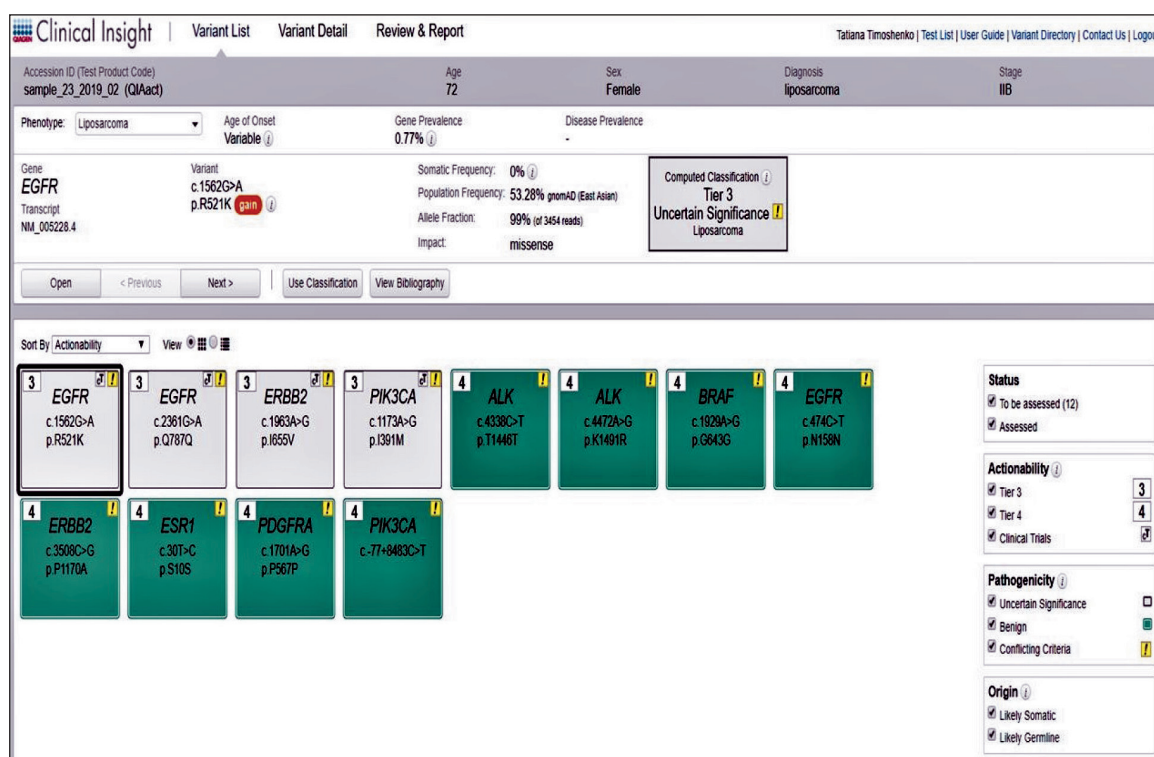


Рис. 1. Результат молекулярно-генетического тестирования методом высокопроизводительного секвенирования (NGS) опухолевой ткани пациента с забрюшинной миксоидной липосаркомой

Fig. 1. The result of molecular genetic testing by next-generation sequencing (NGS) of a tumor tissue of a patient with retroperitoneal myxoid liposarcoma

Ген	Вид мутации	Экзон	Номенклатура				MAF minor allele frequency	Highest population MAF	Частота встречаемости n=4
ERBB2(HER2)	миссенс	17	p.I655V	c.1963A>G	rs1136201	NM_004448.3:c.1963A>G (p.Ile655Val)	0.12 (G)	0.32	1/4 (25%)
	миссенс	27	p.P1170A	c.3508C>G	rs1058808	NM_004448.3:c.3508C>G (p.Pro1170Ala)	0.45 (G)	0.48	3/4 (75%)
PIK3CA	N/A	1	N/A	c.-77+8483C>T	N/A	N/A	N/A	N/A	1/4 (25%)
	миссенс	7	p.I391M	c.1173A>G	rs2230461	NM_006218.3(PIK3CA):c.1173A>G (p.Ile391Met)	0.09 (G)	0.29	1/4 (25%)
ALK	N/A	29	p.T1446T	c.4338C>G	N/A	N/A	N/A	N/A	1/4 (25%)
	миссенс	29	p.K1491R	c.4472A>G	rs1881420	NM_004304.4(ALK):c.4472A>G (p.Lys1491Arg)	0.42 (C)	0.49	2/4(50%)
	синонимичный вариант	15	p.G845G	c.2535T>C	rs2256740	NM_004304.4(ALK):c.2535T>C (p.Gly845=)	N/A	0.49	3/4 (75%)
	синонимичный вариант	18	p.T1012T	c.3036G>A	rs2293563	NM_004304.4(ALK):c.3036G>A (p.Thr1012=)	0.17 (T)	0.29	1/4 (25%)
	синонимичный вариант	16	p.G643G	c.1929A>G	rs9648696	NM_004333.5(BRAF):c.1929A>G (p.Gly643=)	0.35 (C)	0.39	3/4 (75%)
EGFR	синонимичный вариант	4	p.N158N	c.474C>T	rs2072454	NM_005228.4(EGFR):c.474C>T (p.Asn158=)	0.48 (T)	0.50	3/4 (75%)
	миссенс	13	p.R521K	c.1562G>A	rs11543848, rs2227983	NM_005228.4(EGFR):c.1562G>A (p.Arg521Lys)	0.29 (A)	0.50	3/4 (75%)
	синонимичный вариант	20	p.Q787Q	c.2361G>A	rs10251977, rs1050171	NM_005228.4(EGFR):c.2361G>A (p.Gln787=)	0.43 (A)	0.50	4/4(100%)
	N/A	16	p.H656H	c.1968C>A	N/A	N/A	N/A	N/A	1/4 (25%)
	N/A	18	N/A	c.2184+19G>A	N/A	N/A	N/A	N/A	1/4 (25%)
	синонимичный вариант	25	p.D994D	c.2982C>T	rs2293347	NM_005228.4(EGFR):c.2982C>T (p.Asp994=)	0.14 (T)	0.32	1/4 (25%)
ESR1	N/A	8	N/A	c.1369+1377T>G	N/A	N/A	N/A	N/A	1/4 (25%)
	N/A	3	p.S10S	c.30T>C	N/A	N/A	N/A	N/A	3/4 (75%)
PDGFRA	синонимичный вариант	12	p.P567P	c.1701A>G	rs1873778	NM_006206.5(PDGFR):c.1701A>G (p.Pro567=)	0.04 (A)	0.19	4/4(100%)
ERBB3	N/A	12	p.I449I	c.1347T>C	N/A	N/A	N/A	N/A	1/4 (25%)
	миссенс	27	p.S1119C	c.3355A>T	N/A	N/A	N/A	N/A	1/4 (25%)
KIT	N/A	17	N/A	c.2362-77G>A	N/A	N/A	N/A	N/A	1/4 (25%)

Рис. 2. Результаты молекулярно-генетического тестирования методом высокопроизводительного секвенирования (NGS) опухолевой ткани пациентов с забрюшинными миксоидными липосаркоммами

Fig.2. The results of molecular genetic testing by next-generation sequencing (NGS) of tumor tissue of patients with retroperitoneal myxoid liposarcoma

Обсуждение

Таргетное секвенирование забрюшинных неорганных миксоидных липосарком продемонстрировало генетическую гетерогенность. Синонимичные мутации в генах EGFR (Q787Q) и PDGFRA (P567P) выявлены во всех четырех случаях, другие молекулярно-генетические изменения определены с меньшей частотой. Полученные данные о полиморфизме каждого гена проанализированы с учетом опыта зарубежных исследователей, представленного в научных базах данных.

Ген EGFR (ENSG00000146648)

У пациентов с миксоидными липосаркоммами в структуре гена EGFR мы выявили мутации в 4, 13, 16, 18, 20 и 25 экзонах. EGFR – ген, кодирующий трансмембранный гликопротеин молекулярной массой 170 kD, обладающий тирозинкиназной активностью. EGFR (или HER1) относится к семейству рецепторов эпидермального фактора роста. Данное семейство включает эпидермальный фактор роста (EGFR или ERBB1), ERBB-2, ERBB-3 и ERBB-4. EGFR экспрессируется на поверхности как нормальных, так и трансформированных эпителиальных клеток и участвует в регуляции клеточного роста и дифференцировки. В ряде опухолей обнаруживаются аномальные рецепторы эпидермального фактора роста, что обусловлено наличием мутации в соответствующем гене. В клетках с

мутацией происходит активация сигнального пути EGFR, что, в свою очередь, инициирует процессы злокачественной трансформации в большинстве опухолей. Сигнальные пути контролируют процессы пролиферации, дифференцировки, апоптоза, ангиогенеза, инвазии и метастазирования [19].

В нашем исследовании в забрюшинных миксоидных липосаркоммах мы выявили синонимичную мутацию Q787Q (rs10251977, rs1050171) в 20 экзоне гена EGFR в 100 % случаев. В базе данных Национального центра биотехнологической информации США (NCBI) представлены исследовательские работы, демонстрирующие влияние rs1050171 на клиническое течение заболевания при другой нозологии. Ученые анонсировали клиническую значимость полиморфизма Q787Q в гене EGFR как фактора прогноза при плоскоклеточном раке легкого. При частоте выявляемости, равной 23,9 %, отмечено значимое отрицательное влияние на общую выживаемость. Группа пациентов с наличием полиморфизма Q787Q гена EGFR имела меньшую продолжительность жизни не только по сравнению с пациентами, имеющими дикий тип гена EGFR, но и с пациентами – носителями мутаций в экзонах 18, 19, 21 гена EGFR [21].

Следующая работа демонстрирует прогностическую и предиктивную роль EGFR(Q787Q) полиморфизма при терапии тирозинкиназными

ингибитором (Gefitinib) у пациентов с немелкоклеточным раком легкого после хирургического лечения. Пациенты с диким типом гена EGFR(GG) имели лучший прогноз, чем больные – носители аллелей GA или AA ($p=0,0653$) [22].

В нашем исследовании в забрюшинных миксоидных липосарcomaх в 25 % случаев выявлен синонимичный вариант мутации D994D (rs2293347) в 25 экзоне гена EGFR. Работа коллег из Китая свидетельствует о предиктивной роли полиморфизма D994D в гене EGFR при терапии тирозинкиназным ингибитором (Gefitinib) у пациентов с немелкоклеточным раком легкого. Пациенты с аллелью rs2293347A имели значительно более низкую частоту ответа на терапию тирозинкиназным ингибитором, чем пациенты с аллелями s2293347G (37,5 % против 71,2 %, $p=0,004$) [23].

В 75 % случаев нами выявлена миссенс-мутация R521K (rs11543848, rs2227983) в 13 экзоне гена EGFR. По данным литературы, полиморфизм R521K в гене EGFR может рассматриваться как предиктор ответа на терапию тирозинкиназным ингибитором (Cetuximab) и фактор благоприятного прогноза при колоректальном раке. Пациенты с генотипами G/A или A/A гена EGFR имеют значительно более высокую частоту ответа на лечение – 78,9 % против 55,6 % ($p=0,01$), более длительный период без прогрессирования – 16 мес против 8 мес ($p<0,01$) и общую выживаемость – 24 мес против 16 мес ($p<0,01$) [24].

Кроме того, у 3 пациентов мы выявили соматическую мутацию N158N (rs2072454) в 4 экзоне гена EGFR. Клиническая значимость мутации N158N в гене EGFR оценена при раке молочной железы в работе, представленной авторами из Ирландии. Пациенты, гомозиготные по аллелю (C) или имеющие гетерозиготный аллель (C/T) в гене EGFR(N158N), получавшие трастузумаб, имели более длительную общую выживаемость, чем носители аллеля (T) ($p=0,05$) [25]. Также исследование коллег из Иордании демонстрирует увеличение риска развития рака легкого при наличии у пациентов синонимичной мутации N158N в гене EGFR [26]. В исследовании авторов из Китая отражена взаимосвязь полиморфного варианта N158N в гене EGFR с увеличением риска развития рака желудка [27]. А исследовательская работа из США демонстрирует увеличение риска развития плоскоклеточного рака головы и шеи при наличии мутации N158N в гене EGFR [28].

Ген ERBB2 (ENSG00000141736)

При таргетном секвенировании забрюшинных неорганных миксоидных липосарком мы выявили мутации в 17 и 27 экзонах гена ERBB2, который входит в состав семейства тирозинкиназных рецепторов ERBB, состоящего из четырех функционально взаимосвязанных рецепторных молекул, которые играют важную роль в клеточной пролиферации, дифференцировке и апоптозе. Под

действием лигандов ERBB2 образует гетеродимеры с другими рецепторами данного семейства, приобретая мощный потенцирующий эффект на работу соответствующих сигнальных каскадов. Влияние ERBB2 может резко усиливаться при гиперэкспрессии гена. Суперэкспрессия ERBB2 повышает туморогенность клеток в культуре вследствие спонтанного фосфорилирования гетеродимеров, образуемых рецепторами, и включения соответствующих сигнальных каскадов, таких как MAPK и PI3K. При мутации в гене происходит активация сигнальных путей, инициирующих процессы злокачественной трансформации [29].

В 25 % случаев у пациентов с забрюшинными миксоидными липосарcomaми нами выявлена миссенс-мутация I655V (rs1136201) в 17 экзоне гена ERBB2. Анализируя значимость данной мутации, найдены многочисленные работы, в том числе метаанализы, демонстрирующие связь полиморфизма I655V гена ERBB2 с высоким риском развития рака молочной железы [30–34]. Также в 75 % случаев мы выявили миссенс-мутацию P1170A (rs1058808) в 27 экзоне гена ERBB2 у пациентов с забрюшинными миксоидными липосарcomaми. Представленная в NCBI исследовательская работа оценивает полиморфизм P1170A гена ERBB2 как фактор высокого риска развития рака легкого у населения Кореи [35]. Особый интерес представляет сочетание полиморфизмов rs1058808 и rs1136201 в опухоли. Авторы из Китая в своей работе экспонируют связь миссенс-мутаций I655V и P1170A в гене ERBB2 с высоким риском развития остеосаркомы [36].

Ген ALK (ENSG00000171094)

При молекулярно-генетическом тестировании опухолевой ткани забрюшинных миксоидных липосарком методом высокопроизводительного секвенирования (NGS) мы выявили мутации в гене ALK: в 75 % случаев аберрации представлены синонимичной мутацией G845G(rs2256740) в 15 экзоне гена ALK, в 50 % случаев миссенс-мутацией K1491R(rs1881420) в 29 экзоне. Синонимичный вариант T1012T(rs2293563) в 18 экзоне гена ALK нами выявлен в 25 % случаев. Также у одного из четырех пациентов определен полиморфный вариант T1446T в 29 экзоне.

Ген ALK кодирует рецепторную тирозинкиназу (Anaplastic Lymphoma Kinase; киназа анапластической лимфомы). ALK может приобретать онкогенные свойства вследствие транслокации. Если в норме ферментативная активность ALK контролируется участками белка, расположенными в начале его аминокислотной последовательности, то в случае перестройки каталитического домена ALK оказывается прикреплённым к совершенно другой молекуле (чаще всего – к фрагменту белка EML4). В результате этого ALK теряет способность подчиняться физиологической регуляции и начинает непрерывно посылать пролиферативные

сигналы [36]. Мутации в гене ALK являются целями для терапии тирозинкиназными ингибиторами, такими как Crizotinib, Ceritinib, Alectinib, Brigatinib, Lorlatinib.

Ген BRAF (ENSG00000157764)

Синонимичная мутация G643G (rs9648696) в гене BRAF при забрюшинных миксоидных липосарcomaх нами выявлена в 75 % случаев. BRAF – ген, кодирующий белок B-Raf (серин/треонин-протеинкиназа) [38]. Белок B-Raf участвует в передаче внутриклеточных сигналов управления ростом клеток. В клетках с мутацией происходит активация сигнального пути и инициация процессов злокачественной трансформации [39]. Мутации в гене BRAF являются предметом для рассмотрения вопроса о включении в терапию ингибиторов тирозинкиназы (Dabrafenib, Trametinib).

Ген PDGFRA (ENSG00000134853)

Во всех 4 случаях (100 %) у пациентов с забрюшинными миксоидными липосарcomaх нами выявлена синонимичная мутация P567P (rs1873778) в 12 экзоне гена PDGFRA, который кодирует тирозинкиназный рецептор фактора роста тромбоцитов, являющегося митогенным для клеток мезенхимального происхождения. Исследования показывают, что ген PDGFRA играет

важную роль в развитии органов, заживлении ран и канцерогенезе. Мутации в гене PDGFRA связаны с идиопатическим гиперэозинофильным синдромом, соматическими и семейными желудочно-кишечными стромальными опухолями и многими другими злокачественными новообразованиями [40]. При наличии данной мутации у определенной категории пациентов возможно применение мультикиназных ингибиторов (Sunitinib)

Заключение

Проведенное исследование демонстрирует широкий спектр молекулярно-генетических перестроек при забрюшинных неорганных миксоидных липосарcomaх. Принимая во внимание данные мировой литературы, непосредственно связанные с выявленными нами полиморфизмами в различных генах, можно сделать выводы о том, что эти молекулярно-генетические изменения вовлечены в канцерогенез и могут стать как предиктивными, так и прогностическими факторами, а также и новыми терапевтическими целями. Необходимы дальнейшие исследования в данном направлении с включением большего количества пациентов и многофакторным анализом отдаленных результатов лечения.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Состояние онкологической помощи населению России в 2017 году. М., 2018. 236 с. [Kaprin A.D., Starinsky V.V., Petrova G.V. The status of cancer care for the population of Russia in 2017. Moscow, 2018. 236 p. (in Russian)].
- Liles J.S., Tzeng C.W., Short J.J., Kulesza P., Heslin M.J. Retroperitoneal and intra-abdominal sarcoma. *Curr Probl Surg.* 2009 Jun; 46(6): 445–503. doi: 10.1067/j.cpsurg.2009.01.004.
- Thomas J.M. Retroperitoneal sarcoma. *Br J Surg.* 2007 Sep; 94(9): 1057–8. doi: 10.1002/bjs.5967.
- Dalal K.M., Kattan M.W., Antonescu C.R., Brennan M.F., Singer S. Subtype specific prognostic nomogram for patients with primary liposarcoma of the retroperitoneum, extremity, or trunk. *Ann Surg.* 2006 Sep; 244(3): 381–91. doi: 10.1097/01.sla.0000234795.98607.00.
- Fletcher C.D.M., Bridge J.A., Hogendoorn P., Mertens F. WHO Classification of Tumours of Soft Tissue and Bone. Geneva, 2013. 468 p.
- Lindberg M.R. Diagnostic Pathology: Soft Tissue Tumors. 2nd edition. Canada, 2015. 800 p.
- Evans H.L. Liposarcoma: a study of 55 cases with reassessment of its classification. *Am J Surg Pathol.* 1979 Dec; 3(6): 507–23. doi: 10.1097/0000478-197912000-00004.
- Aman P., Ron D., Mandahl N., Fioretos T., Heim S., Arheden K., Willén H., Rydholm A., Mitelman F. Rearrangement of the transcription factor gene CHOP in myxoid liposarcomas with t(12; 16)(q 13;p 11). *Genes Chromosomes Cancer.* 1992 Nov; 5(4): 278–85. doi: 10.1002/gcc.2870050403.
- Knight J.C., Renwick P.J., Dal Cin P., Van den Berghe H., Fletcher C.D. Translocation t(12; 16)(q 13;p 11) in myxoid liposarcoma and round cell liposarcoma: molecular and cytogenetic analysis. *Cancer Res.* 1995; 55: 24–7.
- Bonvalot S., Rivoire M., Castaing M., Stoeckle E., Le Cesne A., Blay J.Y., Laplanche A. Primary retroperitoneal sarcomas: a multivariate analysis of surgical factors associated with local control. *J Clin Oncol.* 2009 Jan 1; 27(1): 31–7. doi: 10.1200/JCO.2008.18.0802.
- Eilber F.C., Eilber F.R., Eckardt J., Rosen G., Riedel E., Maki R.G., Brennan M.F., Singer S. The impact of chemotherapy on the survival of patients with high-grade primary extremity liposarcoma. *Ann Surg.* 2004 Oct; 240(4): 686–95. doi: 10.1097/01.sla.0000141710.74073.0d.
- Gronchi A., Lo Vullo S., Fiore M., Mussi C., Stacchiotti S., Colini P., Loza L., Pennacchioli E., Mariani L., Casali P.G. Aggressive surgical policies in a retrospectively reviewed single-institution case series of retroperitoneal soft tissue sarcoma patients. *J Clin Oncol.* 2009 Jan 1; 27(1): 24–30. doi: 10.1200/JCO.2008.17.8871.
- Pervaiz N., Colterjohn N., Farrokhyar F., Tozer R., Figueredo A., Ghert M. A systematic meta-analysis of randomized controlled trials of adjuvant chemotherapy for localized resectable soft-tissue sarcoma. *Cancer.* 2008 Aug 1; 113(3): 573–81. doi: 10.1002/cncr.23592.
- Woll P.J., Reichardt P., Le Cesne A., Bonvalot S., Azzarelli A., Hoekstra H.J., Leahy M., Van Coevorden F., Verweij J., Hogendoorn P.C., Ouali M., Marreard S., Bramwell V.H., Hohenberger P.; EORTC Soft Tissue and Bone Sarcoma Group and the NCIC Clinical Trials Group Sarcoma Disease Site Committee. Adjuvant chemotherapy with doxorubicin, ifosfamide, and lenograstim for resected soft-tissue sarcoma (EORTC 62931): a multicentre randomised controlled trial. *Lancet Oncol.* 2012 Oct; 13(10): 1045–54. doi: 10.1016/S1470-2045(12)70346-7.
- Krikelis D., Judson I. Role of chemotherapy in the management of soft tissue sarcomas. *Expert Rev Anticancer Ther.* 2010 Feb; 10(2): 249–60. doi: 10.1586/era.09.176.
- Jones R.L., Fisher C., Al-Muderis O., Judson I.R. Differential sensitivity of liposarcoma subtypes to chemotherapy. *Eur J Cancer.* 2005 Dec; 41(18): 2853–60. doi: 10.1016/j.ejca.2005.07.023.
- Li C., Shen Y., Ren Y., Liu W., Li M., Liang W., Liu C., Li F. Oncogene Mutation Profiling Reveals Poor Prognosis Associated with FGFR1/3 Mutation in Liposarcoma. *Hum Pathol.* 2016 Sep; 55: 143–50. doi: 10.1016/j.humpath.2016.05.006.
- Movva S., Wen W., Chen W., Millis S.Z., Gatalica Z., Reddy S., von Mehren M., Van Tine B.A. Multi-platform profiling of over 2000 sarcomas: Identification of biomarkers and novel therapeutic targets. *Oncotarget.* 2015 May 20; 6(14): 12234–47. doi: 10.18632/oncotarget.3498.
- Barretina J., Taylor B.S., Banerji S., Ramos A.H., Lagos-Quintana M., Decarolis P.L., Shah K., Socci N.D., Weir B.A., Ho A., Chiang D.Y., Reva B., Mermel C.H., Getz G., Antipin Y., Beroukhi R., Major J.E., Hatton C., Nicoletti R., Hanna M., Sharpe T., Fennell T.J., Cibulskis K., Onofrio R.C., Saito T., Shukla N., Lau C., Nelder S., Silver S.J., Sougnez C., Viale A., Winckler W., Maki R.G., Garraway L.A., Lash A., Greulich H., Root D.E., Sellers W.R., Schwartz G.K., Antonescu C.R., Lander E.S., Varmus H.E., Ladanyi M., Sander C., Meyerson M., Singer S. Subtype-specific genomic alterations define new targets for soft tissue sarcoma therapy. *Nat Genet.* 2010 Aug; 42(8): 715–21. doi: 10.1038/ng.619.
- Woodburn J.R. The epidermal growth factor receptor and its inhibition in cancer therapy. *Pharmacol Ther.* 1999 May-Jun; 82(2–3): 241–50. doi: 10.1016/s0163-7258(98)00045-x.
- Koh Y.W., Kim H.J., Kwon H.Y., Han J.H., Lee C.K., Lee M.S., Kim C.J., Baek M.J., Jeong D. Q787Q EGFR Polymorphism as a Prognostic Factor for Lung Squamous Cell Carcinoma. *Oncology.* 2016; 90(5): 289–98. doi: 10.1159/000444495.

22. Sasaki H., Endo K., Takada M., Kawahara M., Tanaka H., Kitahara N., Matsumura A., Iuchi K., Kawaguchi T., Okuda K., Kawano O., Yukiue H., Yokoyama T., Yano M., Fujii Y. EGFR polymorphism of the kinase domain in Japanese lung cancer. *J Surg Res.* 2008 Aug; 148(2): 260–3. doi: 10.1016/j.jss.2007.09.001.
23. Ma F., Sun T., Shi Y., Yu D., Tan W., Yang M., Wu C., Chu D., Sun Y., Xu B., Lin D. Polymorphisms of EGFR predict clinical outcome in advanced non-small-cell lung cancer patients treated with Gefitinib. *Lung Cancer.* 2009 Oct; 66(1): 114–9. doi: 10.1016/j.lungcan.2008.12.025.
24. Wang W.S., Chen P.M., Chiou T.J., Liu J.H., Lin J.K., Lin T.C., Wang H.S., Su Y. Epidermal growth factor receptor R497K polymorphism is a favorable prognostic factor for patients with colorectal carcinoma. *Clin Cancer Res.* 2007 Jun 15; 13(12): 3597–604. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-06-2601.
25. Toomey S., Madden S.F., Furney S.J., Fan Y., McCormack M., Stapleton C., Cremona M., Cavalleri G.L., Milewska M., Elster N., Carr A., Fay J., Kay E.W., Kennedy S., Crown J., Gallagher W.M., Hennessy B.T., Eustace A.J. The impact of ERBB-family germline single nucleotide polymorphisms on survival response to adjuvant trastuzumab treatment in HER2-positive breast cancer. *Oncotarget.* 2016 Nov 15; 7(46): 75518–75525. doi: 10.18632/oncotarget.
26. Bashir N.A., Ragab E.S., Khabour O.F., Khassawneh B.Y., Alfaqih M.A., Momani J.A. The Association between Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) Gene Polymorphisms and Lung Cancer Risk. *Biomolecules.* 2018 Jul 13; 8(3). pii: E53. doi: 10.3390/biom8030053.
27. Zhang J., Zhan Z., Wu J., Zhang C., Yang Y., Tong S., Sun Z., Qin L., Yang X., Dong W. Association among polymorphisms in EGFR gene exons, lifestyle and risk of gastric cancer with gender differences in Chinese Han subjects. *PLoS One.* 2013; 8(3): e59254. doi: 10.1371/journal.pone.0059254.
28. Fung C., Zhou P., Joyce S., Trent K., Yuan J.M., Grandis J.R., Weissfeld J.L., Romkes M., Weeks D.E., Egloff A.M. Identification of epidermal growth factor receptor (EGFR) genetic variants that modify risk for head and neck squamous cell carcinoma. *Cancer Lett.* 2015 Feb 28; 357(2): 549–56. doi: 10.1016/j.canlet.2014.12.008.
29. Harari D., Yarden Y. Molecular mechanisms underlying ErbB2/HER2 action in breast cancer. *Oncogene.* 2000; 19(53): 6102–14. doi: 10.1038/sj.onc.1203973.
30. AbdRaboh N.R., Shehata H.H., Ahmed M.B., Bayoumi F.A. HER1 R497K and HER2 I655V polymorphisms are linked to development of breast cancer. *Dis Markers.* 2013; 34(6): 407–17. doi: 10.3233/DMA-130989.
31. Tao W., Wang C., Han R., Jiang H. HER2 Codon 655 polymorphism and breast cancer risk: a meta-analysis. *Breast Cancer Res Treat.* 2009; 114(2): 371–6. doi: 10.1007/s10549-008-0010-9.
32. Lu S., Wang Z., Liu H., Hao X. HER2 Ile655Val polymorphism contributes to breast cancer risk: evidence from 27 case-control studies. *Breast Cancer Res Treat.* 2010 Dec; 124(3): 771–8. doi: 10.1007/s10549-010-0886-z.
33. Xie D., Shu X.O., Deng Z., Wen W.Q., Creek K.E., Dai Q., Gao Y.T., Jin F., Zheng W. Population-based, case-control study of HER2 genetic polymorphism and breast cancer risk. *J Natl Cancer Inst.* 2000 Mar 1; 92(5): 412–7. doi: 10.1093/jnci/92.5.412.
34. Kruszyna L., Lianeri M., Roszak A., Jagodziński P.P. HER2 codon 655 polymorphism is associated with advanced uterine cervical carcinoma. *Clin Biochem.* 2010 Apr; 43(6): 545–8. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2009.12.016.
35. Jo U.H., Han S.G., Seo J.H., Park K.H., Lee J.W., Lee H.J., Ryu J.S., Kim Y.H. The genetic polymorphisms of HER-2 and the risk of lung cancer in a Korean population. *BMC Cancer.* 2008 Dec 4; 8: 359. doi: 10.1186/1471-2407-8-359.
36. Xin D.J., Shen G.D., Song J. Single nucleotide polymorphisms of HER2 related to osteosarcoma susceptibility. *Int J Clin Exp Pathol.* 2015 Aug; 8(8): 9494–9.
37. Pillai R.N., Ramalingam S.S. The Biology and Clinical Features of Non-small Cell Lung Cancers with EML4-ALK Translocation. *Curr Oncol Rep.* 2012 Apr; 14(2): 105–10. doi: 10.1007/s11912-012-0213-4.
38. Sithanandam G., Kolch W., Duh F.M., Rapp U.R. Complete coding sequence of a human B-raf cDNA and detection of B-raf protein kinase with isozyme specific antibodies. *Oncogene.* 1990 Dec; 5(12): 1775–80.
39. Davies H., Bignell G.R., Cox C., Stephens P., Edkins S., Clegg S., Teague J., Woffendin H., Garnett M.J., Bottomley W., Davis N., Dicks E., Ewing R., Floyd Y., Gray K., Hall S., Hawes R., Hughes J., Kosmidou V., Menzies A., Mould C., Parker A., Stevens C., Watt S., Hooper S., Wilson R., Jayatilake H., Gusterson B.A., Cooper C., Shipley J., Hargrave D., Pritchard-Jones K., Maitland N., Chenevix-Trench G., Riggins G.J., Bigner D.D., Palmieri G., Cossu A., Flanagan A., Nicholson A., Ho J.W., Leung S.Y., Yuen S.T., Weber B.L., Seigler H.F., Darrow T.L., Paterson H., Marais R., Marshall C.J., Wooster R., Stratton M.R., Futreal P.A. Mutations of the BRAF gene in human cancer. *Nature.* 2002 Jun 27; 417(6892): 949–54. doi: 10.1038/nature00766.
40. Lih C.J., Cohen S.N., Wang C., Lin-Chao S. The platelet-derived growth factor alpha-receptor is encoded by a growth-arrest-specific (gas) gene. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1996 May 14; 93(10): 4617–22. doi: 10.1073/pnas.93.10.4617.

Поступила/Received 18.06.2019
Принята в печать/Accepted 19.08.2019

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Волков Александр Юрьевич, аспирант хирургического отделения № 6 (абдоминальной онкологии) торако-абдоминального отдела, НИИ КО им. Н.Н. Трапезникова, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). E-mail: 79164577128@yandex.ru.

Сафронова Вера Михайловна, младший научный сотрудник лаборатории клинической онкогенетики отдела морфологической и молекулярно-генетической диагностики опухолей, НИИ КО им. Н.Н. Трапезникова, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 5645-2143. AuthorID (РИНЦ): 1034835.

Неред Сергей Николаевич, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник хирургического отделения № 6 (абдоминальной онкологии) торако-абдоминального отдела, НИИ КО им. Н.Н. Трапезникова, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 4588-3230. AuthorID (РИНЦ): 394472.

Любченко Людмила Николаевна, доктор медицинских наук, доцент кафедры онкологии института клинической медицины, ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (г. Москва, Россия); заведующая лабораторией клинической онкогенетики отдела морфологической и молекулярно-генетической диагностики опухолей, НИИ КО им. Н.Н. Трапезникова ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 9589-9057. AuthorID (РИНЦ): 140311.

Стилиди Иван Сократович, доктор медицинских наук, член-корреспондент РАН, профессор, директор ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия); заведующий хирургическим отделением №6 (абдоминальной онкологии) торако-абдоминального отдела, НИИ КО им. Н.Н. Трапезникова ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 9622-7106. AuthorID (РИНЦ): 443520.

ВКЛАД АВТОРОВ

Волков Александр Юрьевич: разработка концепции научной работы, статистическая обработка, составление черновика рукописи.

Сафронова Вера Михайловна: разработка концепции научной работы, статистическая обработка, составление черновика рукописи.

Неред Сергей Николаевич: анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Любченко Людмила Николаевна: анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Стилиди Иван Сократович: анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы объявляют, что у них нет конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Alexander Yu. Volkov, Postgraduate, Thoracic and Abdominal Department, N.N. Blokhin National Medical Research Centre of Oncology of the Health Ministry of Russia (Moscow, Russia). E-mail: 79164577128@yandex.ru.

Vera M. Safronova, Junior Researcher of the Laboratory of Clinical Oncogenetics, Department of Morphological and Molecular Genetic Diagnosis of Tumors, N.N. Blokhin National Medical Research Centre of Oncology of the Health Ministry of Russia (Moscow, Russia).

Sergei N. Nered, MD, DSc, Leading Researcher, Thoracic and Abdominal Department, N.N. Blokhin National Medical Research Centre of Oncology of the Health Ministry of Russia (Moscow, Russia).

Lyudmila N. Lyubchenko, MD, DSc, Associate Professor, Institute of Clinical Medicine, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University) (Moscow, Russia); Head of the Laboratory of Clinical Oncogenetics of the Department of Morphological and Molecular Genetic Diagnosis of Tumors, N.N. Blokhin National Medical Research Centre of Oncology of the Health Ministry of Russia (Moscow, Russia).

Ivan S. Stilidi, MD, DSc, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Director of N.N. Blokhin National Medical Research Centre of Oncology of the Health Ministry of Russia (Moscow, Russia); Head of Thoracic and Abdominal Department, N.N. Blokhin National Medical Research Centre of Oncology of the Health Ministry of Russia (Moscow, Russia).

AUTHOR CONTRIBUTION

Alexander Yu. Volkov: concept design, statistical data analysis, drafting of the manuscript.

Vera M. Safronova: concept design, statistical data analysis, drafting of the manuscript.

Sergei N. Nered: analysis of the study results, critical revision for the important intellectual content.

Lyudmila N. Lyubchenko: analysis of the study results, critical revision for the important intellectual content.

Ivan S. Stilidi: analysis of the study results, critical revision for the important intellectual content.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

Для цитирования: Цыганов М.М., Ибрагимова М.К., Певзнер А.М., Литвяков Н.В. Потеря гетерозиготности локусов генов *BRCA1* и *BRCA2* в опухоли молочной железы. Современный взгляд на проблему. Сибирский онкологический журнал. 2020; 19(3): 97–101. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-3-97-101.

For citation: Tsyganov M.M., Ibragimova M.K., Pevzner A.M., Litviakov N.V. Loss of heterozygosity in the *BRCA1* and *BRCA2* locus in breast cancer. Siberian Journal of Oncology. 2020; 19(3): 97–101. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-3-97-101.

LOSS OF HETEROZYGOSITY IN THE *BRCA1* AND *BRCA2* LOCUS IN BREAST CANCER

M.M. Tsyganov, M.K. Ibragimova, A.M. Pevzner, N.V. Litviakov

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center,
Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia
5, Kooperativny Street, 634050, Tomsk, Russia. E-mail: TsyganovMM@yandex.ru

Abstract

One of the factors of variability of malignant neoplasms is the loss of heterozygosity (LOH). The biological meaning of LOH, in relation to carcinogenesis, is associated with the inactivation of heterozygous loci of pathogenetically significant genes. Thus, the aim of this work was to study *BRCA1/2* LOH in breast tumors. **Material and Methods.** The study included 122 patients with stage II/III breast cancer. DNA was isolated from 122 biopsy samples of tumor tissue using the QIAamp DNA mini Kit (Qiagen, Germany). To assess the status of LOH, microarray analysis was performed on high-density DNA chips from Affymetrix CytoScan™ HD Array. To process the results of microchipping, we used the Chromosome Analysis Suite 3.3 program (Affymetrix, USA). **Results.** The loss of heterozygosity in the *BRCA1* gene was found to be associated with response to NAC. It was shown that in 59 patients LOH in the *BRCA1* gene was associated with an objective response to treatment ($p=0.005$). The presence of LOH in the studied genes was associated with a favorable prognosis. The 5-year non-metastatic survival rates were 75 % and 100 % in patients with LOH in the *BRCA1* and *BRCA2* genes, respectively (log-rank test: $p=0.003$ and $p=0.05$, respectively). **Conclusion.** The phenomenon of LOH in the *BRCA1/2* genes was shown to be associated with response to NACT. *BRCA1/2*. Further studies are needed to evaluate the frequency of *BRCA1/2* LOH after NAC for choosing and changing treatment tactics.

Key words: breast cancer, *BRCA1* and *BRCA2* mutation in the tumor, loss of heterozygosity, microarray analysis, personalized medicine.

ПОТЕРЯ ГЕТЕРОЗИГОТНОСТИ ЛОКУСОВ ГЕНОВ *BRCA1* И *BRCA2* В ОПУХОЛИ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

M.M. Цыганов, M.K. Ибрагимова, A.M. Певзнер, Н.В. Литвяков

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский
медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия
Россия, 634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5. E-mail: TsyganovMM@yandex.ru

Аннотация

Одним из факторов вариабельности злокачественных новообразований является потеря гетерозиготности (LOH – loss of heterozygosity). Предполагается, что биологический смысл LOH применительно к канцерогенезу связан с инактивацией гетерозиготных локусов патогенетически значимых генов. **Целью исследования** явилось исследование потери гетерозиготности генов *BRCA1/2* в опухоли молочной железы. **Материал и методы.** В исследование были включены 122 больных раком молочной железы IIА–IIIC стадии. ДНК выделяли из 122 биопсийных образцов опухолевой ткани с помощью набора QIAamp DNA mini Kit (Qiagen, Germany). Для оценки статуса LOH проведен микроматричный анализ на ДНК-чипах высокой плотности фирмы Affymetrix CytoScan™ HD Array. Для обработки ре-

зультатов микрочипирования использовали программу «Chromosome Analysis Suite 3.3» (Affymetrix, USA). **Результаты.** В результате проведенного исследования было установлено, что наличие потери гетерозиготности в гене *BRCA1* сопряжено с ответом на неоадьювантную химиотерапию. Показано, что у 59 больных наличие LOH в гене *BRCA1* сопряжено с объективным ответом на лечение ($p=0,005$). Наличие потери гетерозиготности в изучаемых генах сопряжено с благоприятным прогнозом. Показатель 5-летней безметастатической выживаемости у пациентов с потерей гетерозиготности для гена *BRCA1* составляет 75 % (log-rank test $p=0,003$), для гена *BRCA2* все пациенты имели 100 % безметастатическую выживаемость, log-rank test $p=0,05$. **Заключение.** Показано, что потеря гетерозиготности в генах *BRCA1/2* связана с эффективностью неоадьювантной химиотерапии, а также является независимым прогностическим фактором. С учетом полученных результатов можно предположить, что инактивация *BRCA1/2* должна коррелировать с чувствительностью к терапии на основе платины, что, несомненно, делает дальнейшее изучение данного вопроса актуальным.

Ключевые слова: рак молочной железы, мутация *BRCA1* и *BRCA2* в опухоли, потеря гетерозиготности, микроматричный анализ, персонализированная медицина.

Introduction

Currently, the phenomenon of «loss of heterozygosity» (LOH – loss of heterozygosity) is very often observed in tumor tissue. This phenomenon represents a loss of heterozygous alleles in a certain part of the genome, which may be due to either deletion of the chromosome portion in one of the copies of the chromosomes or the whole chromosome, or the replacement of one of the parent copies in the process of gene conversion – copies are neutral LOH [1]. The loss of heterozygosity is associated with the mechanism of tumor development, following the two-hit model of carcinogenesis described by A. Knudson in 1971 [2]. According to this view, the first stage of tumor development is a point mutation or a change in gene expression, but by itself it does not lead to disease. And only in the case of the next stage, in the form of the loss of the wild-type allele (directly the loss of heterozygosity), the process of cell malignancy occurs. In this case, the loss of the allele makes it possible to manifest fatal recessive mutations, and in addition, activation of oncogenes and inactivation of tumor suppressor genes can occur, which leads to uncontrolled cell growth and metastasis [3, 4].

Currently, the phenomenon of «loss of heterozygosity» has been well studied and shown for many genes in various locations of the tumor process. It is assumed that the biological meaning of LOH, as applied to carcinogenesis, is associated with the inactivation of heterozygous loci of pathogenetically significant genes [5–8]. We studied two regions of the long arm of chromosomes 13 and 17 (13q13.1 (*BRCA2*) and 17q21.31 (*BRCA1*), respectively) using the microarray analysis of LOH sites.

Material and Methods

The study included 122 patients aged 25–68 years (53.43 ± 0.78 (Mean $\pm$ SE)) with morphologically verified stage IIA–IIIB breast cancer (BC) (Table 1). All patients received 4–6 courses of neoadjuvant chemotherapy (NAC) with the FAC (fluorouracil, doxorubicin, cyclophosphamide), CAX (cyclophosphamide, doxorubicin, xeloda), CP (cyclophosphamide, cisplatin) regimens or monotherapy with taxotere. The

patients underwent surgery 3–5 weeks after NAC. Then, they received adjuvant chemotherapy, radiation therapy and/or hormonal treatment as indicated. The study was carried out in accordance with the Helsinki Declaration of 1964 (amended in 1975 and 1983), and permission was received from the local ethics committee of the Oncology Research Institute of Tomsk Scientific Research Center (protocol No. 1, dated January 14, 2013). All patients signed informed consent. Tumor samples ($\sim 10 \text{ mm}^3$) were taken before the start of the treatment under the ultrasound control. Tumor samples were placed in an RNAlater solution (Ambion, USA) and stored at -80°C (after 24-hour incubation at $+4^\circ\text{C}$) for further isolation of RNA and DNA.

DNA was isolated from 122 biopsy samples of tumor tissue using the QIAamp DNA mini Kit (Qiagen, Germany). DNA concentration and purity of isolation were evaluated on a Qubit 3.0 fluorimeter (Thermo Scientific, USA) using the Qubit DNA BR Assay Kit, (50 to 250 ng/ μl). DNA integrity was assessed by capillary electrophoresis on a TapeStation 2200 instrument using the Agilent Genomic DNA ScreenTape System Quick Guide (Agilent Technologies, USA)., DNA fragments had a mass of more than 48 kbp.

Microarray analysis was performed on high density microarrays (DNA chips) of Affymetrix (USA) CytoScan™ HD Array, which contained 2 million 670 thousand markers – 1 million 900 thousand non-polymorphic markers for the analysis of copy number aberrations (CNA) and more than 750 thousand single nucleotide polymorphisms. The presence of polymorphic markers on the microarray allows the areas with LOH to be identified. Sample preparation, hybridization, and scanning procedures were performed in accordance with the manufacturer's protocol on an Affymetrix GeneChip® Scanner 3000 7G system (Affymetrix, USA). To process the microchip results, we used the Chromosome Analysis Suite 4.3 (Affymetrix, USA) program, which was developed specifically for analyzing the results of chipping on a CytoScan™ HD Array matrix.

Statistical data processing was performed using the STATISTICA 8.0 application software package (StatSoft Inc., USA). Comparison of frequencies

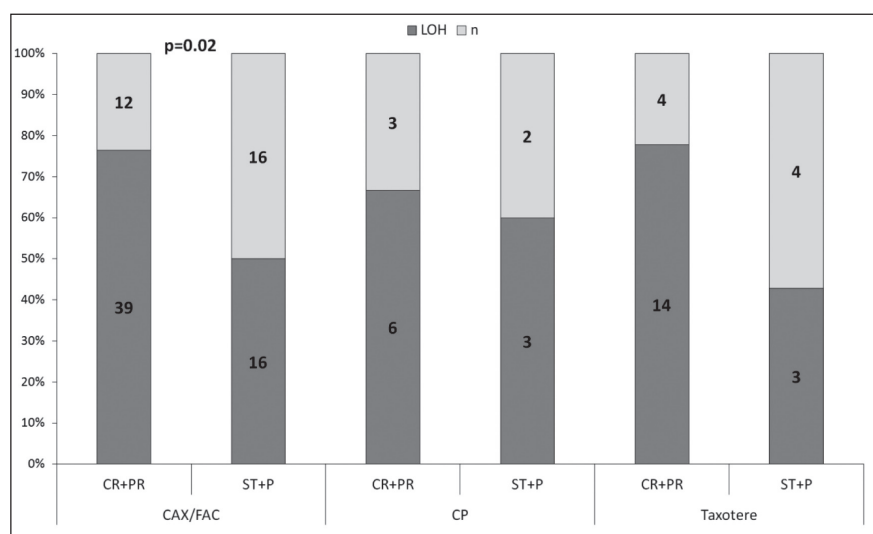


Рис. 1. Частота потери гетерозиготности гена *BRCA1* в опухоли молочной железы в зависимости от неoadъювантной химиотерапии

Fig. 1. The frequency of loss of heterozygosity of *BRCA1* gene in breast tumor in relation to neoadjuvant chemotherapy

according to qualitative data was analyzed using the two-sided Fisher test (<http://vassarstats.net/odds2x2.html>). Differences between the study groups were considered statistically significant at a significance level of $p < 0.05$. For the analysis of non-metastatic survival, survival curves were constructed using the Kaplan-Meier method. To compare differences in survival between the treatment groups, the log-rank test was used.

Results

The LOH frequency at the 17q21.31 and 13q13.1 loci with the *BRCA1/2* genes was 63.9 % (78/122) and 11.5 % (14/122), respectively. A statistically significant difference only in response to neoadjuvant chemotherapy was found. It was shown that in 73 % of cases (59/81), the presence of LOH in the *BRCA1* gene in tumor tissue before treatment was associated with an objective response to neoadjuvant chemotherapy (Fisher's exact test, $p = 0.005$), (table 2). The objective response to anthracycline-containing NAC regimens (FAC and CAX) was observed in 76 % (39/51) patients with LOH in *BRCA1* gene, while stabilization

and disease progression were found in 50 % (16/32) patients (Fisher's exact test, $p = 0.02$), (fig. 1). In patients treated with other chemotherapy regimens, no statistically significant differences were found due to a small number of samples.

Survival curves were estimated using the Kaplan-Meier method. The presence of LOH in the *BRCA1/2* genes in tumor tissue was shown to have a prognostic significance. The 5-year metastatic-free survival rate in patients with LOH in the *BRCA1* gene was 75 % compared to 60 % in patients with normal *BRCA1* gene (fig. 2A). The differences were statistically significant (the log-rank test: $p = 0.003$). In patients with LOH in the *BRCA2* gene, the 5-year metastatic-free survival was 100 % (log-rank test: $p = 0.05$) (fig. 2B). However, no significant difference in the main clinical and morphological parameters between patients with LOH and patients with normal *BRCA1/2* gene were found (table 2). Moreover, *BRCA1/2* LOH was revealed to be an independent prognostic factor.

Thus, it was shown that the presence of *BRCA1/2* LOH in breast tumor tissue was associated with response to NAC and favorable outcome. Patients with

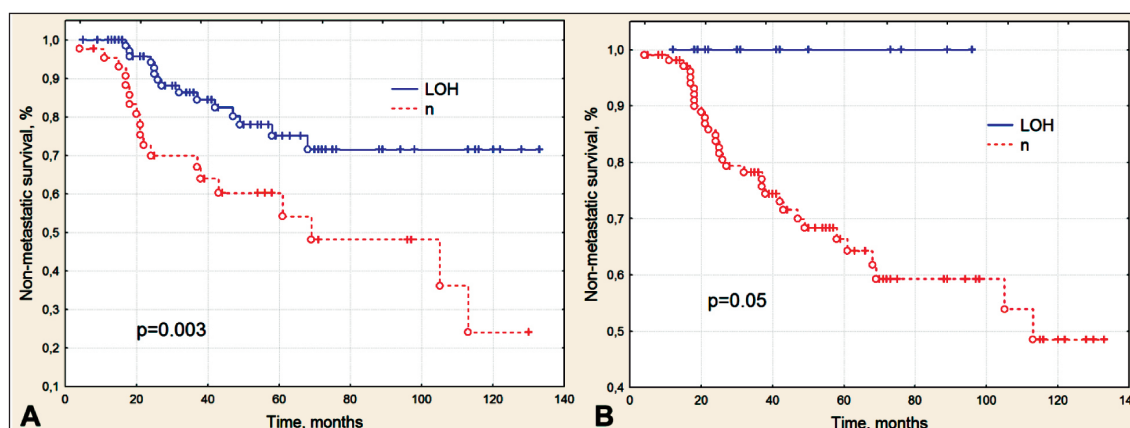


Рис. 2. Безметастатическая выживаемость больных раком молочной железы в зависимости от наличия сайтов потери гетерозиготности генов *BRCA1* (A) и *BRCA2* (B) в опухолевой ткани

Fig. 2. Non-metastatic survival of patients with breast cancer in relation to the loss of heterozygosity of *BRCA1* (A) and *BRCA2* (B) genes in tumor tissue

the presence of LOH in the *BRCA1* gene had higher rates of objective response to treatment. Patients with *BRCA1* or/and *BRCA2* LOH had higher non-metastatic survival rates than patients with normal locus of these genes. The assessment of LOH in tumor tissue can be used as an additional criterion for personalizing neoadjuvant and adjuvant chemotherapy.

Discussion

Two years after the discovery of the *BRCA1* gene, in 1996 Beckmann M.W. et al. showed the possible clinical role of heterozygosity loss in the *BRCA1* and *BRCA2* genes in sporadic breast cancer [9]. The frequency of LOH in the tumor was found to be 32–42 % compared to 64 % in our study. Moreover, the presence of this phenomenon in the *BRCA1* gene was associated with the size of the tumor ($p=0.02$), and in the *BRCA2* gene with the stage of the disease ($p=0.05$). In addition, it was found that LOH was not associated with prognosis of the disease [9]. Such discrepancies may be associated with a low methodological level of LOH determination using minisatellite loci and PCR. The CytoScan HD Array microarray is a more reliable and sensitive tool for detecting all types of LOH. K.N. Maxwell et al. (2017) reported that in patients with ovarian cancer, the LOH frequency was only 10 % in the *BRCA1* gene and 46 % in *BRCA2*. The normal *BRCA1/2* gene loci was associated with decreased survival rates (log-rank test $p=0.01$) [10]. Other authors have also shown that the presence of *BRCA1* LOH in ovarian cancer patients is associated with a good response to neoadjuvant chemotherapy with platinum-containing drugs [11]. *BRCA1/2* genes

play an important role in DNA repair through homologous recombination, and the abnormalities in these genes lead to a homologous recombination deficiency (HRD). This is fully reflected in the response to chemotherapy in patients with breast cancer [12–14]. Thus, LOH can be a clinically useful biomarker for planning treatment not only for breast cancer, but for other cancer locations [15].

Conclusion

The LOH phenomenon in the *BRCA1/2* genes was shown to be associated with response to NAC and disease outcome. Patients with *BRCA1* or/and *BRCA2* LOH had higher non-metastatic survival rates than patients with normal locus of these genes. It can be theoretically assumed that the *BRCA1/2* inactivation correlates with sensitivity to platinum-based therapy. Further studies are needed to evaluate the frequency of *BRCA1/2* LOH after NAC for choosing and changing treatment tactics.

Compliance with ethical principles

The study was carried out with statements of compliance with ethical standards developed in accordance with the Helsinki Declaration of the World Medical Association «Ethical Principles for Conducting Scientific Medical Research with Human Participation» as amended in 2000 and the «Rules of Clinical Practice in the Russian Federation» approved by the Order of the Ministry of Health of the Russian Federation of June 19, 2003 No. 266. Informed consent was obtained from individuals who participated in the study.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Ryland G.L., Doyle M.A., Goode D., Boyle S.E., Choong D.Y., Rowley S.M., Li J., Bowtell D.D., Tothill R.W., Campbell I.G. Loss of heterozygosity: what is it good for? BMC Med Genomics. 2015; 8: 45. doi: 10.1186/s12920-015-0123-z.
- Knudson A.G. Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma. Proceedings of the National Academy of Sciences. 1971; 68(4): 820–823.
- Chen Y., Chen C. DNA copy number variation and loss of heterozygosity in relation to recurrence of and survival from head and neck squamous cell carcinoma: a review. Head Neck. 2008; 30(10): 1361–83. doi: 10.1002/hed.20861.
- Silva J.M., Silva J., Sanchez A., Garcia J.M., Dominguez G., Provencio M., Sanfrutos L., Jareño E., Colas A., España P., Bonilla F. Tumor DNA in plasma at diagnosis of breast cancer patients is a valuable predictor of disease-free survival. Clinical Cancer Research, 2002; 8(12): 3761–3766.
- Okudela K., Tateishi Y., Umeda S., Mitsui H., Suzuki T., Saito Y., Woo T., Tajiri M., Masuda M., Miyagi Y., Ohashi K. Allelic Imbalance in the miR-31 Host Gene Locus in Lung Cancer-Its Potential Role in Carcinogenesis. PLoS One. 2014 Jun 30; 9(6): e100581. doi: 10.1371/journal.pone.0100581.
- Fleming J.L., Dworkin A.M., Allain D.C., Fernandez S., Wei L., Peters S.B., Iwenofu O.H., Ridd K., Bastian B.C., Toland A.E. Allele-specific imbalance mapping identifies HDAC9 as a candidate gene for cutaneous squamous cell carcinoma. Int J Cancer. 2014 Jan 1; 134(1): 244–8. doi: 10.1002/ijc.28339.
- Shikeeva A., Kekeeva T., Zavalishina L., Andreeva I., Frank G. Allelic imbalance in patients with non-small cell lung cancer. Arkh Patol. 2013; 75(2): 3–8.
- Saito M., Okamoto A., Kohno T., Takakura S., Shinozaki H., Isonishi S., Yasuhara T., Yoshimura T., Ohtake Y., Ochiai K., Yokota J., Tanaka T. Allelic imbalance and mutations of the PTEN gene in ovarian cancer. Int J Cancer. 2000; 85(2): 160–165.
- Beckmann M.W., Picard F., An H.X., van Roeyen C.R., Dominik S.I., Mosny D.S., Schnürrich H.G., Bender H.G., Niederacher D. Clinical impact of detection of loss of heterozygosity of BRCA1 and BRCA2 markers in sporadic breast cancer. Br J Cancer. 1996 May; 73(10): 1220–6.
- Maxwell K.N., Wubbenhorst B., Wenz B.M., De Sloover D., Pluta J., Emery L., Barrett A., Kraya A.A., Anastopoulos I.N., Yu S., Jiang Y., Chen H., Zhang N.R., Hackman N., D'Andrea K., Daber R., Morrissette J.J.D., Mitra N., Feldman M., Domchek S.M., Nathanson K.L. BRCA locus-specific loss of heterozygosity in germline BRCA1 and BRCA2 carriers. Nat Commun. 2017 Aug 22; 8(1): 319. doi: 10.1038/s41467-017-00388-9.
- Sokolov A., Savanevich A., Stepuro T., Shulga A., Berlev I., Imyanitov E., Petrov N. Loss of heterozygosity at the BRCA1 locus as a marker of sensitivity for adjuvant chemotherapy in hereditary ovarian cancer. Biological Markers in Fundamental and Clinical Medicine. 2017; 1(3): 29–31.
- Telli M.L., Hellyer J., Audeh W., Jensen K.C., Bose S., Timms K.M., Gutin A., Abkevich V., Peterson R.N., Neff C., Hughes E., Sangale Z., Jones J., Hartman A.R., Chang P.J., Vinayak S., Wenstrup R., Ford J.M. Homologous recombination deficiency (HRD) status predicts response to standard neoadjuvant chemotherapy in patients with triple-negative or BRCA1/2 mutation-associated breast cancer. Breast Cancer Res Treat. 2018 Apr; 168(3): 625–630. doi: 10.1007/s10549-017-4624-7.
- Pennington K.P., Walsh T., Harrell M.I., Lee M.K., Pennil C.C., Rendi M.H., Thornton A., Norquist B.M., Casadei S., Nord A.S., Agnew K.J., Pritchard C.C., Scroggins S., Garcia R.L., King M.C., Swisher E.M. Germline and somatic mutations in homologous recombination genes predict platinum response and survival in ovarian, fallopian tube, and peritoneal carcinomas. Clin Cancer Res. 2014 Feb 1; 20(3): 764–75. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-13-2287.
- Литвяков Н.В., Чердынцева Н.В., Цыганов М.М., Денисов Е.В., Мерзлякова М.К., Гарбуков Е.Ю., Вторушин С.В., Завьялова М.В., Слонимская Е.М. Ассоциация генетического полиморфизма с изменением экспрессии генов множественной лекарственной устойчивости в опухоли молочной железы в процессе неoadъювантной химиоте-

рапии. Медицинская генетика. 2011; 10(10): 37–43. [Litviakov N.V., Cherdynseva N.V., Tsyganov M.M., Denisov E.V., Merzlikova M.K., Garbukov E.Yu., Vtorushin S.V., Zayjalova M.V., Slonimskaya E.M. Influence of gene polymorphism on the expression of the multidrug resistance genes in breast tumor during neoadjuvant chemotherapy. Medical Genetics. 2011; 10(10): 37–43. (in Russian)].

15. Sakr S., Abdulfatah E., Loehr A., Simmons A., Morris R., Ali-Fehmi R. Prognostic impact of loss of heterozygosity in uterine serous carcinoma. Gynecol Oncol. 2018; 149(1): 72.

Поступила/Received 15.08.2019
Принята в печать/Accepted 23.09.2019

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Цыганов Матвей Михайлович, кандидат биологических наук, старший 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.

Ибрагимова Марина Константиновна, младший научный сотрудник лаборатории онковирусологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 2340-1628. Researcher ID (WOS): C-8609-2012. Author ID (Scopus): 57130579200. ORCID: 0000-0001-8815-2786.

Певзнер Алина Михайловна, лаборант-исследователь лаборатории онковирусологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 3847-3522, ORCID: 0000-0002-9657-9058.

Литвяков Николай Васильевич, доктор биологических наук, заведующий лабораторией онковирусологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 2546-0181. Researcher ID (WOS): C-3263-2012. Author ID (Scopus): 6506850698. ORCID: 0000-0002-0714-8927.

ВКЛАД АВТОРОВ

Цыганов Матвей Михайлович: разработка концепции научной работы, статистическая обработка.

Ибрагимова Марина Константиновна: анализ научной работы.

Певзнер Алина Михайловна: анализ научной работы, методология.

Литвяков Николай Васильевич: критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Финансирование

Работа поддержана грантом РНФ № 19-75-00027 «Исследование соматического статуса гена *BRCA1* в опухоли молочной железы для персонализированного назначения лечения».

Конфликт интересов

Авторы объявляют, что у них нет конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Matvey M. Tsyganov, PhD, Researcher, Laboratory 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.

Marina K. Ibragimova, Junior Researcher, Laboratory Oncovirology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). E-mail: imk1805@yandex.ru. Researcher ID (WOS): C-8609-2012. Author ID (Scopus): 57130579200. ORCID: 0000-0001-8815-2786.

Alina M. Pevzner, Laboratory Assistant Researcher, Laboratory Oncovirology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). ORCID: 0000-0002-9657-9058

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.

AUTHOR CONTRIBUTION

Matvey M. Tsyganov: study conception, statistical data analysis.

Marina K. Ibragimova: analysis of the study results.

Alina M. Pevzner: analysis of the study results, methodology.

Nikolay V. Litviakov: critical revision for the important intellectual content.

Funding

This study was supported by the Russian Science Foundation grant No. 19-75-00027 «Study of the somatic status of the *BRCA1* gene in a breast tumor for personalized treatment purposes».

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

Для цитирования: Носарева О.Л., Орлов Д.С., Шахристова Е.В., Степовая Е.А., Садыкова А.А. Роль N-ацетилцистеина в регуляции апоптоза опухолевых клеток линии P19 при гипоксии. Сибирский онкологический журнал. 2020; 19(3): 102–108. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-3-102-108.

For citation: Nosareva O.L., Orlov D.S., Shakhristova E.V., Stepovaya E.A., Sadykova A.A. Effect of N-acetylcysteine on apoptosis of P19 cancer cells during hypoxia. Siberian Journal of Oncology. 2020; 19(3): 102–108. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-3-102-108.

РОЛЬ N-АЦЕТИЛЦИСТЕИНА В РЕГУЛЯЦИИ АПОПТОЗА ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК ЛИНИИ P19 ПРИ ГИПОКСИИ

О.Л. Носарева, Д.С. Орлов, Е.В. Шахристова, Е.А. Степовая,
А.А. Садыкова

ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России,
г. Томск, Россия
Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2. E-mail: olnosareva@yandex.ru

Аннотация

Введение. Гипоксия при опухолевом росте способствует формированию дисфункции митохондрий и выступает дополнительным фактором, усугубляющим окислительный стресс в иммортализованной клетке. **Цель исследования** – изучение молекулярных механизмов воздействия N-ацетилцистеина на редокс-регуляцию апоптоза опухолевых клеток при гипоксии. **Материал и методы.** Материалом для исследования служили культивированные в условиях гипоксии опухолевые клетки линии P19 (тератокарцинома мыши). Редокс-статус модулировали N-ацетилцистеином (конечная концентрация 5 мМ). Методом проточной цитофлуориметрии определяли содержание активных форм кислорода, концентрацию ионов кальция, трансмембранный потенциал митохондрий, количество CD95-, CD120- и аннексин V-положительных клеток. Концентрацию компонентов системы глутатиона, SH-групп протеинов и карбонильных производных белков измеряли методом спектрофотометрии. **Результаты.** Применение N-ацетилцистеина в условиях гипоксии сопровождалось значимым увеличением концентрации общего глутатиона и SH-групп белков, снижением содержания ионов Ca^{2+} , белковосвязанного глутатиона и карбонильных производных протеинов, а также продукции активных форм кислорода и более адекватным функционированием митохондрий клеток линии P19. N-ацетилцистеин способствовал формированию дополнительной устойчивости опухолевых клеток линии P19 к апоптозу в условиях гипоксии. **Заключение.** В условиях гипоксии изменение состояния системы глутатиона влияет на изменение метаболизма опухолевой клетки в целом и способствует формированию дополнительных механизмов ускользания от клеточной гибели.

Ключевые слова: опухолевый рост, апоптоз, окислительный стресс, гипоксия, система глутатиона, N-ацетилцистеин.

EFFECT OF N-ACETYLCYSTEINE ON APOPTOSIS OF P19 CANCER CELLS DURING HYPOXIA

O.L. Nosareva, D.S. Orlov, E.V. Shakhristova, E.A. Stepovaya, A.A. Sadykova

Siberian State Medical University, Tomsk, Russia
2, Moskovsky Trakt Street, 634050-Tomsk, Russia. E-mail: olnosareva@yandex.ru

Abstract

Introduction. Hypoxia in tumor growth contributes to mitochondrial dysfunction and exacerbates oxidative stress in the immortalized cell. The objective of the study was to investigate the molecular mechanisms of the effects of N-acetylcysteine on redox regulation of tumor cell apoptosis under hypoxia. **Material and Methods.** P19 cells (mouse teratocarcinoma) cultured under hypoxia served as the material for the study. The redox status was modulated with N-acetylcysteine in the final concentration of 5 mM. The level of reactive

oxygen species, concentration of calcium ions, transmembrane potential and the number of CD95-, CD120- and Annexin V-positive cells were determined by flow cytometry. The concentration of glutathione system components as well as the levels of protein SH groups and protein carbonyl derivatives were measured by spectrophotometry. **Results.** The use of N-acetylcysteine under hypoxic conditions was accompanied by the increased total glutathione concentration and protein SH groups levels, decreased levels of Ca^{2+} ions, protein-bound glutathione and protein carbonyl derivatives, as well as the production of reactive oxygen species and more appropriate functioning of P19 cells mitochondria. N-acetylcysteine contributed to the development of additional resistance of P19 cells to apoptosis under hypoxia. **Conclusion.** The alteration in the state of the glutathione system under hypoxia influences the changes in tumor cell metabolism on the whole and promotes formation of additional mechanisms to escape apoptosis.

Key words: tumor growth, apoptosis, oxidative stress, hypoxia, glutathione system, N-acetylcysteine.

Введение

В связи с высокой частотой онкологических заболеваний вызывают интерес исследования по изучению молекулярных механизмов опухолевого роста и выживания малигнизированных клеток. Значительный вклад в регуляцию процесса апоптоза вносят митохондрии, деятельность которых сопряжена с генерацией активных форм кислорода (АФК) при изменении напряжения кислорода в клетке [1–3]. Активные формы кислорода способствуют окислительной модификации белков, участвующих в реализации и регуляции апоптоза [4–7]. Поэтому особого внимания заслуживает изучение триггерных механизмов клеточной гибели опухолевых клеток в условиях гипоксии. В этом случае опухолевая клетка приобретает дополнительные качества, препятствующие реализации апоптотической гибели и способствующие невосприимчивости к химиотерапии [8].

На наш взгляд, актуальным является участие компонентов системы глутатиона в редокс-модуляции внутриклеточного сигналинга и процесса клеточной гибели, что может быть опосредовано формированием дисульфидных связей в молекулах белков, которые способствуют изменению их функциональной активности [4, 9, 10]. В процесс обратимой и необратимой ковалентной модификации могут быть вовлечены ключевые белки-регуляторы клеточного цикла, факторы транскрипции, ион-транспортирующие системы, способствующие генетической нестабильности, нарушению дифференцировки и метаболизма опухолевой клетки [7, 11–13].

Целью исследования явилось установление молекулярных механизмов воздействия N-ацетилцистеина на редокс-регуляцию апоптоза опухолевых клеток при гипоксии.

Материал и методы

Материалом для исследования были выбраны опухолевые клетки линии P19 (тератокарцинома мыши СЗН/Не), полученные из Российской коллекции клеточных культур Института цитологии РАН (г. Санкт-Петербург, Россия). Культивирование опухолевых клеток проводили монослойным способом в CO_2 -инкубаторе («Sanyo», Япония) при 37 °C в атмосфере 5 % CO_2 в полной питательной

среде α -МЕМ («БиолоТ», Россия), содержащей 10 % инактивированной эмбриональной телячьей сыворотки («БиолоТ», Россия), L-глутамин (0,3 мг/мл) («БиолоТ», Россия) и гентамицин (100 мкг/мл) («Микроген», Россия). Культуру пересаживали каждые 2 дня и поддерживали в логарифмической фазе роста. Жизнеспособность клеток оценивали с помощью 0,5 % раствора трипанового синего («Serva», США). Для проведения эксперимента использовали культуру клеток, имеющую не более 5 % погибших клеток.

С целью дополнительной продукции активных форм кислорода опухолевыми клетками проводили моделирование условий гипоксии в культуре опухолевых клеток линии P19 в специальной инкубационной камере «Hypoxia Incubator Chamber» («STEMCELL», Канада), наполняемой газовой смесью, состоящей из 5 % O_2 , 5 % CO_2 и 90 % N_2 . Контроль за формированием гипоксии осуществлялся за счет измерения концентрации растворенного кислорода в среде культивирования оксиметром «Dissolved Oxygen Meter» («HANNA HI 9146», Италия).

Управление редокс-статусом опухолевых клеток осуществляли с помощью добавления в культуральную среду предшественника синтеза глутатиона N-ацетилцистеина (NAC) («Sigma-Aldrich», США) в концентрации 5 мМ. Применение N-ацетилцистеина опосредовало поступление одного из субстратов для синтеза глутатиона, так как при действии эндогенных эстераз высвобождается L-цистеин [14].

После инкубации опухолевые клетки отмывали от питательной среды и лизировали путем ресуспендирования в фосфатно-солевом буфере (pH=7,4) с добавлением 1 % тритона X-100 («Sigma-Aldrich», США) и охлаждения на льду с сохранением стандартной концентрации клеток для определения концентрации карбонильных производных белков. Для определения содержания общего, восстановленного, окисленного, белково-связанного глутатиона и SH-групп белков лизат клеток депротеинизировали с помощью 5 % раствора сульфосалициловой кислоты.

Концентрацию общего, окисленного (GSSG) и восстановленного (GSH) глутатиона определяли методом, предложенным M.E. Anderson в модифи-

кации I. Rahman et al. [15]. Рассчитывали величину отношения GSH/GSSG как показатель изменения редокс-статуса клетки. Содержание SH-групп белков, а также белковосвязанного глутатиона после предварительного его высвобождения из связи с белками с помощью 1 % раствора боргидрида натрия учитывали по реакции с 5,5-дитио-бис(2-нитробензойной) кислотой [16]. Результаты представляли в нмоль/мг белка.

Концентрацию карбонильных производных белков определяли по их реакции взаимодействия с 2,4-динитрофенилгидразином, продукт которой имеет максимум поглощения при длине волны 363 нм [17]. Результаты выражали в нмоль/мг белка.

Содержание белка в клетках определяли по методу Бредфорда, основанному на взаимодействии аминокислотных остатков лизина и аргинина с красителем Кумасси голубым G-250 [18]. Учет экстинкции результатов проводили с помощью спектрофотометра СФ-2000 («ОКБ-Спектр», Россия).

Оценку апоптотически измененных клеток проводили с помощью проточной цитометрии с использованием аннексина-V-FITC и пропидий йодида (PI) согласно инструкции фирмы-производителя («eBioscience», США). Подсчет количества аннексин-положительных клеток осуществляли к общему числу изучаемых клеток и выражали в процентах.

Количество CD95- и CD120-положительных клеток определяли с помощью набора моноклональных антител к соответствующим антигенам согласно протоколу производителя («R&D Systems», США). Результат выражали в условных единицах (у.е.).

Оценку митохондриального мембранного потенциала ($\Delta\psi_m$) клеток проводили с помощью набора Flow Cytometry Mitochondrial Membrane Potential Detection Kit («BD», США) по снижению спектрального свечения, используя 5,5',6,6'-тетрахлоро-1,1',3,3'-тетраэтилбензимидазолкарбоцианина иодид, который при деполяризации мембраны митохондрий не способен проникать внутрь органелл и образовывать флуоресцирующие агрегаты. Количество клеток со сниженной флуоресценцией выражали в процентах.

Определение концентрации ионов кальция в цитоплазме клеток проводили с помощью метода, основанного на их связывании липофильным зондом Fluo 3 AM с максимумом флуоресценции при 526 нм («Sigma-Aldrich», США) [19]. Результаты выражали в условных единицах (у.е.), отражающих уровень свечения зонда на клетку.

Внутриклеточную концентрацию АФК оценивали с помощью 2,7-дихлорфлуоресцеин-3,6-диацетата («Sigma-Aldrich», США) [20]. Результаты выражали в у.е.

Детекцию результатов проточной цитометрии проводили с помощью прибора FACSCanto II («BD», США) с использованием программного обеспечения FACSDiva Version 6.1.3.

Статистическая обработка данных проводилась с использованием программы «SPSS 17.0». Проверка нормальности распределения количественных показателей осуществлялась с использованием критерия Шапиро–Уилка. Достоверность различий оценивалась с помощью непараметрических критериев Краскала–Уолиса и Манна–Уитни. Данные представляли в виде медианы (Me), верхнего и нижнего квартилей (Q_1 , Q_3). Статистически значимыми различия считали при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Дизрегуляция апоптоза на фоне снижения концентрации кислорода сопряжена с изменением редокс-статуса в малигнизированных клетках [21–23]. Одной из ведущих антиоксидантных систем инактивирующих АФК является система глутатиона. В проведенной работе был использован NAC в конечной концентрации 5 мМ в качестве предшественника синтеза глутатиона с целью изменения редокс-статуса опухолевых клеток P19 и оценки их выживаемости.

В условиях гипоксии при дополнительном внесении NAC в среду культивирования опухолевых клеток линии P19 было получено значимое снижение концентрации общего глутатиона в 1,2 раза ($p < 0,05$) по сравнению с результатами, зарегистрированными в клетках при гипоксии (таблица). Это было опосредовано за счет изменения содержания восстановленного и окисленного глутатиона (таблица). Важно отметить, что в условиях гипоксии при дополнительном внесении в среду культивирования NAC клетки линии P19 имели сопоставимое значение величины соотношения GSH к GSSG по сравнению с клетками, культивированными при гипоксии (таблица). Анализ содержания компонентов системы глутатиона в клетках, культивированных в условиях гипоксии при добавлении в среду культивирования NAC, позволяет предположить их участие в значимом увеличении содержания SH-групп белков в 1,3 раза ($p < 0,05$), снижении концентрации белковосвязанного глутатиона в 2,7 раза ($p < 0,05$) и карбонильных производных белков в 3,3 раза ($p < 0,05$) по сравнению с гипоксией (таблица). Это свидетельствовало об участии компонентов системы глутатиона в условиях гипоксии и редокс-модулирования в глутатионилировании белков, протекции протеинов от карбонильных сшивок и изменения метаболизма опухолевой клетки.

Опухолевые клетки линии P19 при гипоксии и дополнительном добавлении в среду культивирования NAC характеризовались значимым снижением внутриклеточного содержания АФК и ионов Ca^{2+} в 1,1 раза ($p < 0,05$) и карбонильных производных белков в 3,3 раза ($p < 0,05$) по сравнению с результатами, полученными в клетках в условиях гипоксии (таблица). При этом зафиксировано значимо низкое число клеток со сниженным митохондриальным потенциалом в 3,4 раза ($p < 0,05$) по сравнению с ги-

Таблица/Table

Влияние N-ацетилцистеина на реализацию апоптоза, показатели системы глутатиона, содержание активных форм кислорода и карбонильных производных белков в опухолевых клетках линии P19 в условиях гипоксии, Me (Q₁–Q₃)

The effect of N-acetylcysteine on implementation of apoptosis, parameters of the glutathione system, level of reactive oxygen species and protein carbonyl derivatives in P19 cells under hypoxia, Me (Q₁–Q₃)

Показатели/ Parameters	Условия культивирования опухолевых клеток линии P19/ Conditions of culturing P19 cells	
	Гипоксия/Нуроксия	Гипоксия + NAC/ Нуроксия + NAC
Аннексин-V-FITC ⁺ , %/ Annexin-V-FITC ⁺ , %	10,75 (4,50–10,90)	7,65 (7,00–8,60)
CD95, у.е./CD95, u.	1,0 (0,9–1,1)	1,1 (1,0–1,2)
CD120, у.е./CD120, u.	1,4 (1,3–1,5)	0,9 (0,8–1,0)
Клетки со сниженным ΔΨ _m , %/ Cells with reduced ΔΨ _m , %	10,4 (10,4–10,6)	3,1 (3,0–3,2)*
Содержание Ca ²⁺ в клетке, у.е./ Intracellular concentration of Ca ²⁺ , u.	10,24 (10,10–10,36)	9,74 (9,72–9,75)*
Продукция АФК, у.е./ Production of ROS, u.	19,07 (18,96–19,29)	17,94 (17,88–18,06)*
Карбонильные производные белков, нмоль/мг белка/ Protein carbonyl derivatives, nmol/mg protein	10,17 (8,92–10,39)	3,08 (2,93–4,21)*
Общий глутатион, нмоль/мг белка/ Protein carbonyl derivatives, nmol/mg protein	4,86 (4,74–5,03)	5,87 (5,63–6,08)*
GSH, нмоль/мг белка/ GSH, nmol/mg protein	4,47 (4,40–4,58)	5,27 (3,76–5,74)
GSSG, нмоль/мг белка/ GSSG, nmol/mg protein	0,43 (0,39–0,45)	0,53 (0,36–1,79)
GSH/GSSG	10,19 (9,88–11,35)	12,47 (2,10–14,73)
Белковосвязанный глутатион, нмоль/мг белка/ Proteinbound glutathione, nmol/mg protein	2,08 (1,95–2,19)	1,76 (1,59–1,91)*
SH-группы белков, нмоль/мг белка/ Protein SH groups, nmol/mg protein	8,76 (7,83–10,55)	11,60 (11,58–12,62)*

Примечание: АФК – активные формы кислорода, GSH – восстановленный глутатион, GSSG – окисленный глутатион, NAC – N-ацетилцистеин; * – статистически значимые различия (p<0,05) между группами P19 гипоксия и P19 гипоксия + NAC.

Note: ROS – reactive oxygen species, GSH – reduced glutathione, GSSG – oxidized glutathione, NAC – N-acetylcysteine; * – statistically significant differences (p<0.05) between the P19 Hypoxia and P19 Hypoxia + NAC groups.

поксией (таблица). Вероятнее всего, в этом случае редокс-модулятор оказывал влияние на внутриклеточный метаболизм функционирования митохондрий и изменение содержания ионов Ca²⁺.

Причиной чрезмерной генерации АФК в условиях гипоксии служит утечка электронов из дыхательной цепи митохондрий, так как отсутствие достаточного уровня кислорода способствует снижению концентрации конечного акцептора электронов и ингибированию цитохромоксидазы. Поэтому нарушение функционирования митохондрий рассматривается основной причиной формирования окислительного стресса в клетке, а также может способствовать запуску апоптоза по митохондриальному пути [22, 24]. Основными АФК, которые образуются в результате этого процесса, являются супероксидный анион-радикал

и перекись водорода [22, 25]. Ранее при проведении исследования влияния условий гипоксии на метаболизм опухолевых клеток линии P19 нами было показано формирование окислительного стресса, изменение состояния системы глутатиона и активация реализации апоптоза по сравнению с опухолевыми клетками, культивированными при нормальном напряжении кислорода [26].

Учитывая все вышеизложенное и полученные нами в условиях гипоксии при дополнительном внесении NAC в среду культивирования опухолевых клеток линии P19 сопоставимые результаты числа аннексин-V-, CD95- и CD120-положительных клеток по сравнению с гипоксией (таблица), можно сделать заключение о нарушении регуляции запуска рецепторного и митохондриального путей апоптоза в опухолевых клетках в этих условиях.

Результаты проведенного исследования позволяют утверждать о значимой роли системы глутатиона в обеспечении функционирования опухолевых клеток, в том числе митохондрий, при сниженном напряжении кислорода. Примененный нами N-ацетилцистеин способствовал формированию дополнительной устойчивости опухолевых клеток линии P19 к триггерным механизмам запуска апоптоза в условиях гипоксии.

Заключение

В условиях гипоксии изменение состояния системы глутатиона, окислительной модификации белков, влияет на изменение метаболизма опухолевой клетки в целом и способствует формированию дополнительных механизмов

ускользания от клеточной гибели. Выполненное исследование посвящено изучению редокс-зависимого таргетного управления реализацией и регуляции апоптотической гибели опухолевых клеток линией P19 в условиях гипоксии путем глутатионилирования и карбонилирования белков, что представляет практическую значимость для онкологии. С учетом центральной роли митохондрий в окислительно-восстановительном гомеостазе и запуске внутреннего пути апоптоза данное исследование подтверждает необходимость изучения механизмов развития устойчивости опухолевых клеток к противоопухолевым препаратам, механизм действия которых основан на изменении редокс-потенциала системы глутатиона.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Sinha K., Das J., Pal P.B., Sil P.C. Oxidative stress: the mitochondria-dependent and mitochondria-independent pathways of apoptosis. *Arch Toxicol.* 2013 Jul; 87(7): 1157–80. doi: 10.1007/s00204-013-1034-4.
2. Chen Y., Zhang H., Zhou H.J., Ji W., Min W. Mitochondrial Redox Signaling and Tumor Progression. *Cancers (Basel).* 2016 Mar 25; 8(4). pii: E40. doi: 10.3390/cancers8040040.
3. Redza-Dutordoir M., Averill-Bates D.A. Activation of apoptosis signalling pathways by reactive oxygen species. *Biochim Biophys Acta.* 2016 Dec; 1863(12): 2977–2992. doi: 10.1016/j.bbamcr.2016.09.012.
4. Mailloux R.J., Jin X., Willmore W.G. Redox regulation of mitochondrial function with emphasis on cysteine oxidation reactions. *Redox Biol.* 2013 Dec 19; 2: 123–39. doi: 10.1016/j.redox.2013.12.011.
5. Степовая Е.А., Рязанцева Н.В., Носарева О.Л., Закирова Е.В., Наумова А.И., Веснина О.Н., Орлов Д.С., Шахристова Е.В., Иванов В.В., Новицкий В.В. Роль окислительной модификации белков в редокс-зависимой регуляции апоптоза опухолевых клеток. Молекулярная медицина. 2015; 4: 60–64. [Stepovaya E.A., Ryzantseva N.V., Nosareva O.L., Zakirova E.V., Naumova A.I., Vesnina O.N., Orlov D.S., Shakhristova E.V., Ivanov V.V., Novitsky V.V. The role of oxidative protein modification in redox-dependent regulation of tumor cell apoptosis. *Molecular medicine.* 2015; 4: 60–64. (in Russian)].
6. Shakhristova E.V., Stepovaya E.A., Ryzantseva N.V., Nosareva O.L., Yakushina V.D., Ivanov V.V., Novitsky V.V. Role of Glutathione System Redox Potential in Apoptosis Dysregulation in MCF-7 Breast Adenocarcinoma. *Bull Exp Biol Med.* 2016 Jan; 160(3): 364–7. doi: 10.1007/s10517-016-3172-1.
7. Moldogazieva N.T., Mokhosoev I.M., Feldman N.B., Lutsenko S.V. ROS and RNS signalling: adaptive redox switches through oxidative/nitrosative protein modifications. *Free Radic Res.* 2018 May; 52(5): 507–543. doi: 10.1080/10715762.2018.1457217.
8. Marengo P., Nitti M., Furfaro A.L., Colla R., Ciucis C.D., Marinari U.M., Bronzato M.A., Traverso N., Domenicotti C. Redox Homeostasis and Cellular Antioxidant Systems: Crucial Players in Cancer Growth and Therapy. *Oxid Med Cell Longev.* 2016; 2016: 6235641. doi: 10.1155/2016/6235641.
9. Mailloux R.J., Treberg J.R. Protein S-glutathionylation links energy metabolism to redox signaling in mitochondria. *Redox Biol.* 2016 Aug; 8: 110–8. doi: 10.1016/j.redox.2015.12.010.
10. Dominko K., Đikić D. Glutathionylation: a regulatory role of glutathione in physiological processes. *Arh Hig Rada Toksikol.* 2018; 69(1): 1–24. doi: 10.2478/aiht-2018-69-2966.
11. Bak D.W., Weerapana E. Cysteine-mediated redox signalling in the mitochondria. *Mol Biosyst.* 2015; 11(3): 678–97. doi: 10.1039/c4mb00571f.
12. Степовая Е.А., Шахристова Е.В., Рязанцева Н.В., Носарева О.Л., Чильчиашев Р.И., Егорова М.Ю. Система тиоредоксина в регуляции пролиферации клеток линии MCF-7 при модуляции редокс-статуса. Сибирский онкологический журнал. 2016; 15(4): 50–55. [Stepovaya E.A., Shakhristova E.V., Ryzantseva N.V., Nosareva O.L., Chil'chigashev R.I., Egorova M.Y. The thioredoxin system in regulating MCF-7 cell proliferation under redox status modulation. *Siberian Journal of Oncology.* 2016; 15(4): 50–55. (in Russian)]. doi: 10.21294/1814-4861-2016-15-4-50-55.
13. Nosareva O.L., Stepovaya E.A., Ryzantseva N.V., Shakhristova E.V., Egorova M.Y., Novitsky V.V. The Role of the Glutathione System in Oxidative Modification of Proteins and Dysregulation of Apoptosis in Jurkat Tumor Cells. *Bull Exp Biol Med.* 2017; 164(2): 199–202. doi: 10.1007/s10517-017-3957-x.
14. Šalamon Š., Kramar B., Marolt T.P., Poljšak B., Milisav I. Medical and Dietary Uses of N-Acetylcysteine. *Antioxidants (Basel).* 2019 Apr 28; 8(5): 111. doi: 10.3390/antiox8050111.
15. Kojima S., Nakayama K., Ishida H. Low dose gamma-rays activate immune functions via induction of glutathione and delay tumor growth. *J Radiat Res.* 2004 Mar; 45(1): 33–9. doi: 10.1269/jrr.45.33.
16. Burchill B.R., Oliver J.M., Pearson C.B., Leinbach E.D., Berlin R.D. Microtubule dynamics and glutathione metabolism in phagocytizing human polymorphonuclear leukocytes. *J Cell Biol.* 1978; 76(2): 439–47. doi: 10.1083/jcb.76.2.439.
17. Арутюнян А.В., Дубинина Е.Е., Зыбина Н.Н. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты организма. СПб.; 2000. 103 с. [Arutyunyan A.V., Dubinina E.E., Zybinina N.N. Methods of assessing free radical oxidation and antioxidant defense of the body. Saint-Peterburg; 2000. 103 p. (in Russian)].
18. Bradford M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem.* 1976 May 7; 72: 248–54. doi: 10.1006/abio.1976.9999.
19. Merritt J.E., McCarthy S.A., Davies M.P., Moores K.E. Use of fluo-3 to measure cytosolic Ca²⁺ in platelets and neutrophils. Loading cells with the dye, calibration of traces, measurements in the presence of plasma, and buffering of cytosolic Ca²⁺. *Biochem. J.* 1990; 269(2): 513–9. doi: 10.1042/bj2690513.
20. Gomes A., Fernandes E., Lima J.L. Fluo rescence probes used for detection of reactive oxygen species. *J Biochem Biophys Methods.* 2005 Dec 31; 65(2–3): 45–80. doi: 10.1016/j.jbbm.2005.10.003.
21. Briehl M.M., Tome M.E., Wilkinson S.T., Jaramillo M.C., Lee K. Mitochondria and redox homeostasis as chemotherapeutic targets. *Biochem Soc Trans.* 2014 Aug; 42(4): 939–44. doi: 10.1042/BST20140087.
22. Munro D., Treberg J.R. A radical shift in perspective: mitochondria as regulators of reactive oxygen species. *J Exp Biol.* 2017; 220(Pt 7): 1170–80. doi: 10.1242/jeb.132142.
23. Wang Y., Xia Y., Lu Z. Metabolic features of cancer cells. *Cancer Commun. (Lond).* 2018 Oct 30; 38(1): 65. doi: 10.1186/s40880-018-0335-7.
24. Xiao M., Zhong H., Xia L., Tao Y., Yin H. Pathophysiology of mitochondrial lipid oxidation: Role of 4-hydroxynonenal (4-HNE) and other bioactive lipids in mitochondria. *Free Radic Biol Med.* 2017 Oct; 111: 316–327. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2017.04.363.
25. Zou Z., Chang H., Li H., Wang S. Induction of reactive oxygen species: an emerging approach for cancer therapy. *Apoptosis.* 2017 Nov; 22(11): 1321–1335. doi: 10.1007/s10495-017-1424-9.
26. Орлов Д.С., Рязанцева Н.В., Степовая Е.А., Носарева О.Л., Шахристова Е.В., Иванов В.В. Редокс-зависимые механизмы дисрегуляции апоптоза опухолевых клеток при гипоксии. Сибирский научный медицинский журнал. 2017; 37(1): 21–26. [Orlov D.S., Ryzantseva N.V., Stepovaya E.A., Nosareva O.L., Shakhristova E.V., Ivanov V.V. Mechanisms of apoptosis dysregulation in cancer cells under the conditions of redox status modulation. *Siberian Scientific Medical Journal.* 2017; 37(1): 21–26. (in Russian)]. doi: 10.21294/1814-4861-2016-15-6-42-47.

Поступила/Received 05.08.2019

Принята в печать/Accepted 11.10.2019

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Носарева Ольга Леонидовна, доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры биохимии и молекулярной биологии с курсом клинической лабораторной диагностики, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Томск, Россия). E-mail: olnosareva@yandex.ru. SPIN-код: 5688-7566. Researcher ID (WOS): E-7153-2016. Author ID (Scopus): 22955735900. ORCID: 0000-0002-7441-5554.

Орлов Дмитрий Сергеевич, ассистент кафедры биохимии и молекулярной биологии с курсом клинической лабораторной диагностики, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Томск, Россия). SPIN-код: 3625-3717. Researcher ID (WOS): B-9329-2017. Author ID (Scopus): 56478510500. ORCID: 0000-0001-7525-0176.

Шахристова Евгения Викторовна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры биохимии и молекулярной биологии с курсом клинической лабораторной диагностики, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Томск, Россия). SPIN-код: 8125-6414. Researcher ID (WOS): F-9564-2015. Author ID (Scopus): 42762264000. ORCID: 0000-0003-2938-1137.

Степовая Елена Алексеевна, доктор медицинских наук, профессор кафедры биохимии и молекулярной биологии с курсом клинической лабораторной диагностики, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Томск, Россия). SPIN-код: 5562-4522. Researcher ID (WOS): N-4039-2016. Author ID (Scopus): 6603230755. ORCID: 0000-0001-9339-6304.

Садыкова Анна Алексеевна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры биохимии и молекулярной биологии с курсом клинической лабораторной диагностики, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Томск, Россия). SPIN-код: 1275-9603. Researcher ID (WOS): E-5929-2018. Author ID (Scopus): 57207964294. ORCID: 0000-0003-4093-4927.

ВКЛАД АВТОРОВ

Носарева Ольга Леонидовна: анализ научной работы, составление черновика рукописи, набор экспериментального материала, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Орлов Дмитрий Сергеевич: набор экспериментального материала, статистическая обработка, составление черновика рукописи.

Шахристова Евгения Викторовна: анализ научной работы, составление черновика рукописи, набор экспериментального материала, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Степовая Елена Алексеевна: разработка концепции научной работы, анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Садыкова Анна Алексеевна: анализ научной работы, составление черновика рукописи.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы объявляют, что у них нет конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Olga L. Nosareva, MD, DSc, Professor of the Division of Biochemistry and Molecular Biology with Clinical Laboratory Diagnostics, Siberian State Medical University (Tomsk, Russia). E-mail: olnosareva@yandex.ru. Researcher ID (WOS): E-7153-2016. Author ID (Scopus): 22955735900. ORCID: 0000-0002-7441-5554.

Dmitry S. Orlov, Assistant of the Division of Biochemistry and Molecular Biology with Clinical Laboratory Diagnostics Siberian State Medical University (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): B-9329-2017. Author ID (Scopus): 56478510500. ORCID: 0000-0001-7525-0176.

Evgeniya V. Shakhristova, MD, PhD, Associate Professor of the Division of Biochemistry and Molecular Biology with Clinical Laboratory Diagnostics, Siberian State Medical University (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): F-9564-2015. Author ID (Scopus): 42762264000. ORCID: 0000-0003-2938-1137.

Elena A. Stepovaya, MD, DSc, Professor, Division of Biochemistry and Molecular Biology with Clinical Laboratory Diagnostics Siberian State Medical University (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): N-4039-2016. Author ID (Scopus): 6603230755. ORCID: 0000-0001-9339-6304.

Anna A. Sadykova, MD, PhD, Associate Professor of the Division of Biochemistry and Molecular Biology with Clinical Laboratory Diagnostics Siberian State Medical University (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): E-5929-2018. Author ID (Scopus): 57207964294. ORCID: 0000-0003-4093-4927.

AUTHOR CONTRIBUTION

Olga L. Nosareva: analysis of the study results, drafting of the manuscript, data collection, critical revision for the important intellectual content.

Dmitry S. Orlov: data collection, statistical data analysis, drafting of the manuscript.

Evgenija V. Shakhristova: analysis of the study results, drafting of the manuscript, data collection, critical revision for the important intellectual content.

Elena A. Stepovaya: concept design, analysis of the study results, critical revision for the important intellectual content.

Anna A. Sadykova: analysis of the study results, drafting of the manuscript.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

Для цитирования: *Филонова М.В., Федорова Е.П., Дубская Т.Ю., Неупокоева О.В., Чурин А.А.* Влияние цисплатина на показатели гемостаза экспериментальных животных. Сибирский онкологический журнал. 2020; 19(3): 109–115. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-3-109-115.

For citation: *Filonova M.V., Fedorova E.P., Dubskaya T.Yu., Neupokoeva O.V., Churin A.A.* Effect of cisplatin on hemostasis in experimental animals. Siberian Journal of Oncology. 2020; 19(3): 109–115. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-3-109-115.

ВЛИЯНИЕ ЦИСПЛАТИНА НА ПОКАЗАТЕЛИ ГЕМОСТАЗА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ

**М.В. Филонова^{1,2}, Е.П. Федорова¹, Т.Ю. Дубская¹, О.В. Неупокоева¹,
А.А. Чурин^{1,2}**

Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины
им. Е.Д. Гольдберга, Томский национальный исследовательский медицинский центр
Российской академии наук, г. Томск, Россия¹

Россия, 634028, г. Томск, пр. Ленина, 3. E-mail: Maria-Caurus7@yandex.ru¹

Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск, Россия²
Россия, 634050, г. Томск, пр. Ленина, 36²

Аннотация

Введение. Одно из лидирующих мест среди причин смерти онкологических больных занимают тромботические осложнения, вызванные как самой опухолью, так и последствиями ее лечения. Разработка модели патологии гемостаза, в частности избыточного патологического тромбообразования у экспериментальных животных на фоне введения противоопухолевых препаратов, в перспективе позволит провести поиск новых патогенетически обоснованных фармакологических способов коррекции нарушений в системе свертывания крови. **Целью исследования** явилось изучение влияния цисплатина на показатели коагуляционного звена гемостаза экспериментальных мышей и крыс. **Результаты.** В эксперименте на аутбредных мышах было показано, что на 10-е сут после введения цисплатина в максимально переносимой дозе (10 мг/кг) наблюдалось снижение показателей активированного парциального тромбопластинового времени (АПТВ, сек), протромбинового времени (ПВ, сек), международного нормализованного отношения (МНО), а также возрастание концентрации фибриногена. На 15-е сут исследования отмечалось значимое уменьшение ПВ, МНО и АПТВ только у самок мышей. Введение цисплатина аутбредным крысам в максимально переносимой дозе 4 мг/кг также вызывало снижение ПВ и МНО, АПТВ и повышение концентрации фибриногена на 10-е сут. У крыс на 15-е сут исследования наблюдалось значимое снижение показателей ПВ и АПТВ как у самок, так и у самцов. **Заключение.** Изменение показателей ПВ и МНО, АПТВ в сторону уменьшения, а также увеличение концентрации фибриногена свидетельствуют о запуске процессов тромбообразования.

Ключевые слова: цисплатин, аутбредные мыши, аутбредные крысы, коагуляционный гемостаз, тромбообразование.

EFFECT OF CISPLATIN ON HEMOSTASIS IN EXPERIMENTAL ANIMALS

**M.V. Filonova^{1,2}, E.P. Fedorova¹, T.Yu. Dubskaya¹, O.V. Neupokoeva¹,
A.A. Churin^{1,2}**

Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine, Tomsk National Research
Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia¹

3, Lenina Avenue, Tomsk-634028, Russia. E-mail: Maria-Caurus7@yandex.ru¹

National Research Tomsk State University, Russia, Tomsk²

36, Lenina Avenue, Tomsk-634050, Russia²

Abstract

Introduction. Thrombotic complications caused by the tumor and consequences of its treatment are the leading causes of death in cancer patients. The development of a model for the pathology of hemostasis, in particular the excessive pathological clot formation, in the laboratory animals receiving antitumor agents, could help find new pharmacological methods for correcting hemostatic disorders. **The purpose of the study** was to study the effect of cisplatin on the blood coagulation system in mice and rats. **Results.** An experiment using outbred mice showed that the levels of PT-INR and aPTT were decreased and the level of fibrinogen was increased on day 10 after administration of cisplatin in the maximum tolerated dose of 10 mg/kg. A significant decrease in the PT-INR and aPTT levels was observed on day 15 after cisplatin injection only in female mice. The cisplatin injection at a dose of 4 mg/kg resulted in a decrease in the PT-INR, and aPTT levels and an increase in fibrinogen concentration on day 10. In rats, a significant decrease in the PT and aPTT levels was observed in both females and males on day 15 after cisplatin injection. **Conclusion.** A change in the PT and INR, aPTT levels towards decrease and fibrinogen concentration towards increase indicates the initiation of thrombus formation.

Key words: cisplatin, outbred mice, outbred rats, coagulative hemostasis, thrombus formation.

Введение

Одной из основных причин смертности онкологических больных являются последствия нарушений свертывающей системы крови, в частности тромбозы. Показано, что при онкологических заболеваниях риск тромбоза повышается в 4,1 раза. Известно, что раковые клетки оказывают протромботическое действие на их микроокружение напрямую вследствие высвобождения прокоагулянтов и косвенно за счет выделения цитокинов и других соединений, активирующих тромбоциты, лейкоциты и эндотелиальные клетки [1, 2].

Применение химиотерапии увеличивает риск тромботических осложнений в 6,5 раз, причем этот показатель зависит от схемы химиотерапии и ряда других факторов [3, 4]. Возникновение тромбозов у онкологических больных приводит к отсроченному проведению химиотерапии, а в некоторых случаях и к отказу от нее [2, 3].

Во многих схемах лечения онкологических заболеваний различной локализации используется цисплатин, побочными эффектами которого являются нефротоксические, гепатотоксические, кардиотоксические, нейротоксические и аллергические реакции, а также миелосупрессия, ото- и гастротоксичность [5–7]. Цисплатинсодержащие схемы химиотерапии могут являться одним из факторов риска нарушения свертываемости крови, вызывая тромбозы артерий и/или вен [5, 6, 8, 9].

Анализ литературы позволяет сделать заключение, что цисплатин можно использовать для моделирования процессов тромбообразования на фоне химиотерапии. Данная модель позволит провести поиск путей фармакологической коррекции нарушений системы гемостаза, что будет способствовать оптимизации лекарственной терапии онкологических больных.

Цель исследования – изучить влияние цисплатина на показатели коагуляционного звена гемостаза экспериментальных мышей и крыс.

Материал и методы

Исследование проведено на 40 мышах (самцы и самки) линии CD 1 массой 20–30 г и 40 крысах (самцы и самки) стока SD массой 200–300 г (питомник НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга, сертификат здоровья имеется). Мышей содержали в неполной барьерной системе в соответствии с правилами, принятыми Европейской Конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей [10]. Содержание животных и дизайн экспериментов были одобрены Комиссией по биоэтике НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга.

Для моделирования нарушений свертывающей системы крови цисплатин (Cisplatin-LANS, ЛЭНС-ФАРМ ООО, Россия) вводили внутривенно однократно в максимально переносимой дозе (МПД): мышам – 10 мг/кг и крысам – 4 мг/кг. Контрольным животным в аналогичных условиях в эквивалентном объеме вводили физиологический раствор. Величину МПД установили в предварительных исследованиях.

Исследование показателей проводилось на 5, 10, 15-е сут после введения цитостатика. Забор крови осуществлялся в пластиковые пробирки путем пункции сердца. В качестве стабилизатора крови использовался 3,8 % раствор цитрата натрия в соотношении 9:1. Кровь центрифугировали для получения плазмы в течение 15 мин на 3000 об/мин. Исследование показателей системы коагуляционного гемостаза выполнялось на полуавтоматическом коагулометре Helena C-4 (Helena Biosciences Europe, Великобритания) с использованием реактивов фирмы «Технология-Стандарт» (г. Барнаул, Россия). Нарушение активности коагуляционного звена системы гемостаза определяли по изменению следующих показателей: активированное парциальное тромбопластиновое время (АПТВ, сек), протромбиновое время (ПВ, сек), международное нормализованное отношение (МНО), концентрация фибриногена, г/л.

Анализ полученных результатов исследования проводился с применением описательной статистики с расчетом среднего значения и стандартной ошибки среднего. Статистическая обработка полученных результатов проводилась с использованием пакета программ Statistica 6. Оценка межгрупповых различий проводилась с помощью непараметрического критерия Манна–Уитни. Различия определялись при 0,05 % уровне достоверности и обозначены маркером – *.

Результаты

При введении цисплатина в МПД у мышесамок на 10-е сут исследования наблюдалось значимое увеличение содержания фибриногена на 103 % в сравнении с контрольными величинами (рис. 1). В этот же период исследования было отмечено сокращение АПТВ на 51 % в сравнении с соответствующим показателем группы контроля. Показатели ПВ и МНО на 10-е сут были снижены на 27 и 28 % соответственно. Со стороны ПВ и МНО наиболее выраженное снижение значений показателей было отмечено на 15-е сут исследования – на 30 и 34 %, тогда как АПТВ снизился на 42 % относительно контрольных значений.

При введении цисплатина мышам-самцам в МПД значимые отличия от показателей контроля выявлялись только на 10-е сут (рис. 2). В данный период исследования наблюдалось увеличение концентрации фибриногена на 82 % относительно значений контрольных животных. Также отмечалось снижение ПВ и МНО на 32 % и 34 % в сравнении с соответствующими показателями группы контроля. Значение показателя АПТВ на 10-е сут было ниже контрольных величин на 24 %.

У крыс при введении цисплатина в динамике показателей наблюдалась тенденция, сходная с таковой у мышей. При использовании цисплатина у крыс-самок в МПД на 10-е сут наблюдалось зна-

чимое увеличение концентрации фибриногена – на 40 % по сравнению с контрольными показателями (рис. 3). В указанный период исследования также было выявлено уменьшение значений ПВ и МНО на 42 % и 47 % относительно показателей группы контроля. Значение АПТВ на 10-е сут сократилось на 30 % по сравнению с контрольными значениями. На 15-е сут значение ПВ практически не изменилось, и снижение составило также 40 %, значение МНО было ниже контрольных значений, однако значимых отличий не наблюдалось. Показатель АПТВ на 15-е сут также практически не изменился, и снижение составило 29 % относительно показателей контроля.

При введении цисплатина крысам-самцам на 10 и 15-е сут было отмечено достоверное снижение ПТ – на 24 % и 42 %, МНО – на 29 % и 48 % в сравнении с соответствующими показателями группы контроля (рис. 4). Уменьшение значения АПТВ на 24 % наблюдалось как на 10-е, так и на 15-е сут в сравнении с соответствующими показателями группы контроля.

Обсуждение

Цитостатическое действие цисплатина основано на способности сшивать пуриновые основания ДНК, вмешиваясь в механизмы репарации и повреждая ДНК, впоследствии вызывая апоптотическую гибель клеток [6, 11]. Цисплатин усваивается и накапливается преимущественно в клетках печени и почек, вызывая каскады воспалительного и окислительного стресса, индуцируя образование активных форм кислорода (АФК) [6, 12].

Ферменты печени CYP450, участвуя в биотрансформации цитостатиков, играют важную роль в вызываемом лекарственными средствами развитии гепатотоксичности и нефротоксичности. Главным образом CYP2E1 из семейства цитохромов P450 за счет взаимодействия с цисплатином

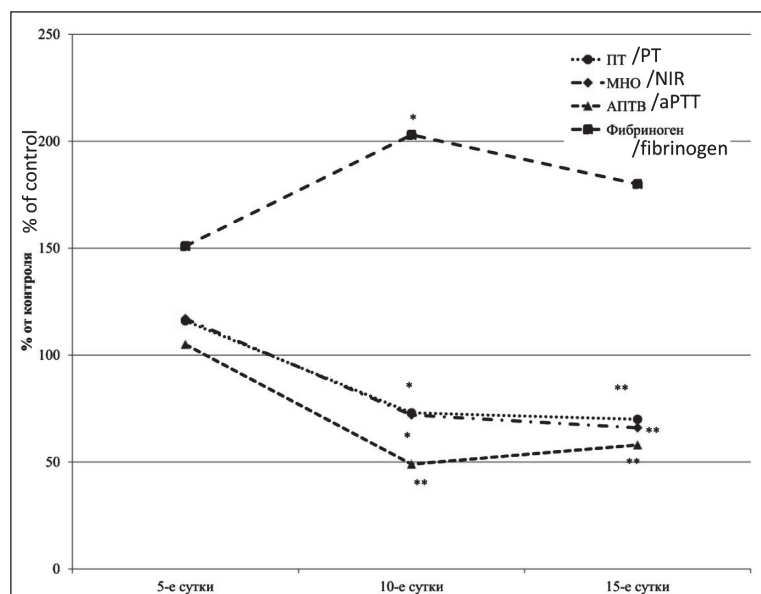


Рис. 1. Влияние цисплатина при однократном введении в МПД на показатели гемостаза самок мышей

Fig. 1. The effect of cisplatin after a single injection in the MPD on hemostasis indicators of female mice

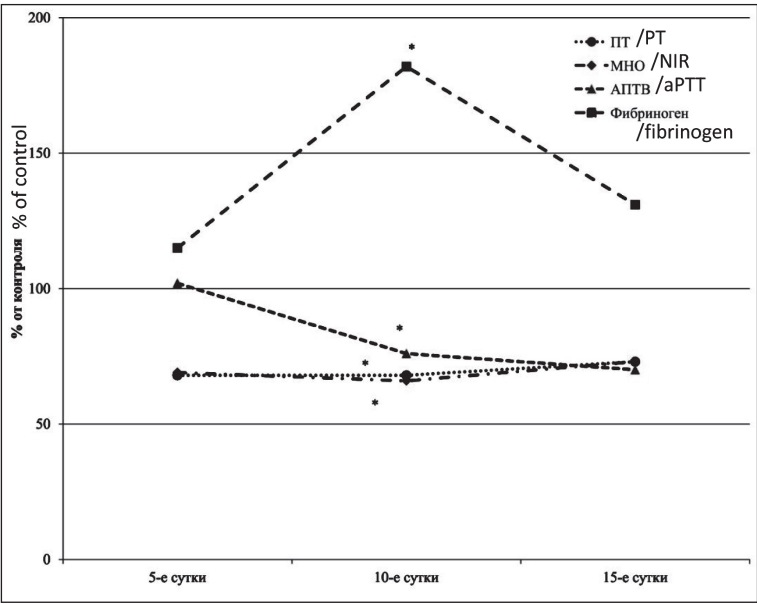


Рис. 2. Влияние цисплатина при однократном введении в МПД на показатели гемостаза самцов мышей

Fig. 2. The effect of cisplatin after a single injection in the MPD on hemostasis indicators of male mice

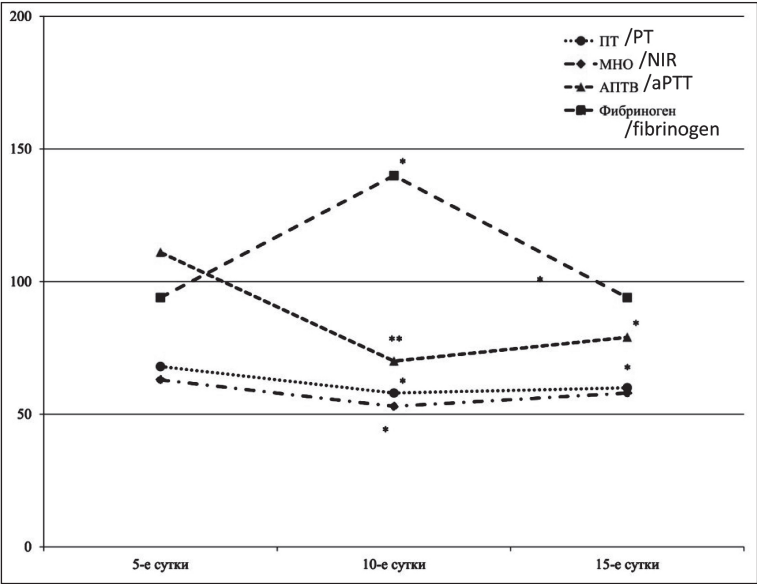


Рис. 3. Влияние цисплатина при однократном введении в МПД на показатели гемостаза самок крыс

Fig. 3. The effect of cisplatin after a single injection in the MPD on hemostasis indicators in female rats

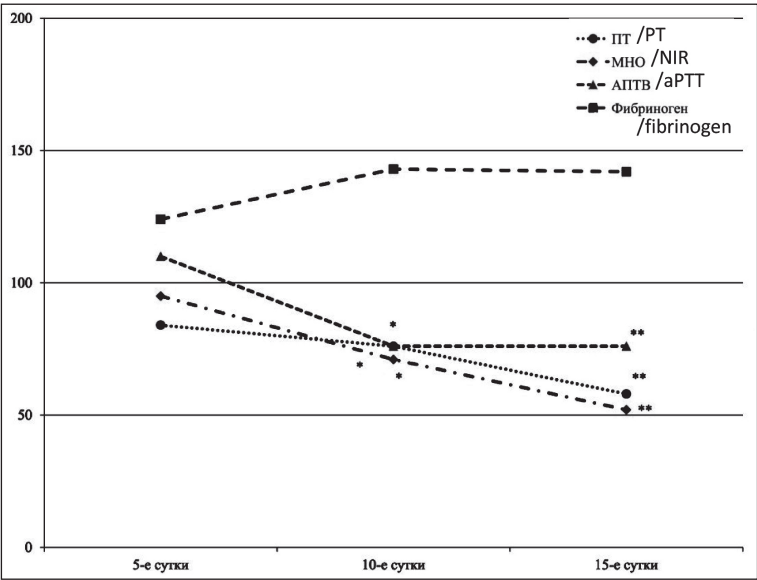


Рис. 4. Влияние цисплатина при однократном введении в МПД на показатели гемостаза самцов крыс

Fig. 4. Effect of cisplatin after a single injection in the MPD on hemostasis rates in male rats

вызывает образование АФК [13], что усиливает гепатотоксичность цисплатина [6]. Печень является местом синтеза фибриногена, факторов II, V, VII, IX, X, XI, XII, а также VIII, поэтому токсическое действие цисплатина на печень приводит также к сложным комплексным нарушениям в системе гемостаза [14], в частности к повышенной гиперкоагуляции и образованию тромбов.

Помимо гепатотоксичности (стеатоз и холестаз) [15], цисплатин вызывает повреждение эндотелия, приводящее к дисфункции эндотелиальных клеток и повышению уровня фактора Виллебранда в плазме, а также к снижению фибринолитической активности [16], что влечет за собой комплексные нарушения системы гемостаза. Чрезмерная продукция АФК вследствие введения цисплатина вызывает дисбаланс антиоксидантов, стимуляцию перекисного окисления липидов и повреждение клеток, в частности кровеносных сосудов [11, 17]. Следствием этого является выделение в кровь тканевого фактора, который активирует фактор VII, что приводит к активации фактора X и запускает процессы свертывания крови [18]. Этот «внешний» путь активации отражают показатели ПВ и МНО, снижение уровня которых указывает на гиперреактивность факторов свертывания (что может быть обусловлено гиперфибриногенемией) и свидетельствует о гиперкоагуляции и риске тромбозов.

Снижение АПТВ характеризует ускоренное образование активного комплекса протромбиназы, под влиянием которой происходит превращение II фактора из неактивной формы (протромбин) в активную (тромбин), что соответствует внутреннему механизму коагуляции. При повреждении эндотелия кровеносных сосудов запускается внутренний механизм вследствие активации плазмен-

ного фактора XII на мембране тромбоцитов. Таким образом, активация каскада плазменных факторов (XI, IX, VIII) приводит к активации фактора X, дальнейшее развитие механизма свертывания идет по одному пути [18]. В проведенном исследовании снижение ПВ и АПТВ указывает на активацию как «внешнего», так и «внутреннего» механизма свертывания крови. В результате образующийся тромбин катализирует превращение фибриногена в фибрин, который составляет основу кровяного сгустка [18]. Таким образом, повышение концентрации фибриногена, так же как и снижение ПВ и АПТВ, свидетельствует о претромботическом состоянии и высоком риске развития тромбообразования на фоне действия цисплатина.

Заключение

Таким образом, при введении цисплатина в МПД мышам и крысам на 10-е сут исследования наблюдается сокращение протромбинового времени, активированного парциального тромбопластинного времени и увеличение концентрации фибриногена. На 15-е сут на фоне действия цисплатина у крыс зафиксировано снижение ПВ и АПТВ, у мышей подобные значимые изменения наблюдались только в группе самок. Значимое снижение ПВ и АПТВ, а также увеличение концентрации фибриногена свидетельствуют о гиперкоагуляционном сдвиге и повышении риска тромбообразования у экспериментальных животных в выбранных условиях наблюдения. Таким образом, предложенная схема введения цисплатина экспериментальным животным может использоваться в качестве модели патологии гемостаза.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Donnellan E., Khorana A.A. Cancer and Venous Thromboembolic Disease: A Review. *Oncologist*. 2017; 22(2): 199–207. doi: 10.1634/theoncologist.2016-0214.
2. Сомонова О.В., Маджуга А.В., Елизарова А.Л. Тромбозы и тромбоземболии в онкологии. Современный взгляд на проблему. *Злокачественные опухоли*. 2014; 3(10): 172–176. [Somonova O.V., Majuga A.V., Elizarova A.L. Thrombosis and thromboembolism in oncology. A modern view of the problem. *Malignant Tumors*. 2014; 3(10): 172–176. (in Russian)].
3. Khorana A.A., Kuderer N.M., Culakova E., Lyman G.H., Francis C.W. Development and validation of a predictive model for chemotherapy-associated thrombosis. *Blood*. 2008; 111(10): 4902–07. doi: 10.1182/blood-2007-10-116327.
4. Olgun D.C., Bakan S., Samanci C., Tutar O., Demiryas S., Korkmaz B., Kantarci F. Simultaneous thrombosis of superior mesenteric artery and superior mesenteric vein following chemotherapy: MDCT findings. *Jpn J Radiol*. 2014 Feb; 32(2): 113–6. doi: 10.1007/s11604-013-0273-x.
5. Khosla S., Kennedy L., Abdulaal Y. Cisplatin induced acutemesenteric ischaemia: A case report and review of the literature. *International journal of surgery case reports*. 2017; 41: 347–351. doi: 10.1016/j.ijscr.2017.11.007.
6. Dasari S., Tchounwou P.B. Cisplatin in cancer therapy: molecular mechanisms of action. *Eur J Pharmacol*. 2014; 740: 364–78. doi: 10.1016/j.ejphar.2014.07.025.
7. Topal İ., Özbeke Bilgin A., Keskin Çimen F., Kurt N., Süleyman Z., Bilgin Y., Özçelik A., Altuner D. The effect of rutin on cisplatin-induced oxidative cardiac damage in rats. *Anatol J Cardiol*. 2018 Sep; 20(3): 136–142. doi: 10.14744/AnatolJCardiol.2018.32708.
8. Lü C.F., Yu H.J., Hou J.X., Zhou J. Increased procoagulant activity of red blood cells in the presence of cisplatin. *Chin Med J (Engl)*. 2008; 121(18): 1775–80.
9. Sato C., Okuda K., Tamiya H., Yamamoto K., Hoshina K., Narumoto O., Urushiyama H., Noguchi S., Amano Y., Watanabe K., Mitani A., Kage H., Tanaka G., Yamauchi Y., Takai D., Nagase T. Acute Arterial Thrombosis during Postoperative Adjuvant Cisplatin-based Chemotherapy for Completely Resected Lung Adenocarcinoma. *Intern Med*. 2018 Feb 15; 57(4): 557–561. doi: 10.2169/internalmedicine.8996-17.
10. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes [Internet]. URL: <https://www.coe.int/tu/web/conventions/full-list/conventions/rms/090000168007a67b> (cited 30.04.2019).
11. Gong C., Qian L., Yang H., Ji L.L., Wei H., Zhou W.B., Qi C., Wang C.H. Hepatotoxicity and pharmacokinetics of cisplatin in combination therapy with a traditional Chinese medicine compound of Zengmian Yiliu granules in ICR mice and SKOV-3-bearing nude mice. *BMC Complement Altern Med*. 2015 Aug 18; 15: 283. doi: 10.1186/s12906-015-0799-9.
12. Omar H.A., Mohamed W.R., Arab H.H., Arafa el-S.A. Tangeretin Alleviates Cisplatin-Induced Acute Hepatic Injury in Rats: Targeting MAPKs and Apoptosis. *PLoS One*. 2016; 11(3): e0151649. doi: 10.1371/journal.pone.0151649.
13. Quintanilha J.C.F., de Sousa V.M., Visacri M.B., Amaral L.S., Santos R.M.M., Zambrano T., Salazar L.A., Moriel P. Involvement of cytochrome P450 in cisplatin treatment: implications for toxicity. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2017 Aug; 80(2): 223–233. doi: 10.1007/s00280-017-3358-x.
14. Минов А.Ф., Дзядзько А.М., Руммо О.О. Нарушения гемостаза при заболеваниях печени. *Вестник трансплантологии и искусственных*

органов. 2010; 12(2): 82–91. [Minov A.F., Dzyadko A.M., Rummo O.O. Hemostatic disorders in liver diseases. Russian Journal of Transplantation and Artificial Organs. 2010; 12(2): 82–91. (in Russian)..

15. Floyd J., Mirza I., Sachs B., Perry M.C. Hepatotoxicity of chemotherapy. Semin Oncol. 2006 Feb; 33(1): 50–67. doi: 10.1053/j.semincol.2005.11.002.

16. Heinrich N., Born M., Hoeberl E., Verrel F., Simon A., Bode U., Fleischhack G. Aortobifemoral embolism in an 18-year old patient following cisplatin and 5-fluorouracil chemotherapy for nasopharyngeal carcinoma. Vasa. 2010 Aug; 39(3): 271–3. doi: 10.1024/0301-1526/a000042.

17. Dkhil M.A., Al-Quraishy S., Aref A.M., Othman M.S., El-Deib K.M., Abdel Moneim A.E. The potential role of Azadirachta indica treatment on cisplatin-induced hepatotoxicity and oxidative stress in female rats. Oxid Med Cell Longev. 2013; 2013: 741817. doi: 10.1155/2013/741817.

18. Галстян Г.М., Суханова Г.А. Введение в гемостаз, современные препараты крови и их влияние на коагуляцию. Медицинский совет. 2013; 5–6: 11–16. [Galstyan G.M., Sukhanova G.A. Introduction to hemostasis, modern blood products and their effect on coagulation. Meditsinskiy sovet = Medical Council. 2013; 5–6: 11–16. (in Russian)].

Поступила/Received 30.04.2019

Принята в печать/Accepted 12.07.2019

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Филонова Мария Васильевна, лаборант-исследователь лаборатории лекарственной токсикологии, Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины им. Е.Д. Гольдберга, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук; аспирант, ассистент кафедры физиологии растений и биотехнологии, Национальный исследовательский Томский государственный университет (г. Томск, Россия). E-mail: Maria-Caurus7@yandex.ru. SPIN-код: 5983-7800. Researcher ID (WOS): V-2247-2017. Author ID (Scopus): 7801538052.

Федорова Елена Павловна, кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории лекарственной токсикологии, Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины им. Е.Д. Гольдберга, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 5373-4874. Researcher ID (WOS): J-2455-2017. Author ID (Scopus): 56927884700. ORCID: 0000-0001-6788-964X.

Дубская Татьяна Юрьевна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории лекарственной токсикологии, Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины им. Е.Д. Гольдберга, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 6476-9276. Researcher ID (WOS): J-1826-2017. Author ID (Scopus): 6507049571. ORCID: 0000-0002-0203-3768.

Неупокоева Оксана Владимировна, кандидат биологических наук, младший научный сотрудник лаборатории лекарственной токсикологии, Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины им. Е.Д. Гольдберга, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 2832-5836. Researcher ID (WOS): J-3805-2017. Author ID (Scopus): 36642768800. ORCID: 0000-0002-5732-0705.

Чурин Алексей Александрович, доктор медицинских наук, заведующий отделом лекарственной токсикологии, Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук; профессор кафедры физиологии растений и биотехнологии, Национальный исследовательский Томский государственный университет (г. Томск, Россия). SPIN-код: 8730-7188. Researcher ID (WOS): J-3206-2017. Author ID (Scopus): 55771081300. ORCID: 0000-0002-6088-7286.

ВКЛАД АВТОРОВ

Филонова Мария Васильевна: проведение экспериментов, подбор и анализ источников литературы по теме исследования, анализ полученных результатов, написание рукописи, оформление финального варианта рукописи статьи.

Федорова Елена Павловна: статистическая обработка материала, участие в написании рукописи.

Дубская Татьяна Юрьевна: участие в проведении экспериментального исследования по теме статьи.

Неупокоева Оксана Владимировна: участие в проведении экспериментального исследования по теме статьи.

Чурин Алексей Александрович: планирование и организация исследования, составление дизайна экспериментального исследования, анализ и обобщение полученных результатов, руководство проектом.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы объявляют, что у них нет конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Maria V. Filonova, Assistant Researcher, Laboratory of Drug Toxicology, Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences; Postgraduate, Assistant in Department of Plant Physiology and Biotechnology, Tomsk State University (Tomsk, Russia). E-mail: Maria-Caurus7@yandex.ru. Researcher ID (WOS): V-2247-2017.

Elena P. Fedorova, MD, PhD, Researcher, Laboratory of Drug Toxicology, Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): J-2455-2017. Author ID (Scopus): 56927884700. ORCID: 0000-0001-6788-964X.

Tatyana Yu. Dubskaya, MD, PhD, Senior Researcher, Laboratory of Drug Toxicology, Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): J-1826-2017. Author ID (Scopus): 6507049571. ORCID: 0000-0002-0203-3768.

Oksana V. Neupokoeva, PhD, Junior Researcher, Laboratory of Drug Toxicology, Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): J-3805-2017. Author ID (Scopus): 36642768800. ORCID: 0000-0002-5732-0705.

Alexey A. Churin, MD, DSc, Head of the Drug Toxicology Department, Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences; Professor in Department of Plant Physiology and biotechnology, Tomsk State University (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): J-3206-2017. Author ID (Scopus): 55771081300. ORCID: 0000-0002-6088-7286.

AUTHOR CONTRIBUTION

Maria V. Filonova: collection and analysis of literature data, analysis of results obtained, writing of the manuscript, final approval of the manuscript.

Elena P. Fedorova: statistical data analysis, writing of the manuscript.

Tatyana Yu. Dubskaya: participation in the experimental study.

Oksana V. Neupokoeva: participation in the experimental study.

Alexey A. Churin: planning of the study, study design and conception, data analysis and interpretation, critical revision for the important intellectual content.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

DOI: 10.21294/1814-4861-2020-19-3-116-121
УДК: 616.37-006.66-08-072.1:615.28

Для цитирования: Шабунин А.В., Тавобилов М.М., Лебедев С.С., Коржева И.Ю., Карпов А.А., Ланцынова А.В. Выбор способа эндоскопического стентирования у пациентов с нерезектабельной аденокарциномой головки поджелудочной железы. Сибирский онкологический журнал. 2020; 19(3): 116–121. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-3-116-121.

For citation: Shabunin A.V., Tavobilov M.M., Lebedev S.S., Korzheva I.Yu., Karpov A.A., Lantsynova A.V. The choice of the method of endoscopic stenting in patients with unresectable adenocarcinoma of the pancreatic head. Siberian Journal of Oncology. 2020; 19(3): 116–121. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-3-116-121.

ВЫБОР СПОСОБА ЭНДСКОПИЧЕСКОГО СТЕНТИРОВАНИЯ У ПАЦИЕНТОВ С НЕРЕЗЕКТАБЕЛЬНОЙ АДЕНОКАРЦИНОМой ГОЛОВКИ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

А.В. Шабунин^{1,2}, М.М. Тавобилов^{1,2}, С.С. Лебедев^{1,2}, И.Ю. Коржева²,
А.А. Карпов², А.В. Ланцынова²

ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования»
Минздрава РФ, г. Москва, Россия¹

Россия, 125993, г. Москва, ул. Баррикадная, 2/1. E-mail: lebedevssd@yandex.ru¹

ГБУЗ «ГКБ им. С.П. Боткина» Департамента здравоохранения города Москвы, г. Москва, Россия²
Россия, 125284, г. Москва, 2-й Боткинский пр-д, 5²

Аннотация

Цель исследования заключалась в сравнительном анализе эндоскопического стентирования пластиковым или нитиноловым стентом у пациентов с нерезектабельной аденокарциномой головки поджелудочной железы, которые впоследствии получали системную химиотерапию. **Материал и методы.** В Боткинской больнице за период с 2014 по 2018 г. выполнено ретроградное стентирование у 64 пациентов, которым в последующем проводилась химиотерапия. Пациенты были разделены на две группы: 21 больному было выполнено стентирование нитиноловым стентом и 43 – стентирование пластиковым стентом. **Результаты.** Технический успех в первой группе больных составил 91,3 %, во второй – 93,5% ($p=0,324$); клинический успех – 95,2 % и 90,6 % соответственно ($p=0,218$). Количество осложнений по классификации Clavien–Dindo в первой группе: II – 2 (9,5 %), III – 1 (4,5 %), IV – 2 (9,5 %); во второй группе: II – 4 (9,3 %), III – 4 (9,3 %), IV – 1 (2,3 %). Средняя продолжительность химиотерапии составила 127,3 дня. Дисфункция стента в первой группе наблюдалась у 5 (23,8 %) пациентов, во второй – у 24 (55,8 %) больных ($p=0,026$). Средний период функционирования стента – $108 \pm 5,2$ и $64 \pm 4,3$ дня соответственно ($p=0,034$). Медиана выживаемости в первой группе: 5 пациентов – 100 дней, 9 пациентов – 120 дней, 5 пациентов – 150 дней, 2 пациента живы; во второй группе: 10 пациентов – 100 дней, 16 пациентов – 120 дней, 13 пациентов – 150 дней, 5 пациентов живы. **Заключение.** На основании полученных результатов целесообразно рекомендовать использование нитиноловых стентов для разрешения механической желтухи у пациентов с нерезектабельной протоковой аденокарциномой головки поджелудочной железы, которым планируется проведение химиотерапии.

Ключевые слова: рак поджелудочной железы, механическая желтуха, эндоскопическое стентирование, нитиноловый стент.

THE CHOICE OF THE METHOD OF ENDOSCOPIC STENTING IN PATIENTS WITH UNRESECTABLE ADENOCARCINOMA OF THE PANCREATIC HEAD

A.V. Shabunin^{1,2}, M.M. Tavobilov^{1,2}, S.S. Lebedev^{1,2}, I.Yu. Korzheva²,
A.A. Karpov², A.V. Lantsynova²

Russian Medical Academy of Continuing Professional Education of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia¹

2/1, Barricadnaya Street, 125993, Moscow, Russia. E-mail: lebedevssd@yandex.ru¹

S.P. Botkin Municipal Clinical Hospital, Moscow, Russia²

2, 2nd Botkinsky Prospect, 125284, Moscow, Russia²

Abstract

The purpose of the study was to comparatively assess the endoscopic plastic or nitinol stenting in patients with unresectable adenocarcinoma of the pancreatic head, who subsequently received systemic chemotherapy. **Material and Methods.** Between 2014 and 2018, 64 patients underwent retrograde stenting followed by chemotherapy. All patients were divided into 2 groups. Group I consisted of 21 patients, who underwent nitinol stent implantation. Group II comprised 43 patients, who underwent plastic stent implantation. **Results.** The technical success was 91.3 % in group I and 93.5 % in group II ($p=0.324$); clinical success was 95.2 % in group I and 90.6 % in group II ($p=0.218$). Complications according to the Clavien–Dindo classification in group I patients: Grade II in 2 (9.5 %), Grade III in 1 (4.5 %), and Grade IV 2 in (9.5 %). In group II patients, these complications were as follows: Grade II in 4 (9.3 %), Grade III in 4 (9.3 %), and Grade IV in 1 (2.3 %). The median duration of chemotherapy was 127.3 days. Stent dysfunction was observed in 5 (23.8 %) patients of group I and in 24 (55.8 %) patients of group II ($p=0.026$). The median time of stent patency was 108 ± 5.2 days in group I and 64 ± 4.3 days in group II ($p=0.034$). In group I patients, the median survival time was 100 days in 5 patients, 120 days in 9 patients, and 150 days in 5 patients. Two patients are alive. In group II patients, the median survival time was 100 days in 10, 120 days in 16, and 150 days in 13. Five patients are alive. **Conclusion.** Based on the results obtained, it is advisable to recommend the use of nitinol stents for resolving obstructive jaundice in patients with unresectable ductal adenocarcinoma of the pancreatic head, who are scheduled to undergo chemotherapy.

Key words: pancreatic cancer, obstructive jaundice, endoscopic stenting, nitinol stent.

Актуальность

Рак поджелудочной железы в развитых странах мира занимает 4–5-е место среди причин смерти от онкологических заболеваний, причем на него приходится около 10 % всех опухолей пищеварительного тракта. Из пациентов с первично диагностированной аденокарциномой поджелудочной железы у 29 % имеется местнораспространенный процесс, у 52 % – отдаленные метастазы [1]. Оперативное вмешательство является единственным радикальным способом лечения, но оно возможно примерно у 20 % первичных пациентов [2]. Около половины впервые выявленных случаев рака поджелудочной железы локализовано в головке органа и сопровождается развитием механической желтухи [3]. Предпочтительным методом разрешения механической желтухи является эндоскопическое стентирование желчных протоков, которое возможно более чем у 90 % пациентов [4]. Следующим этапом лечения нерезектабельной протоковой аденокарциномы головки поджелудочной железы является химиотерапия. Однако дисфункция стента приводит к механической желтухе и холангиту, что

затрудняет проведение полноценной цитостатической терапии [5].

Цель исследования заключалась в сравнительном анализе эндоскопического стентирования пластиковым или нитиноловым стентом у пациентов с нерезектабельной аденокарциномой головки поджелудочной железы, которые впоследствии получали системную химиотерапию.

Материал и методы

В клинике Боткинской больницы (г. Москва) за период с 2014 по 2018 г. выполнено ретроградное стентирование у 64 пациентов с протоковой аденокарциномой головки поджелудочной железы, осложненной механической желтухой, которым в последующем в связи с распространенностью опухолевого процесса (нерезектабельность опухоли или наличие отдаленных метастазов) проводилась химиотерапия. Пациенты были разделены на две группы: 21 больному было выполнено стентирование нитиноловым стентом (1-я группа) и 43 – стентирование пластиковым стентом (2-я группа). Распределение больных в сравниваемых группах

не имело значимых различий по возрасту и полу, клинической стадии, локализации и протяженности стриктуры (табл. 1). Представленное исследование носило ретроспективный одноцентровый характер.

Выбор стента осуществляли с учетом уровня и протяженности опухолевого блока. Обязательным условием установки стента считали морфологическую верификацию (эндоскопическая тонкоигольная пункция или браш-биопсия, чрескожная биопсия поджелудочной железы и/или печени) и клиническое стадирование, подтверждающее нерезектабельность опухоли. Окончательные показания к стентированию устанавливались на онкологическом консилиуме. В 1-й группе выполняли стентирование нитиноловыми саморасширяющимися стентами без покрытия. Использовали нитиноловые саморасширяющиеся стенты длиной от 5 до 7 см и диаметром 8–10 мм. Во 2-й группе применяли пластиковые стенты диаметром 8,5 Fr. Стентирование осуществляли по общепринятой методике. При всех методиках стенты устанавливали транспапиллярно. Положение стентов контролировали рентгенологически. Контрольную рентгенографию с водорастворимым контрастом выполняли для оценки сроков его эвакуации.

Основным критерием оценки данного исследования был клинический успех в течение 2 нед после установки стента, который был определен как снижение уровня общего билирубина до нормальных показателей. Дополнительные критерии включали технический успех, показатель эффективности функционирования стента, количество осложнений и эффективность стента (которая определялась как период времени между установкой и возможной дисфункцией стента). Технический успех был определен как факт успешного размещения стента и его раскрытия в области опухолевой стриктуры. Дисфункцию стента подтверждали при рецидивировании клинических симптомов механической желтухи.

Для статистического анализа непрерывные переменные были выражены как среднее, медиана, стандартное отклонение, в то время как категориальные переменные были выражены как абсолютное количество и проценты. Критерий Уилкоксона использовали для оценки снижения билирубина по отношению к базовым показателям. Анализ Каплана–Мейера использовали для расчета общей выживаемости и проходимости стента. SAS версия 9.3 (SAS Institute, Cary, NC, США) использовали для проведения всех статистических анализов. Уровень значимости был установлен $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Технический успех был достигнут у 21 (91,3 %) из 23 пациентов при стентировании нитиноловым стентом и у 43 (93,5 %) из 46 – при стентировании пластиковым стентом. В случае неудачи ретро-

градного стентирования выполнялось чрескожное дренирование желчных протоков (эти пациенты из исследования были исключены) ($p=0,324$). Связанных с процедурой осложнений и летальности не отмечено. Клинический успех достигнут у 20 (95,2 %) пациентов 1-й группы и у 39 (90,6 %) – 2-й группы ($p=0,218$). У пациентов без клинического успеха не наблюдалось тенденции к снижению уровня билирубина при сохраняющейся билиарной гипертензии, что потребовало повторного эндоскопического вмешательства. Неэффективное функционирование нитинолового стента у пациента из 1-й группы связано с его недораскрытием – выполнена баллонная дилатация с хорошим эффектом. Из 4 больных второй группы неэффективное функционирование пластикового стента связано с его закупоркой билиарным сладжем. Всем больным выполнено рестентирование, у 3 – с положительным эффектом, у 1 – потребовалось повторное рестентирование.

При анализе динамики биохимических показателей крови до стентирования и через 14 дней после него (табл. 2) установлено, что нитиноловые стенты эффективнее пластиковых по темпам нормализации биохимических показателей функции печени. Через 14 дней после установки стентов в 1-й группе показатели общего билирубина, щелочной фосфатазы (ЩФ), аланинаминотрансферазы были значимо ниже, чем во 2-й группе. При этом количество осложнений в соответствии с классификацией по Clavien – Dindo в сравниваемых группах значимо не отличалось (табл. 3).

После стентирования пациенты обеих групп получали системную полихимиотерапию по схожим схемам, средняя продолжительность которой составила 127,3 дня. При этом установлено, что к этому времени развилась дисфункция стента у 5 (23,8 %) пациентов из 1-й группы и у 24 (55,8 %) – из 2-й группы ($p=0,026$). Средняя частота данных осложнений в первой группе составила 6 % в мес, во второй группе – 14 % в мес ($p=0,021$). Дисфункция стента в 1-й группе была связана с прорастанием непокрытого нитинолового стента. В этих случаях производилось стентирование саморасширяющимся стентом по методике «стент в стент» при прогнозируемой продолжительности жизни больных более 3 мес или стентирование пластиковым стентом при прогнозируемой продолжительности жизни менее 3 мес. У пациентов 2-й группы дисфункция стента развилась вследствие закупорки билиарным сладжем. Средний период функционирования стентов в 1-й группе составил $108 \pm 5,2$ дня, во 2-й – $64 \pm 4,3$ дня ($p=0,034$). Медиана выживаемости в 1-й группе: 5 пациентов – 100 дней, 9 – 120 дней, 5 больных – 150 дней, 2 пациента живы на момент представления статьи; во 2-й группе: 10 пациентов – 100 дней, 16 – 120 дней, 13 больных – 150 дней, 5 пациентов живы на момент описания результатов исследования.

Таблица 1/Table 1

Характеристика групп пациентов по возрасту, полу и уровню стриктуры
Characteristics of patient groups by age, gender and stricture level

Признаки/ Characteristics of patients	1-я группа/ Group I (n=21)	2-я группа/ Group II (n=43)
Средний возраст, лет/Median age, years	68,2 ± 4,1	71,3 ± 2,5
Пол (м/ж)/Gender (m/f)	12/9	23/20
Стадия опухолевого процесса по ВОЗ/Tumor stage according to WHO classification		
III	7	17
IV	14	26
Средний балл ECOG/Mean ECOG score	2,4 ± 0,8	2,1 ± 0,5
Средний уровень билирубинемии до стентирования, мкмоль/л / The average level of bilirubinemia before stenting, μmol/l	284 ± 8,2	311 ± 7,4

Таблица 2/Table 2

Показатели печеночной функции у пациентов исследуемых групп
Hepatic function parameters in patients of the studied groups

Показатель/Parameters	1-я группа/Group I		2-я группа/Group II		p
	До стентирования/ Before stenting	Через 14 дней после стентирования/ 14 days after stenting	До стентирования/ Before stenting	Через 14 дней после стентирования/ 14 days after stenting	
Билирубин общий, мкмоль/л / Total bilirubin, μmol/l	284 ± 8,2	34 ± 4,3	311 ± 7,4	72 ± 2,9	0,036
ЩФ, ед/л/ Alkaline phosphatase, u/l	487 ± 11,3	72 ± 3,1	434 ± 10,9	124 ± 2,2	0,045
АСТ, ед/л/ AST, units/l	191 ± 6,1	45 ± 3,6	176 ± 4,7	61 ± 3,1	0,084
АЛТ, ед/л/ ALT, units/l	325 ± 9,4	59 ± 2,9	294 ± 8,2	102 ± 2,7	0,039

Таблица 3/Table 3

Анализ осложнений по Clavien – Dindo в группах
Analysis of complications according to Clavien – Dindo in the groups

Осложнение по Clavien – Dindo/ Clavien-Dindo complications	1-я группа/ Group I (n=21)	2-я группа/ Group II (n=43)	p
II класс/II class	2 (9,5 %)	4 (9,3 %)	0,23
III класс/III class	1 (4,5 %)	4 (9,3 %)	0,11
IV класс/IV class	2 (9,5 %)	1 (2,3 %)	0,08
Итого/Total	5 (23,8 %)	9 (20,9 %)	0,18

Заключение

Полученные показатели клинического успеха – 95,2 % и 90,6 % в первой и второй группах соответственно – свидетельствуют о высокой эффективности данных способов декомпрессии. Этот факт указывает на то, что в ближайшем периоде после стентирования разница между функционированием пластикового и нитинолового стента незначительная. При сравнительной оценке отдаленных результатов функционирования выявлено преимущество нитиноловых стентов, поскольку при применении

пластиковых стентов отмечены значимо большее количество дисфункций и меньшая длительность эффективного функционирования. Эти результаты схожи с данными многоцентровых исследований [6]. Таким образом, для разрешения механической желтухи у пациентов с нерезектабельной протоковой аденокарциномой головки поджелудочной железы, которым планируется проведение химиотерапии, следует рекомендовать использование нитиноловых стентов.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Rawla P., Sunkara T., Gaduputi V. Epidemiology of Pancreatic Cancer: Global Trends, Etiology and Risk Factors. *World J Oncol.* 2019; 10(1): 10–27. doi: 10.14740/wjon1166.
2. McGuigan A., Kelly P., Turkington R.C., Jones C., Coleman H.G., McCain R.S. Pancreatic cancer: A review of clinical diagnosis, epidemiology, treatment and outcomes. *World J Gastroenterol.* 2018; 24(43): 4846–61. doi: 10.3748/wjg.v24.i43.4846.
3. Lee P.J., Podugu A., Wu D., Lee A.C., Stevens T., Windsor J.A. Preoperative biliary drainage in resectable pancreatic cancer: a systematic review and network meta-analysis. *HPB (Oxford).* 2018 Jun; 20(6): 477–486. doi: 10.1016/j.hpb.2017.12.007.
4. Boulay B.R., Parepally M. Managing malignant biliary obstruction in pancreas cancer: choosing the appropriate strategy. *World J Gastroenterol.* 2014; 20(28): 9345–9353. doi:10.3748/wjg.v20.i28.9345.
5. Matsumoto K., Kato H., Horiguchi S., Tsutsumi K., Saragai Y., Takada S., Mizukawa S., Muro S., Uchida D., Tomoda T., Okada H. Efficacy and safety of chemotherapy after endoscopic double stenting for malignant duodenal and biliary obstructions in patients with advanced pancreatic cancer: a single-institution retrospective analysis. *BMC Gastroenterol.* 2018 Oct 26; 18(1): 157. doi: 10.1186/s12876-018-0886-8.
6. Walter D., van Boeckel P.G., Groenen M.J., Weusten B.L., Witteman B.J., Tan G., Brink M.A., Nicolai J., Tan A.C., Alderliesten J., Veneman N.G., Laleman W., Jansen J.M., Bodelier A., Wolters F.L., van der Waaij L.A., Breumelhof R., Peters F.T., Scheffer R.C., Leenders M., Hirdes M.M., Steyerberg E.W., Vleggaar F.P., Siersema P.D. Cost efficacy of metal stents for palliation of extrahepatic bile duct obstruction in a randomized controlled trial. *Gastroenterology.* 2015; 149: 130–138. doi: 10.1053/j.gastro.2015.03.012.

Поступила/Received 30.05.2019
Принята в печать/Accepted 25.06.2019

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Шабунин Алексей Васильевич, доктор медицинских наук, член-корреспондент РАН, заведующий кафедрой хирургии, ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия последипломного образования» Минздрава России, главный врач, ГКБ им. С.П. Боткина (г. Москва, Россия). SPIN-код: 8917-7732. ORCID: 0000-0002-4230-8033.

Тавоиллов Михаил Михайлович, доктор медицинских наук, доцент кафедры хирургии, ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия последипломного образования» Минздрава России, заведующий отделением гепатопанкреатобилиарной хирургии, ГКБ им. С.П. Боткина (г. Москва, Россия). SPIN-код: 9554-5553. ORCID: 0000-0003-0335-1204.

Лебедев Сергей Сергеевич, кандидат медицинских наук, доцент кафедры хирургии, ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия последипломного образования» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 2736-0683. ORCID: 0000-0001-5366-1281.

Коржева Ирина Юрьевна, доктор медицинских наук, заведующая отделением эндоскопии, ГКБ им. С.П. Боткина (г. Москва, Россия). ORCID: 0000-0002-5984-5660.

Карпов Алексей Андреевич, хирург отделения гепатопанкреатобилиарной хирургии, ГКБ им. С.П. Боткина (г. Москва, Россия). SPIN-код: 9877-4166. ORCID: 0000-0002-5142-1302.

Ланцынова Айса Владимировна, хирург отделения гепатопанкреатобилиарной хирургии, ГКБ им. С.П. Боткина (г. Москва, Россия). SPIN-код: 9877-4166. ORCID: 0000-0002-9461-6791.

ВКЛАД АВТОРОВ

Шабунин Алексей Васильевич: составление концепции научной работы.

Тавоиллов Михаил Михайлович: критический анализ научной работы.

Лебедев Сергей Сергеевич: составление концепции научной работы, статистический анализ.

Коржева Ирина Юрьевна: сбор материала, критический анализ научной работы.

Карпов Алексей Андреевич: сбор материала, статический анализ.

Ланцынова Айса Владимировна: сбор материала.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы объявляют, что у них нет конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Alexey V. Shabunin, MD, DSc, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Head of the Department of Surgery, Russian Medical Academy of Continuing Professional Education of the Ministry of Health of the Russian Federation; Chief Physician, S.P. Botkin Municipal Clinical Hospital (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0002-4230-8033.

Mihail M. Tavobilov, MD, DSc, Associate Professor of the Department of Surgery, Russian Medical Academy of Continuing Professional Education of the Ministry of Health of the Russian Federation; Head of the Department of Hepatopancreatobiliary Surgery, S.P. Botkin Municipal Clinical Hospital (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0003-0335-1204.

Sergey S. Lebedev, MD, PhD, Associate Professor of the Department of Surgery, Russian Medical Academy of Continuing Professional Education of the Ministry of Health of the Russian Federation (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0001-5366-1281. E-mail: lebedevssd@yandex.ru.

Irina Yu. Korzheva, MD, DSc, Head of the Department of Endoscopy, S.P. Botkin Municipal Clinical Hospital (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0002-5984-5660.

Alexey A. Karpov, MD, DSc, Head of the Department of Endoscopy, S.P. Botkin Municipal Clinical Hospital (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0002-5984-5660.

Aysa V. Lantsynova, MD, Surgeon of the Department of Hepatopancreatobiliary Surgery, S.P. Botkin Municipal Clinical Hospital (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0002-9461-6791.

AUTHOR CONTRIBUTION

Alexey V. Shabunin: study design and conception.

Mihail M. Tavobilov: critical revision for the important intellectual content.

Sergey S. Lebedev: study conception, statistical data analysis.

Irina Yu. Korzheva: data collection, critical revision for the important intellectual content.

Alexey A. Karpov: data collection, statistical data analysis.

Aysa V. Lantsynova: data collection.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

DOI: 10.21294/1814-4861-2020-19-3-122-136
УДК: 616-006.04-08:615.28:615.015.8]-092

Для цитирования: Кирсанов К.И., Кузин К.А., Фетисов Т.И., Лесовая Е.А., Белицкий Г.А., Якубовская М.Г. Методические подходы к экспериментальному тестированию резистентности клеток опухоли человека к химиотерапии. Сибирский онкологический журнал. 2020; 19(3): 122–136. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-3-122-136.
For citation: Kirsanov K.I., Kuzin K.A., Fetisov T.I., Lesovaya E.A., Belitskiy G.A., Yakubovskaya M.G. Methodological approaches to the determination of chemoresistance of human cancer cells to anti-cancer drugs. Siberian Journal of Oncology. 2020; 19(3): 122–136. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-3-122-136.

МЕТОДИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ТЕСТИРОВАНИЮ РЕЗИСТЕНТНОСТИ КЛЕТОК ОПУХОЛИ ЧЕЛОВЕКА К ХИМИОТЕРАПИИ

К.И. Кирсанов^{1,2}, К.А. Кузин¹, Т.И. Фетисов¹, Е.А. Лесовая^{1,3}, Г.А. Белицкий¹,
М.Г. Якубовская¹

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина»
Минздрава России, г. Москва, Россия¹
Россия, 115478, г. Москва, Каширское шоссе, 24. E-mail: kkirsanov85@yandex.ru¹
ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», г. Москва, Россия²
Россия, 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, 62²
ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет» Минздрава России,
г. Рязань, Россия³
Россия, 390026, г. Рязань, ул. Высоковольная, 9³

Аннотация

Цель исследования – анализ существующих методических подходов к экспериментальному тестированию резистентности к химиотерапии и оценка перспектив их дальнейшего применения. **Материал и методы.** При подготовке обзора были проанализированы статьи по теме экспериментального тестирования резистентности опухоли к химиопрепаратам, имеющиеся в информационных базах биомедицинской литературы SciVerse Scopus (748), PubMed (1727), Web of Science (1025), РИНЦ (125). Для получения полнотекстовых документов были использованы электронные ресурсы Research Gate, РИНЦ, КиберЛенинка. В тексте обзора были процитированы 42 современные публикации (2012–19 гг.), а также 18 статей основоположников методик, анализируемых в обзоре, которые используются и в наши дни. **Результаты.** В обзоре рассмотрены особенности основных методов оценки резистентности/чувствительности опухолевых клеток, получаемых из биопсийного/операционного материала к различным химиопрепаратам при их культивировании *in vitro* в монослое и суспензионных культурах, в виде сфероидов, гисто- и органокультур, а также при получении *in vivo* ксенографтов опухоли на иммунодефицитных мышках. При тестировании в качестве основных оцениваемых характеристик опухолевых клеток рассматриваются пролиферативная и метаболическая активность, уровень клеточной гибели. При этом основными показателями выступают интенсивность синтеза ДНК, уровень белка или АТФ в клетке, активность NADH-дегидрогеназ, уровень апоптоза, целостность клеточных структур. Обсуждены преимущества и недостатки описываемых методов, а также перспективы их дальнейшего применения. **Заключение.** За прошедшие полвека использования экспериментального тестирования резистентности опухолевых клеток в целях персонализации химиотерапевтического лечения произошедшая эволюция методических подходов заключалась в повышении безопасности их проведения и чувствительности за счет использования флуоресцентных соединений. Общий вектор совершенствования экспериментов по персонализации химиотерапии опухолей направлен на приближение условий эксперимента к процессам, происходящим в организме человека. Каждый из этих методов имеет свой диапазон предсказательной силы и при адекватном использовании может дать полезный ориентир для лечения.

Ключевые слова: опухоль, культура клеток, гистокультуры, сфероиды, ксенографты, цитостатики, таргетные препараты, резистентность.

METHODOLOGICAL APPROACHES TO THE DETERMINATION OF CHEMORESISTANCE OF HUMAN CANCER CELLS TO ANTI-CANCER DRUGS

K.I. Kirsanov^{1,2}, K.A. Kuzin¹, T.I. Fetisov¹, E.A. Lesovaya^{1,3}, G.A. Belitskiy¹, M.G. Yakubovskaya¹

N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Moscow, Russia¹
24, Kashirskoe shosse, 115478-Moscow, Russia. E-mail: kkirsanov85@yandex.ru¹
RUDN University, Moscow, Russia²
62, Miklouho-Maclay Street, 117198-Moscow, Russia²
I.P. Pavlov Ryazan State Medical University, Ryazan, Russia³
9, Vysokovoltная Street, 390026-Ryazan, Russia³

Abstract

The purpose of the study was to analyze the existing methodological approaches to the experimental testing of resistance to chemotherapy and assess the prospects for their further application. **Material and Methods.** We analyzed publications regarding the experimental testing of tumor resistance to chemotherapy available in the databases, such as SciVerse Scopus (748), PubMed (1727), Web of Science (1025), RSCI (125). To obtain full-text publications, the electronic resources of Research Gate, RSCI, CyberLenink were used. Forty-two modern publications (2012–19) including 18 articles of the founders of the methods analyzed in the review were cited. **Results.** The review discusses the characteristics of the main methods for assessing the resistance / sensitivity of tumor cells obtained from biopsy / surgical specimens to various chemotherapy drugs in vitro in monolayer and suspension cultures, in the form of spheroids, histo and organocultures, as well as in vivo xenografts of tumors in immunodeficient mice. During testing, the proliferative and metabolic activities as well as the level of cell death were considered as the main evaluated characteristics of tumor cells. The main indicators were the intensity of DNA synthesis, the level of protein or ATP in the cell, the activity of NADH-dehydrogenases, the level of apoptosis, and the integrity of cell structures. The advantages and disadvantages of the described methods, as well as the prospects for their further application were discussed. **Conclusion.** Over the past half century of using the experimental testing of tumor cell resistance in order to personalize chemotherapeutic treatment, the evolution of methodological approaches was based on the increase in their safety and sensitivity through the use of fluorescent compounds. The general vector for improving experiments on the personalization of tumor chemotherapy is aimed at approximating the experimental conditions to the processes occurring in the human body. Each of these methods has its own range of predictive power and, if used properly, can provide a useful guide for treatment.

Key words: tumor, cell culture, histoculture, spheroids, xenografts, cytostatics, targeted drugs, resistance.

Актуальность развития экспериментального тестирования резистентности опухолевых клеток пациента к химиотерапии

Прогресс двух последних десятилетий в лечении онкозаболеваний в основном обусловлен внедрением персонализированного подхода с использованием таргетных препаратов, позволивших существенно увеличить продолжительность жизни отдельным категориям пациентов. Однако таргетные препараты эффективны лишь при наличии определенных генетических и эпигенетических нарушений, которые выявляются лишь у небольшой части пациентов [1, 2]. Другим ограничением таргетной терапии является относительно быстрое развитие резистентности к лечению, что обусловлено гетерогенностью опухоли и нестабильностью генома опухолевой клетки [2]. Следует отметить, что даже в случае выявления нарушений, соответствующих мишени для таргетного препарата, дорогостоящее лечение не всегда

оказывается эффективным. Так, при раке молочной железы в случае выявленной иммуногистохимически гиперэкспрессии *HER-2/neu* применение трастузумаба вызвало объективный эффект у 26 % больных [3]. При немелкоклеточном раке легкого и наличии мутации EGFR терапия гефатинибом оказалась эффективна у 62 % пациентов [4]. При лечении сарком мягких тканей, в патогенезе которых ангиогенез играет ключевую роль, одобрен для использования ингибитор VEGF бевацизумаб, который вызывает объективный терапевтический эффект у 12 % и стабилизирует процесс у 65 % пациентов [5]. Другим ограничением использования биомаркеров для персонализации химиотерапии является тот факт, что прогноз потенциальной резистентности дается лишь в отношении таргетных препаратов, а не возможных их комбинаций с цитостатиками.

При отсутствии биомаркеров, позволяющих использовать таргетную терапию, а также при

развитии резистентности к таргетному препарату обычно применяют классические цитостатики. Для целого ряда онкозаболеваний цитостатики применяют в первой линии терапии. Клинические рекомендации к проведению химиотерапии с использованием цитостатиков основаны на эмпирических данных, полученных на больших когортах пациентов, свидетельствующих о потенциальном терапевтическом эффекте [6]. При этом в качестве основных характеристик групп пациентов рассматриваются гистологический тип опухоли и стадия заболевания. Персонализированный подход при проведении лечения цитостатиками практически не используется.

Тем не менее эффективность химиотерапии цитостатиками во многом обусловлена индивидуальной чувствительностью опухоли пациента к применяемым препаратам, что определяется специфическим профилем экспрессии генов и зависит от самых разнообразных параметров как опухолевой клетки, так и организма в целом. Наиболее важными показателями являются активность метаболизма препарата в действующее производное в организме больного, активность систем репарации и множественной лекарственной устойчивости, уровень апоптоза и воспаления. Теоретически прогноз потенциальной эффективности классической химиотерапии может быть сделан на основе молекулярно-генетического анализа опухолевых клеток, результатов молекулярно-биологических, иммуногистохимических, биохимических исследований. Так, наличие мутаций в генах *BRCA1/2*, вовлеченных в процесс репарации ДНК, существенно повышает вероятность чувствительности опухолевых клеток к соединениям платины; наличие определенных изоформ цитохрома P-450 и других ферментов, необходимых для активации препарата, повышает вероятность эффективного воздействия цитостатика, однако значимость таких прогнозов невысока [7].

В то же время химиотерапевтическое лечение онкозаболеваний с применением цитостатиков является высокотоксичным. Таргетные препараты при меньшем угнетающем действии на кроветворение также могут вызывать нежелательные побочные эффекты в виде кардиотоксичности, кожной сыпи, диареи, аллергических реакций, слабости, а в некоторых случаях приводить к гибели пациента [8]. Неоправданное применение как цитостатиков, так и таргетных препаратов приводит лишь к существенному ухудшению состояния пациента. В связи с вышеизложенным повышение эффективности прогноза резистентности к химиопрепаратам представляет собой актуальную задачу.

Активно развиваемым подходом для персонализации химиотерапии является экспериментальное выявление резистентности/чувствительности опухолевых клеток к потенциальным комбинациям пре-

паратов. Этот подход впервые был предложен еще в 1950-е гг. [9]. К настоящему времени разработаны различные методические варианты экспериментального тестирования резистентности/чувствительности к химиотерапии (CSR-тесты, Chemotherapy Sensitivity and Resistance assays) [10–12]. Экспериментальное выявление клона клеток, на который тестируемый препарат не оказывает цитотоксического, антипролиферативного и проапоптотического действия, позволяет дать прогноз о резистентности опухоли к химиотерапии с использованием тестируемых препаратов или их комбинаций. Теоретически прогностическая значимость выявления резистентности к химиотерапии, т.е. выявления клона опухолевых клеток, устойчивых к химиопрепарату, должна быть близка к 100 %. В то же время эффективность прогноза на основе выявленной чувствительности к препарату, несмотря на реципрокность понятий резистентности и чувствительности, должна быть существенно ниже из-за гетерогенности опухоли и возможности существования резистентного клона в опухолевой ткани, не попавшей в анализируемый образец. Кроме того, нередко опухолевая прогрессия приводит к быстрому развитию резистентности в силу нестабильности генома опухолевой клетки. Данные экспериментального тестирования о потенциальной резистентности опухоли к препарату позволяют избежать неоправданного (бесполезного) применения высокотоксичной химиотерапии, ухудшающей общее состояние больного.

Кроме того, данные экспериментального тестирования резистентности опухолевых клеток к цитостатикам потенциально могут быть также использованы при определении эффективной дозы препарата, поскольку для пациента повышение или понижение используемой дозы цитостатика отражается на степени развития побочных эффектов и возможности применения препарата в целом. В настоящее время ни один из методов экспериментального тестирования потенциальной резистентности опухоли к химиопрепарату не внедрен в клиническую практику, в то же время развитие этого направления рассматривается в качестве одной из приоритетных задач современной клинической онкологии [13].

Наиболее активно для экспериментального определения резистентности к химиотерапии используют тест-системы *in vitro* на основе первичных культур клеток опухоли пациента, растущих в монослое или образующих трехмерные сложные структуры. Кроме того, предложены методы исследования резистентности опухоли к цитостатическим препаратам *in vivo*, основанные на использовании ксенографтов опухолей, полученных от пациентов (patient-derived xenografts, PDX).

Целью исследования является анализ существующих методических подходов к экспериментальному тестированию резистентности к химиотерапии и оценка перспектив их дальнейшего применения.

Экспериментальное тестирование резистентности опухоли к химиопрепаратам на основе первичных культур опухолевых клеток

Использование первичных культур опухолевых клеток в CSR-тестах на резистентность и чувствительность к химиотерапии в настоящее время является перспективным подходом при выборе оптимального препарата для проведения химиотерапии злокачественных новообразований [10, 14]. В сочетании с биохимическими, гистологическими и генетическими исследованиями использование CSR-тестов делает возможным переход к персонализированной медицине в онкологической практике, в частности, позволяет оценить чувствительность опухолевых клеток конкретного пациента к препарату/комбинации препаратов по цитотоксическому эффекту на разных этапах химиотерапии и проанализировать *in vitro* характер взаимодействия фармакологических препаратов при их комбинировании с целью выявления типа взаимодействия: синергического, аддитивного или антагонистического.

В настоящее время используют несколько типов CSR-тестов, в основе которых лежит выделение клеток из опухоли или других биологических образцов пациента, их инкубация с исследуемыми препаратами и количественная оценка показателя, по которому судят о величине цитотоксического эффекта [12]. Выделение клеток для перевода в культуру является первой стадией теста, успех которой определяет количество жизнеспособных клеток в начале эксперимента и, соответственно, адекватность тестирования. При работе с эпителиальными опухолями с хорошо развитой системой плотных, адгезионных и щелевых межклеточных контактов, разделение клеток представляет собой довольно трудоемкий процесс. Разделение можно проводить механическим способом – гомогенизацией, однако данный способ дает малый выход жизнеспособных опухолевых клеток. Существует также ряд ферментов, способных расщеплять межклеточные контакты с различной степенью эффективности. К ферментам со слабой и средней эффективностью расщепления относят коллагеназы 1–4 типа со специфичностью к связям X-Gly, ДНКазы I и нейтральные протеазы. К ферментам с более высокой протеолитической активностью относят сериновые протеазы, трипсин и эластазы, а также сульфгидрильные протеазы папаина. В настоящее время не существует универсальных протоколов по разделению клеток конкретного типа ткани, и потому подбор ферментов или смеси ферментов для оптимального разделения клеток осуществляется эмпирически для каждого типа опухоли [15].

Условия культивирования полученных клеток опухоли с химиопрепаратами также могут существенно различаться. В большинстве случаев влияние исследуемых препаратов на клетки оценивают

в терапевтических и околотерапевтических дозах. Однако высокой прогностической значимостью обладает тест на резистентность с использованием высоких доз лекарственного препарата (extreme drug resistance assay, EDRA/Kern assay), применяемый на практике уже более 30 лет, в котором образцы инкубируют с химиопрепаратами в дозах, в 10–100 раз превышающих терапевтические, и оценивают количество клеток с экстремальной устойчивостью к исследуемому препарату [16].

CSR-тесты можно условно разделить на двумерные, в которых модельной системой является монослой клеток, и трехмерные, представляющие собой многослойные агрегаты клеток (табл. 1). В свою очередь, трехмерные клеточные системы могут быть получены: 1) при росте колоний в формообразующей матрице; 2) при расщеплении опухолевого материала пациента коллагеназой до кластеров в 50–100 клеток, которые при культивировании во флаконах с L-полилизинном растут в виде сфероидов; 3) при культивировании фрагментов опухоли 1–2 мм на коллагеновой подложке или на границе раздела фаз (гисто- и органокультуры). Двухмерные культуры более просты в обращении, однако трехмерные модели обеспечивают более схожее биологическое микроокружение и некоторое моделирование структуры исходной опухоли [17, 18]. Отдельно следует выделить первичные суспензионные культуры, в которых клетки занимают весь объем среды. Это накладывает ряд методических ограничений, однако позволяет оценивать оптическую плотность суспензии и светорассеяние, служащие показателями жизнеспособности клеток или степени индукции в них апоптоза [19].

В качестве основных показателей в тестах на резистентность опухоли к тестируемым химиопрепаратам оценивают количественные показатели активности ряда процессов в опухолевых клетках при действии препаратов, в частности пролиферации, метаболизма и клеточной гибели. Для определения пролиферативной активности клеток проводят оценку уровня синтеза ДНК по включению ^3H -тимидина. Оцениваемым параметром является интенсивность радиоактивности в пересчете на количество клеток. Этот метод активно использовался в конце прошлого столетия при тестировании резистентности к химиопрепаратам опухолей различных нозологических форм, поскольку он быстр в выполнении и в ряде исследований показал высокую прогностическую значимость (97 %) при выявлении резистентности опухоли к препарату [20]. Метод используется и для определения пролиферативной активности опухолевых клеток гистокультур, полученных из образцов опухолей [21]. Однако использование радиоактивного ^3H -тимидина является существенным ограничением данного метода, и в настоящее время вместо ^3H -тимидина стал более активно использоваться 5-бром-2'-дезоксисуридин, детекция которого проводится с помощью BrdU-

Таблица 1/Table 1

Методы экспериментального тестирования резистентности опухолей к химиопрепаратам
Methods of experimental testing of tumor resistance to chemotherapy

Параметр/ Parameter	Конкретный показатель/ Concrete indicator	Преимущества/ Advantages	Недостатки/ Disadvantages	Тип опухоли/ Tumor type	Источник/ Sources
Пролiferативная активность/ Proliferative activity	Включение ³ [H]-тимидина в ДНК/ Inclusion of ³ [H] thymidine in DNA	Первичные культуры опухолевых клеток, растущие в монослое/ Primary tumor cell cultures growing in a monolayer	Различные нозологиче- ские формы/ Various nosological forms	Ретинобластома/ Retinoblastoma	[20] [22]
	Включение BrdU/ Inclusion of BrdU	Простота выполнения, высокая чув- ствительность/ High sensitivity	Работа с радиоактивной меткой/ Work with a radioactive label		
	По уровню внутриклеточного белка/ By the level of intracellular protein	Простота выполнения/ Ease of use	Глиобластома/ Glioblastoma		
Метаболическая активность клеток/ Metabolic activity of cells	Метаболическая активность клеток по восстановлению солей тетразолия (MTT, MTS, XTT)/ Metabolic activity of cells to restore tetrazolium salts (MTT, MTS, XTT)	Простота выполнения/ Ease of use	Невозможность анализа образца в динамике, необходимость большо- го количества опухолевых клеток/ Inability to analyze the sample in dy- namics, the need for a large number of tumor cells	Опухоли толстой кишки/ Tumors of the colon	[23] [24]
	По уровню внутриклеточного синтеза/ By the level of intracellular synthe- sis of ATP	Простота выполнения/ Ease of implementation	Невозможность анализа одного и того же образца в динамике, не- обходимость большого количества опухолевых клеток/ Inability to analyze the sample in dy- namics, the need for a large number of tumor cells	Рак печени/ Liver cancer	[25]
			Рак мочевого пузыря/ Bladder cancer	Рак яичников/ Ovarian cancer	[26] [30]including 5-Fu ADM, and EPI, using ATP-CRA and primary tumor cell culture in 54 patients. In addition, a further 58 patients were treated according to clini- cal experience. Differences in post-chemotherapeutical effects between drug sensi- tivity assay and experience groups were compared. RESULTS The evaluable rate of the test was 96.3%, the clinical effective rate was 80.8%, the sensitivity rate was 97.6% (41/42)
			Рак яичников/ Ovarian cancer		[31]

Метаболическая активность клеток/ Metabolic activity of cells	По уровню внутриклеточного синтеза/ By the level of intracellular synthesis of ATP	Простота выполнения/ Ease of implementation	Невозможность анализа одного и того же образца в динамике, необходимость большого количества опухолевых клеток/ Inability to analyze the sample in dynamics, the need for a large number of tumor cells	Глиома/ Glioma Рак толстой кишки/ Colon cancer	[32] [33]
				Рак поджелудочной железы/ Pancreatic cancer	[34]the clinical impact of gemcitabine varies significantly in individuals because of chemoresistance. An in vitro adenosine triphosphate based chemotherapy response assay (ATP-CRA
				Рак молочной железы/ Breast cancer	[35]
Индукция гибели клеток/ Induction of cell death	По превращению резазурина/ By the conversion of resazurin	Простота выполнения, высокая чувствительность/ Ease of implementation, high sensitivity	Возможность наблюдения динамики в анализируемом образце/ Ability to observe the dynamics in the analyzed sample	Рак легких/ Lung cancer	[36, 37]
	Активация апоптоза по уровню флуоресценции аннексина 5, связанного с фосфатидилсерином/ Activation of apoptosis by the level of fluorescence of annexin 5 associated with phosphatidylserine		Первичные культуры опухолевых клеток, растущие в суспензии/Primary tumor cell cultures growing in suspension	Острый лимфобластный лейкоз/ Acute lymphoblastic leukemia	[39]
	Изменение оптической плотности клеточной суспензии при индукции апоптоза/ Changing the optical density of a cell suspension during the induction of apoptosis	Возможность работы с малыми объемами клеток/ Ability to work with small volumes of cells	Невысокая прогностическая точность/ Low prognostic accuracy	Рак яичников/ Ovarian cancer	[19, 40, 41]
Нарушение целостности цитоплазматической мембраны по окрашиванию клеток красителями: нейтральный красный, нигрозин В, акридин оранжевый, трипановый синий/ Violation of the integrity of the cytoplasmic membrane by staining cells with dyes: neutral red, nigrosin B, acridine orange, trypan blue		Простая визуализация/ Simple visualization	Трудоемкость/ Complexity	Опухоли различной локализации/ Tumors of various localizations	[42]

Трёхмерные культуры опухолевых клеток – гистокультуры/Three-dimensional tumor cell cultures – histocultures

Пролиферативная активность/ Proliferative activity	Степень включения ³ [Н]тимидина в ДНК/ Inclusion of 3 [N] thymidine into DNA	Сохранение микроокружения/ Preservation of microenvironment	Работа с радиоактивной меткой/ Radioactive labeling	Рак шейки матки/ Cervical cancer	[21]
Метаболическая активность клеток/ Metabolic activity of cells	По восстановлению солей тетра- золия (МТТ)/ For the restoration of tetrazolium salts (MTT) По восстановлению голубого нефлуоресцирующего резазурина до флуоресцентного резорурфина розового цвета/ For the restoration of blue non-fluo- rescent resazurin to pink fluorescent resorufin	Сохранение микроокружения/ Preservation of microenvironment Простота выполнения, возможность многократного исследования экс- периментальных образцов/ Ease of implementation, the possibi- lity of multiple studies of experimental samples	Однократное исследование экс- периментальных образцов/ A single study of experimental samples	Рак яичников/ Ovarian cancer	[28]
				Рак толстой кишки/ Colon cancer	[38]
Пролиферативная активность/ Proliferative activity	Степень включения радиоактивно-меченного тимидина в ДНК в условиях культивирования с препаратом, в дозах, в 10100 раз превышающих терапевтическую/ The degree of incorporation of radiolabeled thymidine in DNA under cultivation with the drug, in doses 10100 times higher than the therapeutic (extreme drug resistance assay, EDRA)	Сохранение микроокружения/ Preservation of the microenvironment	Работа с радиоактивной меткой/ Radioactive labeling	Опухоли головы и шеи/ Head and neck tumors	[21]

Пролиферативная активность + гибель опухолевых клеток/ Proliferative activity + death tumor cells	Способность опухолевых клеток образовывать колонии в мягком агаре (human tumor cloning assay, HTCA; colonic formation assay, CFA)/ CFA/ The ability of tumor cells to form colonies in soft agar (human tumor cloning assay, HTCA; colonic formation assay, CFA)	Снижение трудоемкости теста за счет подсчета колоний, а не отдельных клеток/ Decrease in the complexity of the test by counting colonies rather than single cells	Длительность/ Duration	Опухоли различной локализации/ Tumors of various localizations	[43,45]
	Способность опухолевых клеток образовывать колонии в каплях коллагенового геля/ The ability of tumor cells to form colonies in drops of collagen gel (Collagen gel droplet embedded culture drug sensitivity test, CD-DST)	Снижение трудоемкости теста за счет подсчета колоний, а не отдельных клеток; снижение длительности теста за счет более эффективного прикрепления клеток к субстрату/ Reduce in the complexity of the test by counting colonies rather than single cells; reduce in the test duration; increase in the sensitivity of the test due to more efficient attachment of cells to the substrate	Селекция клонов по способности к выживанию вне организма/ Selection of clones by their ability to survive outside the body	Немелкоклеточный рак легких/ Non-small cell lung cancer	[46]
	Целостность цитоплазматической мембраны по характеру окрашивания различными прижизненными красителями/ The integrity of the cytoplasmic membrane by the nature of staining with various intravital stains (differential staining cytotoxicity assay, DiSC)	Повышение специфичности метода за счет разделения нормальных и опухолевых клеток по морфологии и анализа их жизнеспособности по типу окрашивания/ Increase in the specificity of the method by separating normal and tumor cells by morphology and analyzing their viability by type of staining	Сдвиг популяционного состава в ходе культивирования/ Shift of population composition during cultivation	Опухоли различной локализации/ Tumors of various localizations	[42, 45]
	Модель <i>in vivo</i> ксенографты опухолей, полученных от пациентов/ <i>In vivo</i> model – xenografts of tumors obtained from patients				
	Торможение роста опухолевого узла/ Inhibition of tumor growth	Моделирование условий опухолевого роста и терапии <i>in vivo</i> / Modeling of conditions of tumor growth and therapy <i>in vivo</i>	Трудоемкость, высокая стоимость, различия в ответе на химиотерапию у человека и животных за счет взаимного влияния опухоли и ее микроокружения/ Labor intensiveness, high cost, differences in the response to chemotherapy in humans and animals due to the mutual influence of the tumor and its microenvironment	Немелкоклеточный рак легких/ Non-small cell lung cancer	[53]
Пролиферативная активность + гибель опухолевых клеток/ Proliferative activity + death tumor cells	Пролиферативная активность + гибель опухолевых клеток/ Proliferative activity + death tumor cells	Пролиферативная активность + гибель опухолевых клеток/ Proliferative activity + death tumor cells	Рак яичников/ Ovarian cancer	[54]	
			Лейкозы/ Leukemia	[55, 56]	

антител [22]. Следует отметить, что при определении пролиферативной активности как с ^3H -тимидином, так и с 5-бром-2'-дезокситуридином не учитывается тот факт, что стволовые клетки находятся в фазе G_0 , в которой не происходит синтез ДНК. Это может приводить к некоторой недооценке количества жизнеспособных клеток и, таким образом, недооценке уровня резистентности.

Оценка жизнеспособности клеток по их метаболической активности может проводиться в нескольких вариантах. Метаболическая активность может быть оценена по уровню белка в опухолевых клетках после экспозиции препарата, который прямо пропорционален количеству живых клеток [23]. Определение данного показателя проводят с помощью окрашивания клеток сульфородамином В (sulforodamine В assay, SRB), который способен связывать аминокислоты [23, 24].

Метаболическая активность в опухолевых клетках может быть также определена по интенсивности восстановления форм 3-4,5-диметилтиазол-2-ил-2,5-дифенилтетразола (MTT-реагента) или других солей тетразолия (MTS, XTT, или WST) до голубого кристаллического формазана, растворимого в диметилсульфоксиде (ДМСО) и определяемого колориметрически. Оптическая плотность лизата клеток после инкубации с исследуемыми препаратами и MTT-реагентом прямо пропорциональна количеству метаболически активных клеток. Процедура детекции является терминальной точкой эксперимента, поскольку для колориметрической оценки необходим лизис клеток [25–27]. Это обуславливает необходимость большого количества опухолевых клеток для изучения динамики влияния химиопрепарата. Данный метод получил широкое распространение, в том числе и при определении жизнеспособности опухолевых клеток в гистокультурах [28].

В последнее время большее распространение получил метод определения жизнеспособных клеток по уровню АТФ с использованием люциферина, превращение которого в оксिलюциферин катализирует АТФ. Уровень биолюминесценции оксилюциферина прямо пропорционален числу жизнеспособных клеток [29]. Этот метод обладает большей чувствительностью (позволяет выявить меньшее количество жизнеспособных клеток), чем MTT, однако измерение уровня АТФ также является терминальной точкой эксперимента. Этот подход был апробирован в целом ряде исследований, выполненных на опухолевых клетках пациентов с различными нозологическими формами онкозаболеваний [30–35].

Еще одним вариантом определения метаболической активности клеток является метод, в котором основным показателем является степень восстановления голубого нефлуоресцирующего резазурина до флуоресцентного резорубина розового цвета, что фиксируется колориметрически или флуориметрически. Основным преимуществом данного метода является растворимость резорубина в воде,

что позволяет проводить оценку эффекта препарата в динамике путем многократного анализа одного и того же образца опухолевых клеток [36, 37]. Метод также применим в отношении трехмерных культур опухолевых клеток [38].

При определении жизнеспособности опухолевых клеток по их метаболической активности в число жизнеспособных клеток включается часть клеточной популяции, находящаяся в фазе G_0 , которая состоит из стволовых клеток и тех клеток, в которых под действием препарата произошел арест клеточного цикла. Оценка степени индукции гибели клеток также может быть проведена с использованием нескольких методических подходов. Наиболее распространенным подходом является анализ индукции наиболее важного механизма гибели клеток – апоптоза. Существует целый ряд методов определения индукции апоптоза. Достаточно распространен метод с использованием окрашивания опухолевых клеток аннексином 5, который взаимодействует с фосфатидилсеринем, перемещающимся после запуска апоптоза на внешний слой плазматической мембраны [39]. Благодаря использованию флуоресцентно-меченного аннексина 5 данный метод обладает высокой чувствительностью.

Анализ степени индукции апоптоза можно проводить на основании оценки изменения оптической плотности (microculture kinetic (MiCK) assay) и светорассеяния клеточной суспензии [19, 40, 41]. В погибших клетках наблюдается нарушение проницаемости цитоплазматической мембраны, что позволяет дифференцировать живые и мертвые клетки путем окрашивания клеток соединениями типа нейтрального красного, нигрозина В, акридина оранжевого, трипанового синего и др. Используемые в нетоксических концентрациях, эти соединения в живых клетках откладываются в комплексе Гольджи в виде гранул, оставляя ядро и цитоплазму неокрашенными. Поврежденные клетки теряют способность образовывать гранулы и прокрашиваются диффузно. При оценке жизнеспособности клеток в трехмерных моделях применяют набор красителей. В частности, дифференцированное окрашивание клеток на цитотоксичность (differential staining cytotoxicity assay, DiSC) проводится после культивирования трехмерных кластеров свежих опухолевых клеток с испытуемыми препаратами, добавления красителя Fast Green, переноса на предметные стекла и окрашивания гематоксилин-эозином или раствором Гимза [42]. Мертвые клетки прокрашиваются диффузно в сине-зеленый цвет.

Методическим подходом, позволяющим одновременно оценивать как пролиферативную активность опухолевых клеток, так и индукцию их гибели в присутствии тестируемого препарата, является анализ способности опухолевых клеток формировать колонии. Принцип метода основан на одновременном подсчете как числа колоний, образованных опухолевыми клетками, так и числа погибших клеток, вы-

являемых с помощью окрашивания гематоксилином и эозином и последующим анализом морфологии клеток. При этом тестирование можно проводить как в монослое, так и при культивировании клеток в мягком агаре [43–45]. При одном из вариантов данного теста опухолевые клетки помещают в коллагеновый гель (Collagen gel droplet embedded culture drug sensitivity test, CD-DST) и инкубируют полученные «капли» в культуральной среде, содержащей тестируемый препарат, а затем в течение 7 сут наблюдают способность клеток, инкорпорированных в коллаген, образовывать колонии [46, 47]. Дополнительным параметром, учитываемым при выполнении теста на образование колоний, можно рассматривать анализ динамики размеров колоний/сфероидов после обработки тестируемыми химиопрепаратами [48].

При использовании методических подходов, при которых окраска погибших клеток происходит за счет нарушения целостности цитоплазматической мембраны, в качестве живых клеток учитываются как активно пролиферирующие, так и находящиеся в G_0 -фазе и на стадии инициации клеточной гибели, что приводит к несколько большему завышению резистентности, чем при определении жизнеспособности по метаболической активности [49]. Однако анализ динамики роста опухолевых клеток с постановкой соответствующих положительных и отрицательных контролей позволяет либо учесть эту ошибку, либо сделать ее незначительной. Измерения показателей клеток в динамике также позволяют проанализировать тип действия препарата, выбрать оптимальные временные интервалы инкубации с исследуемыми препаратами, а также зафиксировать гибель клетки непосредственно при ее наступлении, а не по окончании времени эксперимента. Методические подходы, позволяющие оценивать рост клеток в режиме реального времени, в настоящее время интенсивно развивают и вводят в лабораторную практику. Так, описан метод оценки жизнеспособности клеток в режиме реального времени, при котором основным показателем является восстановительный потенциал/метаболическая активность клеток, определяемая по высвобождению люминесцентного красителя из клеток во внеклеточную среду. Данный подход был описан не только для двумерных, но и для трехмерных клеточных моделей [50, 51]. Другим описанным в литературе показателем, используемым для оценки гибели клеток в динамике, является уровень потребления кислорода. Методика основана на инкубации клеток в камере, позволяющей измерять парциальное давление кислорода и вести расчет на основании полученных данных [52]. Другим исследовательским коллективом была разработана многоканальная система визуализации клеточной культуры, позволяющая наблюдать гибель клеток в режиме реального времени [53]. Наблюдение жизнеспособности трехмерных культур в динамике возможно с использованием электроимпедансной

томографии, позволяющей визуализировать пространственное распределение проводимости внутри объекта [54, 55]. По измерению электрической емкости клеток возможно также оценить степень протекания эндцитоза, напрямую зависящего от жизнеспособности клеток, что применимо также и к двумерным культурам [56]. Отдельными исследовательскими группами был предложен и апробирован подход с получением клеток, трансдуцированных вектором, экспрессирующим ген люциферазы *Metridia*, активность которой возможно определить в культуральной среде [57]. Однако следует отметить, что в литературе к настоящему моменту не было описано применения подходов с измерением показателей клетки в динамике для изучения чувствительности опухолевых клеток конкретных пациентов с целью оптимизации получаемого ими лечения.

У методов, применяемых для оценки показателей, описанных выше, существует большое количество разновидностей, апробированных на выборках пациентов с определенной нозологической формой онкозаболевания. Несомненным достоинством большинства CSR-тестов является относительно короткий срок получения результатов, возможность полной или частичной автоматизации процесса, а также потенциал для оптимизации данных методов в отношении оценки жизнеспособности клеток в динамике в режиме реального времени.

Методы исследования чувствительности опухоли к цитостатикам *in vivo*

Микроокружение опухоли может существенно влиять на ее резистентность к химиотерапии. Трехмерные системы *in vitro* не являются в полной мере адекватной моделью опухолевого роста в организме. Кроме того, наблюдается отсутствие четкой корреляции между попадающими в опухолевые клетки дозами химиопрепаратов *in vitro* и *in vivo*.

Идея об имплантации опухолевых клеток пациента животному-хозяину была высказана еще в 40-х гг. XX в. В первых экспериментах по определению резистентности опухоли к химиопрепаратам *in vivo* использовали перевивку опухолевых клеток пациента в почечную капсулу иммунокомпетентных животных (SubRenal Capsule Assay, SRCA). В этом случае эффективность имплантации опухолевых клеток иммунокомпетентным мышам не отличалась от данного показателя у иммунодефицитных животных, и через 6 дней после перевивки ксенографты достигали размера, достаточного для проведения экспериментальных процедур [58].

С развитием технологий получения генетически модифицированных иммунодефицитных животных использование ксенографтов опухолей, полученных от пациентов (patient-derived xenograft, PDX), стало более реальным. В настоящее время в экспериментах с PDX-моделями используют четыре типа иммунодефицитных мышей: 1) голые мыши Nude (Nu) с му-

тацией в гене регулятора созревания Т-лимфоцитов FOXP1, что ведет к недоразвитому тимусу или его отсутствию; 2) мыши с острым комбинированным иммунодефицитом (severe combined immunodeficient mice, SCID), у которых не способны созреть как Т-, так и В-клетки иммунной системы; 3) мыши SCID с диабетом без ожирения (non-obese diabetic/SCID mice, NOD/SCID), степень иммунодефицита у которых повышена по сравнению с мышами SCID; 4) мыши NOD/SCID с мутацией в гене IL2RG (NSG), характеризующиеся дефицитом Т-, В- и NK-клеток [59, 60]. Для мышей NSG эффективность имплантации наиболее высока и составляет до 85–90 %, что было показано, в частности, на модели немелкоклеточного рака легких [61] и рака яичников [62].

Индивидуальные методики подготовки опухолевых клеток к имплантации и непосредственно техника имплантации могут различаться у отдельных групп исследователей. Опухолевая ткань может быть получена из послеоперационных образцов, образцов биопсии, асцитной жидкости и циркулирующих опухолевых клеток [62]. Тканевые образцы могут измельчать до фрагментов 1–2 мм³ или до суспензии с единичными клетками с использованием механических гомогенизаторов или смеси ферментов. Имплантацию проводят в культуральной среде, физиологическом растворе, а в случае суспензионных клеток с низкой способностью к адгезии – в присутствии формообразующей матрицы Matrigel или стромальных фибробластов [63, 64]. Наиболее распространенным способом введения опухолевых клеток является подкожный, однако ортотопическая имплантация более эффективна. Время роста опухолевого узла может варьировать в зависимости от типа опухолевых клеток и их количества от нескольких дней до 1 года. По достижении опухолевым узлом размера порядка 15 мм³ допустимо проводить забор опухолевого материала для имплантации последующему поколению мышей и непосредственно для проведения экспериментальных процедур.

Оценку чувствительности/резистентности опухоли к исследуемым препаратам проводят, в первую очередь, по торможению роста опухолевого узла путем регулярного измерения его размеров, а также по гистологическим, морфологическим и генетическим характеристикам опухолевой ткани, определяемым после окончания эксперимента [65]. Недостатком данного подхода является отсутствие информации о специфике опухолевого роста в динамике. Альтернативным подходом к оценке жизнеспособности опухоли является использование магнитно-резонансной томографии, позволяющей отследить, помимо динамики опухолевого роста, определенные характеристики микроокружения опухоли (давление интерстициальной жидкости, плотность сосудов и др.) [66]. Получение ксенографтов, экспрессирующих специфический люминесцентный или флуоресцентный маркер, также предоставляет возможность оценки жизнеспособности опухолевых клеток и их

способности к метастазированию в режиме реального времени [67].

Спорным моментом в использовании модельной системы PDX является взаимное влияние опухолевых клеток человека и микроокружения мыши. Биоинформатический анализ профилей экспрессии генов в более чем 1000 образцах ксенографтов 24 типов злокачественных новообразований показал, что в процессе роста опухолевого узла у животного-реципиента наблюдается эволюция опухолевых клонов, отличная от данного процесса в организме человека по ряду параметров, в частности, по изменению структуры хромосом и по профилю экспрессии ряда генов, что следует учитывать при проведении тестирования на резистентность опухоли к химиопрепаратам [68–70]. Выявленное влияние организма-хозяина иммунодефицитного животного на опухолевые клетки заставило экспериментаторов вновь обратиться к созданию трехмерных моделей на основе использования операционных образцов пациента как опухолевой, так и нормальной тканей [71]. Для использования модели PDX в клинической практике необходимы дальнейшие исследования и накопление данных как в области корреляции ответа пациентов и экспериментальных животных на терапию, так и в области молекулярных механизмов взаимодействия тканей и клеток человека и животного-реципиента.

Заключение

Как известно, злокачественный рост представляет собой динамичный процесс. Опухолевая прогрессия, связанная с нестабильностью генома и утратой основных механизмов контроля клеточной пролиферации, приводит к появлению большого числа клеточных вариантов, каждый из которых при определенных условиях отбора может дать начало активно растущему клону со специфическим фенотипом и функциями. Поскольку этот процесс идет постоянно, по определению, невозможен подбор одного универсального протокола лечения для любой опухоли, если он изначально не обеспечивает гибель всех ее клеток. Кроме того, опухоли одинаковой локализации и гистогенеза обладают, наряду с общим набором генетических и эпигенетических аномалий, индивидуальными особенностями, что делает их функционально разнородными и требует персонализации лечения.

Выбрать из ряда возможных вариантов лечения наиболее перспективные, а также избежать использования химиотерапии, к которой опухолевые клетки имеют резистентность, помогает экспериментальное тестирование резистентности опухолевых клеток к химиопрепаратам. Методические варианты такого экспериментального тестирования, приведенные в настоящем обзоре, различаются по своей направленности на процессы жизнедеятельности и гибели клеток, что обуславливает некоторые различия в результатах

их одновременного применения на практике. За прошедшие полвека в использовании экспериментального тестирования резистентности опухолевых клеток для персонализации химиотерапии произошла эволюция методических подходов, которая заключалась в повышении безопасности проведения и повышении чувствительности за счет использования флуоресцентных соединений. Одним из перспективных методических подходов, позволяющих оценивать метаболическую активность клеток в динамике, является использование

водорастворимого резазурина, что позволяет проводить тестирование большего количества химиопрепаратов и их комбинаций.

Общий вектор совершенствования экспериментов по персонализации химиотерапии направлен на приближение условий эксперимента к процессам, происходящим в организме человека. Каждый из этих методов имеет свой диапазон предсказательной силы и при адекватном использовании может дать полезный ориентир для лечения.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Имянитов Е.Н. Фундаментальная онкология в 2017 году: обзор наиболее интересных открытий. Практическая онкология. 2018; 19(1): 1–15. [Imyanitov E.N. Basic science in oncology: year 2017 overview. Practical Oncology. 2018; 19(1): 1–15. (in Russian)].
2. Моисеенко Ф.М. Эволюция резистентности рака легкого к терапии ингибиторами EGFR: новые аспекты. Практическая онкология. 2018; 19(2): 106–16. [Moiseenko F.V. Evolution of tyrosine kinase resistance in egfr mutated non-small cell lung cancer. Practical Oncology. 2018; 19(2): 106–16. (in Russian)].
3. Vogel C.L., Cobleigh M.A., Tripathy D., Gutheil J.C., Harris L.N., Fehrenbacher L., Slamon D.J., Murphy M., Novotny W.F., Burchmore M., Shak S., Stewart S.J., Press M. Efficacy and safety of trastuzumab as a single agent in first-line treatment of HER2-overexpressing metastatic breast cancer. J Clin Oncol. 2002 Feb 1; 20(3): 719–26. doi: 10.1200/JCO.2002.20.3.719.
4. Mitsudomi T., Morita S., Yatabe Y., Negoro S., Okamoto I., Tsurutani J., Seto T., Satouchi M., Tada H., Hirashima T., Asami K., Katakami N., Takada M., Yoshioka H., Shibata K., Kudoh S., Shimizu E., Saito H., Toyooka S., Nakagawa K., Fukukawa K.; West Japan Oncology Group. Gefitinib versus cisplatin plus docetaxel in patients with non-small-cell lung cancer harbouring mutations of the epidermal growth factor receptor (WJTOG3405): an open label, randomised phase 3 trial. Lancet Oncol. 2010; 11(2): 121–8. doi: 10.1016/S1470-2045(09)70364-X.
5. Феденко А.А. Таргетная терапия в лечении сарком мягких тканей. Практическая онкология. 2013; 14(2): 122126. [Fedenko A.A. Targeted therapy in soft tissue sarcomas. Practical Oncology. 2013; 14(2): 122126. (in Russian)].
6. Volm M., Efferth T. Prediction of Cancer Drug Resistance and Implications for Personalized Medicine. Front Oncol. 2015 Dec 17; 5: 282. doi: 10.3389/fonc.2015.00282.
7. Abo-Bakr A., Mossallam G., El Azhary N., Hafez H., Badawy R. Impact of CYP1A1, GSTP1 and XRCC1 genes polymorphisms on toxicity and response to chemotherapy in childhood acute lymphoblastic leukemia. J Egypt Natl Canc Inst. 2017 Sep; 29(3): 127–133. doi: 10.1016/j.jnci.2017.07.002.
8. Чубенко В.А. Осложнения таргетной терапии. Практическая онкология. 2010; 11(3): 192–202. [Chubenko V.A. Complications of targeted therapy. Practical Oncology. 2010; 11(3): 192–202. (in Russian)].
9. Black M.M., Speer F.D. Further observations on the effects of cancer chemotherapeutic agents on the in vitro dehydrogenase activity of cancer tissue. J Natl Cancer Inst. 1954 Apr; 14(5): 1147–58.
10. Schinköthe T., Haeger S., Gabri M.R. Practical guidelines for diagnostic use of in vitro chemosensitivity tests. Anticancer Res. 2007 May-Jun; 27(3A): 1365–7.
11. Bussmann L., Busch C.J., Lörcz B.B., Rieckmann T., Block A., Knecht R. Perspectives in chemosensitivity and chemoresistance assays and their implementation in head and neck cancer. Eur Arch Otorhinolaryngol. 2016 Dec; 273(12): 4073–4080. doi: 10.1007/s00405-015-3893-1.
12. Чернов А.Н., Калюнов В.Н., Конопля Н.Е. Разработка варианта метода оценки чувствительности клеток интракраниальных новообразований к химиотерапевтическим препаратам *in vitro*. Злокачественные опухоли. 2015; 3: 40–52. [Chernov A.N., Kaljunov V.N., Konoplya N.E. Developing options for method of assessing the sensitivity of cells intracranial neoplasms to chemotherapeutics *in vitro*. Malignant Tumours. 2015; 3: 40–52. (in Russian)].
13. Burstein H.J., Mangu P.B., Somerfield M.R., Schrag D., Samson D., Holt L., Zelman D., Ajani J.A.; American Society of Clinical Oncology. American Society of Clinical Oncology clinical practice guideline update on the use of chemotherapy sensitivity and resistance assays. J Clin Oncol. 2011 Aug 20; 29(24): 3328–30. doi: 10.1200/JCO.2011.36.0354.
14. Сvirnovskiy A.I., Сергеев Т.Ф., Алеиникова О.В., Шман Т.В., Смирнова Л.А., Колбаско Л.В., Васюков В.В., Тарас И.Б., Бакун А.В., Василевич А.С., Стезкин А.В., Дрейчук Н.А. Скрининг лекарственной чувствительности лейкозных клеток как вариант персонализации
- терапии опухолевых заболеваний лимфоидной ткани. Здравоохранение (Минск). 2012; 7: 8–13. [Svirnovskiy A.I., Sergienko T.F., Aleinikova O.V., Shman T.V., Smirnova L.A., Kolbasco L.V., Pasiukov V.V., Taras I.B., Bakun A.V., Vasilevich A.S., Stezhkin A.V., Dreychuk N.A. Screening of leukemic cell drug sensitivity as variant of personalization therapy for lymphoid tissue tumor diseases. Healthcare (Minsk). 2012; 7: 8–13. (in Russian)].
15. Sueblinwong T., Ghebre R., Izuka Y., Pambuccian S.E., Isaksson Vogel R., Skubitz A.P., Bazzaro M. Establishment, characterization and downstream application of primary ovarian cancer cells derived from solid tumors. PLoS One. 2012; 7(11): e50519. doi: 10.1371/journal.pone.0050519.
16. Yoon Y.S., Kim J.C. Recent applications of chemosensitivity tests for colorectal cancer treatment. World J Gastroenterol. 2014 Nov 28; 20(44): 16398–408. doi: 10.3748/wjg.v20.i44.16398.
17. Hsieh C.H., Chen Y.D., Huang S.F., Wang H.M., Wu M.H. The effect of primary cancer cell culture models on the results of drug chemosensitivity assays: the application of perfusion microbioassay system as cell culture vessel. Biomed Res Int. 2015; 2015: 470283. doi: 10.1155/2015/470283.
18. Kato R., Hasegawa K., Achiwa Y., Okamoto H., Torii Y., Oe S., Udagawa Y. Predicting nedaplatin sensitivity of cervical cancer using the histoculture drug response assay. Eur J Gynaecol Oncol. 2011; 32(4): 381–6.
19. Kravtsov V.D., Daniel T.O., Koury M.J. Comparative analysis of different methodological approaches to the in vitro study of drug-induced apoptosis. Am J Pathol. 1999 Oct; 155(4): 132739. doi: 10.1016/S0002-9440(10)65235-2.
20. Kern D.H., Sondak V.K., Morgan C.R., Hildebrand-Zanki S.U. Clinical application of the thymidine incorporation assay. Ann Clin Lab Sci. 1987; 17(6): 383–8.
21. Hoffman R.M. Clinical Correlation of the Histoculture Drug Response Assay for Head and Neck Cancer. Methods Mol Biol. 2018; 1760: 83–92. doi: 10.1007/978-1-4939-7745-1_9.
22. Busch M., Papior D., Stephan H., Dünker N. Characterization of etoposide- and cisplatin-chemoresistant retinoblastoma cell lines. Oncol Rep. 2018 Jan; 39(1): 160–172. doi: 10.3892/or.2017.6100.
23. Su Y.K., Bamodu O.A., Tzeng Y.M., Hsiao M., Yeh C.T., Lin C.M. Ovatodiolide inhibits the oncogenicity and cancer stem cell-like phenotype of glioblastoma cells, as well as potentiates the anticancer effect of temozolomide. Phytomedicine. 2019 Aug; 61: 152840. doi: 10.1016/j.phymed.2019.152840.
24. Arienti C., Tesi A., Verdecchia G.M., Framarini M., Virzi S., Grassi A., Scarpi E., Turci L., Silvestrini R., Amadori D., Zoli W. Role of conventional chemosensitivity test and tissue biomarker expression in predicting response to treatment of peritoneal carcinomatosis from colon cancer. Clin Colorectal Cancer. 2013 Jun; 12(2): 122–7. doi: 10.1016/j.clcc.2012.11.006.
25. Stepanenko A.A., Dmitrenko V.V. Pitfalls of the MTT assay: Direct and off-target effects of inhibitors can result in over/underestimation of cell viability. Gene. 2015 Dec 15; 574(2): 193–203. doi: 10.1016/j.gene.2015.08.009.
26. Liu Z., Yang W., Long G., Wei C. Trace Elements and Chemotherapy Sensitivity. Biol Trace Elem Res. 2016 Oct; 173(2): 28390. doi: 10.1007/s12011-016-0667-6.
27. Xu X., Dai H., Zhao Y., Wang Y., Xu X., Qian Z., Chen X. In vitro chemosensitivity assay of ascites in epithelial ovarian cancer. Eur J Gynaecol Oncol. 2013; 34(6): 559–64.
28. Jung P.S., Kim D.Y., Kim M.B., Lee S.W., Kim J.H., Kim Y.M., Kim Y.T., Hoffman R.M., Nam J.H. Progression-free survival is accurately predicted in patients treated with chemotherapy for epithelial ovarian cancer by the histoculture drug response assay in a prospective correlative clinical trial at a single institution. Anticancer Res. 2013 Mar; 33(3): 1029–34.
29. Yu T., Lin J., Zhao J., Huang W., Zeng L., Fang Z., Xu N. A simple in vitro tumor chemosensitivity assay based on cell penetrating peptide tagged luciferase. PLoS One. 2017 Nov 10; 12(11): e0186184. doi: 10.1371/journal.pone.0186184.
30. Ge W.Q., Pu J.X., Zheng S.Y. Clinical application of the adenosine triphosphate-based response assay in intravesical chemotherapy for superficial

bladder cancer. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2012; 13(2): 689–92. doi: 10.7314/apjcp.2012.13.2.689.

31. Heiland T.E., Kærn J., Skrede M., Sandstad B., Tropé C., Davidson B., Florenes V.A. Predicting platinum resistance in primary advanced ovarian cancer patients with an in vitro resistance index. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2012 May; 69(5): 1307–14. doi: 10.1007/s00280-012-1835-9.

32. Linz U., Ulus B., Neuloh G., Chusmann H., Oertel M., Nolte K., Weis J., Heussen N., Gilsbach J.M. Can in-vitro chemoresponse assays help find new treatment regimens for malignant gliomas? *Anticancer Drugs*. 2014 Apr; 25(4): 375–84. doi: 10.1097/CAD.0000000000000062.

33. Kwon H.Y., Kim I.K., Kang J., Sohn S.K., Lee K.Y. In Vitro Adenosine Triphosphate-Based Chemotherapy Response Assay as a Predictor of Clinical Response to Fluorouracil-Based Adjuvant Chemotherapy in Stage II Colorectal Cancer. *Cancer Res Treat*. 2016 Jul; 48(3): 970–7. doi: 10.14143/crt.2015.140.

34. Park J.S., Kim J.K., Yoon D.S. Correlation of Early Recurrence With In Vitro Adenosine Triphosphate Based Chemotherapy Response Assay in Pancreas Cancer With Postoperative Gemcitabine Chemotherapy. *J Clin Lab Anal*. 2016 Nov; 30(6): 804–810. doi: 10.1002/jcla.21940.

35. Chang J., Lee A., Lee J., Lim W., Sung S.H., Moon B.I. Correlation between the molecular subtype of breast cancer and the in vitro adenosine triphosphate-based chemosensitivity assay. *J Korean Surg Soc*. 2013 Jun; 84(6): 313–20. doi: 10.4174/jkss.2013.84.6.313.

36. Rodríguez-Corralles J.A., Josán J.S. Resazurin Live Cell Assay: Setup and Fine-Tuning for Reliable Cytotoxicity Results. *Methods Mol Biol*. 2017; 1647: 207–219. doi: 10.1007/978-1-4939-7201-2_14.

37. Präbst K., Engelhardt H., Ringgeler S., Hübner H. Basic Colorimetric Proliferation Assays: MTT, WST, and Resazurin. *Methods Mol Biol*. 2017; 1601: 1–17. doi: 10.1007/978-1-4939-6960-9_1.

38. Walzl A., Unger C., Kramer N., Unterleuthner D., Scherzer M., Hengstschläger M., Schwanzer-Pfeiffer D., Dolznig H. The Resazurin Reduction Assay Can Distinguish Cytotoxic from Cytostatic Compounds in Spheroid Screening Assays. *J Biomol Screen*. 2014 Aug; 19(7): 1047–59. doi: 10.1177/1087057114532352.

39. Galderisi F., Stork L., Li J., Mori M., Mongoue-Tchokote S., Huang J. Flow cytometric chemosensitivity assay as a predictive tool of early clinical response in acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr Blood Cancer*. 2009 Oct; 53(4): 543–50. doi: 10.1002/psc.22119.

40. Bosserman L., Prendergast F., Herbst R., Fleisher M., Salom E., Strickland S., Raptis A., Hallquist A., Perree M., Rajurkar S., Karimi M., Rogers K., Davidson D., Willis C., Penalver M., Homesley H., Burrell M., Garrett A., Rutledge J., Chernick M., Presant C.A. The microculture-kinetic (MiCK) assay: the role of a drug-induced apoptosis assay in drug development and clinical care. *Cancer Res*. 2012 Aug 15; 72(16): 3901–5. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-12-0681.

41. Strickland S.A., Raptis A., Hallquist A., Rutledge J., Chernick M., Perree M., Talbot M.S., Presant C.A. Correlation of the microculture-kinetic drug-induced apoptosis assay with patient outcomes in initial treatment of adult acute myelocytic leukemia. *Leuk Lymphoma*. 2013; 54(3): 528–34. doi: 10.3109/10428194.2012.722217.

42. Weisenthal L.M. Differential Staining Cytotoxicity assay: a review. *Methods Mol Biol*. 2011; 731: 259–83. doi: 10.1007/978-1-61779-080-5_22.

43. Chandrasekaran S., Giang U.B., Xu L., DeLouise L.A. In vitro assays for determining the metastatic potential of melanoma cell lines with characterized in vivo invasiveness. *Biomed Microdevices*. 2016 Oct; 18(5): 89. doi: 10.1007/s10544-016-0104-9.

44. Fiebig H.H., Maier A., Burger A.M. Clonogenic assay with established human tumour xenografts: correlation of in vitro to in vivo activity as a basis for anticancer drug discovery. *Eur J Cancer*. 2004 Apr; 40(6): 802–20. doi: 10.1016/j.ejca.2004.01.009.

45. Чернов А.Н., Баранцевич Е.П., Калюнов В.Н., Галагудза М.М. Методы подбора in vitro химиопрепаратов для индивидуальной химиотерапии злокачественных новообразований пациентов. *Трансляционная медицина*. 2018; 5(1): 45–65. [Chernov A.N., Barantsevich E.P., Kalunov V.N., Galagudza M.M. The methods of in vitro selection of chemotherapeutic drugs for individual chemotherapy of malignant tumors in patients. *Translational Medicine*. 2018; 5(3): 45–65. (in Russian)]. doi: 10.18705/2311-4495-2018-5-3-45-65.

46. Kawamura M., Gika M., Abiko T., Inoue Y., Oyama T., Izumi Y., Kobayashi H., Kobayashi K. Clinical evaluation of chemosensitivity testing for patients with unresectable non-small cell lung cancer (NSCLC) using collagen gel droplet embedded culture drug sensitivity test (CD-DST). *Cancer Chemother Pharmacol*. 2007 Mar; 59(4): 507–13. doi: 10.1007/s00280-006-0292-8.

47. Higashiyama M., Oda K., Okami J., Maeda J., Kodama K., Takami K., Morinaga K., Takano T., Kobayashi H. In vitro-chemosensitivity test using the collagen gel droplet embedded culture drug test (CD-DST) for malignant pleural mesothelioma: possibility of clinical application. *Ann Thorac Cardiovasc Surg*. 2008 Dec; 14(6): 355–62.

48. Nagourney R.A. Ex vivo programmed cell death and the prediction of response to chemotherapy. *Curr Treat Options Oncol*. 2006 Mar; 7(2): 103–10. doi: 10.1007/s11864-006-0045-2.

49. Stengl A., Hörl D., Leonhardt H., Helma J. A Simple and Sensitive High-Content Assay for the Characterization of Antiproliferative Therapeutic Antibodies. *SLAS Discov*. 2017 Mar; 22(3): 309–315. doi: 10.1177/1087057116677821.

50. Duellman S.J., Zhou W., Meisenheimer P., Vidugiris G., Cali J.J., Gautam P., Wennerberg K., Vidugiriene J. Bioluminescent, Nonlytic, Real-Time Cell Viability Assay and Use in Inhibitor Screening. *Assay Drug Dev Technol*. 2015 Oct; 13(8): 456–65. doi: 10.1089/adt.2015.669.

51. Hsieh J.H., Huang R., Lin J.A., Sedykh A., Zhao J., Tice R.R., Paules R.S., Xia M., Auerbach S.S. Real-time cell toxicity profiling of Tox21 10K compounds reveals cytotoxicity dependent toxicity pathway linkage. *PLoS One*. 2017 May 22; 12(5): e0177902. doi: 10.1371/journal.pone.0177902.

52. Mahfouzi S.H., Amoadediny G., Doryab A., Safiabadi-Tali S.H., Ghanai M. Noninvasive Real-Time Assessment of Cell Viability in a Three-Dimensional Tissue. *Tissue Eng Part C Methods*. 2018 Apr; 24(4): 197–204. doi: 10.1089/ten.TEC.2017.0371.

53. Chang K.T., Chang Y.J., Chen C.L., Wang Y.N. Multichannel lens-free CMOS sensors for real-time monitoring of cell growth. *Electrophoresis*. 2015 Feb; 36(3): 413–9. doi: 10.1002/elps.201400272.

54. Wu H., Yang Y., Bagnaninchi P.O., Jia J. Electrical impedance tomography for real-time and label-free cellular viability assays of 3D tumour spheroids. *Analyst*. 2018 Aug 20; 143(17): 4189–4198. doi: 10.1039/c8an00729b.

55. Pan Y., Hu N., Wei X., Gong L., Zhang B., Wan H., Wang P. 3D cell-based biosensor for cell viability and drug assessment by 3D electric cell/matrix-substrate impedance sensing. *Biosens Bioelectron*. 2019 Apr 1; 130: 344–351. doi: 10.1016/j.bios.2018.09.046.

56. Lee R., Kim J., Kim S.Y., Jang S.M., Lee S.M., Choi I.H., Park S.W., Shin J.S., Yoo K.H. Capacitance-based assay for real-time monitoring of endocytosis and cell viability. *Lab Chip*. 2012 Jul; 12(13): 2377–84. doi: 10.1039/c2lc21236f.

57. Lupold S.E., Johnson T., Chowdhury W.H., Rodriguez R. A real time Metridia luciferase based non-invasive reporter assay of mammalian cell viability and cytotoxicity via the β -actin promoter and enhancer. *PLoS One*. 2012; 7(5): e36535. doi: 10.1371/journal.pone.0036535.

58. Suonio E., Lippinen P., Mäenpää J., Syrjänen K., Kangas L., Tuomisto L. Mitotic index in the subrenal capsule assay as an indicator of the chemosensitivity of ovarian cancer. *Cancer Chemother Pharmacol*. 1997; 41(1): 15–21. doi: 10.1007/s002800050702.

59. Xu C., Li X., Liu P., Li M., Luo F. Patient-derived xenograft mouse models: A high fidelity tool for individualized medicine. *Oncol Lett*. 2019 Jan; 17(1): 3–10. doi: 10.3892/ol.2018.9583.

60. Shultz L.D., Lyons B.L., Burzenski L.M., Gott B., Chen X., Chaleff S., Kotb M., Gillies S.D., King M., Mangada J., Greiner D.L., Handgretinger R. Human lymphoid and myeloid cell development in NOD/LtSz-scid IL2R gamma null mice engrafted with mobilized human hematopoietic stem cells. *J Immunol*. 2005 May 15; 174(10): 6477–89. doi: 10.4049/jimmunol.174.10.6477.

61. Moro M., Bertolini G., Tortoreto M., Pastorino U., Sozzi G., Roz L. Patient-derived xenografts of non small cell lung cancer: resurgence of an old model for investigation of modern concepts of tailored therapy and cancer stem cells. *J Biomed Biotechnol*. 2012; 2012: 568567. doi: 10.1155/2012/568567.

62. Bankert R.B., Balu-Iyer S.V., Odunsi K., Shultz L.D., Kelleher R.J.Jr., Barnas J.L., Simpson-Abelson M., Parsons R., Yokota S.J. Humanized mouse model of ovarian cancer recapitulates patient solid tumor progression, ascites formation, and metastasis. *PLoS One*. 2011; 6(9): e24420. doi: 10.1371/journal.pone.0024420.

63. Aparicio S., Hidalgo M., Kung A.L. Examining the utility of patient-derived xenograft mouse models. *Nat Rev Cancer*. 2015 May; 15(5): 311–6. doi: 10.1038/nrc3944.

64. Xie B.Y., Wu A.W. Organoid Culture of Isolated Cells from Patient-derived Tissues with Colorectal Cancer. *Chin Med J (Engl)*. 2016 Oct 20; 129(20): 2469–2475. doi: 10.4103/0366-6999.191782.

65. Hoffman R.M. Patient-Derived Orthotopic Xenograft (PDOX) Models of Melanoma. *Int J Mol Sci*. 2017 Aug 31; 18(9). doi: 10.3390/ijms18091875.

66. Hauge A., Wegner C.S., Gaustad J.V., Simonsen T.G., Andersen L.M.K., Rofstad E.K. DCE-MRI of patient-derived xenograft models of uterine cervix carcinoma: associations with parameters of the tumor microenvironment. *J Transl Med*. 2017 Nov 3; 15(1): 225. doi: 10.1186/s12967-017-1331-4.

67. Park J.H., Zhao M., Oshiro H., Miyake K., Higuchi T., Reynoso J., Razmjooei S., Bouvet M., Clary B., Zhang Z., Sugisawa N., Yamamoto J., Singh S.R., Hoffman R.M. Peritoneal Metastases in a Patient-derived Orthotopic Xenograft (PDOX) Model of Colon Cancer Imaged Non-invasively via Red Fluorescent Protein Labeled Stromal Cells. *Anticancer Res*. 2019 Jul; 39(7): 3463–3467. doi: 10.21873/anticancer.13492.

68. Blomme A., Van Simaey G., Doumont G., Costanza B., Bellier J., Otaka Y., Sherer F., Lovinfosse P., Boutry S., Palacios A.P., De Pauw E.,

Hirano T., Yokobori T., Hustinx R., Bellahcène A., Delvenne P., Detry O., Goldman S., Nishiyama M., Castronovo V., Turtoi A. Murine stroma adopts a human-like metabolic phenotype in the PDX model of colorectal cancer and liver metastases. *Oncogene*. 2018 Mar; 37(9): 1237–1250. doi: 10.1038/s41388-017-0018-x.

69. Ben-David U., Ha G., Tseng Y.Y., Greenwald N.F., Oh C., Shih J., McFarland J.M., Wong B., Boehm J.S., Beroukhim R., Golub T.R. Patient-derived xenografts undergo mouse-specific tumor evolution. *Nat Genet*. 2017 Nov; 49(11): 1567–1575. doi: 10.1038/ng.3967.

70. Stewart E., Federico S.M., Chen X., Shelat A.A., Bradley C., Gordon B., Karlstrom A., Twarog N.R., Clay M.R., Bahrami A., Freeman B.B., Xu B.,

Zhou X., Wu J., Honnell V., Ocarz M., Blankenship K., Dapper J., Mardis E.R., Wilson R.K., Downing J., Zhang J., Easton J., Pappo A., Dyer M.A. Orthotopic patient-derived xenografts of paediatric solid tumours. *Nature*. 2017 Sep 7; 549(7670): 96–100. doi: 10.1038/nature23647.

71. Mas C., Boda B., Caul Futy M., Huang S., Wisniewski L., Constant S. Establishment of a tumour-stroma airway model (OncoCilAir) to accelerate the development of human therapies against lung cancer. *Altern Lab Anim*. 2016 Oct; 44(5): 479–485. doi: 10.1177/026119291604400509.

Поступила/Received 30.07.2019

Принята в печать/Accepted 07.10.2019

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Кирсанов Кирилл Игоревич, кандидат биологических наук, заведующий лабораторией канцерогенных веществ отдела химического канцерогенеза, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» (г. Москва, Россия). E-mail: kkirsanov85@yandex.ru. SPIN-код: 7329-7263. AuthorID (РИНЦ): 184421. Researcher ID (WOS): L-3062-2015. ORCID: 0000-0002-8599-6833.

Кузин Константин Александрович, младший научный сотрудник отдела химического канцерогенеза, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» (г. Москва, Россия). SPIN-код: 4314-7701. AuthorID (Scopus): 57200541245.

Фетисов Тимур Игоревич, лаборант-исследователь отдела химического канцерогенеза, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» (г. Москва, Россия), SPIN-код: 6890-8393. Author ID (Scopus): 57192380157. Researcher ID (WOS): O-3810-2019.

Лесовая Екатерина Андреевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела химического канцерогенеза, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» (г. Москва, Россия). SPIN-код: 7593-2167. AuthorID (РИНЦ): 583044. Researcher ID (WOS): J-7790-2015. ORCID: 0000-0002-1967-9637.

Белицкий Геннадий Альтерович, доктор медицинских наук, профессор, ведущий научный сотрудник отдела химического канцерогенеза, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» (г. Москва, Россия). SPIN-код: 4037-0033. AuthorID (РИНЦ): 107231. Researcher ID (WOS): L-3062-2015.

Якубовская Марианна Геннадиевна, доктор медицинских наук, заведующая отделом химического канцерогенеза, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» (г. Москва, Россия). SPIN-код: 6858-3880. Author ID (РИНЦ): 583045. Researcher ID (WOS): R-6984-2016. ORCID: 0000-0002-9710-8178.

ВКЛАД АВТОРОВ

Кирсанов Кирилл Игоревич: разработка концепции научной работы, анализ литературных источников, написание отдельных разделов статьи.

Кузин Константин Александрович: анализ литературных источников, написание отдельных разделов статьи.

Фетисов Тимур Игоревич: составление сопроводительного материала.

Лесовая Екатерина Андреевна: анализ литературных источников, написание отдельных разделов статьи.

Белицкий Геннадий Альтерович: анализ обзора, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания;

Якубовская Марианна Геннадиевна: разработка концепции научной работы, анализ литературных источников, написание отдельных разделов статьи.

Финансирование

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта 18-29-09095.

Конфликт интересов

Авторы объявляют, что у них нет конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Kirill I. Kirsanov, PhD, Head of Laboratory of Carcinogenic Substances of the Department of Chemical Carcinogenesis, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology (Moscow, Russia). E-mail: kkirsanov85@yandex.ru. Researcher ID (WOS): L-3062-2015. ORCID: 0000-0002-8599-6833.

Konstantin A. Kuzin, Researcher, Department of Chemical Carcinogenesis, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology (Moscow, Russia). Author ID (Scopus): 57200541245.

Timur I. Fetisov, Laboratory Assistant Researcher, Department of Chemical Carcinogenesis, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology (Moscow, Russia). Author ID (Scopus): 57192380157. Researcher ID (WOS): O-3810-2019.

Ekaterina A. Lesovaya, PhD, Senior Researcher, Department of Chemical Carcinogenesis, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology (Moscow, Russia). Researcher ID (WOS): J-7790-2015. ORCID: 0000-0002-1967-9637.

Gennady A. Belitsky, MD, Professor, Senior Researcher, Department of Chemical Carcinogenesis, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology (Moscow, Russia). Researcher ID (WOS): L-3062-2015.

Marianna G. Yakubovskaya, DSc, Head of Department of Chemical Carcinogenesis, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology (Moscow, Russia). Researcher ID (WOS): R-6984-2016. Author ID (Scopus): 583045. ORCID: 0000-0002-9710-8178.

AUTHOR CONTRIBUTION

Kirill I. Kirsanov: study conception, data analysis, writing of separate sections of the manuscript.

Konstantin A. Kuzin: data analysis, writing of separate sections of the manuscript.

Timur I. Fetisov: compilation of accompanying material.

Ekaterina A. Lesovaya: data analysis, writing of separate sections of the manuscript.

Gennady A. Belitsky: data analysis, critical revision for important intellectual content.

Marianna G. Yakubovskaya: study conception, data analysis, writing of separate sections of the manuscript.

Funding

The study was carried out with the financial support of the Russian Federal Property Fund in the framework of the scientific project 18-29-09095.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

Для цитирования: *Финогенова Ю.А., Липенгольц А.А., Смирнова А.В., Григорьева Е.Ю.* Использование *in vivo* методов радионуклидной визуализации в экспериментальной онкологии. Сибирский онкологический журнал. 2020; 19(3): 137–145. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-3-137-145.

For citation: *Finogenova Y.A., Lipengolts A.A., Smirnova A.V., Grigorieva E.Y.* Nuclear medicine techniques for *in vivo* animal imaging. Siberian Journal of Oncology. 2020; 19(3): 137–145. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-3-137-145.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ *IN VIVO* МЕТОДОВ РАДИОНУКЛИДНОЙ ВИЗУАЛИЗАЦИИ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ОНКОЛОГИИ

Ю.А. Финогенова¹, А.А. Липенгольц^{1,2,3}, А.В. Смирнова¹, Е.Ю. Григорьева^{1,3}

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина»,
г. Москва, Россия¹

Россия, 115478, г. Москва, Каширское шоссе, 24. E-mail: lipengolts@mail.ru¹

ФГБУ ГНЦ «Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна»,
г. Москва, Россия²

Россия, 123182, г. Москва, ул. Живописная, 46²

ФГБУН «Институт общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова», г. Москва, Россия³
Россия, 119991, г. Москва, Ленинский проспект, 31³

Аннотация

Цель исследования – анализ возможностей радионуклидной визуализации в экспериментальной онкологии при исследованиях на лабораторных животных *in vivo*. **Материал и методы.** В анализ вошли 49 источников литературы за 2013–19 гг., найденные в системах Scopus, Web of Science, Google Scholar eLIBRARY и Pubmed. **Результаты.** Современные радионуклидные методы *in vivo* исследования, такие как позитронная эмиссионная томография и однофотонная эмиссионная компьютерная томография, дают широкий спектр возможностей для исследований в экспериментальной онкологии. Для визуализации опухолевых очагов разной локализации в организме мышей и крыс используются как традиционные клинические радиофармпрепараты ($[^{18}\text{F}]\text{-FDG}$ и $[^{99\text{m}}\text{Tc}]\text{-MDP}$), так и экспериментальные меченые соединения, такие как $[^{99\text{m}}\text{Tc}]\text{-3PRGD2}$, $[^{99\text{m}}\text{Tc}]\text{-HisoDGR}$, специфичные к интегринам на поверхности опухолевых клеток, $[^{18}\text{F}]\text{-тетрафтороборат}$, меченые антитела и др. Помимо визуализации опухолевых очагов методы радионуклидной визуализации позволяют проводить оценку гистологических и физиологических характеристик опухолей, в том числе в динамике при проведении терапии. Моноклональные антитела, меченные ^{111}In , ^{89}Zr или другими изотопами, используются для *in vivo* оценки в опухолевых тканях уровня экспрессии различных рецепторов, таких как EGFR, HER-2 и др. Исследование гипоксии опухолевых тканей может быть успешно проведено методами радионуклидной визуализации при помощи таких трейсеров, как $[^{64}\text{Cu}]\text{-ATSM}$, $[^{18}\text{F}]\text{-FMISO}$, меченных антител к карбоангидразе IX и др. Позитронная эмиссионная томография и однофотонная эмиссионная компьютерная томография могут быть использованы для ранней оценки эффективности новых методов противоопухолевой терапии. Радионуклидные методы позволяют оценивать *in vivo* как повреждения ДНК (дву- и однонитевые разрывы), так и интенсивность апоптоза в опухолевых и нормальных тканях. Наиболее часто используемым трейсером для оценки апоптоза является $[^{99\text{m}}\text{Tc}]\text{-дурамицин}$. Изменение пролиферативной активности в ответ на исследуемое противоопухолевое воздействие может быть оценено при помощи ПЭТ с аналогом тимидина $[^{18}\text{F}]\text{-FLT}$. **Заключение.** Современная радионуклидная визуализация позволяет решать широкий спектр задач экспериментальной онкологии при исследовании и разработке новых противоопухолевых методов. Возможность оценивать многие свойства опухолей до и после терапии в динамике прижизненно повышает эффективность разработки новых методов терапии и диагностики злокачественных опухолей.

Ключевые слова. ПЭТ, ОФЭКТ, РФП, радионуклидные трейсеры, лабораторные животные, опухолевые модели, *in vivo*.

NUCLEAR MEDICINE TECHNIQUES FOR *IN VIVO* ANIMAL IMAGING

Y.A. Finogenova¹, A.A. Lipengolts^{1,2,3}, A.V. Smirnova¹, E.Y. Grigorieva^{1,3}

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

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

Burnasyan Federal Medical Biophysical Center, Moscow, Russia²

46, Zhivopishnaya Street, 123182, Moscow, Russia²

Kurnakov Institute of General and Inorganic Chemistry, Moscow, Russia³

31, Leninsky prospect, 119991, Moscow, Russia³

Abstract

The object of the study was to analyze radionuclide detection techniques for *in vivo* animal imaging. **Material and Methods.** A total of 49 publications available from Scopus, Web of Science, Google Scholar eLIBRARY and Pubmed and published between 2013 and 2019 were reviewed. **Results.** The nuclear medicine techniques, such as positron emission tomography (PET) and single photon emission computed tomography (SPECT) are the most suitable imaging modalities for *in vivo* animal imaging. Besides traditional radiopharmaceuticals, such as [¹⁸F]-FDG and [^{99m}Tc]-MDP, the new radiolabeled tracers, such as [^{99m}Tc]-3PRGD2, [^{99m}Tc]-HisoDGR targeted to integrin, [¹⁸F]-tetrafluoroborate, labeled antibodies and others have been used for the noninvasive detection of tumors and for monitoring their response to treatment in mice and rats. ¹¹¹In and ⁸⁹Zr –labeled monoclonal antibodies are used to evaluate the expression level of many receptors such as EGFR, HER-2 and others in different tumors. PET imaging has demonstrated a good efficacy in tumor hypoxia imaging with [⁶⁴Cu]-ATSM, [¹⁸F]-FMISO. PET and SPECT can also be used for early evaluation of anticancer therapy response. Nuclear imaging techniques may assist *in the vivo* assessment of DNA damage (double- and single-strand breaks) as well as apoptosis intensity in tumor and normal tissues. [^{99m}Tc]-duramycin is the most commonly used tracer for imaging of apoptosis. Changes in tumor cell proliferation in response to anticancer therapy can be assessed by PET imaging with [¹⁸F]-FLT. **Conclusion.** Nuclear medicine offers a unique means to study cancer biology *in vivo* and to optimize cancer therapy.

Key words: PET, SPECT, radiopharmaceuticals, radionuclide tracers, laboratory animals, tumor models, *in vivo*.

В задачи современной экспериментальной онкологии входят поиск, разработка и исследование новых методов лечения и диагностики онкологических заболеваний. Развитие персонализированных методов лечения как с использованием таргетных химио- и радионуклидных препаратов [1], так и различных комбинированных физических методов [2–6] формирует запрос на персонафикацию экспериментальных данных для подтверждения их эффективности и изучения индивидуальных механизмов противоопухолевого действия. Получение интересующей информации о живом объекте исследования (лабораторном животном с опухолевой моделью) неинвазивными *in vivo* методами позволяет оценивать состояние опухоли как до, так и после лечения, снижая влияние индивидуальных особенностей организма на конечные результаты. Возможность наблюдения за лабораторными животными в динамике в процессе проведения эксперимента также позволяет в несколько раз сократить стоимость *in vivo* исследования за счет оптимизации его протокола. Одним из таких неинвазивных методов является радионуклидная визуализация. За счет использования различных радиоактивных трейсеров данный

метод позволяет решать широкий спектр научных задач, поставленных экспериментатором. Современный технический уровень позволяет создавать специализированные системы радионуклидной визуализации для мелких лабораторных животных с пространственным разрешением менее 1 мм. Это дает возможность изучать ряд физиологических процессов прижизненно.

Понятие «радионуклидная визуализация» объединяет позитронную эмиссионную томографию (ПЭТ) и однофотонную эмиссионную компьютерную томографию (ОФЭКТ). Хотя их конструктивные особенности существенно различаются, их применение в доклинической онкологии можно рассматривать совместно. Достоинством методов является возможность молекулярной визуализации, то есть получение информации не столько об анатомических структурах, сколько о распределении молекулярных маркеров конкретных патологических процессов.

Визуализация опухолевых очагов

Обнаружение опухолевых очагов в организме является одной из основных областей применения методов радионуклидной визуализации как в кли-

нической, так и в экспериментальной онкологии. Используя радионуклидные методы, можно изучать не только подкожные, но и ортотопические опухоли у лабораторных животных, в том числе рассеянные формы опухолей и метастазы. Для визуализации областей опухолевого роста у лабораторных животных часто используются радиофармпрепараты (РФП), уже применяемые в клинической практике. Так, в исследовании M.T. Rosenfeldt et al. [7] препарат $[^{18}\text{F}]\text{-FDG}$ использован для подтверждения развития протоковой аденокарциномы поджелудочной железы у мышей при сочетании мутаций в генах Kras, p53 и Atg5/Atg7. В другом исследовании при ОФЭКТ с остеотропным препаратом $[^{99\text{m}}\text{Tc}]\text{-MDP}$ подтверждено развитие модельных костных метастазов кастрационно-резистентного рака предстательной железы [8].

Помимо ОФЭКТ с $[^{99\text{m}}\text{Tc}]\text{-MDP}$, опухоли в костных тканях можно визуализировать при помощи ПЭТ с $[^{18}\text{F}]\text{-FDG}$ или $[^{18}\text{F}]\text{-NaF}$. При исследовании физиологии остеосаркомы человека M. Collantes et al. было отмечено, что клеточная линия 531МП давала гетерогенную популяцию опухолей. Некоторые из них интенсивно накапливали $[^{18}\text{F}]\text{-NaF}$, но слабо $[^{18}\text{F}]\text{-FDG}$, а некоторые – наоборот. При сравнении результатов радионуклидной визуализации с результатами гистологического исследования было показано, что $[^{18}\text{F}]\text{-FDG}$ захватывают высококлеточные остеолитические опухоли, тогда как $[^{18}\text{F}]\text{-NaF}$ накапливается в области синтезируемого остеоида, то есть в опухолях остеобластического фенотипа, отражая процесс ремоделирования кости [9].

Рост и развитие опухоли в значительной мере зависят от протекающего в ней процесса неоангиогенеза. Важную роль в этом процессе играет интегрин $\alpha\text{v}\beta 3$, нацеливание на который производится путем встраивания в радиофармпрепарат аминокислотной последовательности RGD. Препараты, содержащие RGD-последовательности, можно использовать для обнаружения опухолевых очагов. В работе J. Zheng et al. [10] ксенографт гепатоцеллюлярной карциномы человека HepG2 был исследован посредством двух модальностей с $[^{99\text{m}}\text{Tc}]\text{-3PRGD}_2$ и $[^{18}\text{F}]\text{-FDG}$ (ОФЭКТ и ПЭТ соответственно). Показано, что ОФЭКТ с RGD-препаратом позволяет увидеть опухоль уже на 8-е сут после перевивки. Значительное накопление $[^{18}\text{F}]\text{-FDG}$ отмечается только на 16-е сут, которое со временем продолжает постепенно увеличиваться. Начиная с 20-х сут $[^{18}\text{F}]\text{-FDG}$ визуализирует опухоль лучше, чем $[^{99\text{m}}\text{Tc}]\text{-3PRGD}_2$, так как количество интегриновых рецепторов в опухоли снижается за счет некроза. Таким образом, ОФЭКТ с $[^{99\text{m}}\text{Tc}]\text{-3PRGD}_2$ целесообразно использовать для ранней диагностики гепатоцеллюлярного рака, а ПЭТ с $[^{18}\text{F}]\text{-FDG}$ более чувствительна при поиске уже развившейся опухоли.

Помимо $\alpha\text{v}\beta 3$, возможно использование трейсеров, специфичных и к другим интегринам. $[^{99\text{m}}\text{Tc}]\text{-}$

HisoDGR, распознаваемый интегрином $\alpha 5\beta 1$, позволил отчетливо визуализировать интракраниальный ксенографт глиомы человека U87MG [11]. На ортотопической модели немелкоклеточного рака легкого человека A549 исследован препарат, специфичный к интегрину $\alpha 2\beta 1$ (содержащий последовательность DGEA). Получено изображение мелких опухолевых узлов, диаметром около 2 мм, не визуализируемых при сканировании с $[^{18}\text{F}]\text{-FDG}$ [12].

Поиск рассеянных форм опухолей – более сложная задача, чем изучение единичного очага. A. Ghai et al. [13] исследовалась модель множественной миеломы человека MM1.S. Применение ПЭТ с препаратом $[^{89}\text{Zr}]\text{-DFO-дартумумаб}$ позволило изучить не только подкожную, но и ортотопическую модель миеломы, визуализируя отдельные очаги в костях конечностей и позвонках.

Для поиска метастазов используются различные РФП в зависимости от вида первичной опухоли. В исследовании R. Vandergaast et al. [14] с помощью ПЭТ с $[^{18}\text{F}]\text{-тетрафтороборатом}$ были локализованы метастазы в грудной, брюшной полости и в скелете для трех опухолевых линий, экспрессирующих натрий-йодный симпортер (NIS). В другой работе при создании модели ортотопической карциномы слепой кишки человека WiDR у одной из мышей развилось значительное метастатическое поражение легких [15]. Меченный $^{99\text{m}}\text{Tc}$ препарат на основе IgA к раково-эмбриональному антигену (CEA) активно накапливался в легочной ткани данной мыши, хотя изображения отдельных очагов сливаются между собой и неразличимы.

Исследование уровня экспрессии рецепторов опухолями

В отличие от нормальной ткани, опухолевые клетки гиперэкспрессируют ряд рецепторов и других маркеров. Это является основой многих современных клинических методов диагностики и терапии злокачественных новообразований. Использование РФП, специфичных к определенным видам рецепторов, позволяет осуществлять раннюю диагностику опухолей, а также формировать стратегию лечения для каждого пациента, с использованием таргетных химиотерапевтических препаратов.

Доклинические исследования таргетных химиопрепаратов требуют поиска и подтверждения правильности выбора соответствующих опухолевых моделей. Радионуклидные методы позволяют подтвердить необходимый уровень экспрессии требуемых рецепторов в опухоли при проведении исследований *in vivo*. Для этого можно использовать трейсеры на основе моноклональных антител (MkAT). В качестве радиоактивных меток при этом служат изотопы с длительным (несколько суток) периодом полураспада, что связано с достаточно медленным выведением MkAT из нормальных

тканей. Для ОФЭКТ обычно используют ^{111}In [16] или ^{67}Ga [17], а для ПЭТ – ^{89}Zr [18, 19].

W. Branderhorst et al. [20] было изучено распределение рецептора EGFR в перевитой подкожно опухоли A431 (эпидермоидная карцинома человека). Для этого проведена ОФЭКТ после внутривенного введения [^{111}In]-залутумумаба (препарата на основе МкАТ IgG1 к EGFR). Томографические срезы последовательно сравнивались с гистологическими. Иммуногистохимическое исследование подтверждает: зоны слабого сигнала по ОФЭКТ соответствуют зонам низкой экспрессии EGFR или зонам некроза. Часть очагов накопления радиотрейсера, расположенных по периферии опухоли, соответствует участкам с высокой экспрессией рецептора, а часть – скоплениям макрофагов. Результаты, полученные авторами, показывают возможность радионуклидной визуализации распределения маркеров в опухоли с точностью, приближающейся к гистологической. Однако, несмотря на очень высокое разрешение используемого ОФЭКТ сканера (менее 0,5 мм), размеры зон некроза систематически недооценивались – расхождение достигало 40 %.

Уровень экспрессии маркеров обуславливает выбор терапии и позволяет прогнозировать ее эффективность. В работе N. Al-Saden et al. [21] на трех линиях карциномы молочной железы человека была показана корреляция между экспрессией HER-2, способностью опухоли накапливать препарат [^{89}Zr]-ДФО-транстузумаб-DM1 и торможением роста опухоли в ответ на терапию транстузумабом.

Радионуклидные трейсеры на основе МкАТ избирательно и достаточно быстро накапливаются в опухоли, однако их недостатком является медленное выведение из крови и нормальных тканей. Оптимальная контрастность изображения опухоли у мышей достигается через 24–72 ч после внутривенного введения. Это удлиняет время эксперимента и неудобно в повседневной исследовательской практике. Для улучшения фармакокинетических свойств РФП, специфичных к определенным рецепторам, их синтезируют на основе аффидов [22] или F_{ab} -фрагментов антител [23], которые быстрее выводятся из крови в связи с меньшей молекулярной массой.

Также перспективным направлением является использование искусственных белков с анкириновыми повторами (DARPin). Это адресные молекулы неиммуноглобулиновой природы с небольшой молекулярной массой, высокой аффинностью к антигену и специфичностью. Особым преимуществом является возможность эффективного синтеза белков DARPin в бактериальных клетках. В ходе исследований *in vivo* были изучены в качестве диагностических РФП для ОФЭКТ белки DARPin 9_29 и DARPin G3- H_6 , аффинные к рецептору HER-2, с метками ^{99}Tc и ^{125}I . Было показано, что все препа-

раты активно захватываются HER-2-позитивными опухолями. Но при этом отмечено, что [^{99m}Tc]-G3- H_6 в большом количестве накапливается в почках [24], а [^{99m}Tc]-9_29 – в почках, легких, печени и селезенке [25]. Поэтому авторы рекомендуют ^{125}I в качестве радиоактивной метки, так как РФП с этой меткой, помимо опухоли, определяются только в мочевом пузыре, а значит, их можно использовать в том числе для диагностики метастазов. Также в работе [24] продемонстрирована возможность ПЭТ с DARPin G3- H_6 , меченным ^{124}I .

Для оценки уровня экспрессии рецепторов, помимо МкАТ, можно также использовать меченые лиганды. Например, для изучения распределения рецептора гастрин-высвобождающего пептида (GRPR) методом ОФЭКТ можно применять трейсер на основе бомбезина, меченного ^{177}Lu [26]. Также предложены антагонисты GRPR, в частности [^{177}Lu]-NeoBOMB1 [27] и [^{99m}Tc]-демобезин 4 [28]. Способность антагонистов стабильно связываться с рецептором приводит к длительному удержанию в опухоли, что дает преимущества при использовании в качестве диагностического РФП. Кроме того, применение антагонистов снижает вероятность развития побочных эффектов.

Многие нейроэндокринные опухоли гиперэкспрессируют соматостатиновые рецепторы (SSTR), для их визуализации методом ПЭТ обычно используется [^{68}Ga]-DOTATATE. K. Lisova et al. [29] разработан способ синтеза другого аналога октреотата с более широко используемой меткой [^{18}F]-AMBF3-TATE, по фармакокинетическим свойствам препарат практически аналогичен [^{68}Ga]-DOTATATE. Другой группой авторов [30] исследован методом ОФЭКТ антагонист SSTR, имеющий кодовое название [^{177}Lu]-OPS201. Он накапливается в опухоли в большем количестве, чем [^{177}Lu]-DOTATATE, и удерживается в ней в 2,5 раза дольше. Часть SSTR-негативных нейроэндокринных опухолей экспрессируют рецептор глюкозозависимого инсулинотропного полипептида (GIPR), для их визуализации предложен аналог GIP, меченный ^{111}In [31].

Исследование опухолевой гипоксии и васкуляризации

По мере роста солидной опухоли в ее центре формируется зона гипоксии. Гипоксия ассоциирована со склонностью к метастазированию, резистентностью к химио- и лучевой терапии, с неблагоприятным прогнозом. Для изучения этой проблемы предложен ряд радионуклидных трейсеров, обладающих свойством накапливаться именно в гипоксической области, но не встраиваться в некротизированные клетки.

Один из таких препаратов – диацетил-бис(N4-метилтиосемикарбазон), меченный ^{64}Cu ([^{64}Cu]-ATSM). В ходе трехмодального исследования [32] проводилось одновременное ПЭТ/ОФЭКТ/

КТ сканирование, причем в качестве препарата для ОФЭКТ выступал меченный ^{99m}Tc гемоглобин (^{99m}Tc]-HSA). Таким образом удалось одновременно оценить уровень васкуляризации опухоли, распределение сосудов в ней и наличие участков со сниженным потреблением кислорода тканями. На модели ксенографта карциномы толстой кишки человека HT-29 было установлено, что сосуды проходят по периферии опухоли, а ее центральная часть находится в состоянии гипоксемии.

В клетках опухоли, испытывающих дефицит кислорода, активируется индуцируемый гипоксией фактор-1 (HIF-1), что приводит к наращиванию метастатического потенциала и ростовой активности. HIF-1 запускает процессы адаптации к гипоксии, в том числе экспрессию карбоангидразы CAIX, которую тоже можно использовать как маркер гипоксических областей. Визуализация возможна, например, методом ОФЭКТ с помощью содержащих ^{111}In трейсеров на основе МкАТ к CAIX (в работе F.J. Huizing et al. [33] использован F_{ab} -фрагмент гирентуксимаба), или на основе специфического ингибитора CAIX уреидосульфонида [34]. Однако CAIX недостаточно специфична и экспрессируется не во всех опухолях.

Фракционированная лучевая терапия используется для преодоления резистентности, вызванной гипоксией. R. Ali et al. [35] исследовали влияние числа фракций на эффективность терапии. Для оценки опухолевой гипоксии использовался радиофармпрепарат ^{18}F]-EF5, представляющий собой производное 2-нитроимидазола. Мышей с перевитой подкожно карциномой легкого человека A549 по результатам ПЭТ разделили на группы «EF5+» (гипоксическая зона явно выражена) и «EF5-». Затем была определена динамика роста опухолей. После однократного облучения в дозе 10 Гр обнаружено, что «EF5-» лучше отвечали на терапию, а «EF5+» имели выраженную устойчивость к облучению. Таким образом, было показано, что результат радионуклидной диагностики в этом случае имеет прогностическое значение. При повышении числа фракций до 4 выявленные различия в группах нивелировались, подтверждая, что фракционированная терапия способна преодолевать резистентность гипоксических опухолей.

Наиболее популярным трейсером, тропным к области гипоксии, является ^{18}F]-фтормисонидазол (^{18}F]-FMISO) – другое производное 2-нитроимидазола. Его можно использовать как для визуализации гипоксической зоны при естественном росте опухоли [36], так и в качестве косвенного индикатора эффективности антиангиогенной терапии. Теория «нормализационного окна» [37] утверждает, что антиангиогенная терапия на раннем этапе улучшает перфузию и оксигенацию опухоли, так как излишне проницаемые и патологически извитые сосуды опухоли приобретают нормальную структуру. Поэтому гипоксическая

зона в опухоли уменьшается, и накопление ^{18}F]-FMISO снижается. В работе E. Hernandez-Agudo et al. [38] мышам с подкожной карциномой поджелудочной железы человека Panc286 перорально вводили антиангиогенный препарат довитиниб. ПЭТ с ^{18}F]-FMISO проводилась за 1 сут до начала и на 5-е сут ежедневного применения довитиниба. Накопление гипоксического трейсера в опухоли у леченых животных значительно уменьшено по сравнению с уровнем до начала терапии и с уровнем в контрольной группе.

Как уже отмечалось выше, важную роль в процессе неоангиогенеза играет интегрин $\alpha\text{v}\beta_3$, нацеливание на который производится путем встраивания в радиофармпрепарат аминокислотной последовательности RGD. Таким образом, оценку антиангиогенной терапии можно также проводить и с помощью трейсеров, содержащих RGD-последовательность. Для проверки экспериментального трейсера ^{18}F]-AIF-NOTA-PRGD2 проводилась ПЭТ мышей с перевитой подкожно назофарингеальной карциномой человека CNE-2 [39]. В течение 2 нед мыши получали внутривентрально инъекции антиангиогенного препарата «Эндостар». Было установлено, что накопление RGD-содержащего трейсера снижается уже на 2-е сут после начала терапии. Для сравнения, накопление ^{18}F]-FDG заметно снижается только на 7-е сут. В другой работе [40] ряд трейсеров использовали для оценки результатов терапии противоопухолевым средством сунитиниб. Было выявлено преимущество RGD-содержащего ^{18}F]-Alfatide-II перед ^{18}F]-FMISO, который является лишь косвенным показателем уровня васкуляризации. Кроме того, наблюдалась корреляция между накоплением ^{18}F]-Alfatide-II и торможением роста опухоли на 3, 7, 13-е сут терапии.

Оценка эффективности противоопухолевого воздействия

При проведении любой противоопухолевой терапии существует необходимость в как можно более ранней оценке ее эффективности, чтобы в случае неэффективности лечения максимально быстро изменить его схему. При доклинических исследованиях ответа опухоли на терапию так же, как и при клинических исследованиях, возможно использовать ПЭТ с ^{18}F]-FDG [41, 42], однако этот трейсер является неспецифическим и может накапливаться, в том числе, в зонах воспаления.

Прямым признаком повреждения клеток опухоли является появление разрывов ДНК. Такие повреждения, как двунитевые разрывы, можно исследовать *in vivo* с помощью МкАТ к фосфорилированному гистону γH2AX [43]. В областях с одноститевыми разрывами накапливаются поли(АДФ-рибоза)полимеразы (PARP), необходимые для репарации. Меченый ингибитор PARP

[¹⁸F]-олапариб синтезирован для предсказания ответа на терапию олапарибом, но его накопление в опухоли также повышается после терапевтического облучения [44].

В ответ на терапию опухолевые клетки могут погибать через апоптоз. Для изучения этого процесса используют трейсер [^{99m}Tc]-дурамицин, тропный к фосфатидилэтаноламину [45, 46]. В живых клетках фосфатидилсерин и фосфатидилэтаноламин расположены на внутренней стороне липидного бислоя, а при апоптозе выходят на поверхность. Аннексин V, аффинный к фосфатидилсерину и широко используемый для детектирования апоптоза в исследованиях *in vitro*, в настоящее время менее популярен в исследованиях *in vivo*, чем дурамицин, так как медленное выведение Аннексина V из здоровых тканей приводит к низкой контрастности изображения опухоли [47].

Для изучения апоптоза также можно использовать трейсеры, которые связываются с каспазой 3. Ее активация завершает каскад каспаз, запускаемый при апоптозе. К таким трейсерам относится, например, [¹⁸F]-CP18, он содержит аминокислотную последовательность DEVD, распознаваемую активированной каспазой 3 [48]. Другой препарат, [¹⁸F]-ICMT-11, синтезирован на основе ингибитора каспазы 3 – изатин-5-сульфонамида [49]. Такие трейсеры включаются строго в клетки, погибающие путем апоптоза, но не некроза.

Помимо апоптотической гибели, в ответ на терапию опухолевые клетки могут просто прекращать пролиферацию. Аналог тимидина [¹⁸F]-FLT накапливается только в делящихся клетках, и в

случае эффективной терапии его захват опухолью снижается. В работе I. Raccagni et al. [50] на мышцах с аденокарциномой молочной железы человека MDA-MB-468 было показано, что снижение накопления [¹⁸F]-FLT коррелирует с уменьшением размера опухоли на 14-е сут. Но по сравнению с изменением размера, происходящим сравнительно медленно, изменение захвата [¹⁸F]-FLT позволяет увидеть ранний ответ на терапию. В исследовании [51] уже на 2-е сут после инъекции препарата Pan-HER наблюдалось снижение захвата [¹⁸F]-FLT опухолью ВхРС-3 (аденокарцинома поджелудочной железы человека) по сравнению с уровнем за 1 сут до инъекции.

Закключение

Радионуклидная визуализация в экспериментальной онкологии позволяет изучать особенности физиологии растущей опухоли, прогнозировать ответ на терапию, оценивать эффективность терапии в динамике. Часть этих возможностей уже активно используется и в клинической диагностике, а часть только ожидает внедрения в практику. В ряде случаев ПЭТ или ОФЭКТ со специфическими трейсерами приближается по точности молекулярной визуализации к гистологическому исследованию. При этом не требуется выведение мыши из эксперимента, а значит, можно более четко отследить динамику развития процессов *in vivo*. Такая возможность позволяет изучать противоопухолевое действие новых терапевтических технологий и сокращать количество животных, требуемое для проведения исследований.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Stukalov Y.V., Grigorieva E.Y., Smirnova A.V., Lipengolts A.A., Kubasova I.Y., Pozdniakova N.V., Lukashina M.I. Experimental study of dendrimer-based nanoparticles with RGD-peptide for anticancer radiolabeled therapy. *Bulletin of RSMU*. 2018; 7(6): 113–9. doi: 10.24075/brsmu.2018.089
2. Шеино И.Н., Ижевский П.В., Липенгольц А.А., Кулаков В.Н., Вагнер А.Р., Сухих Е.С., Варлачев В.А. Разработка бинарных технологий лучевой терапии злокачественных новообразований: состояние и проблемы. *Бюллетень сибирской медицины*. 2017; 16(3): 192–209. [Sheino I.N., Izhevskij P.V., Lipengolts A.A., Kulakov V.N., Wagner A.A., Sukhikh E.S., Varlachev V.A. Development of binary technologies of radiotherapy of malignant neoplasms: condition and problems. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2017; 16(3): 192–209. (in Russian)]. doi: 10.20538/1682-0363-2017-3-192.
3. Kulakov V.N., Lipengolts A.A., Grigor'eva E.Y., Shimanovskii N.L. Pharmaceuticals for binary radiotherapy and their use for treatment of malignancies. *Pharm Chem J*. 2016; 50(6): 388–93. doi: 10.1007/s11094-016-1457-3.
4. Lipengolts A.A., Cherepanov A.A., Kulakov V.N., Grigorieva E.Y., Sheino I.N., Klimanov V.A. Antitumor efficacy of extracellular complexes with gadolinium in Binary radiotherapy. *Appl Radiat Isot*. 2015; 106: 233–6. doi: 10.1016/j.apradiso.2015.07.051.
5. Липенгольц А.А., Воробьева Е.С., Черепанов А.А., Абакумов М.А., Абакумова Т.О., Смирнова А.В., Финогонова Ю.А., Григорьева Е.Ю., Шеино И.Н., Кулаков В.Н. Исследование распределения поглощенной дозы при фотон-захватной терапии с интратуморальным введением дозоповышающего агента в меланоме В16F10. *Вестник РГМУ*. 2018; (5): 70–5. [Lipengolts A.A., Vorobyeva E.S., Cherepanov A.A., Abakumov M.A., Abakumova T.O., Smirnova A.V., Finogenova Yu.A., Grigorieva E.Yu., Sheino I.N., Kulakov V.N. Evaluation of absorbed dose distribution in melanoma B16F10 during contrast enhanced radiotherapy with intratumoral administration of dose-enhancing agent. *Bulletin of Russian*

- State Medical University. 2018; (5): 70–5. (in Russian)]. doi: 10.24075/vrgmu.2018.062.
6. Lipengolts A.A., Cherepanov A.A., Kulakov V.N., Grigor'eva E.Y., Merkulova I.B., Sheino I.N. Comparison of the antitumor efficacy of bismuth and gadolinium as dose-enhancing agents in formulations for photon capture therapy. *Pharm Chem J*. 2017; 51(9): 1–4. doi: 10.1007/s11094-017-1693-1
7. Rosenfeldt M.T., O'Prey J., Morton J.P., Nixon C., MacKay G., Mrowinska A., Au A., Rai T.S., Zheng L., Ridgway R., Adams P.D., Anderson K.I., Gottlieb E., Sansom O.J., Ryan K.M. p53 status determines the role of autophagy in pancreatic tumour development. *Nature*. 2013; 504(7479): 296–300. doi: 10.1038/nature12865.
8. Graham T.J., Box G., Tunariu N., Crespo M., Spinks T.J., Miranda S., Attard G., de Bono J., Eccles S.A., Davies F.E., Robinson S.P. Preclinical evaluation of imaging biomarkers for prostate cancer bone metastasis and response to cabozantinib. *J Natl Cancer Inst*. 2014; 106(4): 1–10. doi: 10.1093/jnci/dju033.
9. Collantes M., Martinez-Velez N., Zalacain M., Marrodan L., Ecay M., Garcia-Velloso M.J., Alonso M.M., Patino-Garcia A., Penuelas I. Assessment of metabolic patterns and new antitumoral treatment in osteosarcoma xenograft models by [¹⁸F]FDG and sodium [¹⁸F]fluoride PET. *BMC Cancer*. 2018; 18(1): 1–10. doi: 10.1186/s12885-018-5122-y
10. Zheng J., Miao W., Huang C., Lin H. Evaluation of ^{99m}Tc-3PRGD₂ integrin receptor imaging in hepatocellular carcinoma tumour-bearing mice: comparison with ¹⁸F-FDG metabolic imaging. *Ann Nucl Med*. 2017; 31(6): 486–94. doi: 10.1007/s12149-017-1173-4.
11. Zhao H., Gao H., Zhai L., Liu X., Jia B., Shi J., Wang F. ^{99m}Tc-HisoDGR as a potential SPECT probe for orthotopic glioma detection via targeting of integrin α_β. *Bioconjug Chem*. 2016; 27(5): 1259–66. doi: 10.1021/acs.bioconjchem.6b00098.
12. Huang C.W., Hsieh W.C., Hsu S.T., Lin Y.W., Chung Y.H., Chang W.C., Chiu H., Lin Y.H., Wu C.P., Yen T.C., Huang F.T. The use of PET imaging for prognostic integrin α_β phenotyping to detect non-small

- cell lung cancer and monitor drug resistance responses. *Theranostics*. 2017; 7(16): 4013–28. doi: 10.7150/thno.19304.
13. Ghai A., Maji D., Cho N., Chanswangphuwana C., Rettig M., Shen D., DiPersio J., Akers W., Dehdashti F., Achilefu S., Vij R., Shokeen M. Preclinical development of CD38-targeted [^{89}Zr]Zr-DFO-daratumumab for imaging multiple myeloma. *J Nucl Med*. 2018; 59(2): 216–22. doi: 10.2967/jnumed.117.196063
 14. Vandergaast R., Khongwicht S., Jiang H., DeGrado T.R., Peng K.W., Smith D.R., Russell S.J., Suksanpaisan L. Enhanced noninvasive imaging of oncology models using the NIS reporter gene and bioluminescence imaging. *Cancer Gene Ther*. 2020 Apr; 27(3–4): 179–188. doi: 10.1038/s41417-019-0081-2.
 15. Carpenet H., Cuvillier A., Perraud A., Martin O., Champier G., Jauberteau M.O., Monteil J., Quelven I. Radiolabelled polymeric IgA: from biodistribution to a new molecular imaging tool in colorectal cancer lung metastases. *Oncotarget*. 2017; 8(49): 85185–202. doi: 10.18632/oncotarget.19616.
 16. Hartimath S.V., Alizadeh E., Solomon V.R., Chekol R., Bernhard W., Hill W., Parada A.C., Barreto K., Geyer C.R., Fonge H. Preclinical Evaluation of ^{111}In -Labeled PEGylated Maytansine Nimotuzumab Drug Conjugates in EGFR-Positive Cancer Models. *J Nucl Med*. 2019 Aug; 60(8): 1103–1110. doi: 10.2967/jnumed.118.220095.
 17. Izquierdo-Sanchez V., Muniz-Hernandez S., Vazquez-Becerra H., Pacheco-Yepes J., Romero-Pina M.E., Arrieta O., Medina L.A. Biodistribution and tumor uptake of ^{67}Ga -nimotuzumab in a malignant pleural mesothelioma xenograft. *Molecules*. 2018; 23(12): 1–12. doi: 10.3390/molecules23123138.
 18. Chekol R., Solomon V.R., Alizadeh E., Bernhard W., Fisher D., Hill W., Barreto K., DeCoteau J.F., Parada A.C., Geyer C.R., Fonge H. ^{89}Zr -nimotuzumab for immunoPET imaging of epidermal growth factor receptor I. *Oncotarget*. 2018; 9(24): 17117–32. doi: 10.18632/oncotarget.24965
 19. Knight J.C., Mosley M.J., Kersemans V., Dias G.M., Allen P.D., Smart S., Cornelissen B. Dual-isotope imaging allows in vivo immunohistochemistry using radiolabelled antibodies in tumours. *Nucl Med Biol*. 2019; 70: 14–22. doi: 10.1016/j.nucmedbio.2019.01.010.
 20. Branderhorst W., Blezer E.L.A., Houtkamp M., Ramakers R.M., van den Brakel J.H., Witteveen H., van der Have F., van Andel H.A.G., Vastenhout B., Wu C., Stigter-van Walsum M., van Dongen G.A.M.S., Viergever M.A., Bleeker W.K., Beekman F.J. Three-dimensional histologic validation of high-resolution spect of antibody distributions within xenografts. *J Nucl Med*. 2014; 55(5): 830–7. doi: 10.2967/jnumed.113.125401.
 21. Al-Saden N., Cai Z., Reilly R.M. Tumor uptake and tumor/blood ratios for [^{89}Zr]Zr-DFO-trastuzumab-DM1 on microPET/CT images in NOD/SCID mice with human breast cancer xenografts are directly correlated with HER2 expression and response to trastuzumab-DM1. *Nucl Med Biol*. 2018; 67: 43–51. doi: 10.1016/j.nucmedbio.2018.10.002.
 22. Mitran B., Andersson K.G., Lindstrom E., Garousi J., Rosestedt M., Tolmachev V., Stahl S., Orlova A., Lofblom J. Affibody-mediated imaging of EGFR expression in prostate cancer using radiocobalt-labeled DOTA-Z $^{EGFR:2377}$. *Oncol Rep*. 2019; 41(1): 534–42. doi: 10.3892/or.2018.6792.
 23. van Dijk L.K., Yin C.B., Franssen G.M., Kaanders J.H.A.M., Rajander J., Solin O., Gronroos T.J., Boerman O.C., Bussink J. PET of EGFR with ^{64}Cu -cetuximab-F(ab) $_{2}$ in mice with head and neck squamous cell carcinoma xenografts. *Contrast Media Mol Imaging*. 2016; 11(1): 65–70. doi: 10.1002/cmmi.1659.
 24. Deyev S., Vorobyeva A., Schulga A., Proshkina G., Guler R., Lofblom J., Mitran B., Garousi J., Altai M., Buijs J., Chernov V., Orlova A., Tolmachev V. Comparative evaluation of two DARPins variants: effect of affinity, size, and label on tumor targeting properties. *Mol Pharm*. 2019; 16(3): 995–1008. doi: 10.1021/acs.molpharmaceut.8b00922.
 25. Vorobyeva A., Bragina O., Altai M., Mitran B., Orlova A., Shulga A., Proshkina G., Chernov V., Tolmachev V., Deyev S. Comparative evaluation of radioiodine and technetium-labeled DARPins 9–29 for radionuclide molecular imaging of HER2 expression in malignant tumors. *Contrast Media Mol Imaging*. 2018 Jun 6; 2018: 6930425. doi: 10.1155/2018/6930425.
 26. Aranda-Lara L., Ferro-Flores G., Azorin-Vega E., Ramirez F. de M., Jimenez-Mancilla N., Ocampo-Garcia B., Santos-Cuevas C., Isaac-Olive K. Synthesis and evaluation of Lys $^{1}(\alpha,\gamma\text{-Folate})\text{Lys}^{3}(\text{Lut-DOTA})$ -Bombesin(1–14) as a potential theranostic radiopharmaceutical for breast cancer. *Appl Radiat Isot*. 2016; 107: 214–9. doi: 10.1016/j.apradiso.2015.10.030.
 27. Dalm S.U., Bakker I.L., de Blois E., Doeswijk G.N., Konijnenberg M.W., Orlandi F., Barbato D., Tedesco M., Maina T., Nock B.A., de Jong M. $^{68}\text{Ga}/^{177}\text{Lu}$ -NeoBOMB1, a novel radiolabeled GRPR antagonist for theranostic use in oncology. *J Nucl Med*. 2017; 58(2): 293–9. doi: 10.2967/jnumed.116.176636.
 28. Nock B.A., Charalambidis D., Sallegger W., Waser B., Mansi R., Nicolas G.P., Ketani E., Nikolopoulou A., Fani M., Reubi J.C., Maina T. New gastrin releasing peptide receptor-directed [$^{99\text{m}}\text{Tc}$]Demobesin I mimics: synthesis and comparative evaluation. *J Med Chem*. 2018; 61(7): 3138–50. doi: 10.1021/acs.jmedchem.8b00177.
 29. Lisova K., Sergeev M., Evans-Axelsson S., Stuparu A.D., Beykan S., Collins J., Jones J., Lassmann M., Herrmann K., Perrin D., Lee J.T., Slavik R., van Dam M. Microscale radiosynthesis, preclinical imaging and dosimetry study of [^{18}F]AMBF $_{3}$ -TATE: a potential PET tracer for clinical imaging of somatostatin receptors. *Nucl Med Biol*. 2018; 61: 36–44. doi: 10.1016/j.nucmedbio.2018.04.001. Microscale.
 30. Nicolas G.P., Mansi R., McDougall L., Kaufmann J., Bouterfa H., Wild D., Fani M. Biodistribution, pharmacokinetics, and dosimetry of ^{177}Lu -, ^{90}Y -, and ^{111}In -labeled somatostatin receptor antagonist OPS201 in comparison to the agonist ^{177}Lu -DOTATATE: the mass effect. *J Nucl Med*. 2017; 58(9): 1435–41. doi: 10.2967/jnumed.117.191684.
 31. Willekens S.M.A., Joosten L., Boerman O.C., Brom M., Gotthardt M. Characterization of ^{111}In -labeled glucose-dependent insulinotropic polypeptide as a radiotracer for neuroendocrine tumors. *Sci Rep*. 2018; 8(1): 1–11. doi: 10.1038/s41598-018-21259-3.
 32. Yoshii Y., Yoshimoto M., Matsumoto H., Furukawa T., Zhang M.-R., Inubushi M., Tsuji A.B., Fujibayashi Y., Higashi T., Saga T. ^{64}Cu -ATSM internal radiotherapy to treat tumors with bevacizumab-induced vascular decrease and hypoxia in human colon carcinoma xenografts. *Oncotarget*. 2017; 8(51): 88815–26. doi: 10.18632/oncotarget.21323.
 33. Huizing F.J., Hoebe B.A.W., Franssen G.M., Boerman O.C., Heskamp S., Bussink J. Quantitative imaging of the hypoxia-related marker CAIX in head and neck squamous cell carcinoma xenograft models. *Mol Pharm*. 2019; 16(2): 701–8. doi: 10.1021/acs.molpharmaceut.8b00950.
 34. Iikuni S., Ono M., Watanabe H., Shimizu Y., Sano K., Saji H. Cancer radiotheranostics targeting carbonic anhydrase-IX with ^{111}In - and ^{90}Y -labeled ureidosulfonamide scaffold for SPECT imaging and radionuclide-based therapy. *Theranostics*. 2018; 8(11): 2992–3006. doi: 10.7150/thno.20982.
 35. Ali R., Apte S., Vilalta M., Subbarayan M., Miao Z., Chin F.T., Graves E.E. ^{18}F -EF5 PET is predictive of response to fractionated radiotherapy in preclinical tumor models. *PLoS One*. 2015; 10(10): 1–14. doi: 10.1371/journal.pone.0139425.
 36. Kilian K., Rogulski Z., Cheda L., Drzal A., Gerszewska M., Cudny M., Elmas M. Imaging of hypoxia in small animals with ^{18}F fluoromisonidasole. *Nukleonika*. 2016; 61(2): 219–23. doi: 10.1515/nuka-2016-0037.
 37. Федянин М.Ю., Трякин А.А., Покатаев И.А. Критический взгляд на развитие онкологии в последние 20 лет (надежды и разочарования) – антиангиогенная терапия. *Практическая онкология*. 2018; 19(3): 200–225. [Fedyanin M.Yu., Tryakin A.A., Pokataev I.A. Critical view of efficacy antiangiogenic therapy in oncology. *Practical oncology*. 2018; 19(3): 200–225. (in Russian)]. doi: 10.31917/1903200.
 38. Hernandez-Agudo E., Mondejar T., Soto-Montenegro M.L., Megias D., Mouron S., Sanchez J., Hidalgo M., Lopez-Casas P.P., Mulero F., Desco M., Quintela-Fandino M. Monitoring vascular normalization induced by antiangiogenic treatment with ^{18}F -fluoromisonidasole-PET. *Mol Oncol*. 2016; 10(5): 704–18. doi: 10.1016/j.molonc.2015.12.011.
 39. Cui Y., Liu H., Liang S., Zhang C., Cheng W., Hai W., Yin B., Wang D. The feasibility of ^{18}F -AIF-NOTA-PRGD2 PET/CT for monitoring early response of Endostar antiangiogenic therapy in human nasopharyngeal carcinoma xenograft model compared with ^{18}F -FDG. *Oncotarget*. 2016; 7(19): 27243–54. doi: 10.18632/oncotarget.8402.
 40. Bao X., Wang M.W., Luo J.M., Wang S.Y., Zhang Y.P., Zhang Y.J. Optimization of early response monitoring and prediction of cancer antiangiogenesis therapy via noninvasive PET molecular imaging strategies of multifactorial bioparameters. *Theranostics*. 2016; 6(12): 2084–98. doi: 10.7150/thno.13917.
 41. Norregaard K., Jorgensen J.T., Simon M., Melander F., Kristensen L.K., Bendix P.M., Andresen T.L., Oddershede L.B., Kjaer A. ^{18}F -FDG PET/CT-based early treatment response evaluation of nanoparticle-assisted photothermal cancer therapy. *PLoS One*. 2017; 12(5): 1–14. doi: 10.1371/journal.pone.0177997.
 42. Zhu Y., Dong M., Yang J., Zhang J. Evaluation of iodine-125 interstitial brachytherapy using micro-positron emission tomography/computed tomography with ^{18}F -fluorodeoxyglucose in hepatocellular carcinoma HepG2 xenografts. *Med Sci Monit*. 2019; 25: 371–80. doi: 10.12659/MSM.912590.
 43. Knight J.C., Mosley M.J., Bravo L.C., Kersemans V., Allen P.D., Mukherjee S., O'Neill E., Cornelissen B. ^{89}Zr -anti- γH2AX -TAT but not ^{18}F -FDG allows early monitoring of response to chemotherapy in a mouse model of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Clin Cancer Res*. 2017; 23(21): 6498–504. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-17-0664.
 44. Wilson T.C., Xavier M.-A., Knight J., Verhoog S., Baguna Torres J., Mosley M., Hopkins S.L., Wallington S., Allen P.D., Kersemans V., Hueting R., Smart S., Gouverneur V., Cornelissen B. PET Imaging of PARP Expression Using ^{18}F -Olaparib. *J Nucl Med*. 2019; 60(4): 502–3. doi: 10.2967/jnumed.118.219733.
 45. Luo R., Niu L., Qiu F., Fang W., Fu T., Zhao M., Zhang Y.J., Hua Z.C., Li X.F., Wang F. Monitoring apoptosis of breast cancer xenograft

after paclitaxel treatment with ^{99m}Tc -labeled duramycin SPECT/CT. *Mol Imaging*. 2016; 15: 1–10. doi: 10.1177/1536012115624918.

46. Elvas F., Boddaert J., Vangestel C., Pak K., Gray B., Kumar-Singh S., Staelens S., Stroobants S., Wyffels L. ^{99m}Tc -duramycin SPECT imaging of early tumor response to targeted therapy: a comparison with ^{18}F -FDG PET. *J Nucl Med*. 2017; 58(4): 665–70. doi: 10.2967/jnumed.116.182014.

47. Elvas F., Vangestel C., Pak K., Vermeulen P., Gray B., Stroobants S., Staelens S., Wyffels L. Early prediction of tumor response to treatment: pre-clinical validation of ^{99m}Tc -duramycin. *J Nucl Med*. 2016; 57(5): 805–11. doi: 10.2967/jnumed.115.168344.

48. Rapic S., Vangestel C., Elvas F., Verhaeghe J., den Wyngaert T.V., Wyffels L., Pauwels P., Staelens S., Stroobants S. Evaluation of [^{18}F]CP18 as a substrate-based apoptosis imaging agent for the assessment of early treatment response in oncology. *Mol Imaging Biol*. 2017; 19(4): 560–9. doi: 10.1007/s11307-016-1037-7.

49. Heinzmann K., Nguyen Q.De., Honess D., Smith D.M., Stribbling S., Brickute D., Barnes C., Griffiths J., Aboagye E. Depicting changes in tumor biology in response to cetuximab monotherapy or combination therapy by apoptosis and proliferation imaging using ^{18}F -ICMT-11 and ^{18}F -FLT PET. *J Nucl Med*. 2018; 59(10): 1558–65. doi: 10.2967/jnumed.118.209304.

50. Raccagni I., Belloli S., Valtorta S., Stefano A., Presotto L., Pascali C., Boggi A., Tortoreto M., Zaffaroni N., Daidone M.G., Russo G., Bombardieri E., Moresco R.M. [^{18}F]FDG and [^{18}F]FLT PET for the evaluation of response to neo-adjuvant chemotherapy in a model of triple negative breast cancer. *PLoS One*. 2018; 13(5): 1–14. doi: 10.1371/journal.pone.0197754.

51. Nielsen C.H., Jensen M.M., Kristensen L.K., Dahlman A., Frohlich C., Jacobsen H.J., Poulsen T.T., Lantto J., Horak I.D., Kragh M., Kjaer A. In vivo imaging of therapy response to a novel Pan-HER antibody mixture using FDG and FLT positron emission tomography. *Oncotarget*. 2015; 6(35): 37486–99. doi: 10.18632/oncotarget.6060.

Поступила/Received 11.11.2019

Принята в печать/Accepted 16.12.2019

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Финогенова Юлия Андреевна, лаборант-исследователь лаборатории радионуклидных и лучевых технологий в экспериментальной онкологии, Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 7597-2604. Researcher ID (WOS): AAD-9449-2019. Author ID (Scopus): 57208255886. ORCID: 0000-0002-5144-1039.

Липенгольц Алексей Андреевич, кандидат физико-математических наук, старший научный сотрудник лаборатории радионуклидных и лучевых технологий в экспериментальной онкологии, Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина Минздрава России; старший научный сотрудник, лаборатория новых методов и технологий лучевой терапии, Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна ФМБА России; старший научный сотрудник лаборатории химии лёгких элементов и кластеров, Институт общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова РАН (г. Москва, Россия). E-mail: lipengolts@mail.ru. SPIN-код: 9822-6359. Researcher ID (WOS): A-9639-2017. Author ID (Scopus): 26432049800. ORCID: 0000-0002-5631-9016.

Смирнова Анна Вячеславна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории радионуклидных и лучевых технологий в экспериментальной онкологии, Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 4663-3199. Researcher ID (WOS): AAD-9540-2019. Author ID (Scopus): 55765247100. ORCID: 0000-0003-0386-9732.

Григорьева Елена Юрьевна, доктор биологических наук, заведующая лабораторией радионуклидных и лучевых технологий в экспериментальной онкологии, Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина Минздрава России; ведущий научный сотрудник лаборатории химии лёгких элементов и кластеров, Институт общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова РАН (г. Москва, Россия). SPIN-код: 5375-7633. Researcher ID (WOS): B-7854-2019. Author ID (Scopus): 7006520746. ORCID: 0000-0001-7726-7991.

ВКЛАД АВТОРОВ

Финогенова Юлия Андреевна: подбор и анализ литературных источников, составление черновика рукописи.

Липенгольц Алексей Андреевич: систематизация данных литературных источников, написание итогового варианта рукописи.

Смирнова Анна Вячеславна: критический пересмотр рукописи с внесением ценного интеллектуального содержания.

Григорьева Елена Юрьевна: критический пересмотр рукописи с внесением ценного интеллектуального содержания.

Финансирование

Обзор выполнен при финансовой поддержке гранта РНФ 18-13-00459.

Конфликт интересов

Авторы объявляют, что у них нет конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Yulia A. Finogenova, Laboratory Research Assistant, Laboratory of Radionuclide and Radiation Technologies in Experimental Oncology, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the Russian Federation (Moscow, Russia). Researcher ID (WOS): AAD-9449-2019. Author ID (Scopus): 57208255886. ORCID: 0000-0002-5144-1039.

Alexey A. Lipengolts, PhD, Senior Researcher, Laboratory of Radionuclide and Radiation Technologies in Experimental Oncology, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the Russian Federation; Senior Researcher, Laboratory of New Methods and Technologies in Radiotherapy, Burnasyan Federal Medical Biophysical Center of the Federal Medical Biological Agency of Russia; Senior Researcher, Laboratory of Light Elements and clusters Chemistry, Kurnakov Institute of General and Inorganic Chemistry of the Russian Academy of Science (Moscow, Russia). E-mail: lipengolts@mail.ru. Researcher ID (WOS): A-9639-2017. Author ID (Scopus): 26432049800. ORCID: 0000-0002-5631-9016.

Anna V. Smirnova, PhD, Senior Researcher, Laboratory of Radionuclide and Radiation Technologies in Experimental Oncology, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the Russian Federation (Moscow, Russia). Researcher ID (WOS): AAD-9540-2019. Author ID (Scopus): 55765247100. ORCID: 0000-0003-0386-9732.

Elena Y. Grigorieva, DSc, Head of Laboratory of Radionuclide and Radiation Technologies in Experimental Oncology, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the Russian Federation; Leading Researcher, laboratory of Light Elements and Clusters Chemistry, Kurnakov Institute of General and Inorganic Chemistry of the Russian Academy of Science (Moscow, Russia). Researcher ID (WOS): B-7854-2019. Author ID (Scopus): 7006520746. ORCID: 0000-0001-7726-7991.

ABOUT THE AUTHORS

Yulia A. Finogenova: data collection and analysis, drafting of the manuscript

Alexey A. Lipengolts: literature data systematic review, writing of the final version of the manuscript

Anna V. Smirnova: critical review of the manuscript for the important intellectual content

Elena Y. Grigorieva: critical review of the manuscript for the important intellectual content

Funding

The study was supported by the Russian Science Foundation (Project ID 18-13-00459).

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

Для цитирования: Васильченко Д.В., Крахмаль Н.В., Вторушин С.В., Завьялова М.В. Роль факторов транскрипции GATA3, FOXA1, ELF5 в патогенезе и прогнозе рака молочной железы. Сибирский онкологический журнал. 2020; 19(3): 146–155. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-3-146-155.

For citation: Vasilchenko D.V., Krakhmal N.V., Vtorushin S.V., Zavyalova M.V. The role of GATA3, FOXA1, ELF5 transcription factors in the pathogenesis and prognosis of breast cancer. Siberian Journal of Oncology. 2020; 19(3): 146–155. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-3-146-155.

РОЛЬ ФАКТОРОВ ТРАНСКРИПЦИИ GATA3, FOXA1, ELF5 В ПАТОГЕНЕЗЕ И ПРОГНОЗЕ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Д.В. Васильченко, Н.В. Крахмаль, С.В. Вторушин, М.В. Завьялова

ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России,
г. Томск, Россия
Россия, г. Томск, 634050, Московский тракт, 2. E-mail: vasilchenkodmitry1991@gmail.com

Аннотация

Цель исследования – обобщение имеющихся данных о роли и значении факторов транскрипции GATA3, FOXA1 и ELF5 в патогенезе, прогрессии и резистентности к гормонотерапии рака молочной железы. **Материал и методы.** Проведен поиск доступных зарубежных литературных источников в системах Medline и PubMed, содержащих современные сведения относительно структуры, функциональных показателей и участия исследуемых факторов транскрипции в механизмах патогенеза при раке молочной железы. По теме исследования было проанализировано более 180 источников литературы, из которых 76 были включены в обзор. **Результаты.** Настоящий обзор показывает актуальность проведения молекулярно-генетических исследований в отношении транскрипционных факторов с последующим сопоставлением полученных результатов с различными клинико-морфологическими характеристиками карциномы молочной железы, демонстрирует противоречивость имеющихся данных в отношении их клинической значимости при оценке прогноза заболевания и чувствительности опухоли к гормонотерапии. **Заключение.** Изучение параметров экспрессии факторов транскрипции GATA3, FOXA1 и ELF5, а также их взаимосвязи с механизмами опухолевой прогрессии позволит повысить информативность иммуноморфологического исследования, с наибольшей долей вероятности определять эффективность гормонотерапии, и, следовательно, планировать адекватную тактику лечения и прогнозировать исход заболевания при раке молочной железы.

Ключевые слова: факторы транскрипции GATA3, FOXA1, ELF5, рак молочной железы, факторы прогноза.

THE ROLE OF GATA3, FOXA1, ELF5 TRANSCRIPTION FACTORS IN THE PATHOGENESIS AND PROGNOSIS OF BREAST CANCER

D.V. Vasilchenko, N.V. Krakhmal, S.V. Vtorushin, M.V. Zavyalova

Siberian State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, Tomsk, Russia
2, Moskovsky Trakt, 634050, Tomsk, Russia. E-mail: vasilchenkodmitry1991@gmail.com

Abstract

Purpose of the study: to review available data on the role and significance of GATA3, FOXA1 and ELF5 transcription factors in the pathogenesis, progression and therapy resistance of breast cancer. **Material and Methods.** The Medline and PubMed databases were used to identify all studies that evaluated the structure, functional parameters and participation of the studied transcription factors in the pathogenesis of breast cancer. More than 180 publications were analyzed, of which 76 were included into the review. **Results.** The

review shows that molecular genetic studies in relation to transcription factors and subsequent comparison of the obtained results with various clinical and morphological characteristics of breast cancer are of great importance. The review also demonstrates the inconsistency of the available data regarding clinical significance in assessing the prognosis of the disease and the sensitivity of the tumor to hormone therapy. **Conclusion.** The study of the expression parameters of GATA3, FOXA1, and ELF5 transcription factors, as well as their relationship with tumor progression mechanisms will increase the reliability of immunomorphological studies, most likely suggesting the efficiency of hormone therapy. Therefore, the results of this study can help to plan adequate treatment tactics and predict outcomes in patients with breast cancer.

Key words: transcription factors GATA3, FOXA1, ELF5, breast cancer, prognosis factors.

Транскрипционные факторы являются ключевыми клеточными белками, имеющими в составе один или более ДНК-связывающий домен, функция которых заключается в интерпретации генома посредством контроля процессов синтеза матричной РНК с матрицы ДНК, что происходит через механизмы связывания данных белковых молекул со строго определенными участками последовательности ДНК. Среди таких участков в молекуле ДНК выделяют энхансеры и сайленсеры. Энхансеры представляют собой участки ДНК, обеспечивающие связь с активирующими факторами транскрипции (белки-индукторы), сайленсеры – участки, в которых происходит взаимодействие с факторами, осуществляющими функцию подавления процессов транскрипции (белки-репрессоры). Таким образом, факторы транскрипции осуществляют координирование уровня экспрессии генов в ответ на различные сигналы, поступающие в клетку. Клеточная физиология диктует необходимость идентификации и соответствующей реакции на всевозможные внутренние и внешние раздражители. Обеспечивая в самых разных ситуациях физиологически верную экспрессию специфических генов, транскрипционная регуляторная система играет основную роль в управлении и регуляции многих биологических процессов: клеточного цикла, внутриклеточного гомеостаза, дифференцировки клеток, различий в скорости их протекания, в том числе контролирует механизмы иммунного ответа [1–5].

В экспериментальных условиях показано, что транскрипционные факторы могут определять не только клеточную дифференцировку в условиях физиологии, но и процессы дедифференцировки и трансдифференцировки клеток, что, в свою очередь, может приводить к развитию патологии, занимая ключевые позиции в патогенезе. Известно, что многочисленные заболевания возникают в результате нарушений в функционировании транскрипционной регуляторной системы, в частности, около трети разнообразных нарушений анатомического развития у людей связывают с дисфункцией данных белковых молекул, при этом факторы транскрипции в большом количестве представлены среди онкогенов. Основой таких изменений могут быть как мутации самих факторов транскрипции, так и мутации в участках

их связывания с молекулой ДНК [3, 5–7]. Анализ литературы и представленные результаты исследований отчетливо демонстрируют возможность влияния на течение патологических процессов в организме путем активации или ингибирования факторов транскрипции, определяя их в качестве одних из основных молекул-мишеней при разработке лекарственных препаратов [8, 9]. Учитывая разнообразные показатели в структуре заболеваемости и смертности населения, можно сказать, что особое значение представленные данные имеют в онкологии, по этой причине в настоящее время отмечается повышенный интерес к исследованиям, посвященным роли факторов транскрипции в регуляции механизмов транскрипции при карциномах различной локализации.

Актуальность молекулярно-генетических исследований, посвященных роли факторов транскрипции при раке молочной железы (РМЖ) в настоящее время, сомнений не вызывает, поскольку обнаруживаются противоречивые данные, при этом они не всегда охватывают значимые клинические параметры, которые могли бы иметь значение относительно течения и прогноза. С учетом имеющихся в литературе данных о том, что транскрипционные факторы FOXA1, GATA3 и ELF5 регулируют связывание рецепторов ER на уровне ДНК и детерминируют дифференцировку эпителиальных клеток молочной железы, актуальным является изучение данных маркеров для понимания их роли как в патогенезе, прогнозе течения заболевания, связи с клинико-морфологическими параметрами РМЖ, так и в понимании механизмов резистентности к проводимой гормонотерапии.

В большинстве первичных опухолей и метастазах карцином молочной железы при иммуногистохимическом исследовании определяется экспрессия транскрипционного белка GATA3, который является одним из ведущих молекулярных маркеров при диагностике не только рака молочной железы, но и злокачественных опухолей других локализаций [10, 11].

GATA3 представляет собой связывающий белок транскрипционных факторов семейства GATA. Ядерные белки данного семейства содержат ДНК-связывающие домены цинкового пальца (zinc-finger), распознают нуклеотидные последовательности G-A-T-A в промоторах гена-

мишени, активируя или подавляя определенные гены. GATA3 включает в себя 6 транскрипционных факторов (GATA 1-6), содержащих общий ДНК фрагмент (A/G)GATA(A/G) и концевой цинксодежащий домен (zinc-finger) [12]. GATA-белки можно разделить на гемопозитические (GATA1, GATA2, GATA3) и негемопозитические (GATA4, GATA5, GATA6). Известно, что дефекты белка GATA1 были обнаружены при острой мегакариоцитарной лейкемии, дефекты белка GATA2 – при апластической анемии и миелодиспластическом синдроме, удаление гена GATA3 у мышей в эксперименте приводило к гибели эмбриона в результате дефектов гемопоэза и центральной нервной системы, а факторы транскрипции GATA4, GATA5, а также GATA6 участвуют в развитии и формировании органов энтодермального происхождения и кишечной трубки зародыша [13].

Функция GATA3 важна для регуляции таких генов, как *MUC1/EMA*, принимающих участие в дифференцировке эпителиальных клеток молочной железы, и регуляции генов, определяющих развитие Т-клеток [14]. Белок GATA3 играет роль в активации генов, регулирующих развитие кожи и ее придатков, в частности волосяных фолликулов, а также имеет значение в формировании структур трофобласта и эндотелиальных клеток, преимущественно в крупных сосудах [15]. GATA3 является неотъемлемым компонентом пути активации рецепторов ER (ER – рецепторы эстрогена), так как регулирует первичный фактор FOXA1 и обеспечивает связывание ER путем формирования доступности энхансера, что говорит о наличии перекрестных путей между коэкспрессируемыми генами *ER* и *GATA3* [16].

Экспериментальные исследования особенностей экспрессии GATA3 на моделях животных, клеточных линиях и образцах опухолевой ткани показали, что потеря экспрессии GATA3 коррелирует с агрессивным фенотипом опухоли при раке молочной железы. Широко используемая в качестве модели ER+ люминального РМЖ клеточная линия MCF-7 (Michigan Cancer Foundation-7) характеризуется наличием GATA3 D336Gfs*17 мутации. Направленная коррекция этой мутации в геноме методом CRISPR-Cas ассоциирована с уменьшением роста новообразования *in vivo*, а также с уменьшением размера опухоли в ксенотрансплантатах. Наоборот, введение мутации в клеточные линии люминального РМЖ G473 дикого типа (Wild-type) T47D или CAMA-1 или избыточная экспрессия укороченных мутантов GATA3 в клетках линии ZR-75-1 приводили *in vivo* к увеличению роста опухоли [17, 18]. Фактор транскрипции GATA3 регулирует определенный набор генов, участвующих в дифференцировке и пролиферации клеток при раке молочной железы и играет роль в регуляции рецепторов ER и PR (PR – рецепторы прогестерона) [19]. Известно, что активация PR сопровождается снижением экспрессии GATA3 на уровне транс-

крипции и посттрансляции в клетках карциномы молочной железы посредством механизма двойной регуляции, включая метилирование на промоторе GATA3 и фосфорилирование белка, что приводит к индуцированному действию прогестерона на рост злокачественно трансформированных клеток в условиях *in vitro* и *in vivo* со снижением в дальнейшем функции GATA3 [20].

В исследовании W. Yan et al. [21] с использованием клеточных линий рака молочной железы MDA-MB-231 (GATA3-негативные, инвазивные клетки) и MCF-7 (GATA3-позитивные, неинвазивные клетки) было показано, что эктопическая экспрессия белка GATA3 в опухолях линии MDA-MB-231 способствовала приобретению клетками эпителиального фенотипа, что сопровождалось уменьшением инвазивных свойств. В таких клетках регистрировались увеличение экспрессии Е-кадгерина и снижение экспрессии виментина, N-кадгерина и матричной металлопротеиназы-9. Было отмечено, что клетки линии MDA-MB-231, экспрессирующие маркер GATA3, характеризовались наименьшими размерами первичных опухолей и отсутствием метастазов. Блокада GATA3 в опухолях клеточной линии MCF-7 запускала фибропластическую трансформацию клеток с приобретением мезенхимального фенотипа и повышала их активность в отношении инвазии, приводя к появлению фокусов отдаленного метастазирования [21].

W. Si et al. впервые установили, что при раке молочной железы белок GATA3 может принимать участие в подавлении механизмов транскрипции путем создания так называемого NuRD-комплекса, в состав которого также входят G9A и метастазирующий опухолевый антиген MTA3 (комплекс GATA3/G9A/NuRD (MTA3)). Данный комплекс способен ингибировать инвазивный потенциал опухолевых клеток *in vitro* и подавлять процессы метастазирования рака молочной железы *in vivo*. И наоборот, исследование показало подавление экспрессии NuRD-комплекса при прогрессировании рака молочной железы вследствие реализации программ эпителиально-мезенхимального перехода при активном участии таких факторов транскрипции, как Snail и Twist [22]. Фактор GATA3 может взаимодействовать с белком UTX, который представляет собой гистоновую деметилазу H3 (H3K27me2/H3K27me3), образуя комплекс GATA3-UTX. Данный комплекс ингибирует процессы эпителиально-мезенхимального перехода, процессы инвазии и метастазирование клеток РМЖ *in vitro*, а также злокачественных трансформированных клеток *in vivo* [23].

Мутация GATA3 является второй по частоте встречаемости при люминальном А подтипе (после PIK3CA) и третьей при люминальном В раке молочной железы (после PIK3CA и TP53) [24]. Потеря экспрессии этого гена-супрессора в опухоли ассоциирована с плохим прогнозом для пациенток

с карциномой данной локализации [25]. Большинство мутаций приводят к усечению белка, тогда как кластер мутаций в конце кодирующей области приводит к удлинению белка GATA3 вследствие дополнительных миссенс (бессмысленных) аминокислот [26]. Недавнее исследование M. Takaku et al. позволило определить ряд особенностей рака молочной железы с мутацией GATA3 ZnFn2 (zinc-finger). Так, в группе пациентов с подобной мутацией GATA3 в опухоли была зарегистрирована наибольшая 10-летняя выживаемость по сравнению с группой, у которой была выявлена мутация GATA3 дикого типа [27]. Известно, что высокая экспрессия GATA3 ассоциирована чаще всего с ER-положительными опухолями низкой степени злокачественности и более благоприятным прогнозом заболевания [28].

R. Mehra et al. показали, что низкий уровень экспрессии GATA3 регистрируется в случаях с высокой гистологической степенью злокачественности ткани новообразования, с наличием метастазов в лимфоузлах, с наибольшим размером первичной опухоли, а также в случаях с отрицательным гормональным статусом. У таких пациенток наблюдалась низкая общая и безрецидивная выживаемость по сравнению с больными, у которых опухоль имела высокий уровень экспрессии GATA3 [29].

В эксперименте на клеточной линии MCF-7 наличие изоформ белка GATA3 ассоциировано с резистентностью опухоли к тамоксифену [30]. В свою очередь, наличие мутаций фактора GATA3 коррелирует с лучшей общей безрецидивной выживаемостью у больных РМЖ в целом, а также у ER-положительных женщин, получавших адъювантную эндокринную терапию [31]. Кроме того, было показано, что мутации в GATA3 коррелируют с ответом опухоли на терапию ингибиторами ароматазы [32]. Это говорит о том, что мутация белка GATA3 может выступать в качестве определяющего фактора ответа на гормональное лечение РМЖ, однако имеющиеся на сегодняшний день данные о роли транскрипционного фактора GATA3 в прогнозировании ответа опухоли остаются неоднозначными.

Исследования молекулярных особенностей в отношении традиционных маркеров, в частности GCDFP15 (gross cystic disease fluid protein 15) и MGB (маммаглобин), показывающих высокую специфичность для эпителиальной дифференцировки клеток РМЖ, остаются актуальными, но необходимо отметить, что данные маркеры не обладают высокой чувствительностью, особенно по отношению к карциномам молочной железы высокой степени злокачественности. В недавних исследованиях показано, что экспрессия GATA3 является более чувствительной, чем экспрессия маркеров GCDFP15 и MGB [33]. Аналогичные данные были получены в исследовании, в котором белок GATA3 демонстрировал умеренную чувствительность (30,4 %) и высокую специфичность

(98,7 %) при дифференциальной диагностике трижды негативного РМЖ и в случаях TTF1-негативного рака легкого [34]. Поскольку транскрипционный фактор GATA3 ассоциирован с экспрессией ER при РМЖ, нельзя исключить, что данный маркер может отвечать за формирование гормон-реагирующего фенотипа опухоли и принимать участие в регуляции активации ER, тем самым определяя ответ на антиэстрогеновую терапию.

Соответственно, можно предположить, что ядерный фактор транскрипции GATA3 может быть использован в качестве молекулярно-биологического маркера для определения ответа на гормональную терапию и в конечном итоге служить фактором прогноза выживаемости пациентов с раком молочной железы.

FOXA1 (forkhead box protein A1) или гепатоцитарный ядерный фактор 3-альфа (HNF-3 α) является членом семейства ДНК-связывающих белков, который кодируется у человека геном *FOXA1*. Данный гепатоцитарный ядерный фактор регулирует в эмбриогенезе процессы обмена веществ в поджелудочной железе и способен активировать транскрипцию альбумина и транстиретина в ткани печени [35]. Описана его роль в развитии и клеточной дифференцировке тканей других локализаций, в том числе почек, легких, головного мозга, органов желудочно-кишечного тракта, молочной и предстательной железы [36]. Транскрипционные белки этого семейства часто называют «пионерскими» из-за их способности формировать связи с гетерохроматином и делать, таким образом, определенные участки генома более доступными для других факторов транскрипции [37]. В частности, FOXA1 может связываться с промоторами более 100 генов, определяющих реализацию различных процессов метаболизма и регулирующих механизмы функционирования сигнальных путей и клеточного цикла [38]. Известно, что FOXA1 и GATA3 являются ER-ассоциированными кофакторами, обеспечивающими регуляцию транскрипции, передачу внутриклеточных сигналов и связывание стероидных рецепторов ER и AR с молекулярными структурами ДНК [39]. Экспрессия ядерных факторов транскрипции в тканях, в частности экспрессия FOXA1, обусловлена способностью этих белков связываться со специфическими сайтами-мишенями на хроматине, что вызывает локальное раскручивание ДНК. В молочной железе такие изменения в молекуле ДНК позволяют хроматину становиться доступным для связи с ядерными рецепторами ER и PR, при этом в наибольшей степени оказывается зависимой от FOXA1-опосредованной доступности регуляция функционирования ER [40]. Анализ литературы показал, что мутация гена FOXA1 встречается в около 2 % случаев при РМЖ и примерно в 3 % случаев рака предстательной железы, при этом отмечается увеличение темпов роста первичной опухоли [41].

Ядерный фактор транскрипции FOXA1 рассматривают как один из основных белков, имеющих ведущее значение в механизмах канцерогенеза рака предстательной железы, в частности в механизмах активации рецепторов AR [42]. Н. Nakshatri и S. Badve получили данные о том, что низкий уровень экспрессии FOXA1 у больных с прогрессированием РМЖ обусловлен повышением активности белков комплекса поликомб (polycomb), роль которого заключается в подавлении генов Нох посредством модуляции структуры хроматина во время эмбрионального развития [43]. В работе N. Yamaguchi et al. представлены данные о том, что транскрипционный фактор FOXA1 является маркером дифференцировки и созревания люминальных клеток в молочной железе, белок участвует в активации и пролиферации РНК опухолевых клеток, выступая в качестве онкоген-специфичного маркера [44].

При изучении роли транскрипционных факторов при раке молочной железы получены данные о том, что белок FOXA1 при карциноме указанной локализации ассоциирован с экспрессией ER. При «нокдауне» экспрессии FOXA1 происходят блокировка взаимодействия ER и хроматина, а также эстроген-индуцированная экспрессия генов, что подтверждает участие изучаемого ядерного фактора транскрипции в реализации эстроген-опосредованных сигналов в клетке, пролиферации опухолевых клеток, а также в развитии резистентности к гормонотерапии при РМЖ [45]. FOXA1 совместно с ER способствует транскрипции гена, индуцирующего дифференцировку люминальных клеток и подавляет базальноподобный фенотип опухоли. Отсутствие функциональных эффектов FOXA1 увеличивает миграционную активность и усиливает инвазивные свойства опухолевых клеток, обладающих характеристиками базального подтипа. Нельзя исключить, что FOXA1 контролирует пластичность между базальными и люминальными клетками РМЖ, не только путем индукции люминальных генов, но также путем подавления базального фенотипа и, следовательно, агрессивности [46]. Высокая экспрессия FOXA1 при люминальном РМЖ ассоциирована с хорошим ответом опухоли на гормонотерапию [40]. N. Rangel et al. подтвердили данные этих исследований, показав, что высокий уровень мРНК FOXA1 при раке молочной железы зачастую ассоциирован с более высокими показателями экспрессии рецепторов к ER и AR. Напротив, карциномы с низким уровнем мРНК FOXA1 демонстрируют более низкие показатели экспрессии гормональных рецепторов, особенно AR [47]. В литературе имеются сведения о том, что более благоприятное течение заболевания при раке молочной железы отмечается в случаях опухолей с AR+ гормональным статусом [48]. Высокий уровень позитивной экспрессии маркера FOXA1 рассматривают как индикатор хорошего прогноза при рецептор-позитивных карциномах, в том числе благоприятный прогноз регистрировался

и у пациенток, получавших в качестве терапии тамоксифен [49].

Однако в литературе относительно транскрипционного фактора FOXA1 представлены неоднозначные данные. Группа исследователей во главе с Y. Nogimoto показали, что при люминальном подтипе РМЖ хороший ответ при неoadъювантной терапии был ассоциирован с низкой экспрессией изучаемого белка, при этом при карциномах с высокими показателями экспрессии FOXA1 в опухолевых клетках, как правило, в дальнейшем развивались поздние рецидивы [50]. При изучении люминального А рака молочной железы S. De Lara et al. получены данные о том, что позитивная экспрессия FOXA1 и GATA3 при указанном молекулярно-генетическом субтипе присутствует более чем в 80 % карцином [51]. Кроме того, было высказано предположение, что фактор транскрипции FOXA1 может играть двойную роль и выступать как стимулятор опухолевого роста или как супрессор, в частности, на начальных стадиях он функционирует в качестве промотора, но при этом тормозит рост опухоли на более поздних стадиях. Отмечается, что гиперэкспрессия FOXA1, оказывая влияние на экспрессию белка p27 (ингибитор клеточного цикла, ассоциированного с BRCA1) и стимулируя экспрессию Е-кадгерина, может проявлять супрессорное действие и блокировать процессы метастазирования [52].

Экспериментальные данные, полученные N. Yamaguchi et al., свидетельствуют о том, что снижение экспрессии FOXA1 может способствовать приобретению опухолевыми клетками свойств стволовых клеток, что приводит к возникновению резистентности новообразования к терапии тамоксифеном посредством индукции интерлейкина-6 (IL-6) [53]. X. Fu et al. также в эксперименте показали, что гиперэкспрессия FOXA1 в ER+ опухолях была ассоциирована с более агрессивным течением рака молочной железы, что может быть показателем возникновения нарушений в функционировании сигнальных путей при активации рецептора эстрогена и развития в дальнейшем устойчивости новообразования к гормонотерапии. Наиболее вероятно, это обусловлено перепрограммированием пути транскрипции ER через альтернативный путь (лиганд-независимый – E2 путь) с участием других факторов роста [54]. Аналогичный механизм наблюдается и при раке предстательной железы, где высокий уровень экспрессии FOXA1 в опухолевых клетках, чувствительных к андрогенам, облегчает связывание AR-хроматина в новых областях генома, не занятых AR, что, в свою очередь, способствует росту опухолевых клеток. Было показано, что гиперэкспрессия FOXA1 в опухоли ассоциирована с наименьшим временным периодом до регистрации биохимического рецидива после радикальной простатэктомии, с наличием положительных в отношении опухоли границ резекции и

с более высокой стадией процесса при постановке диагноза [55].

В одном из исследований показано наличие сложных взаимодействий между AR, ER и FOXA1 в отношении развития эндокринной резистентности, что, в первую очередь, может быть связано с изменением активации рецепторов ER при транскрипции. Известно, что длительная адъювантная терапия РМЖ вызывает возникновение в опухолевых клетках резистентности к блокирующим эффектам эндокринной терапии [56]. Мутации в домене ESR1 способствуют формированию резистентности к гормональной терапии метастатического РМЖ [57]. С. Van Poznak et al. описали случаи РМЖ, при которых экспрессия рецепторов ER в метастатических очагах была негативной, несмотря на то, что первичная опухоль была ER α -позитивной [58]. W. Schrijver et al. отмечен интересный факт, заключающийся в том, что показатель экспрессии маркера FOXA1 в плевральных метастазах был значимо ниже по сравнению с таковым в ткани первичной опухоли и отдаленных метастазов. Такая закономерность, по мнению авторов работы, указывает на потерю сигнальной оси рецепторов ER и, следовательно, может являться причиной резистентности рака молочной железы к гормональной терапии [59]. Описана роль транскрипционного фактора FOXA1 в качестве антагониста процессов эпителиально-мезенхимального перехода в злокачественных новообразованиях различной локализации, в том числе при РМЖ [60]. В одном из экспериментальных исследований с использованием клеточных линий РМЖ мезенхимального (MDA-MB-231) и эпителиального (MCF7) типов было проанализировано участие белка FOXA1 в прогрессировании эпителиально-мезенхимального перехода. Результаты работы подтверждают данные о том, что данный маркер преимущественно способствует экспрессии E-кадгерина на уровне белка путем подавления экспрессии Slug в клетках линии MCF7, соответственно, можно предположить, что ассоциация FOXA1-Slug регулирует прогрессирование эпителиально-мезенхимального перехода [61].

Необходимо отметить, что роль белка FOXA1 в оценке чувствительности РМЖ к антиэстрогеновой терапии изучена недостаточно, а имеющиеся в литературе данные немногочисленны и неоднозначны.

ELF5 (транскрипционный регулятор E74-подобный фактор 5-го типа) относится к семейству ETS-транскрипционных факторов (ET-26) и в норме физиологически связан с плацентацией, альвеологенезом, процессами дифференцировки акинусов молочной железы во время беременности и лактации [62]. Данный транскрипционный фактор рассматривается как потенциальный модулятор молекулярного подтипа РМЖ, поскольку в экспериментальных исследованиях на клеточных линиях базального подтипа рака молочной железы

показано, что блокировка ELF5 может приводить к изменениям молекулярного профиля карциномы данной локализации [63]. Отмечено, что функция ELF5 является крайне важной и первостепенной для клеток секреторного альвеолярного эпителия молочной железы, поскольку индуцирует процесс их дифференцировки во время альвеолярного морфогенеза. В ткани молочной железы с «нулевыми» мутациями рецептора пролактина, PR или Elf5 обнаруживаются почти одинаковые дефекты в развитии долек и альвеолярного эпителия. Это сходство указывает на наличие рецепторного механизма взаимодействия, что играет важную роль в развитии клеточных структур молочной железы [64]. Известно, что пролактин обеспечивает регулирование влияния фактора ELF5 на развитие ткани молочной железы, поскольку является пролактин-регулируемым геном. В одном из исследований показано, что у мышей с пролактин-рецепторной «нулевой» молочной железой в условиях *in vivo* экспрессия ELF5 была значительно снижена, при этом экспрессия рецепторов пролактина у мышей с выключенным геном ELF5 была не изменена [62].

Фактор транскрипции ELF5 является одним из ключевых в дифференцировке клеток-предшественников, участвуя изначально в развитии стволовых клеток молочной железы, а затем оказывая влияние на их дифференцировку в клетки-предшественники и далее в люминальные клетки [64]. Такие клетки-предшественники с определенным уровнем транскрипционного фактора ELF5 попадают под гормональный контроль и посредством механизмов взаимодействия с паракринными гормонами молочной железы, а также при участии мембранного белка RANKL (TNFSF11) активируют ELF5, который, в свою очередь, направляет дифференцировку в сторону ER-секреторной клеточной линии, отвечающей в норме за выработку люминальными клетками секрета [65]. По данным с J. Harris et al., известна альтернативная функция клеток-предшественников, заключающаяся в том, что чувствительная к гормонам ER клетка может сформироваться в случае, если уровень транскрипционного белка ELF5 в ней будет находиться под контролем эстрогена [66]. S.R. Oakes et al. показали, что *in vivo* у мышей с нокаутом ELF5 (Elf5-KO) блокировка транскрипционного фактора ELF5 приводит к нарушению физиологических процессов созревания ткани молочной железы, а также процессов альвеологенеза и лактации [64].

В литературе представлены данные о том, что изучаемый транскрипционный фактор ассоциирован с процессами неоангиогенеза и эпителиально-мезенхимального перехода в ткани новообразования, соответственно, сопряжен с механизмами опухолевой инвазии и метастазирования. Экспериментально показано, что высокий уровень экспрессии фактора ELF5 в дифференцированной клеточной линии люминальных клеток

ингибирует эпителиально-мезенхимальный переход посредством прямого угнетения транскрипции фактора Snail2/Slug, являющегося индуктором процесса эпителиально-мезенхимального перехода. В случаях потери описанными клетками экспрессии фактора ELF5 отмечается активация процессов эпителиально-мезенхимального перехода посредством увеличения функциональной активности мезенхимальных стволовых клеток, зависящая от состояния фактора Snail2. Соответственно, можно говорить, что ELF5 является ключевым регулятором механизмов не только в реализации клеточной дифференцировки во время нормального развития молочной железы, но и в процессах приобретения злокачественно трансформированными эпителиальными клетками мезенхимальных свойств, определяющих метастазирование при раке молочной железы [67, 68]. Однако анализ литературы показал наличие сведений о том, что повышенная экспрессия ELF5 при люминальном А подтипе РМЖ ассоциирована с наиболее коротким периодом развития метастазов, с низкой общей выживаемостью, а также с худшим ответом опухоли на терапию [69]. М. Kalyuga et al. представлены данные, указывающие на то, что изучаемый белок обеспечивает ключевую транскрипционную детерминанту молекулярного подтипа рака молочной железы. ELF5 может подавлять экспрессию ER и фактора транскрипции FOXA1, которые участвуют в дифференцировке люминальных клеток, при этом снижение уровня ELF5 способствует развитию клаудин-подобного РМЖ, характеризующегося приобретением люминальными клетками резистентности к антиэстрогенам [63]. В исследовании определенным образом отобранных случаев клеточной линии MCF-7, обработанных тамоксифеном в течение 6 мес, показано, что метилирование гена ELF5 в линиях с PR-позитивной первичной опухолью, имеющих резистентный к антиэстрогенной терапии рецидив, может иметь значение относительно возможности выделения пациенток для индивидуального лечения на ранних стадиях заболевания [70]. F. Omata et al. показали, что уровень экспрессии

ELF5 в инвазивном и неинвазивном трижды негативном РМЖ является неблагоприятным прогностическим фактором, независимым от других клинико-патологических характеристик. В частности, низкий уровень экспрессии ELF5, особенно в EGFR- и CK5/6- карциномах молочной железы, был ассоциирован с низкой общей и безрецидивной выживаемостью [71].

Необходимо сказать, что есть работы, посвященные исследованию фактора транскрипции ELF5 при карциномах других локализаций. Имеются данные, что при раке предстательной железы ELF5 способен ингибировать эпителиально-мезенхимальный переход за счет связывания с белком SMAD3, нарушая механизмы фосфорилирования и тем самым блокируя сигналы трансформирующего фактора роста TGF- β [72]. Результаты других исследователей указывают на тот факт, что функциональная активность белка ELF5 скорее определяет более злокачественный фенотип опухолевых клеток при раке простаты [73]. Карциномы мочевого пузыря и почек характеризуются потерей экспрессии фактора транскрипции ELF5 [74, 75]. Кроме того, известно, что при эндометриальной карциноме повышенная регуляция ELF5 связана с более высокой стадией заболевания [76].

Таким образом, отсутствие эффекта от гормонотерапии тамоксифеном может быть связано с активацией различных транскрипционных факторов. В настоящее время данных об экспрессионных характеристиках и взаимодействии между транскрипционными факторами ELF5, FOXA1 и GATA3 у пациенток РМЖ, в том числе при люминальных субтипах, недостаточно. Изучение параметров экспрессии факторов транскрипции, а также их взаимосвязи с механизмами опухолевой прогрессии позволит повысить информативность иммуноморфологического исследования, с большей долей вероятности предполагать эффективность гормонотерапии и, следовательно, планировать адекватную тактику лечения и прогнозировать исход заболевания при раке молочной железы.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Simon I., Barnett J., Hannett N., Harbison C.T., Rinaldi N.J., Volkert T.L., Wyrick J.J., Zeitlinger J., Gifford D.K., Jaakkola T.S., Young R.A. Serial regulation of transcriptional regulators in the yeast cell cycle. *Cell*. 2001 Sep 21; 106(6): 697–708. doi: 10.1016/s0092-8674(01)00494-9.
2. Accili D., Arden K.C. FoxOs at the crossroads of cellular metabolism, differentiation, and transformation. *Cell*. 2004 May 14; 117(4): 421–6. doi: 10.1016/s0092-8674(04)00452-0.
3. Vaquerizas J.M., Kummerfeld S.K., Teichmann S.A., Luscombe N.M. A census of human transcription factors: function, expression and evolution. *Nat Rev Genet*. 2009 Apr; 10(4): 252–63. doi: 10.1038/nrg2538.
4. Singh M., Ding Y., Zhang L.Y., Song D., Gong Y., Adams S., Ross D.S., Wang J.H., Grover S., Doval D.C., Shao C., He Z.L., Chang V., Chin W.W., Deng F.M., Singh B., Zhang D., Xu R.L., Lee P. Distinct breast cancer subtypes in women with early-onset disease across races. *Am J Cancer Res*. 2014; 4(4): 337–52.
5. Lambert S.A., Jolma A., Campitelli L.F., Das P.K., Yin Y., Albu M., Chen X., Taipale J., Hughes T.R., Weirauch M.T. The Human Transcription Factors. *Cell*. 2018 Feb 8; 172(4): 650–665. doi: 10.1016/j.cell.2018.01.029.

6. Boyadjiev S.A., Jabs E.W. Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM) as a knowledgebase for human developmental disorders. *Clin Genet*. 2000 Apr; 57(4): 253–66. doi: 10.1034/j.1399-0004.2000.570403.x.
7. Furney S.J., Higgins D.G., Ouzounis C.A., López-Bigas N. Structural and functional properties of genes involved in human cancer. *BMC Genomics*. 2006 Jan 11; 7: 3. doi: 10.1186/1471-2164-7-3.
8. Papavassiliou K.A., Papavassiliou A.G. Transcription factor drug targets. *J Cell Biochem*. 2016 May; 117(12): 2693–2696. doi: 10.1002/jcb.25605.
9. Hagenbuchner J., Ausserlechner M.J. Targeting transcription factors by small compounds Current strategies and future implications. *Biochem Pharmacol*. 2016 May; 107: 1–13. doi: 10.1016/j.bcp.2015.12.006.
10. Liu H., Shi J., Wilkerson M.L., Lin F. Immunohistochemical evaluation of GATA3 expression in tumors and normal tissues: a useful immunomarker for breast and urothelial carcinomas. *Am J Clin Pathol*. 2012 Jul; 138(1): 57–64. doi: 10.1309/AJCP5UAFMSA9ZQBZ.
11. Braxton D.R., Cohen C., Siddiqui M.T. Utility of GATA3 immunohistochemistry for diagnosis of metastatic breast carcinoma in cytology specimens. *Diagn Cytopathol*. 2015 Aug; 43(4): 271–7. doi: 10.1002/dc.23206.

12. Zheng R, Blobel G.A. GATA Transcription Factors and Cancer. *Genes Cancer*. 2010 Dec; 1(12): 1178–1188. doi: 10.1177/1947601911404223.
13. Lentjes M.H.F.M., Niessen H.E.C., Akiyama Y., de Bruijn A.P., Melotte V., van Engeland M. The emerging role of GATA transcription factors in development and disease. *Expert Rev Mol Med*. 2016 Mar; 18:e3. doi: 10.1017/erm.2016.2.
14. Miettinen M., McCue P.A., Sarlomo-Rikala M., Rys J., Czapiewski P., Wazny K., Langfort R., Waloszczyk P., Biernat W., Lasota J., Wang Z. GATA3: a multispecific but potentially useful marker in surgical pathology: a systematic analysis of 2500 epithelial and nonepithelial tumors. *Am J Surg Pathol*. 2014 Jan; 38(1): 13–22. doi: 10.1097/PAS.0b013e3182a0218f.
15. Sellheyer K., Krah D. Expression pattern of GATA-3 in embryonic and fetal human skin suggests a role in epidermal and follicular morphogenesis. *J Cutan Pathol*. 2010 Mar; 37(3): 357–361. doi: 10.1111/j.1600-0560.2009.01416.x.
16. Theodorou V., Stark R., Menon S., Carroll J.S. GATA3 acts upstream of FOXA1 in mediating ESR1 binding by shaping enhancer accessibility. *Genome Res*. 2013 Jan; 23(1): 12–22. doi: 10.1101/gr.139469.112.
17. Gustin J.P., Miller J., Farag M., Rosen D.M., Thomas M., Scharpf R.B., Lauring J. GATA3 frameshift mutation promotes tumor growth in human luminal breast cancer cells and induces transcriptional changes seen in primary GATA3 mutant breast cancers. *Oncotarget*. 2017 Oct 20; 8(61): 103415–427. doi: 10.18632/oncotarget.21910.
18. Emmanuel N., Lofgren K.A., Peterson E.A., Meier D.R., Jung E.H., Kenny P.A. Mutant GATA3 Actively Promotes the Growth of Normal and Malignant Mammary Cells. *Anticancer Res*. 2018; 38(8): 4435–41. doi: 10.21873/anticancer.12745.
19. Fang S.H., Chen Y., Weigel R.J. GATA-3 as a marker of hormone response in breast cancer. *J Surg Res*. 2009 Dec; 157(2): 290–5. doi: 10.1016/j.jss.2008.07.015.
20. Izzo F., Mercogliano F., Venturutti L., Tkach M., Inurrigarro G., Schillaci R., Cerchiotti L., Elizalde V.P., Proietti C. Progesterone receptor activation down regulates GATA3 by transcriptional repression and increased protein turnover promoting breast tumor growth. *Breast Cancer Res*. 2014 Dec; 16: 491. doi: 10.1186/s13058-014-0491-x.
21. Yan W., Cao Q.J., Arenas R.B., Bentley B., Shao R. GATA3 inhibits breast cancer metastasis through the reversal of epithelial-mesenchymal transition. *J Biol Chem*. 2010 Apr; 285(18): 14042–51. doi: 10.1074/jbc.M110.105262.
22. Si W., Huang W., Zheng Y., Yang Y., Liu X., Shan L., Zhou X., Wang Y., Su D., Gao J., Yan R., Han X., Li W., He L., Shi L., Xuan C., Liang J., Sun L., Wang Y., Shang Y. Dysfunction of the reciprocal feedback loop between GATA3- and ZEB2-nucleated repression programs contributes to breast cancer metastasis. *Cancer Cell*. 2015 Jun; 27(6): 822–836. doi: 10.1016/j.ccell.2015.04.011.
23. Yu W., Huang W., Yang Y., Qiu R., Zeng Y., Hou Y., Sun G., Shi H., Leng S., Feng D., Chen Y., Wang S., Teng X., Yu H., Wang Y. GATA3 recruits UTX for gene transcriptional activation to suppress metastasis of breast cancer. *Cell Death Dis*. 2019 Nov 4; 10(11): 832. doi: 10.1038/s41419-019-2062-7.
24. Cancer Genome Atlas Network. Comprehensive molecular portraits of human breast tumours. *Nature*. 2012; 490(7418): 61–70. doi: 10.1038/nature11412.
25. Pereira B., Chin S.F., Rueda O.M., Vollen H.K., Provenzano E., Bardwell H.A., Pugh M., Jones L., Russell R., Sammut S.J., Tsui D.W., Liu B., Dawson S.J., Abraham J., Northen H., Peden J.F., Mukherjee A., Turashvili G., Green A.R., McKinney S., Oloumi A., Shah S., Rosenfeld N., Murphy L., Bentley D.R., Ellis I.O., Purihotham A., Pinder S.E., Borresen-Dale A.L., Earl H.M., Pharoah P.D., Ross M.T., Aparicio S., Caldas C. The somatic mutation profiles of 2,433 breast cancers refines their genomic and transcriptomic landscapes. *Nat Commun*. 2016 May 10; 7: 11479. doi: 10.1038/ncomms11479.
26. Mair B., Konopka T., Kerzendorfer C., Sleiman K., Salic S., Serra V., Mueller M.K., Theodorou V., Nijman S.M. Gain- and Loss-of-Function Mutations in the Breast Cancer Gene GATA3 Result in Differential Drug Sensitivity. *PLoS Genet*. 2016 Sep 2; 12(9): e1006279. doi: 10.1371/journal.pgen.1006279.
27. Takaku M., Grimm S.A., Roberts J.D., Chrysovergis K., Bennett B.D., Myers P., Perera L., Tucker C.J., Perou C.M., Wade P.A. GATA3 zinc finger 2 mutations reprogram the breast cancer transcriptional network. *Nat Commun*. 2018 Mar 13; 9(1): 1059. doi: 10.1038/s41467-018-03478-4.
28. Gonzalez R.S., Wang J., Kraus T., Sullivan H., Adams A.L., Cohen C. GATA-3 expression in male and female breast cancers: comparison of clinicopathologic parameters and prognostic relevance. *Hum Pathol*. 2013 Jun; 44(6): 1065–70. doi: 10.1016/j.humpath.2012.09.010.
29. Mehra R., Varambally S., Ding L., Shen R., Sabel M.S., Ghosh D., Chinnaiyan A.M., Kleer C.G. Identification of GATA3 as a breast cancer prognostic marker by global gene expression meta-analysis. *Cancer Res*. 2005 Dec 15; 65(24): 11259–64. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-05-2495.
30. Viedma-Rodríguez R., Baiza-Gutman L., Salamanca-Gómez F., Diaz-Zaragoza M., Martínez-Hernández G., Ruiz Esparza-Garrido R., Velázquez-Flores M.A., Arenas-Aranda D. Mechanisms associated with resistance to tamoxifen in estrogen receptor-positive breast cancer (review). *Oncol Rep*. 2014 Jul; 32(1): 3–15. doi: 10.3892/or.2014.3190.
31. Jiang Y.Z., Yu K.D., Zuo W.J., Peng W.T., Shao Z.M. GATA3 mutations define a unique subtype of luminal-like breast cancer with improved survival. *Cancer*. 2014 May 1; 120(9): 1329–37. doi: 10.1002/cncr.28566.
32. Ellis M.J., Ding L., Shen D., Luo J., Suman V.J., Wallis J.W., Van Tine B.A., Hoog J., Goiffon R.J., Goldstein T.C., Ng S., Lin L., Crowder R., Snider J., Ballman K., Weber J., Chen K., Kobold D.C., Kandath C., Schierding W.S., McMichael J.F., Miller C.A., Lu C., Harris C.C., McLellan M.D., Wendl M.C., DeSchryver K., Allred D.C., Esserman L., Unzeit G., Margenthaler J., Babiera G.V., Marcom P.K., Guenther J.M., Leitch M., Hunt K., Olson J., Tao Y., Maher C.A., Fulton L.L., Fulton R.S., Harrison M., Oberkfell B., Du F., Demeter R., Vickery T.L., Elhammali A., Piwnica-Worms H., McDonald S., Watson M., Dooling D.J., Ota D., Chang L.W., Bose R., Ley T.J., Piwnica-Worms D., Stuart J.M., Wilson R.K., Mardis E.R. Whole-genome analysis informs breast cancer response to aromatase inhibition. *Nature*. 2012 Jun 10; 486(7403): 353–60. doi: 10.1038/nature11143.
33. Sangoi A.R., Shrestha B., Yang G., Mego O., Beck A.H. The Novel Marker GATA3 is Significantly More Sensitive Than Traditional Markers Mammaglobin and GCDFP15 for Identifying Breast Cancer in Surgical and Cytology Specimens of Metastatic and Matched Primary Tumors. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2016 Apr; 24(4): 229–37. doi: 10.1097/PAI.0000000000000186.
34. Laurent E., Begueret H., Bonhomme B., Veillon R., Thumerel M., Velasco V., Brouste V., Hoppe S., Fournier M., Grellety T., MacGrogan G. SOX10, GATA3, GCDFP15, Androgen Receptor, and Mammaglobin for the Differential Diagnosis Between Triple-negative Breast Cancer and TTF1-negative Lung Adenocarcinoma. *Am J Surg Pathol*. 2019 Mar; 43(3): 293–302. doi: 10.1097/PAS.0000000000001216.
35. Hannehalli S., Kaestner K.H. The evolution of Fox genes and their role in development and disease. *Nat Rev Genet*. 2009 Apr; 10(4): 233–40. doi: 10.1038/nrg2523.
36. Bernardo G.M., Keri R.A. FOXA1: a transcription factor with parallel functions in development and cancer. *Biosci Rep*. 2012; 32(2): 113–30. doi: 10.1042/BSR20110046.
37. Robinson J.L., Holmes K.A., Carroll J.S. FOXA1 mutations in hormone-dependent cancers. *Front Oncol*. 2013; 3: 20. doi: 10.3389/fonc.2013.00020.
38. Zhang G., Zhao Y., Liu Y., Kao L.P., Wang X., Skerry B., Li Z. FOXA1 defines cancer cell specificity. *Sci Adv*. 2016 Mar; 2(3): e1501473. doi: 10.1126/sciadv.1501473.
39. Carroll J.S. Mechanisms of oestrogen receptor (ER) gene regulation in breast cancer. *Eur. J. Endocrinol*. 2016 Jul; 75(1): 41–9. doi: 10.1530/EJE-16-0124.
40. Hurtado A., Holmes K.A., Ross-Innes C.S., Schmidt D., Carroll J.S. FOXA1 is a key determinant of estrogen receptor function and endocrine response. *Nat Genet*. 2011 Jan; 43(1): 27–33. doi: 10.1038/ng.730.
41. Barbieri C.E., Baca S.C., Lawrence M.S., Demicheli F., Blattner M., Theurillat J.P., White T.A., Stojanov P., Van Allen E., Stransky N., Nickerson E., Chae S.S., Boyesen G., Auclair D., Onofrio R.C., Park K., Kitabayashi N., MacDonald T.Y., Sheikh K., Vuong T., Guiducci C., Cibulskis K., Sivachenko A., Carter S.L., Saksena G., Voet D., Hussain W.M., Ramos A.H., Winckler W., Redman M.C., Ardlie K., Tewari A.K., Mosquera J.M., Rupp N., Wild P.J., Moch H., Morrissey C., Nelson P.S., Kantoff P., Gabriel S.B., Golub T.R., Meyerson M., Lander E.S., Getz G., Rubin M., Garraway L.A. Exome sequencing identifies recurrent SPOP, FOXA1 and MED12 mutations in prostate cancer. *Nat Genet*. 2012 May; 44(6): 685–9. doi: 10.1038/ng.2279.
42. Yang Y.A., Yu J. Current perspectives on FOXA1 regulation of androgen receptor signaling and prostate cancer. *Genes Dis*. 2015 Jun; 2(2): 144–151. doi: 10.1016/j.gendis.2015.01.003.
43. Nakshatri H., Badve S. FOXA1 in breast cancer. *Expert Rev Mol Med*. 2009 Mar; 11:e8. doi: 10.1017/S1462399409001008.
44. Yamaguchi N., Ito E., Azuma S., Honma R., Yanagisawa Y., Nishikawa A., Kawamura M., Imai J., Tatsuta K., Inoue J., Semba K., Watanabe S. FoxA1 as a lineage-specific oncogene in luminal type breast cancer. *Biochem Biophys Res Commun*. 2008 Jan; 365(4): 711–7. doi: 10.1016/j.bbrc.2007.11.064.
45. Shigekawa T., Ijichi N., Ikeda K., Horie-Inoue K., Shimizu C., Saji S., Aogi K., Tsuda H., Osaki A., Saeki T., Inoue S. FOXF1, an estrogen-inducible transcription factor, modulates cell proliferation in breast cancer cells and 5-year recurrence-free survival of patients with tamoxifen-treated breast cancer. *Horm Cancer*. 2011 Oct; 2(5): 286–97. doi: 10.1007/s12672-011-0082-6.
46. Bernardo G.M., Bebek G., Ginther C.L., Sizemore S.T., Lozada K.L., Miedler J.D., Anderson L.A., Godwin A.K., Abdul-Karim F.W., Slamon D.J., Keri R.A. FOXA1 represses the molecular phenotype of basal breast cancer cells. *Oncogene*. 2013 Jan; 32(5): 554–63. doi: 10.1038/onc.2012.62.

47. Rangel N., Fortunati N., Osella-Abate S., Annaratone L., Isella C., Catalano M.G., Rinella L., Metovic J., Boldorini R., Balmativila D., Ferrando P., Marano F., Cassoni P., Sapino A., Castellano I. FOXA1 and AR in invasive breast cancer: new findings on their co-expression and impact on prognosis in ER-positive patients. *BMC Cancer*. 2018; 18(1): 703. doi: 10.1186/s12885-018-4624-y.
48. Bozovic-Spasojevic I., Zardavas D., Brohee S., Ameys L., Fumagalli D., Ades F., de Azambuja E., Bareche Y., Piccart M., Paesmans M., Sotiriou S. The prognostic role of androgen receptor in patients with early-stage breast cancer: a meta-analysis of clinical and gene expression data. *Clin Cancer Res*. 2017 Jun; 23(11): 2702–2712. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-16-0979.
49. Hisamatsu Y., Tokunaga E., Yamashita N., Akiyoshi S., Okada S., Nakashima Y., Taketani K., Aishima S., Oda Y., Morita M., Maehara Y. Impact of GATA-3 and FOXA1 expression in patients with hormone receptor-positive/HER2-negative breast cancer. *Breast cancer*. 2015; 22(5): 520–8. doi: 10.1007/s12282-013-0515-x.
50. Horimoto Y., Arakawa A., Harada-Shoji N., Sonoue H., Yoshida Y., Himuro T., Igari F., Tokuda E., Mamat O., Tanabe M., Hino O., Saito M. Low FOXA1 expression predicts good response to neo-adjuvant chemotherapy resulting in good outcomes for luminal HER2-negative breast cancer cases. *Br J Cancer*. 2015 Jan; 112(2): 345–51. doi: 10.1038/bjc.2014.595.
51. De Lara S., Nyqvist J., Werner Rönnerman E., Helou K., Kenne Sarenmalm E., Einbeigi Z., Karlsson P., Parris T.Z., Kovács A. The prognostic relevance of FOXA1 and Nestin expression in breast cancer metastases: a retrospective study of 164 cases during a 10-year period (2004-2014). *BMC Cancer*. 2019 Feb; 19(1): 187. doi: 10.1186/s12885-019-5373-2.
52. Jing X., Liang H., Hao C., Hongxia L., Cui X. Analyses of an epigenetic switch involved in the activation of pioneer factor FOXA1 leading to the prognostic value of estrogen receptor and FOXA1 co-expression in breast cancer. *Aging (Albany NY)*. 2019 Sep 28; 11(18): 7442–7456. doi: 10.18632/aging.102250.
53. Yamaguchi N., Nakayama Y., Yamaguchi N. Down-regulation of Forkhead box protein A1 (FOXA1) leads to cancer stem cell-like properties in tamoxifen-resistant breast cancer cells through induction of interleukin-6. *J Biol Chem*. 2017 May; 292(20): 8136–8148. doi: 10.1074/jbc.M116.763276.
54. Fu X., Jeselsohn R., Pereira R., Hollingsworth E.F., Creighton C.J., Li F., Shea M., Nardone A., De Angelis C., Heiser L.M., Anur P., Wang N., Grasso C.S., Spellman P.T., Griffith O.L., Tsimelzon A., Gutierrez C., Huang S., Edwards D.P., Trivedi M.V., Rimawi M.F., Lopez-Terrada D., Hilsenbeck S.G., Gray J.W., Brown M., Osborne C.K., Schiff R. FOXA1 overexpression mediates endocrine resistance by altering the ER transcriptome and IL-8 expression in ER-positive breast cancer. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2016 Oct; 113(43): 6600–6609. doi: 10.1073/pnas.1612835113.
55. Robinson J.L., Hickey T.E., Warren A.Y., Vowler S.L., Carroll T., Lamb A.D., Papoutsoglou N., Neal D.E., Tilley W.D., Carroll J.S. Elevated levels of FOXA1 facilitate androgen receptor chromatin binding resulting in a CRPC-like phenotype. *Oncogene*. 2014; 33(50): 5666–74. doi: 10.1038/ncr.2013.508.
56. Robinson D.R., Wu Y.M., Vats P., Su F., Lonigro R.J., Cao X., Kalyana-Sundaram S., Wang R., Ning Y., Hodges L., Gursky A., Siddiqui J., Tomlins S.A., Roychowdhury S., Pienta K.J., Kim S.Y., Roberts J.S., Rae J.M., Van Poznak C.H., Hayes D.F., Chugh R., Kunju L.P., Talpaz M., Schott A.F., Chinnaiyan A.M. Activating ESR1 mutations in hormone-resistant metastatic breast cancer. *Nat Genet*. 2013 Dec; 45(12): 1446–51. doi:10.1038/ng.2823.
57. Jeselsohn R., De Angelis C., Brown M., Schiff R. The Evolving Role of the Estrogen Receptor Mutations in Endocrine Therapy-Resistant Breast Cancer. *Curr Oncol Rep*. 2017 May; 19(5): 35. doi: 10.1007/s11912-017-0591-8.
58. Van Poznak C., Somerfield M.R., Bast R.C., Cristofanilli M., Goetz M.P., Gonzalez-Angulo A.M., Hicks D.G., Hill E.G., Liu M.C., Lucas W., Mayer L.A., Mennel R.G., Symmans W.F., Hayes D.F., Harris L.N. Use of Biomarkers to Guide Decisions on Systemic Therapy for Women with Metastatic Breast Cancer: American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline. *J Clin Oncol*. 2015 Aug; 33(24): 2695–704. doi: 10.1200/JCO.2015.61.1459.
59. Schrijver W., Schuurman K., van Rossum A., Droog M., Jeronimo C., Salta S., Henrique R., Wesseling J., Moelans C., Linn S.C., van den Heuvel M., van Diest P., Zwart W. FOXA1 levels are decreased in pleural breast cancer metastases after adjuvant endocrine therapy, and this is associated with poor outcome. *Mol Oncol*. 2018 Nov; 12(11): 1884–94. doi: 10.1002/1878-0261.12353.
60. Wang W., Yi M., Chen S., Li J., Li G., Yang J., Zheng P., Zhang H., Xiong W., McCarthy J.B., Li G., Li X., Xiang B. Significance of the NOR1-FOXA1/HDAC2-Slug regulatory network in epithelial-mesenchymal transition of tumor cells. *Oncotarget*. 2016; 7(13): 16745–59. doi: 10.18632/oncotarget.7778.
61. Anzai E., Hirata K., Shibasaki M., Yamada C., Morii M., Honda T., Yamaguchi N., Yamaguchi N. FOXA1 Induces E-Cadherin Expression at the Protein Level via Suppression of Slug in Epithelial Breast Cancer Cells. *Biol Pharm Bull*. 2017; 40(9): 1483–1489. doi: 10.1248/bpb.b17-00307.
62. Choi Y.S., Chakrabarti R., Escamilla-Hernandez R., Sinha S. Elf5 conditional knockout mice reveal its role as a master regulator in mammary alveolar development: failure of Stat5 activation and functional differentiation in the absence of Elf5. *Dev Biol*. 2009 May; 329(2): 227–41. doi: 10.1016/j.ydbio.2009.02.032.
63. Kalyuga M., Gallego-Ortega D., Lee H.J., Roden D.L., Cowley M.J., Caldon C.E., Stone A., Allerdice S.L., Valdes-Mora F., Launchbury R., Statham A.L., Armstrong N., Alles M.C., Young A., Egger A., Au W., Piggin C.L., Evans C.J., Ledger A., Brummer T., Oakes S.R., Kaplan W., Gee J.M., Nicholson R.I., Sutherland R.L., Swarbrick A., Naylor M.J., Clark S.J., Carroll J.S., Ormandy C.J. ELF5 suppresses estrogen sensitivity and underpins the acquisition of antiestrogen resistance in luminal breast cancer. *PLoS Biol*. 2012; 10(12): e1001461. doi: 10.1371/journal.pbio.1001461.
64. Oakes S.R., Naylor M.J., Asselin-Labat M.L., Blazek K.D., Gardiner-Garden M., Hilton H.N., Kazlauskas M., Pritchard M.A., Chodosh L.A., Pfeffer P.L., Lindeman G.J., Visvader J.E., Ormandy C.J. The Ets transcription factor Elf5 specifies mammary alveolar cell fate. *Genes Dev*. 2008 Mar; 22(5): 581–6. doi: 10.1101/gad.1614608.
65. Tanos T., Sflomos G., Echeverria P.C., Ayyanan A., Gutierrez M., Delaloye J.F., Raffoul W., Fliche M., Dougall W., Schneider P., Yalcin-Ozysal O., Briskin C. Progesterone/RANKL is a major regulatory axis in the human breast. *Sci Transl Med*. 2013 Apr; 5(182): 182ra55. doi: 10.1126/scitranslmed.3005654.
66. Harris J., Stanford P.M., Sutherland K., Oakes S.R., Naylor M.J., Robertson F.G., Blazek K.D., Kazlauskas M., Hilton H.N., Wittlin S., Alexander W.S., Lindeman G.J., Visvader J.E., Ormandy C.J. Socs2 and elf5 mediate prolactin-induced mammary gland development. *Mol Endocrinol*. 2006 May; 20(5): 1177–87. doi: 10.1210/me.2005-0473.
67. Battula V.L., Evans K.W., Hollier B.G., Shi Y., Marini F.C., Ayyanan A., Wang R.Y., Briskin C., Guerra R., Andreeff M., Mani S.A. Epithelial-mesenchymal transition-derived cells exhibit multilineage differentiation potential similar to mesenchymal stem cells. *Stem Cells*. 2010; 28(8): 1435–45. doi: 10.1002/stem.467.
68. Chakrabarti R., Hwang J., Andres Blanco M., Wei Y., Lukačičin M., Romano R.A., Smalley K., Liu S., Yang Q., Ibrahim T., Mercatali L., Amadori D., Haffty B.G., Sinha S., Kang Y. Elf5 inhibits the epithelial-mesenchymal transition in mammary gland development and breast cancer metastasis by transcriptionally repressing Snail2. *Nat Cell Biol*. 2012; 14(11): 1212–22. doi: 10.1038/ncb2607.
69. Gallego-Ortega D., Ledger A., Roden D.L., Law A.M., Magenau A., Kikhtyak Z., Cho C., Allerdice S.L., Lee H.J., Valdes-Mora F., Herrmann D., Salomon R., Young A.I., Lee B.Y., Sergio C.M., Kaplan W., Piggin C., Conway J.R., Rabinovich B., Millar E.K., Oakes S.R., Chitanova T., Swarbrick A., Naylor M.J., O'Toole S., Green A.R., Timpson P., Gee J.M., Ellis I.O., Clark S.J., Ormandy C.J. ELF5 Drives Lung Metastasis in Luminal Breast Cancer through Recruitment of Gr1+ CD11b+ Myeloid-Derived Suppressor Cells. *PLoS Biol*. 2015 Dec; 13(12): e1002330. doi: 10.1371/journal.pbio.1002330.
70. Fitzgerald L.M., Browne E.P., Christie K.D., Punska E.C., Simmons L.O., Williams K.E., Pentecost B.T., Jawale R., Otis C.N., Arcaro K.F. ELF5 and DOK7 regulation in anti-estrogen treated cells and tumors. *Cancer Cell Int*. 2016 Feb; 16: 8. doi: 10.1186/s12935-016-0282-9.
71. Omata F., McNamara K.M., Suzuki K., Abe E., Hirakawa H., Ishida T., Ohuchi N., Sasano H. Effect of the normal mammary differentiation regulator ELF5 upon clinical outcomes of triple negative breast cancers patients. *Breast Cancer*. 2018. Jul; 25(4): 489–496. doi: 10.1007/s12282-018-0842-z.
72. Yao B., Zhao J., Li Y., Li H., Hu Z., Pan P., Zhang Y., Du E., Liu R., Xu Y. Elf5 inhibits TGF-β-driven epithelial-mesenchymal transition in prostate cancer by repressing SMAD3 activation. *Prostate*. 2015; 75(8): 872–82. doi: 10.1002/pros.22970.
73. Xie B.X., Zhang H., Wang J., Pang B., Wu R.Q., Qian X.L., Yu L., Li S.H., Shi Q.G., Huang C.F., Zhou J.G. Analysis of differentially expressed genes in LNCaP prostate cancer progression model. *J Androl*. 2011; 32(2): 170–82. doi: 10.2164/jandrol.109.008748.
74. Wu B., Cao X., Liang X., Zhang X., Zhang W., Sun G., Wang D. Epigenetic regulation of Elf5 is associated with epithelial-mesenchymal transition in urothelial cancer. *PLoS One*. 2015; 10(1): e0117510. doi: 10.1371/journal.pone.0117510.
75. Lapinskas E.J., Svobodova S., Davis I.D., Cebon J., Hertzog P.J., Pritchard M.A. The Ets transcription factor ELF5 functions as a tumor suppressor in the kidney. *Twin Res Hum Genet*. 2011; 14(4): 316–22. doi: 10.1375/twin.14.4.316.
76. Risinger J.L., Maxwell G.L., Chandramouli G.V., Jazaeri A., Aprelikova O., Patterson T., Berchuck A., Barrett J.C. Microarray analysis reveals distinct gene expression profiles among different histologic types of endometrial cancer. *Cancer Res*. 2003 Jan; 63(1): 6–11.

Поступила/Received 04.12.2019
Принята в печать/Accepted 25.03.2020

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Васильченко Дмитрий Владимирович, ассистент кафедры патологической анатомии, Сибирский государственный медицинский университет (г. Томск, Россия). SPIN-код: 8250-2606. AuthorID (РИНЦ): 878452. Researcher ID (WOS): G-8899-2019. ORCID: 0000-0002-9780-0770. E-mail: vasilchenkodmitry1991@gmail.com.

Крахмаль Надежда Валерьевна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры патологической анатомии, Сибирский государственный медицинский университет (г. Томск, Россия). SPIN-код: 1543-6546. AuthorID (РИНЦ): 714598. Researcher ID (WOS): S-3799-2016. ORCID: 0000-0002-1909-1681.

Вторушин Сергей Владимирович, доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры патологической анатомии, Сибирский государственный медицинский университет (г. Томск, Россия). SPIN-код: 2442-4720. AuthorID (РИНЦ): 607923. Researcher ID (WOS): S-3789-2016. ORCID: 0000-0002-1195-4008.

Завьялова Марина Викторовна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой патологической анатомии, Сибирский государственный медицинский университет (г. Томск, Россия). SPIN-код: 1229-0323. AuthorID (РИНЦ): 323615. Researcher ID (WOS): C-8580-2012. ORCID: 0000-0001-9429-9813.

ВКЛАД АВТОРОВ

Васильченко Дмитрий Владимирович: разработка концепции и дизайна, сбор и обработка материала, анализ и интерпретация полученных данных, обзор публикаций по теме статьи, написание текста.

Крахмаль Надежда Валерьевна: сбор и обработка материала, участие в разработке концепции и дизайна, работа с базами данных, оформление рукописи.

Вторушин Сергей Владимирович: разработка концепции, дизайна и структуры, анализ интеллектуального содержания статьи, окончательное утверждение рукописи для публикации.

Завьялова Марина Викторовна: разработка концепции и дизайна, редактирование окончательного варианта статьи, проверка интеллектуального содержания статьи.

Финансирование

Работа выполнена при поддержке Гранта Президента НШ-2701.2020.7 «Разработка новых подходов к прогнозированию течения карцином молочной железы и легких с учетом морфологической и молекулярно-генетической гетерогенности опухоли».

Конфликт интересов

Авторы объявляют, что у них нет конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Dmitrii V. Vasilchenko, MD, Assistant Professor, Pathology Department, Siberian State Medical University (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): G-8899-2019. ORCID: 0000-0002-9780-0770. E-mail: vasilchenkodmitry1991@gmail.com.

Nadezhda V. Krakhmal, MD, PhD, Associate Professor, Pathology Department, Siberian State Medical University (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): S-3799-2016. ORCID: 0000-0002-1909-1681.

Sergey V. Vtorushin, MD, DSc, Professor, Pathology Department, Siberian State Medical University (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): S-3789-2016. ORCID: 0000-0002-1195-4008.

Marina V. Zavyalova, MD, DSc, Professor, Head of Pathology Department, Siberian State Medical University (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): C-8580-2012. ORCID: 0000-0001-9429-9813.

AUTHOR CONTRIBUTION

Dmitrii V. Vasilchenko: study conception and design, data collection and analysis, data interpretation, writing of the manuscript.

Nadezhda V. Krakhmal: data collection and analysis, study conception and design, drafting of the manuscript.

Sergey V. Vtorushin: study conception and design, critical revision for the important intellectual content, final approval of the manuscript.

Marina V. Zavyalova: study conception and design, editing of the final version of the manuscript, critical revision for the important intellectual content.

Funding

The study was supported by the Grant of the President 2701.2020.7 «Development of new approaches in predicting breast and lung cancer prognosis considering the morphological and molecular genetic heterogeneity of the tumor».

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

Для цитирования: Антонова Е.Ю., Базин И.С., Гарин А.М., Покатаев И.А., Сагайдак И.В., Поляков А.Н., Чихарева Я.Е., Волков А.Ю., Базина И.В. Изменения парадигмы лечения больных операбельным раком поджелудочной железы. Сибирский онкологический журнал. 2020; 19(3): 156–163. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-3-156-163.

For citation: Antonova E.Yu., Bazin I.S., Garin A.M., Pokataev I.A., Sagaidak I.B., Polyakov A.N., Chihareva Y.E., Volkov A.Yu., Bazina I.V. A paradigm shift in the treatment of patients with resectable pancreatic cancer. Siberian Journal of Oncology. 2020; 19(3): 156–163. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-3-156-163.

ИЗМЕНЕНИЯ ПАРАДИГМЫ ЛЕЧЕНИЯ БОЛЬНЫХ ОПЕРАБЕЛЬНЫМ РАКОМ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Е.Ю. Антонова¹, И.С. Базин^{1,2}, А.М. Гарин¹, И.А. Покатаев¹, И.В. Сагайдак¹,
А.Н. Поляков¹, Я.Е. Чихарева¹, А.Ю. Волков¹, И.В. Базина³

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, г. Москва, Россия¹

Россия, 115478, г. Москва, Каширское шоссе, 23. E-mail: elenaantonova5@mail.ru¹

ФГБОУ ВО «Тверской государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Тверь, Россия²
Россия, 170100, г. Тверь, ул. Советская, 4²

ФГБОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, г. Москва, Россия³
Россия, 117997, г. Москва, ул. Островитянова, 1³

Аннотация

Цель исследования – предоставить онкологам и хирургам, специализирующимся на лечении больных раком поджелудочной железы, наиболее полную информацию о значении и роли химиотерапии в лечении пациентов, страдающих операбельным и погранично-резектабельным раком поджелудочной железы, на основе последних литературных данных. **Материал и методы.** Поиск информационных источников произведен в системах Pubmed, COSMIC cancer database. Проанализированы отчеты органов исполнительной власти в сфере здравоохранения субъектов Российской Федерации, мировые источники, содержащие сведения по заболеваемости, смертности, одногодичной летальности больных с диагнозом рак поджелудочной железы. Проанализированы данные ретроспективных и проспективных клинических исследований. В работе отражен опыт российских и зарубежных исследователей. **Результаты.** На основании анализа наиболее актуальных публикаций последних лет представлены данные по современным подходам к лечению операбельного рака поджелудочной железы. **Заключение.** Представленные в статье данные обобщают материалы клинических исследований последних лет. Это, в свою очередь, позволит онкологам выбрать наиболее правильную и персонализированную тактику ведения пациентов с операбельным и условно операбельным раком поджелудочной железы.

Ключевые слова: рак поджелудочной железы, заболеваемость, адъювантная химиотерапия, неoadъювантная химиотерапия.

A PARADIGM SHIFT IN THE TREATMENT OF PATIENTS WITH RESECTABLE PANCREATIC CANCER

E.Yu. Antonova¹, I.S. Bazin^{1,2}, A.M. Garin¹, I.A. Pokataev¹, I.B. Sagaidak¹,
A.N. Polyakov¹, Y.E. Chihareva¹, A.Yu. Volkov¹, I.V. Bazina³

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

23, Kashirskoe shosse, 115478-Moscow, Russia. E-mail: elenaantonova5@mail.ru¹

Tver State Medical University, Tver, Russia²

4, Sovetskaya Street, 170100-Tver, Russia²

Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia³

1, Ostrovityanova Street, 117997-Moscow, Russia³

Abstract

Purpose of the study was to provide medical oncologists and surgeons specializing in the treatment of pancreatic cancer patients with the most recent information on the importance and role of chemotherapy in the treatment of patients with resectable and borderline resectable pancreatic cancer. **Material and Methods.** Pubmed and COSMIC databases were used for literature search. Reports of the executive authorities in the field of Health Care of the Russian Federation, as well as worldwide data regarding morbidity and mortality of patients with pancreatic cancer were analyzed. The data of retrospective and prospective clinical trials were studied. **Results.** Based on the analysis of the most recent publications, the authors provided data on modern approaches to the treatment of operable pancreatic cancer. **Conclusion.** The data presented in the article summarize results of recent clinical trials. This will allow oncologists to choose the most correct and personalized tactics for the management of patients with resectable and borderline resectable pancreatic cancer.

Key words: pancreatic cancer, incidence, adjuvant chemotherapy, neoadjuvant chemotherapy.

Введение

Рак поджелудочной железы (РПЖ) до настоящего времени остается нерешенной проблемой современной онкологии. Это связано, в первую очередь, с трудностями диагностики: менее чем у 10 % больных диагноз выставляется в ранней стадии, когда возможно излечение пациента, но даже при выполнении радикального хирургического лечения большинство больных живут не более пяти лет и погибают от прогрессирования заболевания. Поэтому особенно остро стоит задача улучшения результатов хирургического лечения.

По последним статистическим данным, РПЖ занимает 11-ю позицию среди злокачественных новообразований в мире. В 2018 г. было зарегистрировано 458 918 новых случаев РПЖ, в тот же год этот недуг унес жизни 432 242 человек, что составляет 4,5 % от всех смертей, вызванных раком [1], данное заболевание стоит на 7-м месте среди причин смерти от рака в мире [2]. В ЕС отмечен активный рост заболеваемости и смертности от РПЖ, и, как прогнозируется, он станет второй ведущей причиной смерти от рака к 2030 г., в отличие от большинства видов рака. Если в 2013 г. в США от РПЖ погибло 35 000 больных, то к 2030 г. их число возрастет вдвое. По данным Международного агентства по изучению рака (IARC), если сохранятся современные темпы роста заболеваемости РПЖ, то с 2018 по 2040 г. заболеваемость вырастет на 77,7 % (356 358 новых случаев РПЖ), а смертность (при современном уровне медицины) возрастет на 79,9 % (345 181 смертей) [3].

В структуре онкологических заболеваний населения России в 2015 г. РПЖ составил 3,3 %. Абсолютное число новых случаев в 2015 г. составило 8 791 случай среди мужского населения и 8 924 случая среди женского населения. Средний возраст заболевших мужчин – 64,6 года, женщин – 70,3 года. В структуре смертности от онкологических заболеваний в России в 2015 г. на РПЖ приходилось 5,9 %, что соответствует 5-му месту после рака легкого, желудка, ободочной кишки и молочной железы. В 2017 г. было зарегистрировано 16 188 первичных больных РПЖ. Из этих пациентов I стадия – у 3,4 %, II стадия – у 14,3 %, III стадия –

у 20,3 %, IV стадия – у 58,3 % больных. Всего в 2017 г. на учете в онкологических учреждениях по России находилось 19 219 больных РПЖ. Из них наибольшее количество было в Центральном ФО, а именно в Московской области – 1 588 больных, в Южном ФО, а именно в Краснодарском крае – 1 117 больных [4]. Средний возраст умерших от рака поджелудочной железы мужчин – 64,8 года, женщин – 71,3 года. Летальность от рака поджелудочной железы в течение года с момента первичной диагностики в 2017 г. составила 68,2 % – 2-е место после рака легкого [5].

По оценкам GLOBOCAN 2018 и как показывает практика, между странами существуют значительные различия в заболеваемости РПЖ. Самые высокие стандартизованные показатели заболеваемости наблюдаются в Европе и Северной Америке, самые низкие – в Африке и Южной и Центральной Азии. Большие различия в заболеваемости раком поджелудочной железы между странами заставляют предположить, что факторы риска играют важную роль в развитии заболевания [1]. В качестве факторов риска развития для данной патологии рассматриваются: недостаток витамина Д3, злоупотребление алкоголем, хронический панкреатит, сахарный диабет, курение, ожирение, низкая физическая активность [6–7]. С 2014 по 2018 г. 5-летняя выживаемость при РПЖ увеличилась с 6 до 9 %, что свидетельствует о достигнутом прогрессе и о настоятельной необходимости и далее повышать показатели выживаемости [2].

Принципы хирургического лечения

До настоящего времени хирургическое вмешательство остается единственным методом лечения, способным излечить пациента от РПЖ [1]. Основоположником хирургического лечения данного заболевания в начале XX века стал американский хирург Аллен Уиппл, который предложил методику резекции поджелудочной железы.

При выборе хирургического лечения (дистальная резекция, гастропанкреатоудаленальная резекция, расширенная панкреатэктомия и др.) учитывают размер образования, локализацию опухоли, наличие поражения регионарных лимфоузлов

[8]. Гастропанкреатодуоденальная резекция сложна и выполнима лишь у 15 % больных с опухолями головки и у 10 % с опухолями хвоста и тела. Причем из числа оперированных в лучших клиниках 5-летняя выживаемость наблюдается менее чем у 20 % пациентов. При современных хирургических методиках послеоперационная летальность не превышает 5 % [9–10]. Однако медиана выживаемости больных после резекции составляет от 15 до 19 мес. Выполнение R0 резекции, размер опухоли и отсутствие метастазов в лимфатических узлах являются главными прогностическими показателями для долгосрочной выживаемости [11–12]. Выживаемость при операциях R1 сопоставима с химиолучевым лечением без хирургии [13–15].

Адьювантная химиотерапия удваивает показатели выживаемости. Ретроспективные данные показывают, что опытные хирурги и специализированные больницы показывают лучшие результаты, но в ведущих американских клиниках в последнее время, как и 10 лет назад, 5-летняя выживаемость с адьювантной терапией составляет не более 20 % [14]. В России, по данным НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина, 5-летняя выживаемость при хирургическом лечении – 9 %; операция + послеоперационная лучевая терапия – 4 %; операция + адьювантная терапия гемцитабином – 25 % [16].

Решение о выборе тактики лечения неметастатического РПЖ основывается на оценке резектабельности первичной опухоли, которая должна производиться на мультидисциплинарном консилиуме: хирургами, обладающими достаточным опытом хирургического лечения опухолей билиопанкреатодуоденальной области, радиологами, медицинскими онкологами и рентгенологами. В последние годы в клиническую практику введено понятие погранично-резектабельного РПЖ, определяемого согласно рекомендациям центра MD Anderson и консенсуса АНРВА [17–18]. Пациенты с пограничными опухолями могут быть рассмотрены как кандидаты для оперативного лечения после предоперационной терапии, только если есть вероятность выполнения R0 резекции [19].

Адьювантная химиотерапия

Целесообразность послеоперационного профилактического лечения доказана в исследованиях ESPAC 1, 3 и CONCO-001, которые продемонстрировали достоверное увеличение как медианы времени до прогрессирования, так и медианы общей выживаемости у пациентов, получавших 5-фторурацил (режим клиники Мейо) или гемцитабин с профилактической целью.

В исследовании ESPAC-1 (Европейская группа по изучению РПЖ), проведенном на 289 радикально оперированных пациентах, сравнивались группа наблюдения, группа больных, получавших адьювантную химиотерапию – 6 пятидневных циклов фторурацила (разовая доза 425 мг/м²) + лейковорин (разовая доза 20 мг/м²) и подвергну-

тых химиолучевой терапии (дозы фторурацила и лейковорина были идентичными с химиотерапевтической группой, дозы облучения – 40 Гр). Оказалось, что медиана выживаемости больных, получавших адьювантную химиотерапию фторурацилом, равнялась 20,1 мес, в группе наблюдения – 15,5 мес ($p=0,009$), а при химиолучевой терапии медиана выживаемости была ниже, чем в группе контроля, не получавшей адьювантного лечения, HR – 1,28 [20–23].

Международное исследование CONCO-001 (2008), проведенное на 354 больных, оперированных по поводу локального РПЖ, показало, что гемцитабин в адьювантном режиме приводит к медиане выживаемости 22,8 мес, в группе наблюдения этот показатель равен 20,2 мес ($p=0,005$). Безрецидивная выживаемость у получавших гемцитабин, составила 13,4 мес, в контрольной группе – 6,9 мес ($p<0,001$). При стратификации больных по типу операции на R0 и R1 безрецидивная выживаемость у получавших адьювантно гемцитабин составила 15,8 и 13,1 мес, а в группах наблюдения – 7,3 и 5,5 мес соответственно. Значительной была разница в пятилетней выживаемости 21 и 94 % соответственно [24, 25].

В исследовании ESPAC 3 на 1088 оперированных больных РПЖ (R1 – 35 %, в 70 % в процесс были вовлечены регионарные лимфоузлы) сравнивалась адьювантная терапия фторурацилом + лейковорин (1-я группа) и гемцитабином (2-я группа). Медиана общей выживаемости в 1-й группе – 23 мес, во 2-й группе – 23,6 мес, разница статистически не достоверна. Авторы считают, что тенденция исключения фторурацила из арсенала лечения РПЖ неправильна. Вместе с тем они указывают в качестве преимуществ гемцитабина его меньшую токсичность [26]. При дополнительном анализе исследования ESPAC 3 было показано, что выживаемость при применении гемцитабина зависит от уровня экспрессии hENT1 белка переносчика. Так, при низком уровне экспрессии медиана выживаемости составила 17,1 мес, а при высоком – 26,2 мес ($p=0,002$) [26].

Японскими учеными в 2016 г. проведено исследование JASPAC 01, в котором сравнили применение в адьювантном режиме S1 (S1 40–60 мг 2 раза в день, 4 нед 6-недельного цикла) и гемцитабин (гемцитабин – 1000 мг/м² в 1, 8, 15-й дни 4-недельного курса). Исследование проведено на 385 больных РПЖ в азиатской популяции. В результате продемонстрировано преимущество S1 над гемцитабином – 5-летняя выживаемость при S1 составила 43,6 %, для гемцитабина – 24,2 % (HR для S1: 0,57). Уровень токсичности III–IV степени также в пользу S1 [26].

Описанные выше исследования, посвященные роли монотерапии в качестве адьювантного лечения больных, оперированных по поводу РПЖ, привели к поиску комбинаций, способных улучшить результаты монотерапии. В исследовании

ESPAC 4 авторы сравнили комбинацию GemCap с монотерапией гемцитабином. В исследование было включено 730 пациентов: 366 больных получали гемцитабин и 364 – комбинацию GemCap. Медиана общей выживаемости в группе монотерапии составила 25,5 мес, в группе комбинированного лечения – 28,0 мес. Пятилетняя выживаемость – 16,3 % и 28,8 % соответственно ($p=0,03$) [27].

На ASCO в 2018 г. представлены результаты исследования PRODIGE 24/CCTG PA.6 24 – рандомизированного исследования III фазы, посвященного оценке эффективности адъювантной химиотерапии по схеме FOLFIRINOX в сравнении с монотерапией гемцитабином [28–30]. Пациенты после R0 или R1 резекции поджелудочной железы были рандомизированы в группу, получавшую монотерапию гемцитабином, и группу, получавшую химиотерапию по схеме mFOLFIRINOX. В исследование включались пациенты в возрасте 18–79 лет, ECOG 0–1, без признаков заболевания по данным КТ после операции и уровнем CA19–9 ниже 180 Ед/мл.

Терапия FOLFIRINOX, несмотря на изначально предложенную редукцию доз, приводила к высокой частоте диареи, что потребовало внесения изменений в протокол в отношении доз препаратов. В итоге пациенты получали двухнедельные курсы, включающие иринотекан в дозе 150 мг/м², оксалиплатин 85 мг/м², фолиат кальция в дозе 400 мг/м², 5-фторурацил 2400 мг/м² в режиме внутривенной инфузии в течение 46 ч без болюсного введения 5-фторурацила.

Результаты оказались существенно лучше ожидаемых. Медиана безрецидивной выживаемости для получающих mFOLFIRINOX и гемцитабин составила 21,6 и 12,8 мес ($p<0,001$). Трехлетняя безрецидивная выживаемость достигла 39,7 % и 21,4 % соответственно [30]. Анализ по подгруппам показал, что выигрывают от терапии все пациенты вне зависимости от стадии, статуса лимфоузлов, краев резекции или степени дифференцировки опухоли. Однако больные со статусом ECOG 1 выигрывают от терапии mFOLFIRINOX несколько меньше, чем пациенты с ECOG 0 [30]. Медиана продолжительности жизни, по предварительным данным, составила 54,4 и 35,0 мес при лечении по схеме mFOLFIRINOX и гемцитабин соответственно ($p=0,003$). Еще ни одно крупное исследование не демонстрировало таких высоких показателей продолжительности жизни, какую получили авторы этого исследования для терапии mFOLFIRINOX [30].

Что касается радиотерапии в адъювантных режимах, то в последние годы все чаще используется стереотаксическая интенсивная лучевая терапия, где достаточно СОД 15–20 Гр для достижения эффекта. Этот вид лучевого воздействия обладает значительно меньшей токсичностью в сравнении с традиционной лучевой терапией 54 Гр малыми фракциями.

На ASCO 2019 были заслушаны первые результаты исследования АРАСТ, в котором приняли участие 866 больных РПЖ, подвергнутых R0 или R1 резекции. Все они имели СА 19–9 ниже 100 Ед/мл и получали в течение 6 мес монотерапию гемцитабином в стандартной дозе (гемцитабин 1000 мг/м² в 1, 8 и 15-й дни с 2-недельным перерывом) или комбинацию гемцитабина с наб-паклитакселем (гемцитабин 1000 мг/м² и наб-паклитаксел 125 мг/м² в 1, 8 и 15-й дни). Основной конечной точкой этого исследования была безрецидивная выживаемость, которая в группе, получавшей наб-паклитаксел и гемцитабин, составила 19,4 мес, в группе гемцитабина – 18,8 мес, по сути, негативные результаты. Было лишь небольшое значимое преимущество в общей выживаемости: 40 мес для группы гемцитабин + наб-паклитаксел по сравнению с 36 мес для группы гемцитабина, но, опять же, она не достигла своей основной конечной точки.

Результаты по применению адъювантной терапии у больных раком поджелудочной железы отражены в таблице.

Неоадъювантная терапия

Послеоперационная химиотерапия во многом безуспешна, 5-летняя выживаемость составляет чуть более 20 % при монотерапии, комбинации не позволяют радикально увеличить выживаемость, так как адъювантная терапия возможна только у пациентов, которые быстро восстанавливаются после операции. Более 20 % оперированных пациентов не подходят для адъювантного лечения. Также нет удовлетворительных текущих данных для больных, перенесших R2 резекцию.

Рациональность неоадъювантной терапии заключается в том, что практически всех пациентов можно лечить, их состояние заметно лучше (нет осложнений операции), есть вероятность увеличения частоты R0 резекции, можно снизить технические трудности проведения операции за счет уменьшения размеров образования. Дополнительным преимуществом является получение ткани опухоли для корреляционных исследований, что ведет к лучшему пониманию биологии новообразования.

Ретроспективный опыт MD Anderson онкологического центра показал, что использование предоперационной химиолучевой терапии при резектабельной опухоли отсекает примерно 25 % пациентов, у которых при повторном обследовании после терапии определяют прогрессирование заболевания, что избавляет этих больных от ненужного оперативного вмешательства [32]. В этом исследовании были изучены 132 пациента, которые в предоперационном периоде получали химиолучевую терапию. Медиана выживаемости составила 21 мес, 32 % пациентов были живы без признаков заболевания 14 мес.

Большинство исследований по неоадъювантной терапии пациентов с раком поджелудочной желе-

Адьювантная терапия при раке поджелудочной железы

Adjuvant therapy for pancreatic cancer

Исследование (год)/ Study (year)	Химиотерапия/ Chemotherapy	Общая выживаемость/ Overall survival
ESPAC1 (2004)	5-фторурацил/5FU	24 мес/months
CONCO-001 (2007)	Гемцитабин/ Gemcitabine	24 мес/months
ESPAC4 (2017)	Гемцитабин + капецитабин/ Gemcitabine + capecitabine	28 мес/months
PRODIGE24 (2018)	mFOLFIRINOX	54,4 мес/months
JASPAC01 (2016)	S1	46,5 мес/months
APACT (2019)	Наб-паклитаксел+гемцитабин/ Nab-paclitaxel + gemcitabine	40 мес/months

зы являются ретроспективными или небольшими исследованиями фазы II. Однако в 2018 и 2019 гг. были опубликованы 2 исследования III фазы.

Результаты проведенных нерандомизированных исследований показывают, что смещение концепции лечения операбельного рака поджелудочной железы в сторону предоперационной химио- или химиолучевой терапии привело к заметному увеличению продолжительности жизни пациентов по сравнению с историческим контролем [32].

Рандомизированное исследование III фазы PREOPANC, представленное на конгрессе ASCO в 2018 г., было посвящено оптимальной тактике лечения резектабельной и погранично-резектабельной аденокарциномы поджелудочной железы. В исследование было включено 248 пациентов, которых рандомизировали в группу хирургического лечения с последующей адьювантной химиотерапией гемцитабином 6 циклов и группу больных, получавших индукционную химиотерапию гемцитабином с последующей химиолучевой терапией, операцией и 4 циклами гемцитабина в адьювантном режиме. Почти половина пациентов имели погранично-резектабельную болезнь на момент начала лечения [33].

Предоперационная терапия привела к увеличению частоты R0 резекций в 2 раза: с 31 до 63 % ($p < 0,001$). Безрецидивная выживаемость, время до рецидива, время до появления отдаленных метастазов были достоверно лучше при индукционной терапии. Также имелась тенденция к увеличению продолжительности жизни, а если рассмотреть группу оперированных пациентов, разница в продолжительности жизни равнялась 13 мес – 16,8 и 29,9 мес соответственно ($p = 0,001$) [33].

Результаты, полученные в голландском исследовании PREOPANC, коррелируют с данными другого исследования II фазы, выполненного в Южной Корее. Авторы выполнили рандомизацию пациентов с погранично-резектабельным РПЖ на группу предоперационной химиолучевой терапии, в которой пациенты получали лучевую терапию в дозе СОД 54 Гр в сочетании с гемцитабином

в радиосенсибилизирующей дозе 400 мг/м² еженедельно с последующей операцией и 4 курсами адьювантной химиотерапии гемцитабином, и группу, где лечение начиналось с операции с последующей адьювантной химиолучевой терапией и химиотерапией. Исследование включило 50 пациентов. Проведение предоперационной терапии несколько уменьшило общее число резекций, однако существенно и статистически значимо увеличило частоту R0 резекций с 33 до 82 %. Это привело к увеличению медианы продолжительности жизни с 12 до 21 мес [12, 32].

В отличие от предыдущих исследований, итальянское рандомизированное исследование II фазы РАСТ-15 включало только пациентов РПЖ I–II стадии, обязательным условием являлось отсутствие инвазии верхних брыжеечных артерии и вены, воротной вены, чревного ствола и общей печеночной артерии [12]. В исследование включено 88 пациентов, которые рандомизированы в контрольную группу (операция с последующей адьювантной химиотерапией гемцитабином), группу операции с последующей адьювантной терапией режимом PEXG (цисплатин – 30 мг/м², эпирубицин – 30 мг/м², гемцитабин – 800 мг/м² в 1-й, 15-й дни каждые 4 нед и капецитабин – 1 250 мг/м² в 1–28-й дни) или группу периоперационной терапии – 3 курса PEXG до операции и 3 курса PEXG после операции.

Лучшие результаты получены в группе с периоперационной химиотерапией, наблюдались отказ от необходимости резекции крупных вен, отсутствие послеоперационной летальности и меньшая частота серьезных послеоперационных осложнений. Отдаленные результаты также были лучше в группе периоперационной химиотерапии. Вероятно, в скором времени предоперационная терапия станет стандартом лечения и исходно резектабельного опухолевого процесса [32].

Ранее опубликованные рандомизированные исследования не смогли доказать выигрыша в продолжительности жизни при добавлении лучевой терапии при местнораспространенном раке поджелудочной железы [34–37].

В недавно опубликованном рандомизированном исследовании III фазы Prer-02/JSAP-05 проведено сравнение общей выживаемости 364 больных операбельным РПЖ, 182 из которых были подвергнуты операции с последующей адъювантной химиотерапией S-1 и 182 больным дополнительно на первом этапе было проведено 2 курса неоадъювантной химиотерапии гемцитабином + S-1. Дополнение оперативного лечения в комбинации с адъювантной химиотерапией двумя курсами неоадъювантной химиотерапии привело к достоверному улучшению медианы общей выживаемости больных с 26,6 до 36,7 мес (HR = 0,72; 95 % ДИ = 0,55–0,94; $p=0,015$ [стратифицированный log-rank тест]) [38].

Заключение

Если в недавнем прошлом дискуссии о роли консервативного лечения у больных операбельным

раком поджелудочной железы складывались из обсуждения вопроса о целесообразности терапии как таковой, то в настоящее время адъювантная терапия стала стандартом ведения этой категории пациентов. Европейский и Американский советы экспертов пока не рекомендуют неоадъювантную терапию для резектабельных пациентов, за исключением клинических испытаний. Вместе с тем опубликованные в 2019 г. результаты двух исследований III фазы, доказывающие перспективность проведения неоадъювантной или периоперационной терапии у пациентов с резектабельным или погранично-резектабельным РПЖ, позволят в ближайшей перспективе включить неоадъювантную терапию в стандарты лечения. Результаты ряда исследований, ожидаемые в ближайшем будущем, могут внести дополнительные уточнения по применению лучевой терапии при операбельном и местнораспространенным РПЖ [32].

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. 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; 68(6): 394–424. doi:10.3322/caac.21492.
2. McGuigan A., Kelly P., Turkington R.C., Jones C., Coleman H.G., McCain R.S. Pancreatic cancer: A review of clinical diagnosis, epidemiology, treatment and outcomes. *World J Gastroenterol*. 2018; 24(43): 4846–4861. doi: 10.3748/wjg.v24.i43.4846.
3. Ferlay J., Ervik M., Lam F., Colombet M., Mery L., Piñeros M., Bray F. Global cancer observatory: cancer today. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer [Internet]. URL: http://gco.iarc.fr/tomorrow/graphic-isotype?type=1&population=900&mode=population&sex=0&can=39&age_group=value&apc_male=0&apc_female=0 (cited 23.06.2019).
4. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Состояние онкологической помощи населению России в 2017 году. М., 2018. С. 86–89. [Kaprino A.D., Starinsky V.V., Petrova G.V. The status of cancer care for the population of Russia in 2017. Moscow, 2018. P. 86–89 (in Russian)].
5. Ассоциация онкологов России. Рак поджелудочной железы. Клинические рекомендации. 2017. 35 с. [Russian Oncology Association. Pancreas cancer. Clinical recommendations. 2017. 35 p. (in Russian)].
6. Duell E.J., Lucenteforte E., Olson S.H., Bracci P.M., Li D., Risch H.A., Fontham E.H. Pancreatitis and pancreatic cancer risk: a pooled analysis in the International Pancreatic Cancer Case-Control Consortium (PanC4). *Ann Oncol*. 2012; 23(11): 2964–2970. doi: 10.1093/annonc/mds140.
7. Huang Y., Cai X., Qiu M., Chen P., Tang H., Hu Y., Huang Y. Prediabetes and the risk of cancer: a meta-analysis. *Diabetologia*. 2014; 57(11): 2261–9. doi: 10.1007/s00125-014-3361-2.
8. Wolpin B.M., Ng K., Bao Y., Kraft P., Stampfer M.J., Michaud D.S., Rifai N. Plasma 25-hydroxyvitamin D and risk of pancreatic cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2012; 21(1): 82–91. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-11-0836.
9. Lynch S.M., Vrieling A., Lubin J.H., Kraft P., Mendelsohn J.B., Hartge P., Canzian F., Stepowski E., Arslan A.A., Gross M., Helzlsouer K., Jacobs E.J., LaCroix A., Petersen G., Zheng W., Albanes D., Amundadottir L., Bingham S.A., Boffetta P., Boutron-Ruault M.C., Chanock S.J., Clipp S., Hoover R.N., Jacobs K., Johnson K.C., Kooperberg C., Luo J., Messina C., Palli D., Patel A.V., Riboli E., Shu X.O., Rodriguez Suarez L., Thomas G., Tjønneland A., Tobias G.S., Tong E., Trichopoulos D., Virtamo J., Ye W., Yu K., Zeleniuch-Jacquette A., Bueno-de-Mesquita H.B., Stolzenberg-Solomon R.Z. Cigarette smoking and pancreatic cancer: a pooled analysis from the pancreatic cancer cohort consortium. *Am J Epidemiol*. 2009; 170(4): 403–13. doi: 10.1093/aje/kwp134.
10. Базин И.С., Соловьяненко М.А., Насырова Р.Ю., Подлужный Д., Костякова Л., Гарин А.М. Лекарственная терапия в современном лечении рака поджелудочной железы. Эффективная фармакотерапия. 2011; 24: 30–34. [Bazin I.S., Solovyanenko M.A., Nasyrova R.Yu., Podluzhny D., Kostyakova L., Garin A.M. Drug therapy in the presence of pancreatic cancer. Effective Pharmacotherapy. 2011; 24: 30–34. (in Russian)].
11. Van Tienhoven G., Versteijne E., Suker M., Groothuis K.B., Busch O.R., Bonsing B.A., Zwinderman A.H. Preoperative chemoradiotherapy versus immediate surgery for resectable and borderline resectable pancreatic cancer (PREOPANC-1): A randomized, controlled, multicenter phase III trial. *J Clin Oncol*. 2018; 36(18 suppl.). doi: 10.1200/JCO.2018.36.18_suppl.LBA4002.
12. Howard T.J., Krug J.E., Yu J., Zyromski N.J., Schmidt C.M., Jacobson L.E., Madura J.A., Wiebke E.A., Lillemoe K.D. A margin-negative R0 resection accomplished with minimal postoperative complications is the surgeon's contribution to long-term survival in pancreatic cancer. *J Gastrointest Surg*. 2006 Dec; 10(10): 1338–45. doi: 10.1016/j.gasur.2006.09.008.
13. Jang J.Y., Han Y., Lee H., Kim S.W., Kwon W., Lee K.H., Oh D.Y., Chie E.K., Lee J.M., Heo J.S., Park J.O., Lim D.H., Kim S.H., Park S.J., Lee W.J., Koh Y.H., Park J.S., Yoon D.S., Lee I.J., Choi S.H. Oncological Benefits of Neoadjuvant Chemoradiation With Gemcitabine Versus Upfront Surgery in Patients With Borderline Resectable Pancreatic Cancer: A Prospective, Randomized, Open-label, Multicenter Phase 2/3 Trial. *Ann Surg*. 2018 Aug; 268(2): 215–222. doi: 10.1097/SLA.0000000000002705.
14. Reni M., Balzano G., Zanon S., Zerbi A., Rimassa L., Castoldi R., Pinelli D., Mosconi S., Dogliani C., Chiaravalli M., Pircher C., Arcidiacono P.G., Torri V., Maggiora P., Ceraulo D., Falconi M., Gianni L. Safety and efficacy of preoperative or postoperative chemotherapy for resectable pancreatic adenocarcinoma (PACT-15): a randomised, open-label, phase 2-3 trial. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2018; 3(6): 413–423. doi: 10.1016/S2468-1253(18)30081-5.
15. Bilimoria K.Y., Talamonti M.S., Sener S.F., Bilimoria M.M., Stewart A.K., Winchester D.P., Ko C.Y., Bentrem D.J. Effect of hospital volume on margin status after pancreaticoduodenectomy for cancer. *J Am Coll Surg*. 2008 Oct; 207(4): 510–9. doi: 10.1016/j.jamcollsurg.2008.04.033.
16. Winter J.M., Cameron J.L., Campbell K.A., Arnold M.A., Chang D.C., Coleman J., Hodgin M.B., Sauter P.K., Hruban R.H., Riall T.S., Schulick R.D., Choti M.A., Lillemoe K.D., Yeo C.J. 1423 pancreaticoduodenectomies for pancreatic cancer: A single-institution experience. *J Gastrointest Surg*. 2006 Nov; 10(9): 1199–210. doi: 10.1016/j.gasur.2006.08.018.
17. Zervos E.E., Rosemurgy A.S., Al-Saif O., Durkin A.J. Surgical management of early-stage pancreatic cancer. *Cancer Control*. 2004 Jan-Feb; 11(1): 23–31. doi: 10.1177/107327480401100104.
18. Cameron J.L., Riall T.S., Coleman J., Belcher K.A. One thousand consecutive pancreaticoduodenectomies. *Ann Surg*. 2006 Jul; 244(1): 10–5. doi: 10.1097/01.sla.0000217673.04165.ea.
19. Talamonti M. Borderline resectable pancreatic cancer: a new classification for an old challenge. *Ann Surg Oncol*. 2006 Aug; 13(8): 1019–20. doi: 10.1245/ASO.2006.02.902.
20. Varadhachary G.R., Tamm E.P., Abbruzzese J.L., Xiong H.Q., Crane C.H., Wang H., Lee J.E., Pisters P.W., Evans D.B., Wolff R.A. Borderline resectable pancreatic cancer: definitions, management, and role of preoperative therapy. *Ann Surg Oncol*. 2006 Aug; 13(8): 1035–46. doi: 10.1245/ASO.2006.08.011.
21. Покатаев И.А., Алиева С.Б., Гладков О.А., Загайнов В.Е., Кудашкин Н.Е., Патютко Ю.И., Трякин А.А. Практические рекомендации по лекарственному лечению рака поджелудочной железы. Злокачественные опухоли: Практические рекомендации RUSSCO. 2018; 8(3-s2): 401–413. [Pokataev I.A., Alieva S.B., Gladkov O.A., Zagaynov V.E., Kudashkin N.E., Patyutko Yu.I., Tryakin A.A. Practical recommendations for the treatment of pancreatic cancer glands. Malignant

tumors: Practical recommendations of RUSSCO. 2018; 8 (3-s2): 401–413. (in Russian)].

22. Neoptolemos J.P., Stocken D.D., Friess H., Bassi C., Dunn J.A., Hickey H., Beger H., Fernandez-Cruz L., Dervenis C., Lacaine F., Falconi M., Pedersoli P., Pap A., Spooner D., Kerr D.J., Büchler M.W.; European Study Group for Pancreatic Cancer. A randomized trial of chemoradiotherapy and chemotherapy after resection of pancreatic cancer. *N Engl J Med.* 2004 Mar 18; 350(12): 1200–10. doi: 10.1056/NEJMoa032295.

23. Crane C.H., Ben-Josef E., Small W.Jr. Chemotherapy for pancreatic cancer. *N Engl J Med.* 2004 Jun 24; 350(26): 2713–5.

24. Koshy M.C., Landry J.C., Cavanaugh S.X., Fuller C.D., Willett C.G., Abrams R.A., Hoffman J.P., Thomas C.R.Jr. A challenge to the therapeutic nihilism of ESPAC-1. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2005 Mar 15; 61(4): 965–6. doi: 10.1016/j.ijrobp.2004.11.018.

25. Morris S.L., Beasley M., Leslie M. Chemotherapy for pancreatic cancer. *N Engl J Med.* 2004; 350(26): 2713–5. doi: 10.1056/NEJM200406243502617.

26. Oettle H., Post S., Neuhaus P., Gellert K., Langrehr J., Ridwelski K., Schramm H., Fahlke J., Zuelke C., Burkart C., Guberlet K., Kettner E., Schmalenberg H., Weigang-Koehler K., Bechstein W.O., Niedergethmann M., Schmidt-Wolf I., Roll L., Doerken B., Riess H. Adjuvant chemotherapy with gemcitabine vs observation in patients undergoing curative-intent resection of pancreatic cancer: a randomized controlled trial. *JAMA.* 2007 Jan 17; 297(3): 267–77. doi: 10.1001/jama.297.3.267.

27. Neuhaus P., Riess H., Post S., Gellert K., Ridwelski K., Schramm H., Oettle H. CONKO-001: Final results of the randomized, prospective, multicenter phase III trial of adjuvant chemotherapy with gemcitabine versus observation in patients with resected pancreatic cancer (PC). *J Clin Oncol.* 2008; 26(15_suppl.): LBA4504-LBA4504.

28. Neoptolemos J.P., Stocken D.D., Bassi C., Ghaneh P., Cunningham D., Goldstein D., Padbury R., Moore M.J., Gallinger S., Mariette C., Wente M.N., Izicki J.R., Friess H., Lerch M.M., Dervenis C., Oláh A., Butturini G., Doi R., Lind P.A., Smith D., Valle J.W., Palmer D.H., Buckels J.A., Thompson J., McKay C.J., Rawcliffe C.L., Büchler M.W.; European Study Group for Pancreatic Cancer. Adjuvant chemotherapy with fluorouracil plus folinic acid vs gemcitabine following pancreatic cancer resection: a randomized controlled trial. *JAMA.* 2010 Sep 8; 304(10): 1073–81. doi: 10.1001/jama.2010.1275.

29. Neoptolemos J.P., Palmer D., Ghaneh P., Valle J.W., Cunningham D., Wadley J., Segersvard R. ESPAC-4: A multicenter, international, open-label randomized controlled phase III trial of adjuvant combination chemotherapy of gemcitabine (GEM) and capecitabine (CAP) versus monotherapy gemcitabine in patients with resected pancreatic ductal adenocarcinoma. *J Clin Oncol.* 2016; 34(18suppl). doi: 10.1200/JCO.2016.34.18_suppl.LBA4006.

30. Neoptolemos J.P., Moore M.J., Cox T.F., Valle J.W., Palmer D.H., McDonald A.C., Carter R., Tebbutt N.C., Dervenis C., Smith D., Glimelius B., Charnley R.M., Lacaine F., Scarfe A.G., Middleton M.R., Anthoney A., Ghaneh P., Halloran C.M., Lerch M.M., Oláh A., Rawcliffe C.L., Verbeke C.S., Campbell F., Büchler M.W.; European Study Group for Pancreatic Cancer. Effect of adjuvant chemotherapy with fluorouracil plus folinic acid or gemcitabine vs observation on survival in patients with resected periampullary

adenocarcinoma: the ESPAC-3 periampullary cancer randomized trial. *JAMA.* 2012 Jul 11; 308(2): 147–56. doi: 10.1001/jama.2012.7352.

31. Oettle H., Neuhaus P., Hochhaus A., Hartmann J.T., Gellert K., Ridwelski K., Niedergethmann M., Zülke C., Fahlke J., Arning M.B., Sinn M., Hinke A., Riess H. Adjuvant chemotherapy with gemcitabine and long-term outcomes among patients with resected pancreatic cancer: the CONKO-001 randomized trial. *JAMA.* 2013 Oct 9; 310(14): 1473–81. doi: 10.1001/jama.2013.279201.

32. Conroy T., Hammel P., Hebbar M., Ben Abdelghani M., Wei A.C.C., Raoul J.L., Lecomte T. Unicancer GI PRODIGE 24/CCTG PA.6 trial: A multicenter international randomized phase III trial of adjuvant mFOL-FIRINOX versus gemcitabine (gem) in patients with resected pancreatic ductal adenocarcinomas. *J Clin Oncol.* 2018; 36(18_suppl.). doi: 10.1200/JCO.2018.36.18_suppl.LBA4001.

33. Breslin T.M., Hess K.R., Harbison D.B., Jean M.E., Cleary K.R., Dackiw A.P., Vauthey J.N. Neoadjuvant chemoradiotherapy for adenocarcinoma of the pancreas: treatment variables and survival duration. *Ann Surg Oncol* 2001; 8: 123–132.

34. Покатаев И.А. Обзор новых исследований, способных изменить клиническую практику при раке поджелудочной железы. Злокачественные опухоли 2018; 3s1: 76–81. [Pokataev I.A. A review of new studies that can change the clinical practice of pancreatic cancer. *Malignant tumors* 2018; 3s1: 76–81. (in Russian)]. doi: 10.18027/2224-5057-2018-8-3s1-76-81.

35. Van Tienhoven G., Versteijne E., Suker M., Groothuis K.B., Busch O.R., Bonsing B.A., Zwinderman A.H. Preoperative chemoradiotherapy versus immediate surgery for resectable and borderline resectable pancreatic cancer (PREOPANC-1): A randomized, controlled, multicenter phase III trial. *J Clin Oncol.* 2018; 36(18_suppl.). doi: 10.1200/JCO.2018.36.18_suppl.LBA4002.

36. Treatment of locally unresectable carcinoma of the pancreas: comparison of combined-modality therapy (chemotherapy plus radiotherapy) to chemotherapy alone. Gastrointestinal Tumor Study Group. *J Natl Cancer Inst.* 1988 Jul 20; 80(10): 751–5.

37. Chauffert B., Mornex F., Bonnetain F., Rougier P., Mariette C., Bouché O., Bosset J.F., Aparicio T., Mineur L., Azzedine A., Hammel P., Butel J., Stremsdoerfer N., Maingon P., Bedenne L. Phase III trial comparing intensive induction chemoradiotherapy (60 Gy, infusional 5-FU and intermittent cisplatin) followed by maintenance gemcitabine with gemcitabine alone for locally advanced unresectable pancreatic cancer. Definitive results of the 2000-01 FFCD/SFRO study. *Ann Oncol.* 2008 Sep; 19(9): 1592–9. doi: 10.1093/annonc/mdn281.

38. Motoi F., Kosuge T., Ueno H., Yamaue H., Satoi S., Sho M., Honda G., Matsumoto I., Wada K., Furuse J., Matsuyama Y., Unno M.; Study Group of Preoperative Therapy for Pancreatic Cancer (Prep) and Japanese Study Group of Adjuvant Therapy for Pancreatic cancer (JSAP). Randomized phase II/III trial of neoadjuvant chemotherapy with gemcitabine and S-1 versus upfront surgery for resectable pancreatic cancer (Prep-02/JSAP05). *Jpn J Clin Oncol.* 2019 Feb 1; 49(2): 190194. doi: 10.1093/jjco/hyy190.

Поступила/Received 23.06.2019
Принята в печать/Accepted 27.06.2019

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Антонова Елена Юрьевна, аспирант, отделение химиотерапии № 1 торако-абдоминального отдела (химиотерапии № 17), НИИ КО им. Н.Н. Трапезникова, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). E-mail: elenaantonova5@mail.ru. SPIN-код: 6335-7053.

Базин Игорь Сергеевич, доктор медицинских наук, старший научный сотрудник отделения клинической фармакологии и химиотерапии, НИИ КО им. Н.Н. Трапезникова, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 2186-5878. AuthorID (РИНЦ): 266861.

Гарин Август Михайлович, профессор, главный научный сотрудник отделения клинической фармакологии и химиотерапии, НИИ КО им. Н.Н. Трапезникова, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия).

Покатаев Илья Анатольевич, кандидат медицинских наук, научный сотрудник отделения клинической фармакологии и химиотерапии, НИИ КО им. Н.Н. Трапезникова, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 7338-9428. AuthorID (РИНЦ): 146516. ORCID: 0000-0001-9864-3837.

Сагайдак Игорь Всеволодович, профессор, ведущий научный сотрудник, хирургическое отделение опухолей печени и поджелудочной железы № 7, НИИ КО им. Н.Н. Трапезникова, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). AuthorID (РИНЦ): 154621.

Поляков Александр Николаевич, кандидат медицинских наук, онколог-хирург, хирургическое отделение опухолей печени и поджелудочной железы № 7, НИИ КО им. Н.Н. Трапезникова, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 9924-0256. AuthorID (РИНЦ): 764535. ORCID: 0000-0001-5348-5011.

Чихарева Яна Евгеньевна, клинический ординатор, отделения химиотерапии и комбинированного лечения злокачественных опухолей, НИИ КО им. Н.Н. Трапезникова, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия).

Волков Александр Юрьевич, аспирант, хирургическое отделение № 6 (абдоминальной онкологии) торако-абдоминального отдела, НИИ КО им. Н.Н. Трапезникова, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 3013-4392. AuthorID (РИНЦ): 1036201.

Базина Инна Викторовна, кандидат технических наук, доцент кафедры физики и математики ПФ Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И. Пирогова (г. Москва, Россия). AuthorID (РИНЦ): 226862.

ВКЛАД АВТОРОВ

Антонова Елена Юрьевна: разработка концепции научной работы, статистическая обработка, составление черновика рукописи.

Базин Игорь Сергеевич: разработка концепции научной работы, статистическая обработка, составление черновика рукописи.

Гарин Август Михайлович: анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Покатаев Илья Анатольевич: анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Сагайдак Игорь Всеволодович: анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Поляков Александр Николаевич: разработка концепции научной работы, статистическая обработка, составление черновика рукописи.

Чихарева Яна Евгеньевна: разработка концепции научной работы, статистическая обработка, составление черновика рукописи.

Волков Александр Юрьевич: разработка концепции научной работы, статистическая обработка, составление черновика рукописи.

Базина Инна Викторовна: анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы объявляют, что у них нет конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Elena Yu. Antonova, MD, Postgraduate, Thoracic and Abdominal Department, N.N. Blokhin National Medical Research Centre of Oncology of the Health Ministry of Russia (Moscow, Russia). E-mail: elenaantonova5@mail.ru.

Igor S. Bazin, MD, Senior Researcher, Department of Clinical Pharmacology and Chemotherapy, N.N. Blokhin National Medical Research Centre of Oncology of the Health Ministry of Russia (Moscow, Russia).

August M. Garin, MD, Professor, Leading Researcher, Department of Clinical Pharmacology and Chemotherapy, N. Blokhin National Medical Research Centre of Oncology of the Health Ministry of Russia (Moscow, Russia).

Ilya A. Pokataev, MD, PhD, Researcher, Department of Clinical Pharmacology and Chemotherapy, N.N. Blokhin National Medical Research Centre of Oncology of the Health Ministry of Russia (Moscow, Russia).

Igor V. Sagaidak, MD, Professor, Leading Researcher, Department of Surgery for Liver and Pancreas Tumors, N. N. Blokhin National Medical Research Centre of Oncology of the Health Ministry of Russia (Moscow, Russia).

Alexander N. Polyakov, MD, PhD, Oncologist-Surgeon, Department of Surgery for Liver and Pancreas Tumors, N.N. Blokhin National Medical Research Centre of Oncology of the Health Ministry of Russia (Moscow, Russia).

Jana E. Chihareva, MD, Clinical Resident, Department of Chemotherapy and Combined Treatment of Malignant Tumors, N.N. Blokhin National Medical Research Centre of Oncology of the Health Ministry of Russia (Moscow, Russia).

Alexander Yu. Volkov, MD, Postgraduate, Thoracic and Abdominal Department, N.N. Blokhin National Medical Research Centre of Oncology of the Health Ministry of Russia (Moscow, Russia).

Inna V. Bazina, PhD, Associate Professor, Russian National Research Medical University named after N. And. Pirogov (Moscow, Russia).

AUTHOR CONTRIBUTION

Elena Yu. Antonova: study conception, statistical data analysis, drafting of the manuscript.

Igor S. Bazin: study conception, statistical data analysis, drafting of the manuscript.

August M. Garin: data analysis, critical revision for the important intellectual content.

Ilya A. Pokataev: data analysis, critical revision for the important intellectual content.

Igor V. Sagaidak: data analysis, critical revision for the important intellectual content.

Alexander N. Polyakov: study conception, statistical data analysis, drafting of the manuscript.

Jana E. Chihareva: study conception, statistical data analysis, drafting of the manuscript.

Alexander Yu. Volkov: study conception, statistical data analysis, drafting of the manuscript.

Inna V. Bazina: data analysis, critical revision for the important intellectual content.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

Для цитирования: *Мамажонов Х.И., Никогосян С.О., Шевчук А.С.* Значение циторедуктивных операций при рецидивах рака яичников с изолированным поражением лимфатических узлов. Сибирский онкологический журнал. 2020; 19(3): 164–171. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-3-164-171.

For citation: *Mamajonov H.I., Nikoghosyan S.O., Shevchuk A.S.* The value of cytoreductive surgery for isolated lymph node recurrence of ovarian cancer. Siberian Journal of Oncology. 2020; 19(3): 164–171. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-3-164-171.

ЗНАЧЕНИЕ ЦИТОРЕДУКТИВНЫХ ОПЕРАЦИЙ ПРИ РЕЦИДИВАХ РАКА ЯИЧНИКОВ С ИЗОЛИРОВАННЫМ ПОРАЖЕНИЕМ ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛОВ

Х.И. Мамажонов, С.О. Никогосян, А.С. Шевчук

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

Аннотация

Цель исследования – провести систематический анализ данных, имеющихся в современной литературе, о роли циторедуктивных операций при комплексном лечении рецидивов рака яичников с изолированным поражением лимфатических узлов. **Материал и методы.** Поиск соответствующих источников производился в системах PubMed, Gynecol Oncol, Medline, NCCN, Elibrary, включались публикации с января 2006 г. по март 2019 г. Из 87 найденных исследований 26 были использованы для написания систематического обзора. **Результаты.** В течение многих лет рак яичников остаётся ведущей причиной смертности от онкогинекологических заболеваний. Первоначальное лечение для IC–IV стадий рака яичников включает в себя хирургическую циторедукцию с последующей платиносодержащей химиотерапией. Лучшие результаты отмечаются у пациенток с достигнутой полной циторедукцией: многие авторы сообщили об увеличении общей выживаемости больных по мере увеличения полноты циторедукций. Несмотря на это, у большинства пациенток развиваются рецидивы заболевания, а отдаленные результаты лечения остаются неудовлетворительными: показатель общей 5-летней выживаемости составляет около 30 %. Частота поражения лимфатических узлов при рецидивах рака яичников достоверно не известна, по данным литературы, изолированные рецидивы этой локализации отмечаются у 5–32 % пациенток. На сегодняшний день вопрос о значимости выполнения и объеме лимфодиссекции при лечении рецидивов рака яичников остается открытым. В связи с этим в данной статье мы хотим представить имеющуюся доказательную базу, касающуюся роли вторичных циторедуктивных вмешательств при рецидивах рака яичников у пациенток с изолированным поражением лимфатических узлов. **Заключение.** Рецидивы рака яичников с изолированным поражением лимфатических узлов могут свидетельствовать о прогностически более благоприятном течении заболевания. Роль вторичной циторедукции в этом контексте остается до конца не изученной, но данная категория пациенток может быть одной из наиболее подходящих для хирургического лечения рецидивов рака яичников.

Ключевые слова: рак яичников, лимфодиссекция, циторедукция, метастазирование, платиночувствительные и платинорезистентные рецидивы.

THE VALUE OF CYTOREDUCTIVE SURGERY FOR ISOLATED LYMPH NODE RECURRENCE OF OVARIAN CANCER

H.I. Mamajonov, S.O. Nikoghosyan, A.S. Shevchuk

Gynecological Department, N. N. Blokhin National Medical Research Centre of Oncology, Health Ministry of Russia, Moscow, Russia
23, Kashirskoye Shosse, 115478-Moscow, Russia. E-mail: dr.hasanjon@mail.ru

Abstract

The purpose of the study was to undertake a systematic literature review regarding the role of cytoreductive surgery in treatment of recurrent ovarian cancer, as well as to summarize available data on various current studies and estimate indications for secondary cytoreduction in recurrent ovarian cancer with isolated lymph node involvement. **Material and Methods.** The search for relevant sources was carried out in PubMed, Gynecol Oncol, Medline, NCCN, Elibrary systems; publications were included from January 2006 up to March 2019. Of the 87 studies found, 26 were used to write a systematic review. **Results.** Ovarian cancer (OC) remains the leading cause of death from gynecological cancer. The initial treatment for IC-IV stages of OC includes surgical cytoreduction followed by platinum-containing chemotherapy. The best outcomes are observed in patients, in whom complete cytoreduction has been achieved. Despite this fact, most patients develop relapses and the 5-year survival rate is about 30 %. The frequency of lymph node involvement in patients with recurrent OC is not reliably known; isolated lymph node recurrence is reported to occur in 5–32 % of patients. To date, the problem regarding the extent of lymph node dissection in treatment of OC recurrence is still unsolved. In our paper we review the available data concerning the role of secondary cytoreductive surgery for isolated lymph node recurrence of ovarian cancer. **Conclusion.** Isolated lymph node recurrence of ovarian cancer may indicate a more favorable prognosis and has a less aggressive pattern of OC relapse. The role of secondary cytoreduction in this context is not fully understood, but this category of patients may be one of the most suitable for surgical treatment of ovarian cancer recurrence.

Key words: ovarian cancer, lymph node dissection, cytoreduction, metastasis, platinum-sensitive and platinum-resistant recurrence.

Введение

Рак яичников (РЯ) занимает третье место в структуре онкогинекологической заболеваемости и лидирует в структуре смертности. В России в 2017 г. было диагностировано 14 567 новых случаев РЯ, 7685 пациенток умерли от этого заболевания [1]. Во многом такая ситуация обусловлена поздней диагностикой – более чем в 70 % случаев РЯ выявляется на распространенных стадиях. Это следствие естественного биологического течения заболевания, которому свойственны длительный бессимптомный период и способность опухолевых клеток распространяться по брюшной полости уже на ранних этапах опухолевой прогрессии [2]. Отсутствие эффективных программ раннего выявления РЯ усугубляет ситуацию: по данным рандомизированных исследований, скрининг не приводит к снижению смертности от этого заболевания [3].

Первоначальное лечение РЯ IC–IV стадий включает в себя хирургическое вмешательство с последующей платиносодержащей химиотерапией. При этом исход хирургического лечения в значительной степени определяет прогноз и отдаленные результаты лечения [4]. Лучшие результаты отмечаются у пациенток с достигнутой полной циторедукцией: многие авторы сообщили об увеличении общей выживаемости (ОВ) по мере увеличения доли больных с полными циторедукциями [5–7]. Несмотря на это, у большинства пациенток развиваются рецидивы заболевания, а отдаленные результаты лечения остаются неудовлетворительными: показатель 5-летней ОВ составляет около 30 % [2]. Это подчеркивает важность совершенствования подходов к лечению рецидивов РЯ.

Лимфатические узлы являются одним из «излюбленных» мест метастазирования РЯ: даже у

пациенток с клинически не измененными лимфатическими узлами в 55 % случаев отмечается их метастатическое поражение. При этом роль лимфодиссекции при распространенном раке яичников остается неизвестной. Крупные ретроспективные исследования показали улучшение ОВ при увеличении количества удаленных лимфатических узлов, но рандомизированное исследование LION (n=647) не подтвердило увеличения ОВ при выполнении систематической лимфодиссекции у пациенток с полной циторедукцией [8, 9]. Частота поражения лимфатических узлов при рецидивах РЯ достоверно не известна, по данным литературы, изолированные рецидивы этой локализации отмечаются у 5–32 % пациенток [10–15]. Настоящая статья посвящена изучению современной доказательной базы, касающейся роли вторичных циторедуктивных вмешательств при рецидивах рака яичников у пациенток с изолированным поражением лимфатических узлов.

Хирургическое лечение рецидивов рака яичников

Общепринятый подход к лечению рецидивов РЯ – проведение химиотерапии, выбор схемы лечения зависят от сроков, прошедших с момента окончания предыдущей линии химиотерапии, а также ряда индивидуальных особенностей пациенток. Чувствительность опухоли к платиновым препаратам – один из важнейших прогностических факторов при рецидивах РЯ, в качестве её суррогатного маркера используют длительность периода, прошедшего между завершением платиносодержащей химиотерапии («бесплатиновый интервал») и развитием рецидива заболевания. При бесплатиновом интервале >6 мес говорят о «платиночувствительных» рецидивах РЯ, при меньших интервалах – о

платинорезистентных или платинорефрактерных рецидивах [4, 16]. Эта же классификация используется при определении показаний к хирургическому лечению рецидивов РЯ [17].

Результаты ряда исследований показали, что отдельные категории пациенток с рецидивами РЯ могут получить преимущество от выполнения вторичных циторедуктивных вмешательств, направленных на удаление рецидивной опухоли. Miller et al. (1989) и Jänicke et al. (1992) опубликовали результаты пионерских исследований в области хирургического лечения рецидивов РЯ. Ими было продемонстрировано, что выполнение вторичной циторедукции может улучшить результаты лечения пациенток в тех случаях, когда было выполнено полное удаление рецидивной опухоли. Кроме того, авторами была выявлена корреляция между выживаемостью больных и длительностью безрецидивного интервала. При сроках развития рецидива <12 мес с момента завершения платиносодержащей химиотерапии прогноз у пациенток был неблагоприятный, и они были признаны неподходящими кандидатами для вторичных циторедуктивных вмешательств [18, 19]. Результаты этих исследований, а также некоторых других работ послужили росту интереса к повторным циторедуктивным вмешательствам при РЯ.

Кому показано выполнение вторичных циторедукций? Группа AGO (Arbeitsgemeinschaft Gynaekologische Onkologie) занималась последовательной разработкой критериев отбора пациенток для выполнения вторичных циторедуктивных операций. В 2006 г. группой было опубликовано ретроспективное исследование DESKTOP I (n=267), в рамках которого был проведен анализ факторов, ассоциированных с достижением полной циторедукции при рецидивах РЯ. Выполнение полной вторичной циторедукции было ассоциировано со значительным увеличением ОБ пациенток по сравнению с больными с резидуальной опухолью любого размера (отношение шансов (ОШ) – 3,71;

$p<0,0001$). При многовариантном анализе факторами, ассоциированными с достижением полной циторедукции, были: общий статус пациентки по шкале ECOG 0 баллов (ОШ – 2,65; $p<0,001$), отсутствие асцита ≥ 500 мл (ОШ – 5,08; $p<0,001$), отсутствие резидуальной опухоли после первичной циторедукции (ОШ – 2,46; $p<0,001$) или стадия I/II РЯ по FIGO для пациенток, у которых отсутствовали данные о результатах первичного хирургического лечения и резидуальной опухоли (ОШ – 1,87; $p=0,036$) [20].

Проспективная валидация этих результатов была проведена той же группой в рамках исследования DESKTOP II (n=129), отбор пациенток в которое осуществлялся в соответствии с вышеперечисленными факторами, продемонстрировавшими значимость в многофакторном анализе. Участие пациенток с платинорезистентными рецидивами не допускалось. Результаты исследования DESKTOP II показали, что использование разработанной модели позволяет достаточно точно прогнозировать результаты вторичной циторедукции – полная вторичная циторедукция была достигнута у 110 (75 %) пациенток [17]. На основании результатов была создана шкала, получившая название AGO SCORE (табл. 1).

Результаты исследований DESKTOP I и II легли в основу рандомизированного исследования III фазы DESKTOP III, результаты которого были представлены в 2017 г. Отбор больных осуществлялся при помощи шкалы AGO Score. Не допускалось участие больных с платинорезистентными рецидивами заболевания. Пациентки с первым рецидивом РЯ рандомизировались в группу вторичной циторедукции или в группу отказа от её выполнения. Всем пациенткам рекомендовалось проведение платиносодержащей химиотерапии. В исследовании приняли участие 407 пациенток, группы были сбалансированы по основным демографическим характеристикам. Частота достижения полной вторичной циторедукции составила 72,5 %.

Таблица 1/Table 1

Шкала AGO Score для отбора пациенток для выполнения вторичных циторедуктивных операций [17, 20]*

AGO Score Scale for patient selection for secondary cytoreductive surgery [17, 20]*

Безрецидивный интервал >6 мес (т.е. платиночувствительный рецидив);
Relapse-free interval > 6 months (i.e. platinum-sensitive relapse)

Общий статус по шкале ECOG 0 баллов
Overall ECOG status: 0 points

Полная первичная циторедукция или ранняя стадия заболевания (FIGO I/II);
Complete primary cytoreduction or early stage cancer (FIGO I / II)

Отсутствие асцита или его объем менее 500 мл
The absence of ascites or its volume is less than 500 ml

Примечание: * – пациентке может быть выполнена вторичная циторедукция при соответствии всем перечисленным пунктам (вероятность достижения полной циторедукции – 75 %).

Note: * – the patient may undergo secondary cytoreduction if all of the above items are met (the probability of achieving complete cytoreduction is 75 %).

Медиана выживаемости без прогрессирования (ВБП) составила 19,6 мес в группе вторичной циторедукции по сравнению с 14,0 мес в группе только химиотерапии (отношение рисков (ОР) – 0,66; $p < 0,001$). Было выявлено, что только полная вторичная циторедукция значительно улучшает результаты лечения: медиана ВБП в данной категории больных составила 21,2 мес по сравнению с 14,0 мес в группе химиотерапии (ОР – 0,56; $p < 0,0001$). Наличие любой резидуальной опухоли нивелировало благоприятное влияние вторичной циторедукции на отдаленные результаты лечения пациенток (ОР 0,98; $p = 0,89$). Данные по ОВ пациенток на данный момент не опубликованы [21].

С другой стороны, необходимо отметить, что результаты крупного рандомизированного исследования GOG-213 ($n = 485$) не подтвердили результатов исследования DESKTOP III. Результаты этой работы были представлены в 2018 г. Включались пациентки, которым, по мнению врачей-исследователей, могла быть выполнена полная вторичная циторедукция, однако четкие критерии включения отсутствовали. Рандомизация осуществлялась в группу вторичной циторедукции с последующей платиносодержащей химиотерапией или в группу только химиотерапии. Полная циторедукция была достигнута у 146 (68 %) пациенток. По результатам исследования медиана ОВ составила 53,6 мес в группе хирургического лечения по сравнению с 65,7 мес в группе только химиотерапии (ОР – 1,28); медиана ВБП – 18,2 мес и 16,5 мес соответственно (ОР – 0,88), различия не были статистически значимыми.

Полученные результаты ставят под сомнение значимость выполнения вторичных циторедукций. Тем не менее по причине отсутствия внятных критериев включения результаты исследования GOG-213 невозможно экстраполировать на других пациенток; оно также подвергается критике за ряд других факторов, которые могли исказить полученные результаты [22, 23]. Окончательные результаты исследования DESKTOP III должны прояснить роль вторичных циторедукций при РЯ. Кроме того, в настоящее время проходит еще одно рандомизированное исследование SOC1 (NCT01611766), посвященное изучению роли хирургического лечения при рецидивах РЯ. Его результаты ожидаются в 2021 г.

Повторимся, что в соответствии с современными представлениями кандидатами для выполнения вторичных циторедукций могут быть только пациентки с платиночувствительными рецидивами РЯ. Хирургическое удаление рецидивной опухоли должно создавать «плацдарм» для дальнейшей лекарственной терапии, что невозможно у больных с резистентными формами заболевания. Кроме того, вероятность достижения полной циторедукции при платинорефрактерном раке яичников минимальна [22]. Таким образом, повторные циторедуктив-

ные операции могут быть ценным инструментом при лечении рецидивов РЯ, однако следует принимать во внимание наличие принципа «все или ничего» – любая резидуальная опухоль после вторичной циторедукции нивелирует пользу от её проведения. Это подчеркивает важность тщательного отбора пациенток для выполнения вторичных циторедукций. Шкала, разработанная группой AGO, может быть основой для отбора больных для хирургического лечения рецидивов РЯ.

Рецидивы рака яичников с поражением лимфатических узлов

Как было отмечено выше, у 5–32 % пациенток при развитии рецидива РЯ отмечается изолированное поражение лимфатических узлов [10–15]. Пациентки с такими рецидивами РЯ могут быть «идеальными кандидатами» для выполнения вторичных циторедуктивных вмешательств, так как в этих случаях отсутствуют диффузный канцероматоз и поражение паренхимы внутренних органов, которые зачастую препятствуют достижению полной циторедукции. Изучению оптимальных подходов к лечению этой категории пациенток было посвящено несколько работ, основные результаты которых суммированы в табл. 2. Все перечисленные работы носили характер ретроспективных исследований.

Результаты наиболее крупного исследования, посвященного изучению оптимальных подходов в лечении РЯ у пациенток с изолированными рецидивами, были представлены M. Petrillo et al. в 2013 г. В анализ включались пациентки, у которых по данным радиологических исследований отмечалось метастатическое поражение только 1 анатомической зоны и не более 3 лимфатических узлов. Всего в исследование было включено 220 пациенток, из них у 76 (34,5 %) было выявлено изолированное поражение лимфатических узлов, у 81 (36,8 %) – брюшины, у 63 (28,7 %) – паренхиматозных органов. У 73 (33,2 %) пациенток была выполнена вторичная циторедукция, при этом в группе изолированного поражения лимфатических узлов или брюшины она выполнялась достоверно чаще, чем в группе пациенток с паренхиматозными метастазами (41 % по сравнению с 14 %, $p = 0,001$). Изолированное поражение парааортальных лимфатических узлов было выявлено в 60,3 % случаев, тазовых – в 22,2 %, тазовых и парааортальных – в 17,5 %.

Результаты исследования показали, что пациентки с изолированным поражением лимфатических узлов характеризуются наиболее благоприятным прогнозом. Медиана выживаемости пациенток после выявления рецидива составила 63 мес по сравнению с 41 мес среди пациенток с поражением брюшины и 24 мес при наличии паренхиматозных метастазов ($p = 0,001$). При выполнении полной вторичной циторедукции медиана выживаемости

Таблица 2/Table 2

Отдаленные результаты лечения рецидивов рака яичников с изолированным поражением лимфатических узлов

Long-term treatment outcomes of isolated lymph node recurrence of ovarian cancer

Авторы/ Authors	Поражение ЛУ/ Lymph node metastases	ВЦ (ПЦ)/ SC(CC)	Медиана ОБ/ Median OS	Медиана ОБ _р / Median OSR
P. Blancard et al. (n=27) [23]	З – 55,5 %, Н – 26 %, М – 14,8 %, Пах. – 11,1 %/ RP – 55.5 %, SC – 26 %, М – 14.8 %, I – 11.1 %	29,6 % (н/д)/ 29.6 % (no data)	68 мес/ 68 months	26 мес/ 26 months
C. Uzan et al. (n=12) [24]	П – 41,7 %; Т – 16,6 %; П + Т – 8,3 %/ РА – 41.7 %; P – 16.6 %; PA + P – 8.3 %	42,8 % (100 %)	114 мес/ 114 months	44 мес/ 44 months
A. Santillan et al. (n=25) [25]	П – 60 %; Пах. – 20 %, Т – 12 %/ РА – 60 %; I – 20 %; P – 12%	100 % (96 %)	61 мес/ 61 months	37 мес/ 37 months
F. Legge et al. (n=32) [13]	П – 43,7 %; Пах. – 6,2 %; М – 6,2 %; Т – 3,1 %/ РА – 43.7 %; I – 6.2 %; M – 6.2 %; P – 3.1 %	37,5 % (н/д)/ 37.5 % (no data)	109 мес/ 109 months	37 мес/ 37 months
A. Ferrero et al. (n=73) [26]	П – 50,7 %; Т – 28,8 %; П + Т – 12,3 %; Пах. – 4,1 %/ РА – 50.7 %; P – 28.8 %; PA + P – 12.3; I – 4.1 %	100 % (98,6 %)	104 мес/ 104 months	>60 мес/ >60 months
S. Fotiou et al. (n=21) [27]	П – 38%; Т – 19%; П + Т – 19%/ РА – 38%; P – 19%; PA + P – 19%	100% (81%)	66 мес/ 66 months	47 мес/ 47months
M. Petrillo et al. (n=76) [14]	П – 60,3 %; Т – 22,2 %; П + Т – 17,5 %/ РА – 60.3 %; P – 22.2 %; PA + P – 17.5 %	41 %	н/д (no data)	63 мес/ 63 months

Примечание: ЛУ – лимфатические узлы; ВЦ – вторичная циторедукция; ПЦ – полная циторедукция; З – забрюшинные ЛУ (без уточнения); П – парааортальные ЛУ; Н – надключичные ЛУ; М – медиастинальные ЛУ; Пах. – паховые ЛУ; Т – тазовые ЛУ; ОБ – общая выживаемость; ОБ_р – ОБ после рецидива заболевания.

Note: LN – lymph nodes; SC – secondary cytoreduction; CC – complete cytoreduction; RP – retroperitoneal LN (without specification); PA – paraaortic LN; SC – supraclavicular LN; M – mediastinal LN; I – inguinal LN; P – pelvic LN; OS – overall survival; OSR – OS after relapse of the disease.

составляла 79 мес, 90 мес и 22 мес соответственно. Авторы не приводят данных по частоте развития хирургических осложнений, но пришли к выводу, что выполнение вторичной циторедукции у данной категории пациенток является эффективным и безопасным методом лечения [14].

A. Ferrero et al. в 2014 г. представили крупное ретроспективное исследование, в которое вошли результаты лечения пациентов в 5 итальянских онкологических центрах. Исследование было посвящено оценке эффективности хирургического лечения пациенток с изолированными рецидивами заболевания в лимфатических узлах. Включались пациентки с платиночувствительными рецидивами РЯ, у которых было проявлений канцероматоза и асцита. Суммарно в анализ вошли данные 73 пациенток, из них у 37 (50,7 %) было отмечено поражение парааортальных лимфатических узлов, у 21 (28,8 %) – тазовых, у 9 (12,3 %) – тазовых и парааортальных, у 3 (4,1 %) – паховых и у 3 (4,1 %) – паховых и тазовых лимфатических узлов. Полная циторедукция была достигнута у 72 (98,6 %) пациенток.

Показатель 5-летней выживаемости от момента выявления рецидива составил 64 %. Авторами сообщалось о следующих хирургических осложнениях: кровопотеря, потребовавшая гемотрансфузии – 18 (24,6 %), ранение почечной вены – 1 (1,3 %), лимфедема – 1 (1,3 %), фибрилляция предсердий –

1 (1,3 %). Это свидетельствует об очень хороших результатах лечения этой категории больных, к сожалению, эта работа не включала контрольной группы для проведения прямого сравнения результатов лечения и оценки пользы от выполнения вторичной циторедукции [26].

Legge et al. в 2008 г. опубликовали результаты исследования, посвященного эффективности лечения пациенток (n=32) с изолированным поражением лимфатических узлов. Наиболее часто отмечалось поражение парааортальных лимфатических узлов – в 43,7 %, тазовых и парааортальных лимфатических узлов – в 9 (28,1 %), паховых – в 2 (6,2 %), медиастинальных – в 2 (6,2 %), тазовых – в 1 (3,1 %), подмышечных – в 1 (3,1 %) наблюдении, еще в 3 (9,4 %) случаях было поражение лимфатических узлов других локализаций. Вторичная циторедукция была выполнена у 12 (37,5 %) пациенток, авторы не приводят данные о частоте достижения полной циторедукции. Медиана выживаемости после выявления рецидива составила 37 мес, медиана продолжительности жизни – 109 мес. Данные по частоте развития хирургических осложнений не приводятся [13].

Blanchard et al. сообщили о результатах лечения 27 пациенток с рецидивами РЯ с изолированным поражением лимфатических узлов. Наиболее часто отмечалось вовлечение забрюшинных – 15 (55,5 %), надключичных – 7 (26,0 %), медиасти-

нальных – 4 (14,8%), подвздошных – 4 (14,8 %) и паховых – 3 (11,1 %) лимфатических узлов. Вторичная циторедукция была выполнена у 8 (29,6 %) пациенток. Медиана выживаемости после выявления рецидива составила 26 мес, медиана ОВ – 68 мес. Авторы работы не приводят данных по частоте достижения полной циторедукции и послеоперационным осложнениям [15].

А. Santillan et al. опубликовали результаты лечения 25 пациенток, прошедших хирургическое лечение по поводу рецидива РЯ, у которых было отмечено поражение парааортальных – 15 (60 %), паховых – 5 (20 %), тазовых – 3 (12 %), перикардальных – 1 (4 %), сочетанное поражение парааортальных и тазовых лимфатических узлов – 1 (4 %) наблюдение. Полная циторедукция была достигнута у 24 (96 %) пациенток. Медиана выживаемости после рецидива составила 37 мес, медиана ОВ – 61 мес. Не было зарегистрировано тяжелых осложнений хирургического лечения [25].

Fotiou et al. представили результаты лечения 21 пациентки, которым была выполнена вторичная циторедукция. Вовлечение парааортальных, тазовых, тазовых и парааортальных, паховых лимфатических узлов было выявлено в 8 (38 %), 4 (19 %), 4 (19 %), 4 (19 %) случаях соответственно, еще у 1 (5 %) пациентки было поражение лимфатических узлов другой локализации. Полная циторедукция была достигнута у 17 (81 %) пациенток. Медиана выживаемости после выявления рецидива составила 47 мес, медиана ОВ – 66 мес. У 1 пациентки было отмечено тяжелое кровотечение вследствие ранения левой почечной вены [27].

С. Uzan et al. опубликовали результаты лечения 12 пациенток с рецидивами РЯ с изолированным поражением лимфатических узлов. Вовлечение парааортальных, тазовых и парааортальных, паховых лимфатических узлов было выявлено в 5 (41,7 %), 2 (16,6 %), 1 (8,3 %), 1 (8,3 %) случае, еще у 3 (25,1 %) пациенток было поражение лимфатических узлов (ЛУ) другой локализации. Вторичная циторедукция была выполнена у 9 пациенток, которая во всех случаях носила характер полной циторедукции. Медиана выживаемости после выявления рецидива составила 44 мес, медиана ОВ – 114 мес [24].

Таким образом, анализ литературы показывает, что наиболее частой локализацией рецидивов у пациенток с РЯ с изолированным поражением ЛУ являются парааортальные лимфатические узлы (38–60 %). Вторичная циторедукция была выпол-

нена в полном объеме практически во всех случаях (81–100 %), что является очень хорошим результатом. Изолированные рецидивы РЯ характеризуются относительно благоприятным прогнозом, во многих исследованиях медиана ОВ пациенток составила >100 мес. Немногочисленность данных об осложнениях не позволяет достоверно оценить безопасность хирургического лечения этой категории больных.

Обсуждение

Лечение рецидивов РЯ – одна из наиболее актуальных проблем онкогинекологии. На данный момент они являются неизлечимыми, но правильно выбранная тактика лечения может позволить существенно улучшить прогноз заболевания, продлить продолжительность жизни пациенток и сохранить ее качество.

Роль вторичной циторедукции, несмотря на наличие двух крупных рандомизированных исследований DESKTOP III и GOG-213, остается спорной, но можно предположить, что для отдельных категорий пациенток её выполнение может оказывать благоприятный эффект на отдаленные результаты лечения. Достоверно известно то, что только полная вторичная циторедукция улучшает результаты лечения больных с рецидивами РЯ [21–23]. Выбор оптимального подхода к отбору пациенток для хирургического лечения рецидивов рака яичников не теряет своей актуальности.

С этой точки зрения рецидивы РЯ с изолированным поражением лимфатических узлов – уникальная клиническая ситуация. Отсутствие диффузного канцероматоза и поражения паренхимы внутренних органов делают возможным полное удаление опухолевой массы. В большинстве проведенных исследований частота полной циторедукции при изолированном поражении лимфатических узлов составляла ≥ 90 %, при этом их авторы отмечали низкую частоту развития послеоперационных осложнений, хотя в большинстве работ отмечается неудовлетворительное качество репортирования осложнений хирургического лечения.

Рецидивы РЯ с изолированным поражением лимфатических узлов могут свидетельствовать о прогностически более благоприятном течении заболевания и менее агрессивном естественном течении. Роль вторичной циторедукции в этом контексте остается до конца не изученной, но данная категория пациенток может быть одной из наиболее подходящих для хирургического лечения рецидивов рака яичников.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2017 году (заболеваемость и смертность). М., 2018. 250 с. [Kaprin A.D., Starinsky V.V., Petrova G.V. Malignant neoplasms in Russia in 2017 (morbidity and mortality). Moscow, 2018. 250 p. (in Russian)].
2. Peres L.C., Cushing-Haugen K.L., Köbel M., Harris H.R., Berchuck A., Rossing M.A., Schildkraut J.M., Doherty J.A. Invasive Epithelial Ovarian Cancer Survival by Histotype and Disease Stage. J Natl Cancer Inst. 2019 Jan 1; 111(1): 60–68. doi: 10.1093/jnci/djy071.

3. Henderson J.T., Webber E.M., Sawaya G.F. Screening for Ovarian Cancer: Updated Evidence Report and Systematic Review for the US Preventive Services Task Force. JAMA. 2018; 319(6): 595–606. doi: 10.1001/jama.2017.21421.

4. NCCN Clinical Practice Guidelines. Ovarian Cancer [Internet]. URL: https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/ovarian.pdf (cited 18.03.2019).

5. du Bois A., Reuss A., Pujade-Lauraine E., Harter P., Ray-Coquard I., Pfisterer J. Role of surgical outcome as prognostic factor in advanced epithelial ovarian cancer: A combined exploratory analysis of 3 prospec-

tively randomized phase 3 multicenter trials: By the Arbeitsgemeinschaft Gynaekologische Onkologie Studiengruppe Ovarialkarzinom (AGO-OVAR) and the Groupe d'Investigateurs Nationaux Pour les Etudes des Cancers de l'Ovaire (GINECO). *Cancer*. 2009 Mar 15; 115(6): 1234–44. doi: 10.1002/cncr.24149.

6. Chi D.S., Eisenhauer E.L., Zivanovic O., Sonoda Y., Abu-Rustum N.R., Levine D.A., Guile M.W., Bristow R.E., Aghajanian C., Barakat R.R. Improved progression-free and overall survival in advanced ovarian cancer as a result of a change in surgical paradigm. *Gynecol Oncol*. 2009 Jul; 114(1): 26–31. doi: 10.1016/j.ygyno.2009.03.018.

7. Harter P., Muallem Z.M., Buhrmann C., Lorenz D., Kaub C., Hils R., Kommos S., Heitz F., Traut A., du Bois A. Impact of a structured quality management program on surgical outcome in primary advanced ovarian cancer. *Gynecol Oncol*. 2011 Jun 1; 121(3): 615–9. doi: 10.1016/j.ygyno.2011.02.014.

8. Harter P., Sehouli J., Lorusso D., Reuss A., Vergote I., Marth C., Kim J.W., Raspagliesi F., Lampe B., Aletti G., Meier W., Cibula D., Mustea A., Mahner S., Runnebaum I.B., Schmalfeldt B., Burges A., Kimmig R., Scambia G., Greggi S., Hilpert F., Hasenburg A., Hillemanns P., Giorda G., von Leffern I., Schade-Brittinger C., Wagner U., du Bois A. A Randomized Trial of Lymphadenectomy in Patients with Advanced Ovarian Neoplasms. *N Engl J Med*. 2019 Feb 28; 380(9): 822–832. doi: 10.1056/NEJMoa1808424.

9. Chan J.K., Urban R., Hu J.M., Shin J.Y., Husain A., Teng N.N., Berek J.S., Osann K., Kapp D.S. The potential therapeutic role of lymph node resection in epithelial ovarian cancer: a study of 13 918 patients. *Br J Cancer*. 2007 Jun 18; 96(12): 1817–22. doi: 10.1038/sj.bjc.6603803.

10. Paik E.S., Lee Y.Y., Shim M., Choi H.J., Kim T.J., Choi C.H., Lee J.W., Kim B.G., Bae D.S. Timing and patterns of recurrence in epithelial ovarian cancer patients with no gross residual disease after primary debulking surgery. *Aust N Z J Obstet Gynaecol*. 2016 Dec; 56(6): 639–647. doi: 10.1111/ajo.12529.

11. Rauh L.R., Garcia C., Landen C.N. Do patterns of recurrence reveal the most crucial sites of debulking in ovarian cancer? *Gynecol Oncol*. 2017; 145: 117.

12. Gadducci A., Cosio S., Zizioli V., Notaro S., Tana R., Panattoni A., Sartori E. Patterns of Recurrence and Clinical Outcome of Patients With Stage IIIC to Stage IV Epithelial Ovarian Cancer in Complete Response After Primary Debulking Surgery Plus Chemotherapy or Neoadjuvant Chemotherapy Followed by Interval Debulking Surgery: An Italian Multicenter Retrospective Study. *Int J Gynecol Cancer*. 2017 Jan; 27(1): 28–36. doi: 10.1097/IGC.0000000000000843.

13. Legge F., Petrillo M., Adamo V., Pisconti S., Scambia G., Ferrandina G. Epithelial ovarian cancer relapsing as isolated lymph node disease: natural history and clinical outcome. *BMC Cancer*. 2008; 8: 367. doi: 10.1186/1471-2407-8-367.

14. Petrillo M., Fagotti A., Ferrandina G., Fanfani F., Costantini B., Vizzielli G., Pedone Anchora L., Nero C., Margariti P.A., Scambia G. Ovarian cancer patients with localized relapse: Clinical outcome and prognostic factors. *Gynecol Oncol*. 2013 Oct; 131(1): 36–41. doi: 10.1016/j.ygyno.2013.06.020.

15. Blanchard P., Plantade A., Pagès C., Afchain P., Louvet C., Tournigand C., de Gramont A. Isolated lymph node relapse of epithelial ovarian carcinoma: Outcomes and prognostic factors. *Gynecol Oncol*. 2007; 104(1): 41–45. doi: 10.1016/j.ygyno.2006.06.039.

16. Тюляндин С.А., Коломиец Л.А., Морхов К.Ю., Нечушкина В.М., Покатаев И.А., Тюляндина А.С., Урманчиева А.Ф., Хохлова С.В. Практические рекомендации по лекарственному лечению рака яичников, первичного рака брюшины и рака маточных труб. Злокачественные опухоли: Практические рекомендации RUSSCO. 2018; 3(2): 145–155. doi: 10.18027/2224-5057-2018-8-3s2-145-155.

17. Harter P., Sehouli J., Reuss A., Hasenburg A., Scambia G., Cibula D., Mahner S., Vergote I., Reinthaller A., Burges A., Hanker L.,

Pölcher M., Kurzeder C., Canzler U., Petry K.U., Obermair A., Petru E., Schmalfeldt B., Lorusso D., du Bois A. Prospective Validation Study of a Predictive Score for Operability of Recurrent Ovarian Cancer: The Multicenter Intergroup Study DESKTOP II. A Project of the AGO Kommission OVAR, AGO Study Group, NOGGO, AGO-Austria, and MITO. *Int J Gynecol Cancer*. 2011 Feb; 21(2): 289–95. doi: 10.1097/IGC.0b013e31820aaafd.

18. Jänicke F., Hölscher M., Kuhn W., von Hugo R., Pache L., Siwert J.R., Graeff H. Radical surgical procedure improves survival time in patients with recurrent ovarian cancer. *Cancer*. 1992; 70(8): 2129–2136.

19. Morris M., Gershenson D.M., Wharton T. Second Cytoreductive Surgery in Epithelial Ovarian Cancer Nonresponders to First-Line Therapy. *Gyn Oncol*. 1989(33): 1–5. doi: 10.1016/0090-8258(89)90593-3.

20. Harter P., du Bois A., Hahmann M., Hasenburg A., Burges A., Loibl S., Gropp M., Huober J., Fink D., Schröder W., Muenstedt K., Schmalfeldt B., Emons G., Pfisterer J., Wollschlaeger K., Meerpohl H.G., Breitbach G.P., Tanner B., Sehouli J.; Arbeitsgemeinschaft Gynaekologische Onkologie Ovarian Committee; AGO Ovarian Cancer Study Group. Surgery in Recurrent Ovarian Cancer: The Arbeitsgemeinschaft Gynaekologische Onkologie (AGO) DESKTOP OVAR Trial. *Ann Surg Oncol*. 2006; 13(12): 1702–1710. doi: 10.1245/s10434-006-9058-0.

21. Du Bois A., Vergote I., Ferron G., Reuss A., Meier W., Greggi S., Lecuru F. Randomized controlled phase III study evaluating the impact of secondary cytoreductive surgery in recurrent ovarian cancer: the interim analysis of AGO DESKTOP III/ENGOT ov20. *Journal of Clinical Oncology*. 2017; 35(15 Suppl.): 5501. doi: 10.1200/JCO.2017.35.15_suppl.5501.

22. Нечушкина В.М., Морхов К.Ю., Тюляндина А.С., Николаенко Л.О., Танделов Р.К., Румянцев А.А., Абдурагимова З.Т., Гаджиев А.А., Кузнецов В.В., Нечушкин М.И., Файнштейн И.А., Тюляндин С.А. Повторные циторедуктивные вмешательства при раке яичников. Злокачественные опухоли. 2018; 8(3s1): 42–46. [Nechushkina V.M., Morkhov K.Yu., Tyulyandina A.S., Nikolaenko L.O., Tandellov R.K., Rumyantsev A.A., Abduragimova Z.T., Gadzhiev A.A., Kuznetsov V.V., Nechushkin M.I., Feinstein I.A., Tyulyandin S.A. Repeated cytoreductive interventions for ovarian cancer. Malignant tumours. 2018; 8(3s1): 42–46. (in Russian)].

23. Coleman R., Enserro D., Spirtos N., Herzog T.J., Sabbatini P., Armstrong D.K., Secord A.A. A Phase III Randomized Controlled Trial of Secondary Surgical Cytoreduction followed by Platinum-Based Combination Chemotherapy, With or Without Bevacizumab in Platinum-Sensitive, Recurrent Ovarian Cancer: A NRG Oncology/Gynecologic Oncology Group Study. *J Clin Oncol*. 36(15_suppl): 5501/ doi: 10.1200/JCO.2017.36.15_suppl.5501.

24. Uzan C., Morice P., Rey A., Pautier P., Camatte S., Lhomme C., Haie-Meder C., Duvillard P., Castaigne D. Outcomes After Combined Therapy Including Surgical Resection in Patients with Epithelial Ovarian Cancer Recurrence(s) Exclusively in Lymph Nodes. *Ann Surg Oncol*. 2004 Jul; 11(7): 658–64. doi: 10.1245/ASO.2004.11.023.

25. Santillan A., Karam A.K., Li A.J., Giuntoli R.2nd, Gardner G.J., Cass I., Karlan B.Y., Bristow R.E. Secondary cytoreductive surgery for isolated nodal recurrence in patients with epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol*. 2007; 104(3): 686–690. doi: 10.1016/j.ygyno.2006.10.020.

26. Ferrero A., Ditto A., Giorda G., Gadducci A., Greggi S., Daniele A., Fusco L., Panuccio E., Scaffa C., Raspagliesi F., Sismondi P., Biglia N. Secondary cytoreductive surgery for isolated lymph node recurrence of epithelial ovarian cancer: A multicenter study. *Eur J Surg Oncol*. 2014 Jul; 40(7): 891–8. doi: 10.1016/j.ejso.2013.11.026.

27. Fotiou S., Alik T., Petros Z., Ioanna S., Konstantinos V., Vasiliki M., George C. Secondary cytoreductive surgery in patients presenting with isolated nodal recurrence of epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol*. 2009 Aug; 114(2): 178–82. doi: 10.1016/j.ygyno.2009.04.025.

Поступила/Received 10.05.2019
Принята в печать/Accepted 28.10.2019

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Мамажонов Хасан Икрамович, аспирант отделения комбинированных и лучевых методов лечения онкогинекологических заболеваний, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия).

Никогосян Седа Овиковна, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник отделения комбинированных и лучевых методов лечения онкогинекологических заболеваний, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 9995-1633. AuthorID (РИНЦ): 927440.

Шевчук Алексей Сергеевич, кандидат медицинских наук, заведующий отделением комбинированных и лучевых методов лечения онкогинекологических заболеваний, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 9125-1811. AuthorID (РИНЦ): 699527.

ВКЛАД АВТОРОВ

Мамажонов Хасан Икрамович: разработка концепции научной работы, статистическая обработка, составление черновика рукописи.

Никогосян Седя Овиковна: анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Шевчук Алексей Сергеевич: анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы объявляют, что у них нет конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Khasan I. Mamajonov, MD, Postgraduate, Department of Combined Modality Approaches to the Treatment of Gynecological Cancers, N.N. Blokhin National Medical Research Centre of Oncology, Health Ministry of Russia; Moscow, Russia

Seda O. Nikogosyan, MD, DSc, Leading Researcher, Department of Combined Modality Approaches to the Treatment of Gynecological Cancers, N.N. Blokhin National Medical Research Centre of Oncology, Health Ministry of Russia (Moscow, Russia).

Aleksey S. Shevchuk, MD, PhD, Head of Department of Combined Modality Approaches to the Treatment of Gynecological Cancers, N.N. Blokhin National Medical Research Centre of Oncology, Health Ministry of Russia (Moscow, Russia).

AUTHOR CONTRIBUTION

Khasan I. Mamajonov: concept design, statistical data analysis, drafting of the manuscript.

Seda O. Nikogosyan: analysis of the study results, critical revision for the important intellectual content.

Aleksey S. Shevchuk: analysis of the study results, critical revision for the important intellectual content.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

DOI: 10.21294/1814-4861-2020-19-3-172-179
УДК: 616.7-006.83-089.053.2:615.28:615.849.1

Для цитирования: Кит О.И., Юрченко Д.Ю., Бурцев Д.В., Кузнецов С.А., Поповян О.П., Барашев А.А., Черногоров П.В., Франциянц Е.М., Сагакянц А.Б., Куштова Л.Б., Мкртчян Г.А., Беспалова А.И., Старжецкая М.В. Клинический случай успешного лечения подростка с саркомой Юинга IV стадии. Сибирский онкологический журнал. 2020; 19(3): 172–179. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-3-172-179.

For citation: Kit O.I., Yurchenko D.Yu., Burtsev D.V., Kuznetsov S.A., Popovyan O.P., Barashev A.A., Chernogorov P.V., Frantsiyants E.M., Sagakyants A.B., Kushtova L.B., Mkrtchyan G.A., Bespalova A.I., Starzhetskaya M.V. A case report of successful treatment of stage IV Ewing's sarcoma in an adolescent patient. Siberian Journal of Oncology. 2020; 19(3): 172–179. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-3-172-179.

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ УСПЕШНОГО ЛЕЧЕНИЯ ПОДРОСТКА С САРКОМОЙ ЮИНГА IV СТАДИИ

О.И. Кит^{1,2}, Д.Ю. Юрченко^{1,2}, Д.В. Бурцев³, С.А. Кузнецов², О.П. Поповян^{1,2},
А.А. Барашев², П.В. Черногоров², Е.М. Франциянц², А.Б. Сагакянц²,
Л.Б. Куштова^{1,2}, Г.А. Мкртчян², А.И. Беспалова², М.В. Старжецкая²

Ростовский государственный медицинский университет, г. Ростов-на-Дону, Россия¹

Россия, г. Ростов-на-Дону, 344022, пер. Нахичеванский, 29. E-mail: dasha_yurchenko_2013@mail.ru¹

ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт», г. Ростов-на-Дону, Россия²

Россия, г. Ростов-на-Дону, 344037, ул. 14-я линия, 63²

ГАУ РО «Областной консультативно-диагностический центр», г. Ростов-на-Дону, Россия³

Россия, г. Ростов-на-Дону, 344000, ул. Пушкинская, 127³

Аннотация

Актуальность. Саркома Юинга занимает одно из лидирующих мест в онкологической патологии опорно-двигательной системы у детей и подростков. Успешное лечение затрудняет крайне агрессивное течение опухолевого процесса. Несмотря на мультидисциплинарный подход в лечении, включающий наряду с химиотерапевтическим и хирургическим методами лечения лучевую терапию, быстрая генерализация опухолевого процесса, рецидивы и резистентные к химиотерапии формы опухоли по-прежнему часты. **Целью работы** явилось представление результатов персонализированного подхода в комплексном мультидисциплинарном лечении злокачественной патологии опорно-двигательной системы с использованием многокомпонентной полихимиотерапии, 3D-конформной лучевой терапии и высоких хирургических технологий. **Описание клинического случая.** Больная обратилась в ФГБУ «РНИОИ» МЗ РФ в апреле 2016 г. с жалобами на наличие опухолевого образования и умеренных болей в мягких тканях левой подвздошной области, левой нижней конечности, хромоту при ходьбе. По данным обследования установлен диагноз: саркома Юинга левой подвздошной кости с метастазами в легкие, IV стадия (T3N0M1). После 6 курсов неоадьювантной полихимиотерапии, согласно протоколу EWING 2008, отмечено прогрессирование опухоли с метастазами в легкие. Проведено 2 противорецидивных курса полихимиотерапии второй линии, решением консилиума врачей проведен первый этап хирургического лечения: резекция левой подвздошной кости с замещением дефекта временным цементным спейсером. В послеоперационном периоде больной проведено 8 курсов адьювантной полихимиотерапии, ДГТ на область обоих легких (СОД 12 Гр) и зону первичного очага (СОД 46 изоГр), 12 курсов поддерживающей терапии. Выполнен отсроченный реконструктивно-пластический этап хирургического лечения – удаление временного цементного спейсера с установкой индивидуальной тазовой стабилизирующей системы. Больная находится под наблюдением 25 мес после комплексного лечения, жалоб не предъявляет, передвигается самостоятельно, двигательная функция левого тазобедренного сустава сохранена в полном объеме. **Заключение.** Использование нестандартных высокотехнологичных подходов в хирургическом лечении саркомы Юинга неблагоприятных локализаций в сочетании с химиолучевой терапией позволяет достичь удовлетворительных результатов при лечении больных с распространенным опухолевым процессом и сохранения высокого уровня качества жизни.

Ключевые слова: саркома Юинга, комбинированное лечение, реконструктивно-пластическая хирургия.

A CASE REPORT OF SUCCESSFUL TREATMENT OF STAGE IV EWING'S SARCOMA IN AN ADOLESCENT PATIENT

O.I. Kit^{1,2}, D.Yu. Yurchenko^{1,2}, D.V. Burtsev³, S.A. Kuznetsov², O.P. Popovyan^{1,2}, A.A. Barashev², P.V. Chernogorov², E.M. Frantsiyants², A.B. Sagakyants², L.B. Kushtova^{1,2}, G.A. Mkrtchyan², A.I. Bespalova², M.V. Starzhetskaya²

Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia¹

29, Nakhichevskiy Street, 344022, Rostov-on-Don, Russia. E-mail: dasha_yurchenko_2013@mail.ru¹

Rostov Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don, Russia²

63, 14-Liniya Street, 344037, Rostov-on-Don, Russia²

Regional Consultative and Diagnostic Center, Rostov-on-Don, Russia³

127, Pushkinskaya Street, 344000, Rostov-on-Don, Russia³

Abstract

Background. Ewing's sarcoma is one of the most common musculoskeletal cancers in children and adolescents. Extremely aggressive clinical course of Ewing's sarcoma makes a successful treatment of this tumor difficult. Despite a comprehensive multidisciplinary approach to the treatment of this cancer, including chemotherapy, surgery and radiation therapy, rapid tumor progression, recurrence and resistance to chemotherapy are still common. **Our purpose** was to present the results of a personalized approach to multidisciplinary combination treatment for musculoskeletal cancer involving polychemotherapy, 3D conformal radiation therapy and modern surgical technologies. **Description of the clinical case.** A female patient presented to Rostov Research Institute of Oncology complaining of a tumor and moderate pain in soft tissues of the left iliac region, left lower extremity, and lameness when walking. After complete examination, the patient was diagnosed with Ewing's sarcoma of the left ilium with lung metastases (T3N0M1). The patient received 6 cycles of neoadjuvant chemotherapy according to EURO EWING 2008 protocol; tumor progression and lung metastasis were registered. Two cycles of second-line chemotherapy were performed; by the decision of the doctors' council, the first stage of surgical treatment was performed: resection of the left ilium and the defect replacement with a temporary cement spacer. In the postoperative period, the patient underwent 8 cycles of adjuvant chemotherapy, external beam radiation therapy to the lungs (12 Gy total dose) and the primary tumor (46 iGy total dose), and 12 cycles of supporting therapy. A delayed second reconstructive stage of surgical treatment involved removal of a temporary cement spacer and implantation of an individual pelvic stability system. The patient was followed-up for 25 months after the combination treatment, had no complaints, and was able to ambulate without assistance; the motor function of the left hip joint was fully preserved. **Conclusion.** The use of non-standard high-technology approaches to surgical treatment of unfavorably localized Ewing's Sarcoma in combination with chemo-radiation therapy allows patients with advanced tumors to achieve satisfactory results and good quality of life.

Key words: Ewing's sarcoma, combined treatment, reconstructive plastic surgery.

Введение

В детской онкологии среди новообразований опорно-двигательной (костной) системы в последнее время лидируют опухоли семейства саркомы Юинга [1], характеризующиеся высокоагрессивным течением с ранним, преимущественно гематогенным, метастазированием и частыми рецидивами, большой вариабельностью как молекулярно-генетической структуры, так и клинико-морфологических проявлений [2], требующие высокоточного подхода в дифференциальной диагностике [3, 4].

Данные опухоли чаще всего поражают плоские и длинные трубчатые кости различных отделов скелета, а также мягкие ткани различных локализаций. При костной форме саркомы Юинга (СЮ) наиболее часто поражаются длинные кости верхней и нижней конечности, плоские кости грудной

клетки, однако встречаются и более редкие, неблагоприятные локализации опухоли, к ним относят: кости таза, позвоночник, кости черепа. Лечение опухолей неблагоприятных локализаций осложняется, прежде всего, анатомическим расположением новообразования, вовлечением в процесс осевых структур скелета [5], а в некоторых случаях и жизненно важных структур. В настоящее время отмечается тенденция к органосохраняющим операциям с соблюдением принципов радикализма и применением индивидуальных стабилизирующих металлоконструкций. В зависимости от локализации опухоли при операциях на позвоночнике используют стабилизирующие системы, при вмешательствах на костях таза и конечностях проводятся операции с установкой эндопротезов, что снижает число инвалидизирующих исходов лечения [6].

Высокоагрессивный метастатический потенциал СЮ обуславливает большое количество больных, у которых при первом обращении даже при небольших первичных опухолях выявляют метастатическое поражение. Одной из наиболее частых зон метастазирования является легочная ткань, второй по частоте – костный мозг и кости скелета [7].

Отдельным аспектом проблемы выступает возможность использования комплексного подхода не только на диагностическом этапе, но и в ходе лечения. Усилия специалистов различного профиля создают условия для реализации индивидуального подхода к лечению данных пациентов, а использование современных технологий позволяет максимально эффективно, с учетом характера процесса и предпринятых объемов оперативного вмешательства, восстановить анатомо-физиологические структуры.

Целью работы являлось представление результатов использования персонализированного подхода в комплексном мультидисциплинарном лечении злокачественной патологии опорно-двигательной системы с использованием многокомпонентной полихимиотерапии, 3D-конформной лучевой терапии и современных технологий для восстановления анатомических структур после хирургического лечения.

Представлен один из наиболее интересных случаев саркомы Юинга, которые наблюдались в отделении детской онкологии ФГБУ «РНИОИ» Минздрава России.

Клинический случай

Больная А., 2001 г.р., впервые поступила в отделение ФГБУ «РНИОИ» Минздрава России в апреле 2016 г. с жалобами на наличие опухолевого образования и умеренные боли в мягких тканях левой подвздошной области, левой нижней конечности, хромоту при ходьбе. Впервые обратила внимание на новообразование в марте 2016 г. В течение месяца стали беспокоить боли в левой подвздошной области, хромота. В конце апреля 2016 г. обратилась к хирургу по месту жительства, с диагнозом опухоль левой подвздошной кости была направлена в ФГБУ «РНИОИ» Минздрава России.

Результаты комплексного обследования:

– УЗИ мягких тканей левой подвздошной области (14.06.16): объемное образование солидно-кистозной структуры в подвздошной области слева с неровными, нечеткими контурами, размерами 8,2×10,0 см; при ДГ гиперинтенсивный перинодулярный кровоток смешанного типа, умеренная гиперплазия паховых лимфоузлов до 1,4 см;

– СРКТ органов грудной клетки, брюшной полости и малого таза (15.06.16): в легочной ткани с обеих сторон множественные метастазы до 0,7 см в диаметре. Заключение: саркома крыла

левой подвздошной кости с выраженным экстра-оссальным компонентом 10,0×8,0×9,0 см, неоднородной структурой (рис. 1);

– гистологическое исследование: недифференцированная круглоклеточная опухоль;

– иммуногистохимическое исследование: CD-45, миогенин, панцитокератин, CD3, CD20, хромогранин А, мелан А – отрицательная реакция; CD99 – позитивное окрашивание в опухолевых клетках. Заключение: морфологическая картина опухоли семейства саркомы Юинга. При FISH-исследовании транслокации в генах EWS и FLY не выявлено.

По данным обследования установлен диагноз: саркома Юинга левой подвздошной кости с метастазами в легкие IV стадии (T3N0M1).

Консилиумом врачей ФГБУ «РНИОИ» Минздрава России принято решение о лечении согласно протокола Euro EWING 2008, предполагающему 6 курсов неоадьювантной полихимиотерапии, направленной на максимальное сокращение первичной опухоли до условий резектабельности и иррадикацию отдаленных метастатических очагов; хирургическое лечение первичной опухоли; лучевую терапию и многокурсовую адьювантную полихимиотерапию, направленную на санацию ложа первичной опухоли и предупреждение метастатического распространения опухолевых клеток.

С апреля по декабрь 2016 г., по месту жительства в Онкологическом научном центре Министерства здравоохранения Республики Таджикистан проведено 5 курсов неоадьювантной полихимиотерапии по протоколу Euro Ewing 2008 (винкристин, ифосфамид, доксорубин, этопозид). Лечение переносила с явлениями цитопенического синдрома (лейкопения II–III степени, анемия II степени, тромбоцитопения II–III степени). В декабре 2016 г., при оценке эффективности лечения по шкале ВОЗ, по данным контрольной СРКТ отмечалась положительная динамика в виде стабилизации опухолевого процесса: уменьшение размеров первичной опухоли на 30 %, исчезновение метастатических очагов в легких. В январе 2017 г. проведен 6-й курс по протоколу Euro Ewing 2008. Состояние пациентки ухудшилось: возобновились боли в левой подвздошной области, хромота при ходьбе. Повторно обратились в ФГБУ «РНИОИ» Минздрава России. При контрольном МРТ (25.01.17): в проекции левой подвздошной кости с признаками ее деструкции выявлено образование солидно-кистозной структуры, размерами 10,3×8,8×11,9 см, с массивным экстраоссальным распространением, опухолевой инфильтрацией левых подвздошной, большой поясничной и малой ягодичной мышц. При СРКТ органов грудной клетки (26.01.17): метастатическое поражение легочной ткани: справа в средней доле очаг до 0,5 см, в нижней доле – до 0,3 см в диаметре.

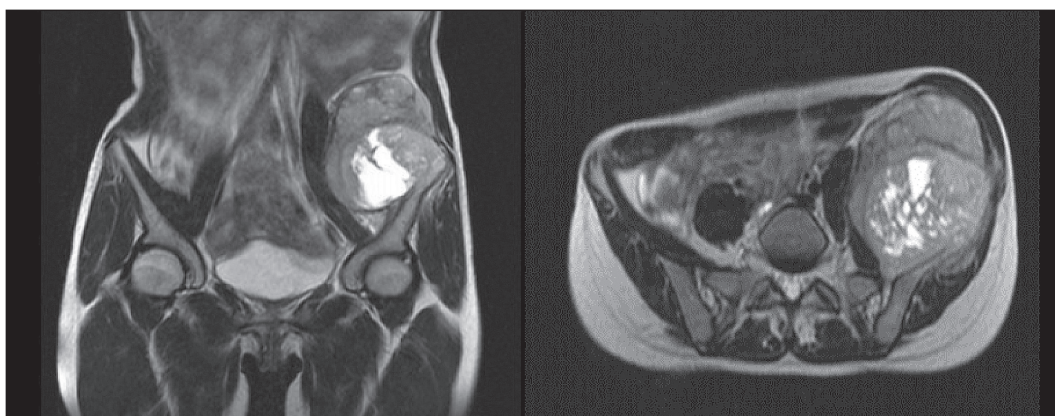


Рис. 1. СРКТ. Опухоль крыла левой подвздошной кости
Fig. 1. Spiral CT images. Tumor of the left iliac wing

Учитывая молодой возраст пациентки, гистотип опухоли, распространенность процесса, ранее проведенное лечение, ухудшение состояния с возобновлением болей, консилиум врачей ФГБУ «РНИОИ» Минздрава России принял решение, что оперативное лечение в данный момент нецелесообразно, рекомендована полихимиотерапия II линии (иринотекан, винкристин, карбоплатин) с последующей дистанционной гамма-терапией (ДГТ) на первичный очаг и оценкой эффекта с определением возможности хирургического вмешательства.

С 3.02.17 по 7.02.17 проведен 1-й противорецидивный курс полихимиотерапии II линии (иринотекан 67,6 мг № 5, винкристин 2 мг № 2, карбоплатин 742,5 мг № 1). С 8.02.17 по 10.02.17 после топометрической разметки и дозиметрического планирования начат курс конформной дистанционной гамма-терапии на область первичного очага, РОД 2,4 Гр. Планировалось проведение 15 сеансов, однако с вечера 10.02.17 появилась диарея, периодические схваткообразные боли в животе, рвота. При лабораторном контроле: лейкопения II ст. – $2,2 \times 10^9/\text{л}$, анемия II ст. – 87 г/л, тромбоцитопения II ст. – $78 \times 10^9/\text{л}$, СОЭ 60 мм/ч. Состояние расценено как постхимиотерапевтический цитопенический синдром с явлениями токсического гастроэнтероколита.

После купирования данных осложнений выполнено УЗИ органов брюшной полости (13.02.17), при котором определялось образование крыла левой подвздошной кости, размером 7,0×11,0 см. Учитывая выраженность клинического эффекта на фоне 1-го противорецидивного курса химиотерапии II линии, 3 сеансов ДГТ (СОД 7,2 Гр), развитие цитопенического синдрома с явлениями токсического гастроэнтероколита, дистанционная гамма-терапия прекращена, с 3.03.17 по 7.03.17 проведен 2-й курс противорецидивной полихимиотерапии. При СРКТ-контроле (16.03.17) в нижней доле правого легкого – солитарный метастаз, диаметром до 0,5 см; опухоль крыла левой подвздошной кости, размером



Рис. 2. Индивидуальная 3D-модель возмещающего участка подвздошной кости
Fig. 2. Individual 3D-model of the replaced ilium fragment

9,3×6,3×7,0 см, с выраженным экстраоссальным компонентом. МРТ малого таза (15.03.17): саркома левой подвздошной кости с экстраоссальным ростом и инвазией в окружающие мягкие ткани, размером 65×79×93 мм, без инвазии в магистральные сосуды. Повторным консилиумом врачей ФГБУ «РНИОИ» Минздрава России решено провести хирургическое лечение.

Перед операцией по данным МРТ и СРКТ-исследований проведено индивидуальное моделирование планируемого участка резекции подвздошной кости без опухоли в натуральную величину при помощи 3D-принтера с целью интраоперационного моделирования цементного материала по форме образовавшегося дефекта (рис. 2).

31.03.2017 выполнено хирургическое лечение. На первом этапе операции выполнена мобилизация опухоли в пределах здоровых тканей, резекция левой подвздошной кости (рис. 3). На втором этапе проведено одномоментное моделирование полиметилметакрилатом по форме образовавшегося дефекта, далее выполнены установка и фиксация

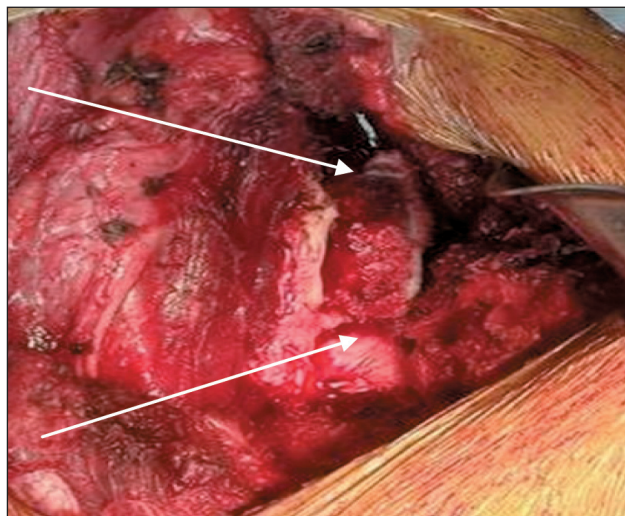


Рис. 3. Рана после резекции подвздошной кости с зонами остеотомии, указаны стрелками
Fig. 3. Wound after iliac resection with osteotomy areas (arrows)

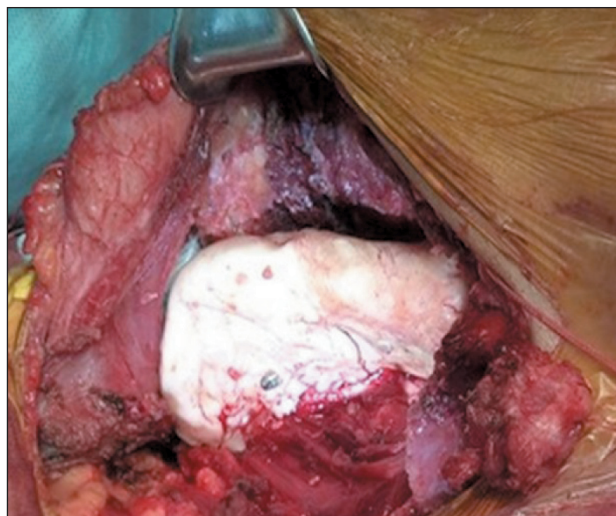


Рис. 4. Рана после установки полиметилметакрилата
Fig. 4. Wound after polymethyl methacrylate implantation

временного цементного спейсера при помощи 4 титановых винтов (рис. 4). Послеоперационный период протекал без осложнений.

Гистологическое исследование операционного материала (10.04.17): саркома Юинга с инфильтративным ростом, очаговыми кровоизлияниями, отложением гемосидерина.

С 4.05.17 по 24.05.17 проведена дистанционная гамма-терапия на область легких (тотальная), РОД 2 Гр, СОД 12 Гр. С апреля по сентябрь 2017 г. проведено 8 курсов адъювантной полихимиотерапии согласно протоколу Euro Ewing 2008 по схеме VAC с перерывом на курс дистанционной лучевой терапии на область первичного опухолевого очага, РОД 2,4 Гр 5 фракций в нед, СОД 46 изоГр. (75 ЕД ВДФ). Лучевое лечение переносила удовлетворительно, лучевых реакций не наблюдалось. При СРКТ-контроле в легочной ткани без очаговых и инфильтративных изменений, при МРТ – в ложе удаленной опухоли данных за рецидив не выявлено.

С сентября 2017 г. больная находилась под наблюдением в ФГБУ «РНИОИ» Минздрава России. При регулярном контрольном обследовании данных за прогрессирование заболевания не было.

С ноября 2018 г. больная стала предъявлять жалобы на выраженные боли в поясничной области, боль, дискомфорт, хромоту при ходьбе. По данным комплексного обследования (УЗИ, СРКТ, остеосцинтиграфия) в легочной ткани очаговых и инфильтративных изменений не выявлено, определяется проникновение одного из фиксирующих винтов в полость левого тазобедренного сустава вдоль кортикального слоя левой вертлужной впадины на протяжении 2 см. Сцинтиграфических признаков очагового поражения костей скелета не выявлено.

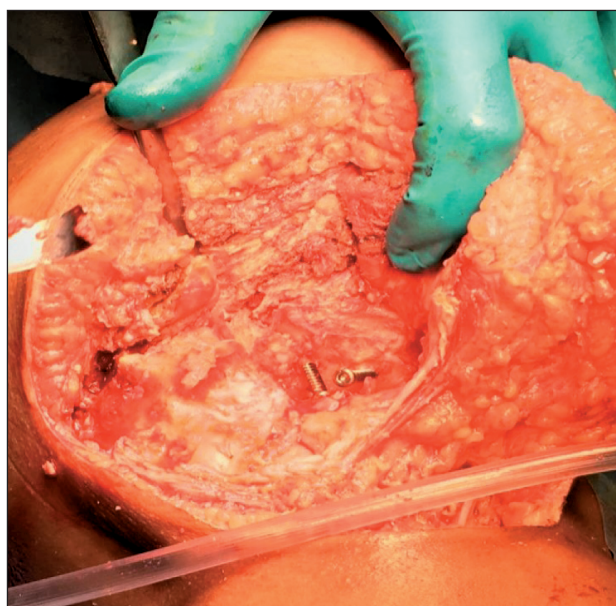


Рис. 5. Вид операционной раны после удаления временного цементного спейсера
Fig. 5. Surgical wound after removal of temporary cement spacer

Консилиумом врачей принято решение о проведении 2-го этапа хирургического лечения – отсроченной реконструктивно-пластической операции. 21.11.18 выполнено удаление временного цементного спейсера (рис. 5) с поэтапной установкой постоянной тазовой стабилизирующей системы под контролем электронно-оптического преобразователя. В лонную кость установлен транспедикулярный винт iCentum, длиной 55 мм, диаметром 5,5 мм; в 1-й и 2-й крестцовые позвонки – винты iBase, длиной 60 мм, диаметром 8,5 мм; в седалищную кость установлены 2 винта iBase, длиной 80 мм, диаметром 8,5 мм. При помощи электронно-оптического преобразователя навигационного

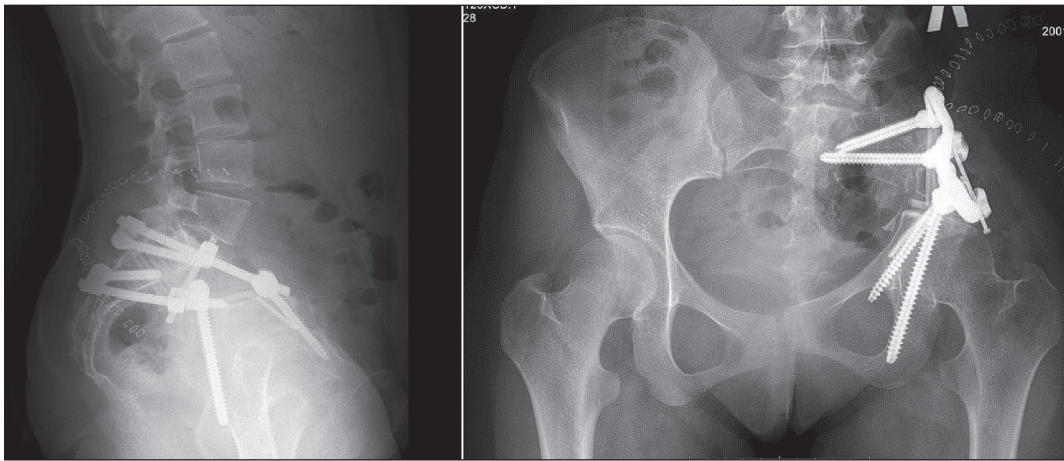


Рис. 6. Рентгенография костей таза с установленной индивидуальной титановой стабилизирующей системой
Fig. 6. X-ray of the pelvic bones with individual titanium stabilizing system

устройства Pediguard смоделированы и уложены 2 штанги, диаметром 6 мм, между винтами. Выполнена предфиксация штанг. Дистракция сегмента на штангах, окончательная фиксация системы. Установлен поперечный коннектор Fixpine (рис. 6). Течение послеоперационного периода – без осложнений.

В послеоперационном периоде признаков нестабильности металлоконструкции не выявлено. С сентября 2017 г. больная находится под наблюдением в ФГБУ «РНИОИ» без признаков прогрессирования заболевания, передвигается самостоятельно, активные и пассивные движения в левом тазобедренном суставе – практически в полном объеме.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Александрова Г.А., Какорина Е.П., Караваева Л.В., Купеева И.А., Рыков М.Ю., Поляков В.Г. Эпидемиология злокачественных новообразований у детей: основные показатели в 2011–2016 гг. М., 2017. 208 с. [Aleksandrova G.A., Kakorina E.P., Karavaeva L.V., Kureeva I.A., Rykov M.Yu., Polyakov V.G. Epidemiology of malignant neoplasms in children: key indicators in 2011–2016. Moscow, 2017. 208 p. (in Russian)].
2. Ewing J. The classic: diffuse endothelioma of bone. Proceedings of the New York Pathological Society. 1921; 12: 17. Clin Orthop Relat Res. 2006; 450: 25–27. doi: 10.1097/01.blo.0000229311.36007.c7.
3. Юрченко Д.Ю., Бурцев Д.В., Кузнецов С.А., Сагакянц А.Б., Мкртчян Г.А., Старжецкая М.В., Беспалова А.И., Поповян О.П., Куштова Л.Б. Некоторые особенности молекулярно-генетического патогенеза Саркомы Юинга (обзор литературы). Современные проблемы науки и образования. 2019; 3. [Интернет]. URL: <http://science-education.ru/ru/article/view?id=28924>. [Yurchenko D.Yu., Burtssev D.V., Kuznetsov S.A., Sagakyants A.B., Mkrtychyan G.A., Starzhetskaya M.V., Bepalova A.I., Popovyan O.P., Kustova L.B. Some features of the molecular genetic pathogenesis of Ewing's sarcoma (literature review). Modern problems of science and education. 2019; 3. [Internet]. (in Russian)]. URL: <http://science-education.ru/ru/article/view?id=28924>.
4. Рыков М.Ю. «Клинические маски» костных сарком у детей: шесть клинических случаев. Вопросы современной педиатрии. 2018; 17(1): 89–93. [Rykov M.Y. Clinical masks of bone sarcomas in children: six clinical cases. current pediatrics. Current Pediatrics. 2018; 17(1): 89–93. (in Russian)]. doi: 10.15690/vsp.v17i1.1860.
5. Кут О.И., Баязин-Парфёнов И.В., Барашев А.А.; Ростовский научно-исследовательский онкологический институт. Способ лечения опухолей позвоночника. Патент № 2551622, МПК A61B, A61K, A61P. № 20141063936; Заявл. 20.04.14; Опубл. 27.05.15, Бюл. № 15. [Kit O.I., Balyazin-Parfyonov I.V., Barashev A.A.: Rostov Research Institute of Oncology. Method of treatment of spinal tumors. Patent No. 2551622, IPC A61B, A61K, A61P. № 20141063936; Declared April 20, 2014; Publ. 27.05.15, Bull. No 15].
6. Bhattacharjee S., Kuruganti Venkata S.R., Uppin M.S. Skull and spinal Ewing's sarcoma in children: An institutional study. J Pediatr Neurol. 2018; 13: 392–7. doi: 10.4103/jpn.JPN_109_18.
7. Рыков М.Ю., Севрюков Д.Д., Вилкова А.С. Злокачественные новообразования у детей: Клинические проявления и диагностика. Вопросы современной педиатрии. 2017; 16(5): 370–382. [Rykov M.Y., Sevryukov D.D., Vilkova A.S. Malignant Neoplasms in Children: Clinical Manifestations and Diagnosis. Current Pediatrics. 2017; 16(5): 370–382. (in Russian)]. doi: 10.15690/Vsp.V16i5.1801.

Поступила/Received 13.11.2019
Принята в печать/Accepted 10.03.2020

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Кит Олег Иванович, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, генеральный директор, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 1728-0329. Researcher ID (WOS): U-2241-2017. Author ID (Scopus): 55994103100. ORCID: 0000-0003-3061-6108.

Юрченко Дарья Юрьевна, аспирант кафедры онкологии, Ростовский государственный медицинский университет Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). E-mail: dasha_yurchenko_2013@mail.ru. SPIN-код: 8008-0113.

Бурцев Дмитрий Владимирович, доктор медицинских наук, доцент кафедры онкологии, Ростовский государственный медицинский университет Минздрава России; главный врач Областного консультативно-диагностического центра (г. Ростов-на-Дону, Россия).

Кузнецов Сергей Алексеевич, кандидат медицинских наук, детский хирург отделения детской онкологии, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 4104-3755.

Поповян Ольга Петровна, аспирант кафедры онкологии, Ростовский государственный медицинский университет Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия).

Барашев Артем Андреевич, кандидат медицинских наук, травматолог-ортопед отделения опухолей кожи, костей, мягких тканей и молочной железы № 1, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 4590-5745. ORCID: 0000-0002-7242-6938.

Черногоров Павел Витальевич, кандидат медицинских наук, травматолог-ортопед отделения опухолей кожи, костей, мягких тканей и молочной железы № 1, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 4643-4485.

Франциянц Елена Михайловна, доктор биологических наук, профессор, заместитель генерального директора по науке, руководитель лаборатории патогенеза злокачественных опухолей, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 9427-9928. Researcher ID (WOS): Y-1491-2018.

Сагакянц Александр Борисович, кандидат биологических наук, доцент, заведующий лабораторией иммунофенотипирования опухолей, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 7272-1408. Author ID (РИНЦ): 426904. Researcher ID (WOS): M-8378-2019. Author ID (Scopus): 24329773900. ORCID: 0000-0003-0874-5261.

Куштова Луиза Беслановна, аспирант кафедры онкологии, Ростовский государственный медицинский университет Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия).

Мкртчян Гюльнара Агабалаевна, детский хирург отделения детской онкологии, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 1861-5165.

Беспалова Александра Ивановна, детский онколог отделения детской онкологии, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 6779-1744.

Старжецкая Мария Владимировна, кандидат медицинских наук, детский онколог отделения детской онкологии, Ростовский научно-исследовательский онкологический институт (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 7855-2512.

ВКЛАД АВТОРОВ

Кит Олег Иванович: анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Юрченко Дарья Юрьевна: разработка концепции научной работы, составление черновика рукописи.

Бурцев Дмитрий Владимирович: участие в разработке концепции научной работы, её анализ, критическая оценка научной работы с внесением ценного интеллектуального содержания.

Кузнецов Сергей Алексеевич: непосредственное участие в реализации хирургического этапа лечения в данной работе, структуризация технического профиля хирургического аспекта данной работы.

Поповян Ольга Петровна: анализ научной работы с внесением ценного интеллектуального содержания.

Барашев Артем Андреевич: непосредственная реализация хирургического этапа лечения в данной работе, критическая оценка работы, её анализ с внесением ценного интеллектуального содержания в технический аспект хирургического раздела научной работы.

Черногоров Павел Витальевич: моделирование макета стабилизирующей системы и участие в реализации хирургического этапа, критическая оценка научной работы с внесением ценного интеллектуального содержания.

Франциянц Елена Михайловна: анализ научной работы и её структуризация, критическая оценка с внесением ценного интеллектуального содержания.

Сагакянц Александр Борисович: анализ научной работы и её критическая оценка, с внесением корректив и ценного интеллектуального содержания.

Куштова Луиза Беслановна: участие в разработке концепции данной работы и её структуризации.

Мкртчян Гюльнара Агабалаевна: участие в моделировании макета стабилизирующей системы и хирургического этапа лечения, предоставление визуального материала.

Беспалова Александра Ивановна: участие в химиотерапевтическом и лучевом этапах лечения, анализ научной работы с внесением ценного интеллектуального содержания.

Старжецкая Мария Владимировна: участие в химиотерапевтическом и лучевом этапах лечения, анализ научной работы с внесением ценного интеллектуального содержания, предоставление первичной документации и первичного визуального материала.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов.

Авторы объявляют об отсутствии конфликта интересов.

ABOUT THE AURHORS

Oleg I. Kit, MD, Professor, Corresponding Member of RAS, General Director of Rostov Research Institute of Oncology (Rostov-on-Don, Russia). Researcher ID (WOS): U-2241-2017. Author ID (Scopus): 55994103100. ORCID: 0000-0003-3061-6108.

Darya Yu. Yurchenko, Postgraduate, Department of Oncology, Rostov State Medical University (Rostov-on-Don, Russia). E-mail: dasha_yurchenko_2013@mail.ru.

Dmitriy V. Burtsev, MD, DSc, Associate Professor, Department of Oncology, Rostov State Medical University, Chief Physician, Regional Consultative and Diagnostic Center (Rostov-on-Don, Russia).

Sergey A. Kuznetsov, MD, PhD, Department of Pediatric Oncology, Rostov Research Institute of Oncology (Rostov-on-Don, Russia).

Olga P. Popovyan, Postgraduate, Department of Oncology, Rostov State Medical University (Rostov-on-Don, Russia).

Artem A. Barashev, MD, PhD, Department of Skin, Bone, Soft Tissue and Breast Tumors No 1, Rostov Research Institute of Oncology (Rostov-on-Don, Russia).

Pavel V. Chernogorov, MD, PhD, Department of Skin, Bone, Soft Tissue and Breast Tumors No 1, Rostov Research Institute of Oncology (Rostov-on-Don, Russia).

Elena M. Frantsiyants, DSc, Professor, Deputy General Director for Science, Head of Laboratory of Tumor Pathogenesis Study, Rostov Research Institute of Oncology (Rostov-on-Don, Russia). Researcher ID (WOS): Y-1491-2018.

Aleksandr B. Sagakyants, PhD, Associate Professor, Head of Laboratory of Tumor Immunophenotyping, Rostov Research Institute of Oncology (Rostov-on-Don, Russia). Researcher ID (WOS): M-8378-2019. Author ID (Scopus): 24329773900. ORCID: 0000-0003-0874-5261.

Luiza B. Kushtova, Postgraduate, Department of Oncology, Rostov State Medical University (Rostov-on-Don, Russia).

Gulnara A. Mkrtchyan, MD, Department of Pediatric Oncology, Rostov Research Institute of Oncology (Rostov-on-Don, Russia).

Aleksandra I. Beshpalova, MD, Department of Pediatric Oncology, Rostov Research Institute of Oncology (Rostov-on-Don, Russia).

Maria V. Starzhetskaya, MD, PhD, Department of Pediatric Oncology, Rostov Research Institute of Oncology (Rostov-on-Don, Russia).

AUTHOR CONTRIBUTION

Oleg I. Kit: study supervision, critical revision of the manuscript for important intellectual content.

Darya Yu. Yurchenko: study concept, drafting of the manuscript.

Dmitriy V. Burtsev: study concept and design, data analysis, critical revision of the manuscript for important intellectual content.

Sergey A. Kuznetsov: data collection and interpretation, manuscript writing.

Olga P. Popovyan: study supervision, critical revision of the manuscript for important intellectual content.

Artem A. Barashev: data collection and analysis, critical revision of the manuscript for important intellectual content.

Pavel V. Chernogorov: critical revision of the manuscript for important intellectual content.

Elena M. Frantsiyants: data analysis, study supervision, critical revision of the manuscript for important intellectual content.

Aleksandr B. Sagakyants: study analysis, critical revision of the manuscript for important intellectual content.

Luiza B. Kushtova: study design and concept.

Gulnara A. Mkrtchyan: data acquisition, data analysis and interpretation, critical revision of the manuscript for important intellectual content.

Aleksandra I. Beshpalova: data analysis and interpretation, critical revision of the manuscript for important intellectual content.

Maria V. Starzhetskaya: data analysis and interpretation, critical revision of the manuscript for important intellectual content.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.