

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 27.08.2020 г.

Формат 60x84^{1/8}.

Бумага офсетная №1. Печать офсетная.

Гарнитура Times New Roman Cyr

Печ. л. 20,0; усл. печ. л. 18,6; уч.-изд. л. 20,5.

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

ISSN 1814-4861(Print)
ISSN 2312-3168(Online)

СИБИРСКИЙ ОНКОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

SIBERIAN JOURNAL OF ONCOLOGY

SIBIRSKIY ONCOLOGICHESKIY ZHURNAL

Двухмесячный научно-практический журнал

Том 19, № 4 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, № 4 2020

Editor-in-Chief :

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

Associate Editors:

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

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

Executive Editors:

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

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

Editorial Board:

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

S. Iyer, Professor (India)

M. Dzhugashvili, MD, PhD (Spain)

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

Yu. Kzhyshkovska, Professor (Germany)

T. Kondo, Professor (Japan)

G. Margolin, Professor (Sweden)

L. Ungar, Professor (Hungary)

M. Freidin, PhD (United Kingdom)

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

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

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

A. Yu, Professor (Taiwan)

СОДЕРЖАНИЕ

Слово редактора	5
-----------------------	---

ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Шамсутдинова А.Г., Турдалиева Б.А., Рамазанова Б.А., Белтеннова А.Г. Приверженность к скринингу рака молочной железы и рака шейки матки в Казахстане с позиций соблюдения этических принципов	7
--	---

КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Сергеев Н.И., Измайлов Т.Р., Котляров П.М., Лагуева И.Д., Солодкий В.А. Перфузионная компьютерная томография в определении природы очаговой патологии легких: клинический и статистический анализ	24
Сударкина А.В., Дергилев А.П., Горбунов Н.А., Козлов В.В., Фокина Ю.А., Климова И.П., Язубкин П.А. Возможности диффузионно-взвешенных изображений в дифференциальной диагностике злокачественной и доброкачественной медиастинальной лимфаденопатии	33
Скоропад В.Ю., Афанасьев С.Г., Гамаюнов С.В., Соколов П.В., Каров В.А., Титова Л.Н., Силантьева Н.К., Иванов С.А., Каприн А.Д. Анализ безопасности проведения неoadъювантной химиолучевой терапии у больных местнораспространенным раком желудка (результаты многоцентрового рандомизированного исследования)	41
Хомяков В.М., Рябов А.Б., Колобаев И.В., Болотина Л.В., Уткина А.Б., Соболев Д.Д., Кузнецова О.С., Каприн А.Д. Внутрибрюшная аэрозольная химиотерапия под давлением в сочетании с системной химиотерапией – новый подход в лечении больных раком желудка с перитонеальным карциноматозом	49
Прокудин М.Ю., Мартынов Б.В., Свистов Д.В., Литвиненко И.В., Имянитов Е.Н., Чирский В.С., Бушуров С.Е., Яковенко А.И., Чемодакова К.А., Клиценко О.А., Горустович О.А., Медведева Г.Ф., Булатов А.Р. Генетические биологические маркеры глиальных опухолей головного мозга: мутации в генах изоцитратдегидрогеназ 1 и 2	59

ЛАБОРАТОРНЫЕ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Макимова В.П., Макусъ Ю.В., Усалка О.Г., Лылова Е.С., Бугаева П.С., Жидкова Е.М., Федоров Д.А., Лизогуб О.П., Лесовая Е.А., Белицкий Г.А., Якубовская М.Г., Кирсанов К.И. Эпигенетические эффекты энзастаурина – новый аспект в механизме действия противоопухолевого препарата из группы ингибиторов протеинкиназ. (на англ. языке)	67
Смирнова С.Г., Орлова Н.В., Смирнова И.А., Двинских Н.Ю., Харитонов А.А., Киселева М.В., Замулаева И.А. Экспрессия маркеров CD44 и CD24 в биопсийном материале больных тройным негативным раком молочной железы до лечения	79
Какурина Г.В., Шашова Е.Е., Черемисина О.В., Чойнзонов Е.Л., Кондакова И.В. Циркулирующие актин-связывающие белки при прогрессировании рака гортани и гортаноглотки	88
Златник Е.Ю., Ситковская А.О., Новикова И.А., Бондаренко Е.С., Сагакянц А.Б. Показатели клеточного иммунитета у больных колоректальным раком разных стадий при наличии и отсутствии циркулирующих опухолевых клеток	94
Вязовая Е.А., Лебедев Л.Р., Даниленко Е.Д. Индукция апоптоза клеток меланомы B16 при воздействии препарата фактора некроза опухолей альфа в составе вирусоподобных частиц <i>in vitro</i>	99

ОПЫТ РАБОТЫ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ УЧРЕЖДЕНИЙ

Мурадян А.Г., Костин А.А., Толкачев А.О., Воробьев Н.В. Хирургическое лечение солитарного метастатического поражения надпочечника при немелкоклеточном раке легкого	105
--	-----

ОБЗОРЫ

Родионов Е.О., Тузиков С.А., Миллер С.В., Кульбакин Д.Е., Чернов В.И. Методы ранней диагностики рака легкого (обзор литературы)	112
Янус Г.А., Иевлева А.Г., Суспицын Е.Н., Тюрин В.И., Бизин И.В., Горустович О.А., Ни В.И., Холматов М.М., Лайдус Т.А., Чуйнышена С.А., Алексахина С.Н., Имянитов Е.Н. Предиктивные маркеры ответа на блокаторы контрольных точек иммунного ответа	123
Митюшкина Н.В., Степанов И.А., Юрлов Д.О., Филиппова Е.А., Одинцова С.В., Ложкина А.М., Орлов С.В., Иевлева А.Г. Клиническая эффективность таргетной терапии в отношении метастатического рака лёгкого с различными типами транслокаций гена ALK	132
Эрдынеева Д.Б., Бабышкина Н.Н., Дронова Т.А., Вторушин С.В., Слонимская Е.М., Стегний В.Н., Чердынцева Н.В. Роль циклина D1 в механизмах резистентности к гормональной терапии тамоксифеном	138
Терещенко И.В., Григорьевская З.В., Петухова И.Н., Багирова Н.С., Винникова В.Д., Вершинская В.А., Дмитриева Н.В. Инфекционные осложнения, вызванные неспорообразующими анаэробными микроорганизмами, у онкологических больных. Актуальность проблемы	146

СЛУЧАЙ ИЗ КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКИ

Бугаёв В.Е., Никулин М.П., Головина Д.А., Сафронова В.М., Неред С.Н., Любченко Л.Н., Стилиди И.С. Спектр соматических мутаций при забрюшинной неорганный лейомиосаркоме: клинический случай и обзор литературы	152
---	-----

CONTENTS

Letter from the Editor-in-Chief	4
---------------------------------------	---

EPIDEMIOLOGICAL STUDIES

<i>Shamsutdinova A.G., Turdaliyeva B.S., Ramazanov B.A., Beltenova A.G.</i> Adherence to breast and cervical cancer screening ensuring compliance with ethical principles in the Republic of Kazakhstan	7
---	---

CLINICAL STUDIES

<i>Sergeev N.I., Izmailov T.R., Kotlyarov P.M., Lagkueva I.D., Solodky V.A.</i> Perfusion computed tomography in determining the nature of focal pulmonary lesions: clinical and statistic analysis	24
<i>Sudarkina A.V., Dergilev A.P., Gorbunov N.A., Kozlov V.V., Fokina Yu.A., Klimova I.P., Yagubkin P.A.</i> Diffusion-weighted imaging for differentiating malignant from benign mediastinal lymphadenopathy	33
<i>Skoropad V.Yu., Afanasyev S.G., Gamayunov S.V., Sokolov P.V., Karov V.A., Titova L.N., Silanteva N.K., Ivanov S.A., Kaprin A.D.</i> Analysis of safety of neoadjuvant chemoradiotherapy in patients with locally advanced gastric cancer (Results of a multicenter randomized trial)	41
<i>Khomaykov V.M., Ryabov A.B., Kolobaev I.V., Bolotina L.V., Utkina A.B., Sobolev D.D., Kuznetsova O.S., Kaprin A.D.</i> Pressurized intraperitoneal aerosol chemotherapy combined with system chemotherapy – a new approach to treatment of gastric cancer patients with peritoneal carcinomatosis	49
<i>Prokudin M.Yu., Martynov B.V., Svistov D.V., Litvinenko I.V., Imyaninov E.N., Chirsky V.S., Bushurov S.E., Yakovenko A.I., Chemodakova K.A., Klitsenko O.A., Gorustovich O.A., Medvedeva G.F., Bulatov A.R.</i> Genetic biomarkers of glial brain tumors: IDH1 and IDH2 mutations	59

LABORATORY AND EXPERIMENTAL STUDIES

<i>Maksimova V.P., Makus J.V., Usalka O.G., Lylova E.S., Bugaeva P.E., Zhidkova E.M., Fedorov D.A., Lizogub O.P., Lesovaya E.A., Belitsky G.A., Yakubovskaya M.G., Kirsanov K.I.</i> Epigenetic effects of enzastaurin – a new aspect in the mechanism of action of an anticancer drug from protein kinase inhibitors	67
<i>Smirnova S.G., Orlova N.V., Smirnova I.A., Dvinskikh N.Yu., Charitonova A.A., Kiseleva M.V., Zamulaeva I.A.</i> Expression of CD44 and CD24 markers in biopsy samples of triple negative breast cancer patients before treatment	79
<i>Kakurina G.V., Shashova E.E., Cheremisina O.V., Choinzonov E.L., Kondakova I.V.</i> Circulating actin-binding proteins in progression of laryngeal and hypopharyngeal cancers	88
<i>Zlatnik E.Y., Sitkovskaya A.O., Novikova I.A., Bondarenko E.S., Sagakyants A.B.</i> Cell mediated immunity in patients with stage II–IV colorectal cancer with or without circulating tumor cells	94
<i>Vyazovaya E.A., Lebedev L.R., Danilenko E.D.</i> Induction of apoptosis in b16 melanoma cells under the action of drug containing tumor necrosis factor alpha as a part of virus-like particles <i>in vitro</i>	99

PRACTICE OF ONCOLOGY

<i>Muradyan A.G., Kostin A.A., Tolkachev A.O., Vorobyev N.V.</i> Surgical treatment of solitary adrenal metastasis from non-small cell lung cancer	105
--	-----

REVIEWS

<i>Rodionov E.O., Tuzikov S.A., Miller S.V., Kulbakin D.E., Chernov V.I.</i> Methods for early detection of lung cancer (Review)	112
<i>Janus G.A., Ievleva A.G., Suspitsyn E.N., Tyurin V.I., Bizin I.V., Gorustovich O.A., Ni V.I., Kholmatov M.M., Laidus T.A., Chuynyshena S.A., Aleksakhina S.N., Imyaninov E.N.</i> Predictive response markers for immune response blocks	123
<i>Mitiushkina N.V., Stepanov I.A., Yurlov D.O., Filippova E.A., Odintsova S.V., Lozhkina A.M., Orlov S.V., Iyevleva A.G.</i> Clinical efficacy of targeted therapy towards metastatic lung cancer carrying distinct types of ALK rearrangements	132
<i>Erdyneeva D.B., Babyshkina N.N., Dronova T.A., Vtorushin S.V., Slonimskaya E.M., Stegny V.N., Cherdyntseva N.V.</i> Role of cyclin D1 in the mechanisms of tamoxifen resistance	138
<i>Tereshchenko I.V., Grigoryevskaya Z.V., Petukhova I.N., Bagirova N.S., Vinnikova V.D., Vershinskaya V.A., Dmitrieva N.V.</i> Infectious complications caused by non-sporeforming anaerobic bacteria in cancer patients. Relevance of the problem.....	146

CASE REPORTS

<i>Bugaev V.E., Nikulin M.P., Golovina D.A., Safronova V.M., Nered S.N., Lyubchenko L.N., Stilidi I.S.</i> Spectrum of somatic mutations in retroperitoneal leiomyosarcoma: clinical case and literature review	152
---	-----

**Дорогие коллеги!
Уважаемые читатели!**

Перед вами сотый – юбилейный – выпуск «Сибирского онкологического журнала». Первый номер вышел теперь уже в далеком 2002 г. За годы существования журнала в печатном мире, на его страницах опубликовано более 3000 материалов, широко освещающих онкологическую проблематику. Их география обширна и включает практически все регионы России, страны ближнего и дальнего зарубежья. В настоящее время журнал выходит не только в печатной версии, но и представлен в электронном виде на сайте в открытом доступе к научным статьям, что повышает интерес к журналу в России и за рубежом у профессионального сообщества.

«Сибирский онкологический журнал» и его тематическое наполнение развивались вместе с самой наукой, освещая актуальные вопросы фундаментальной и клинической онкологии: эпидемиологии, молекулярно-генетического анализа, канцерогенеза, профилактики, комплексной диагностики, современного высокотехнологичного лечения опухолей, анестезиологического обеспечения, медицинской и социальной реабилитации, паллиативной помощи и качества жизни онкологических больных.

Высокий уровень научного содержания журнала обусловлен тем, что нашими авторами являются крупнейшие специалисты, известные онкологи, а также молодые ученые – победители конкурсов на получение российских и зарубежных грантов. Немаловажным фактором научного авторитета является то, что рецензенты журнала – это признанные



ученые высшей школы и научно-исследовательских институтов медико-биологического и онкологического профилей.

В настоящее время «Сибирский онкологический журнал» устойчиво позиционируется как одно из признанных научно-практических изданий, входящих в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты на соискание ученой степени кандидата и доктора наук. Журнал включен в ядро национальной библиографической базы данных научного цитирования РИНЦ, в базу данных лучших российских журналов Russian Science Citation Index (RSCI) на платформе Web of Science, индексируется в БД «Scopus», входит в БД EBSCO. И в этом большая заслуга редколлегии журнала, в состав которой входят выдающиеся российские и зарубежные ученые.

Но мы не останавливаемся на достигнутом. Программа развития журнала включает в себя увеличение количества оригинальных статей на английском языке, расширение пула рецензентов, повышение уровня цитируемости в международных библиографических базах данных, дальнейшее продвижение журнала в международное научное сообщество.

Желаю вам, дорогие коллеги, множества интересных идей и проектов, больших творческих достижений, которые, надеюсь, воплотятся в прекрасные научные статьи.

До новых встреч на страницах «Сибирского онкологического журнала»!

Главный редактор,
академик РАН, профессор

Е.Л. Чойнзонов

Dear Colleagues and Readers!

Welcome to the 100-th issue of the Siberian Journal of Oncology. The first issue was published in 2002. Over the years of the journal's existence in the print world, more than 3000 articles have been published on its pages, widely covering current problems in cancer. Their geography is extensive and includes almost all regions of Russia, countries of near and far abroad. Currently, the Journal is published not only in the printed version, but also in electronic form on the website with open access to research publications that increases the interest of the scientific community in Russia and other countries.

Siberian Journal of Oncology and its thematic content developed together with science itself, highlighting topical issues of fundamental and clinical oncology: epidemiology, molecular genetic analysis, carcinogenesis, prevention, comprehensive diagnostics, modern high-tech tumor treatment, anesthetic management, medical and social rehabilitation, palliative care and quality of life of cancer patients.

High-quality research papers published in the Journal have been written by highly talented and professional authors, famous oncologists, as well as young scientists, who are participants in Russian and international grants. An important factor of scientific authority is that the reviewers of the Journal are recognized scientists from higher educational



institutions and research institutes of biomedical and oncological profiles.

At present, the Siberian Journal of Oncology is steadily positioned as one of the recognized scientific and practical publications included in the List of peer-reviewed scientific journals, in which the main scientific results for the Ph.D. degree should be published. The journal is included in the core of the national bibliographic database of the Russian Scientific Citation Index (RSCI) on the Web of Science platform, indexed in the Scopus database, included in the EBSCO database. This is the great merit of the editorial board of the Journal, which includes prominent scientists from Russia and other countries.

But we do not stop there. The development program of the journal includes increasing the number of original articles in English, expanding the pool of reviewers, increasing the level of citation in international bibliographic databases, and further promoting the journal to the international scientific community.

I wish you, dear colleagues, many interesting ideas and projects, great creative achievements, which, I hope, will be embodied in excellent scientific articles.

We are looking forward to continuing our successful cooperation!

Prof. E.L. Choyazonov
Editor-in-Chief

A handwritten signature in blue ink, which appears to be 'E.L. Choyazonov'.

DOI: 10.21294/1814-4861-2020-19-4-7-23
УДК: 618.19+618.146]-006.6-07:614.251

Для цитирования: Шамсутдинова А.Г., Турдалиева Б.А., Рамазанова Б.А., Белтенова А.Г. Приверженность к скринингу рака молочной железы и рака шейки матки в Казахстане с позиций соблюдения этических принципов. Сибирский онкологический журнал. 2020; 19(4): 7–23. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-4-7-23.

For citation: Shamsutdinova A.G., Turdaliyeva B.S., Ramazanova B.A., Beltenova A.G. Adherence to breast and cervical cancer screening ensuring compliance with ethical principles in the Republic of Kazakhstan. Siberian Journal of Oncology. 2020; 19(4): 7–23. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-4-7-23.

ПРИВЕРЖЕННОСТЬ К СКРИНИНГУ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И РАКА ШЕЙКИ МАТКИ В КАЗАХСТАНЕ С ПОЗИЦИЙ СОБЛЮДЕНИЯ ЭТИЧЕСКИХ ПРИНЦИПОВ

А.Г. Шамсутдинова^{1,2}, Б.А. Турдалиева³, Б.А. Рамазанова², А.Г. Белтенова¹

АО «Центральная клиническая больница», г. Алматы, Республика Казахстан¹
Республика Казахстан, 050000, г. Алматы, ул. Панфилова, 139.
E-mail: shamsutdinova@ckb.kz¹

Казахский национальный медицинский университет им. С.Д. Асфендиярова
г. Алматы, Республика Казахстан²

Республика Казахстан, 050012, г. Алматы, ул. Толе би, 94²

АО «Казахский медицинский университет непрерывного образования»,
г. Алматы, Республика Казахстан³

Республика Казахстан, 050000, г. Алматы, ул. Масанчи, 34³

Аннотация

Цель исследования – оценка приверженности женщин к программам скрининга на рак молочной железы (РМЖ) и рак шейки матки (РШМ) с позиций соблюдения этических принципов. **Материал и методы.** Было проведено поперечное исследование. Проанкетировано 1015 женщин целевых возрастных групп скрининга на РМЖ и РШМ г. Алматы, Республика Казахстан. Было получено 1239 анкет (674 по скринингу на РМЖ и 565 по скринингу на РШМ), 224 женщины приняли участие в двух программах. Опрос проводился сразу после прохождения респондентами маммографии и/или сдачи Пап-теста и включал социально-демографические характеристики, вопросы осведомленности о скрининге, уровне знаний до и после применения скринингового теста, источниках информации, ощущениях до визита, во время процедуры и во время ожидания результатов, уровне комфортности участия. Для анализа данных применялся метод бинарной логистической регрессии, коррекция проводилась на социально-демографические особенности женщин. **Результаты.** Выявлено, что 61 % (95 % ДИ 57,7; 63,1) респондентов участвовали в скрининге впервые, 39 % (95 % ДИ 36,4; 41,8) – повторно. Многомерный анализ показал, что приверженность к участию в скрининге с позиций соблюдения этических принципов была ассоциирована с причиной визита, уровнем информированности и соблюдением конфиденциальности. Так, шансы повторного участия в скрининге у женщин, пришедших в поликлинику не на скрининг, в 2,3 раза меньше (95 % ДИ 1,6; 3,1) в сравнении с теми, кто явился целенаправленно, так же как и тех, кто пришел на скрининг по настоянию работодателей (95 % ДИ 1,2; 3,2) и родственников (95 % ДИ 1,0; 4,3). Женщины, владеющие минимальной информацией о скрининге в целом и о скрининговом тесте до его прохождения, в среднем в 3 и в 2 раза (95 % ДИ 2,6; 5,9 и 95 % ДИ 0,8; 3,7) соответственно менее склонны прийти на скрининг повторно. Нарушение конфиденциальности привело к снижению шансов в 3,5 раза (95 % ДИ 2,2; 4,9) пройти скрининг повторно тем женщинам, которые испытывали нервозность и чувство стыда во время прохождения скрининга, а также указали на присутствие посторонних во время сдачи теста. **Выводы.** Организационные мероприятия, направленные на соблюдение этических принципов при проведении скрининга на РМЖ и РШМ, будут способствовать повышению

качества реализации скрининговых программ в соответствии с международными стандартами, а также повышению солидарной ответственности населения через активное участие в скрининге, что имеет практическую значимость для здравоохранения страны.

Ключевые слова: рак молочной железы, рак шейки матки, скрининг, приверженность к скринингу, этические принципы.

ADHERANCE TO BREAST AND CERVICAL CANCER SCREENING ENSURING COMPLIANCE WITH ETHICAL PRINCIPLES IN THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

A.G. Shamsutdinova^{1,2}, B.S. Turdaliyeva³, B.A. Ramazanova², A.G. Beltenova¹

Central Clinical Hospital, Almaty, Republic of Kazakhstan¹
139, Panfilov str., 050000, Almaty, Republic of Kazakhstan.

E-mail: shamsutdinova@ckb.kz¹

S.D. Asfendiyarov Kazakh National Medical University, Almaty, Republic of Kazakhstan²
94, Tole Bi str., 050012, Almaty, the Republic of Kazakhstan²

Kazakh Medical University of Continuing Education, Almaty, the Republic of Kazakhstan³
34, Masanchi str., 050000, Almaty, the Republic of Kazakhstan³

Abstract

The aim of the study was to assess adherence to breast and cervical cancer screening ensuring compliance with ethical principles. **Material and methods.** A total of 1,015 women of target age groups, living in Almaty, the Republic of Kazakhstan, participated in breast and cervical cancer screenings. A structured questionnaire was used to collect data from each participant (1,239 questionnaires: 674 for breast cancer screening and 565 for cervical cancer screening). Two hundred and twenty-four women participated in two screenings. The survey was conducted immediately after the respondents had had a mammography and / or Pap test. The questionnaire included the socio-demographic characteristics of women, questions on awareness of screening, level of knowledge before and after screening, sources of information, feelings before screening, after screening and also after the receipt of test results. Binary logistic regression was used for data analysis. **Results.** Sixty-one percent (95 % CI 57.7; 63.1) of women participated in screening for the first time, 39 % (95 % CI 36.4; 41.8) of respondents visited outpatient clinic for the second and the third time. Multivariable analysis revealed that the participation in screening was associated with the purpose of visit, awareness and confidentiality. Thus, women, who arrived at the outpatient clinic with purposes other than screening were 2.3 times less (OR=2 95 % CI 1.6; 3.1) likely to participate in next screening compared to those, who came to the clinic with the purpose of screening as well as those, who were referred by employers (OR=2 95 % CI 1.2; 3.2) or friend/family (OR=2 95 % CI 1.0; 4.3). Women, who had little information about screening as a whole and about screening test before it was taken, were 3 and 2 times less likely to come to screening again (OR=3 95 % CI 1.6; 5.9 and OR=2 95 % CI 0.8; 3.7, respectively). The confidentiality violation led to a decrease in chance (OR=3.5 95 % CI 2.2; 4.9) of being screened again for those women, who experienced nervousness and shame during the screening, and also indicated the presence of nonmedical people during the test. **Conclusion.** Measures aimed to ensure compliance to ethics in screening for breast and cervical cancer will improve the quality of screening programs in accordance with international standards, as well as increase the personal responsibility for active participation in screening.

Key words: breast cancer, cervical cancer, screening, adherence to screening, ethical issues.

Глобальное бремя неинфекционных болезней, включая рак, является серьезной угрозой для общественного здравоохранения [1]. Рак молочной железы (РМЖ) является наиболее часто диагностируемым злокачественным новообразованием (ЗНО) и ведущей причиной смерти у женщин как в развитых, так и в развивающихся странах, включая Казахстан. Рак шейки матки (РШМ) был третьим наиболее распространенным видом ЗНО у женщин в 2008 г. в мире и остается на лидирующих позициях, унося жизни преимущественно в молодом

и трудоспособном возрасте [2, 3]. Тем не менее показатели заболеваемости и смертности от рака резко сократились в странах, которые проводят скрининг [4].

Скрининг рака определяется как систематическое применение скринингового теста для лиц, которые не обращаются за медицинской помощью из-за отсутствия симптомов [5]. В Казахстане популяционный скрининг на РМЖ и РШМ был внедрен с 2008 г. за счет средств государственного бюджета. Скрининг на РМЖ проводится 1 раз в 2

года для женщин в возрасте 50–60 лет. В качестве наиболее эффективного теста используется маммография для обнаружения болезни на раннем этапе [6]. Скрининг на РШМ выполняется для женщин в возрасте 30–60 лет с интервалом в 5 лет. Цитологический тест по Папаниколау (Пап-тест) является основным методом скрининга предраковых состояний и РШМ [7]. Скрининг проводится преимущественно в поликлиниках по месту прикрепления женщин. Каждая поликлиника заблаговременно подает список женщин, подлежащих скринингу, в городское управление здравоохранения и получает соответствующее финансирование.

Программы скрининга эффективны, если в них участвуют 70 % и более населения соответствующих возрастных групп [8]. В Казахстане этот показатель составляет для скрининга на РМЖ 52–56 %, на РШМ – 48–50 % [9]. Возможно, это обусловлено тем, что часть женщин обслуживается в частных клиниках, выделяемое финансирование не охватывает всех женщин целевых возрастных групп, а также тем, что женщины плохо информированы и не принимают в скрининге активного участия.

Участие женщин в программах скрининга на РМЖ и РШМ широко изучалось в разных странах. По данным литературы, основным барьером к участию является высокая стоимость медицинских услуг, включая скрининг, и отсутствие медицинской страховки в тех странах, где эти услуги не покрываются государственными программами [10–12]. В странах с низким уровнем экономического развития основными препятствиями к участию в программах скрининга считаются отсутствие соответствующей инфраструктуры и недостаток квалифицированного медицинского персонала [13]. К социально-культурным аспектам неучастия в скрининге относят низкий уровень осведомленности об услугах, страх перед процедурой скрининга и положительным результатом теста, социальную стигматизацию, смущение и нарушение конфиденциальности [14, 15]. В Казахстане, как и в других странах СНГ, в отношении женщин к программам скрининга на РМЖ и РШМ также присутствуют страх перед возможностью выявления злокачественной опухоли, неуверенность в необходимости проведения обследования и равнодушие к своему здоровью [16, 17].

Поскольку программы скрининга на онкопатофизиологию репродуктивной системы женщин чувствительны к этическим моментам при проведении теста [18], мы предположили, что соблюдение или несоблюдение этических принципов, таких как конфиденциальность и осознанный информированный выбор, могут также влиять на участие женщин в этих программах.

Цель исследования – изучить степень влияния соблюдения этических принципов на участие женщин в скрининге на РМЖ и РШМ.

Материал и методы

Данное поперечное исследование [19] было проведено в 2016 г. в г. Алматы, Республика Казахстан, в 6 городских поликлиниках, расположенных в разных частях мегаполиса, как в центре, так и на окраине. В исследовании участвовали поликлиники, чье руководство выразило согласие на проведение исследования. Специально обученные интервьюеры проводили опрос и заполняли анкеты женщин, которые прошли маммографию и/или сдали цитологический мазок из шейки матки (Пап-тест). На женщин, не пожелавших участвовать в исследовании, анкеты не заполнялись. Таким образом, у всех женщин целевых групп были равные шансы на попадание в выборку. Анкетирование было добровольным и анонимным и не требовало письменного информированного согласия женщин. Опросные листы заполнялись исследователями и интервьюерами.

Выборка состояла из двух групп респондентов: 674 женщины в возрасте 50, 52, 54, 56, 58, 60 лет приняли участие в скрининге на РМЖ, 565 женщин в возрасте 35, 40, 45, 50, 55, 60 лет прошли скрининг на РШМ. Несмотря на то, что в Казахстане скрининг на рак шейки матки рекомендован с 30 лет, ни одна женщина этого возраста не попала в наше исследование. Женщины в возрасте 50 ($n=131$) и 60 ($n=93$) лет вошли в две группы одновременно, на них было заполнено две отдельные анкеты. Таким образом, 1239 опросников были заполнены 1015 женщинами.

Расчет минимальной выборки был произведен на основе статистических данных об участии женщин целевых возрастных групп в скрининге за предыдущие 5 лет (2011–15 гг.) с использованием онлайн-калькулятора Sample-Size программы EpiInfo с приемлемой погрешностью в 5 % и доверительным интервалом 95 % [19]. Однако исследование позволило собрать большее число анкет, которые после проверки на правильность заполнения были допущены к статистической обработке.

Разработанная структурированная анкета прошла предварительное тестирование на группе женщин, данные которых не вошли в исследование. В нее были включены следующие вопросы: возраст, образование, семейный статус, число участий в скрининге, предпочтительный язык коммуникации (русский или казахский), способ приглашения, уровень знаний о скрининге до и после применения скринингового теста, источники информации, ощущения/чувства до визита, во время процедуры и в процессе ожидания результатов, уровень комфортности во время процедуры, рекомендации по участию в скрининге.

Главный изучаемый показатель – приверженность к участию в скрининге с позиции соблюдения этических принципов (информированности и комфортности) – определялся по уровню инфор-

мированности женщин и по испытываемым ими чувствам до скрининга и после его прохождения. Уровень информированности определялся как «почти ничего», «общая информация» и «почти все». Градация комфортности (чувства/ощущения) обозначалась как «никаких», «беспокойство», «страх».

Категориальные данные обрабатывали посредством построения таблиц сопряженности, где были получены сведения о связи между возрастной группой, образованием, числом участия в скрининге и каждой из включенных в анкету характеристик ответов по отдельности. Для анализа данных использовался критерий χ^2 Пирсона [20], в результате были получены сведения о связи между приверженностью к скринингу (первичные и повторные визиты) и каждой из включенных в анкету характеристик.

Для углубленного анализа полученных данных использовался метод бинарной логистической регрессии [21], который позволил оценить связь между факторами (оценкой уровня информированности и комфортности процедур скрининга) с изучаемой результирующей переменной – приверженностью к участию в скрининге. Это позволило рассчитать вероятность неучастия в скрининге в последующем (нарушение приверженности с позиции несоблюдения этических принципов) в зависимости от различных факторов. Данные, описывающие социально-демографические характеристики, уровень информированности о скрининге и о проводимом тесте, а также оценка комфортности скрининга респондентами вводились в логистическую регрессионную модель в качестве независимых категориальных переменных. Для проведения бивариантных сравнений в каждой из характеристик брали один из показателей в качестве референтного в зависимости от условий критерия сравнения. Так, для оценки уровня информированности (или комфортности) референтным показателем (равным единице) явилось отсутствие информации о скрининге или тесте (или проявлений чувств и ощущений).

Количественной мерой оценки влияния различных факторов на соблюдение этических принципов в бинарной логистической регрессии является отношение шансов (ОШ) [21]. Нескорректированные значения ОШ рассчитывались при проведении однофакторного регрессионного анализа для каждой независимой переменной в отдельности. Скорректированные значения ОШ рассчитывались в ходе многофакторного регрессионного анализа методом одновременного ввода переменных. Расчет отношения шансов был сделан с поправкой на возраст, вид скрининга, уровень образования, семейный статус. При проведении этого анализа оценивали факторы, которые влияют на приверженность к участию в скрининге с позиций соблюдения этических принципов.

Все статистические расчеты проводились с помощью пакета статистических программ SAS (Версия SAS: 9.04.01M5P09132017). В качестве критического уровня α -ошибки при проведении расчетов принимали 5 %. Для расчета 95 % доверительного интервала (ДИ) использовался метод Уилсона [20].

Результаты

Результаты анкетирования женщин, участвовавших в скрининге на РШМ и на РМЖ, рассматривались отдельно в связи с участием разных возрастных групп (табл. 1). Медиана возраста участников исследования – 54 года (нижний квартиль – 50 лет, верхний – 56 лет). Распределение изучаемых признаков (факторов, потенциально влияющих на приверженность к скринингу с позиций соблюдения этических принципов) в выборочной совокупности из 1239 ответов респондентов также представлено в табл. 1.

В изучаемой выборке 54 % составили женщины, участвовавшие в скрининге на РМЖ, и 46 % – в скрининге на РШМ. По уровню образования распределение женщин со средним, средним специальным и высшим образованием было приблизительно одинаковым – 31 %, 31 % и 29 % соответственно. На момент опроса 63 % респондентов состояли в браке. Русский язык в качестве предпочтительного языка общения и получения информации отметили 57 % опрошенных. В целом 61 % респондентов впервые участвовали в скрининге на онкопатологию репродуктивной системы (95 % ДИ: 57,7; 63,1), но в скрининге на РШМ число впервые участвующих женщин было в 1,7 раза больше, чем в скрининге на РМЖ. Среди тех, кто принимал участие в программе во второй раз, в 2 раза было больше женщин, прошедших скрининг на РМЖ, а в третий раз в этом виде скрининга участвовало только 8 % (95 % ДИ: 5,8; 9,8) респондентов. Ни одна женщина не проходила скрининг на РШМ в третий раз, поскольку скрининговые исследования проводятся раз в 5 лет, а в стране программа реализуется с 2008 г.

К показателям приверженности к скринингу относится число повторных участия, которые могут зависеть от степени информированности и уровня комфортности прохождения скрининга. Были изучены вопросы респондентов в зависимости от числа посещений – первичного участия в скрининге или повторного. В повторное участие были включены женщины, пришедшие на скрининг во второй и в третий раз. В результате предварительного анализа с использованием критерия χ^2 Пирсона было выявлено, что приверженность к участию в скринингах женщинами была статистически связана с возрастом, образованием, выбором предпочтительного языка общения и получения информации о скрининге, целью посещения поликлиники, методом приглашения на скрининг,

Таблица 1/Table 1

Характеристика выборки участников скрининга и оценка ими участия в скрининге на РМЖ и рак РШМ по результатам анкетирования*

Characteristics of participants and their assessment of participation in screening for BC and CC according to the results of the survey*

Показатель/Parameter	Скрининг на РМЖ/ Screening for BC	Скрининг на РШМ/ Screening for CC	Всего/Total
Всего/Total	674 (54,4 %)	565 (45,6 %)	1239 (100 %)
Возраст: РМЖ/РШМ/Age: BC/CC			
50/35	131 (19,4 %)	32 (5,6 %)	
52/40	119 (17,6 %)	87 (15,4 %)	
54/45	123 (18,3 %)	109 (19,3 %)	
56/50	110 (16,3 %)	131 (23,2 %)	
58/55	98 (14,6 %)	113 (20,0 %)	
60/60	93 (13,8 %)	93 (16,5 %)	
Среднее значение (возраст)/Median age	54,6	49,3	
Стандартное отклонение/ Standard deviation	3,4	7,4	
Уровень образования/Education			
Среднее/Secondary	197 (29,2 %)	187 (33,1 %)	384 (31,0 %)
Среднее специальное/Secondary special	229 (34,0 %)	151 (26,7 %)	380 (30,7 %)
Неоконченное высшее/Incomplete higher	66 (9,8 %)	51 (9,0 %)	117 (9,4 %)
Высшее/Higher	182 (27,0 %)	176 (31,2 %)	358 (28,9 %)
Семейное положение/Family status			
Замужем/Married	420 (62,3 %)	389 (68,8 %)	809 (63,3 %)
Не замужем/Single	52 (7,7 %)	46 (8,1 %)	98 (7,9 %)
Разведена/Divorced	155 (23,0 %)	107 (18,9 %)	262 (21,1 %)
Вдова/Widow	47 (7,0 %)	23 (4,1 %)	70 (5,6 %)
Язык коммуникации/Language			
Казахский/Kazakh	321 (47,6 %)	212 (37,5 %)	533 (43,0 %)
Русский/Russian	353 (52,4 %)	353 (62,5 %)	706 (57,0 %)
Участие в скрининге/Participation in screening			
Впервые/First time	310 (46,0 %)	441 (78,1 %)	751 (60,6 %)
Второй раз/Second time	313 (46,4 %)	124 (21,9 %)	437 (35,3 %)
Третий раз/Third time	51 (7,6 %)	0 (0 %)	51 (4,1 %)
Цель посещения поликлиники/Purpose of visiting the clinic			
На скрининг/Screening	514 (76,3 %)	368 (65,1 %)	882 (71,2 %)
Другая причина (получение справки, рецепта, медикаментов)/ Other reasons (getting help, prescription, medication)	95 (14,1 %)	116 (20,6 %)	211 (17,0 %)
Посещение врача по заболеваемости/ Disease visit	65 (9,6 %)	81 (14,3 %)	146 (11,8 %)
Приглашение на скрининг/Invitation to screening			
По телефону сотрудниками поликлиники/ On the phone by the employees of the clinic	356 (52,9 %)	251 (44,4 %)	607 (49,0 %)
Посещение поликлиники по другой причине/ Another reason to visit clinic	160 (23,7 %)	202 (35,7 %)	362 (29,2 %)
Отправлен работодателем/Posted by employer	55 (8,2 %)	61 (10,8 %)	116 (9,4 %)
Через СМИ/Through the media	20 (2,9 %)	28 (5,0 %)	48 (3,9 %)
Через друзей/родственников/супруга/ Via friends/relatives/spouse	35 (5,2 %)	9 (1,6 %)	44 (3,5 %)
Самостоятельно/Independently	48 (7,1 %)	14 (2,5 %)	62 (5,0 %)
Знания о программе скрининга до прохождения теста/Knowledge of the screening program before taking the test			
Почти ничего/Almost nothing	228 (33,8 %)	176 (31,2 %)	404 (32,6 %)
Общая информация/General information	304 (45,1 %)	338 (59,8 %)	642 (51,8 %)
Почти все/Almost everything	142 (21,1 %)	51 (9,0 %)	193 (15,6 %)

Таблица 1/Table 1

Знания о маммографии/Пап-тесте до прохождения теста/ Mammography/Pap test knowledge before taking the test			
Почти ничего/Almost nothing	247 (36,6 %)	188 (33,3 %)	435 (35,1 %)
Общая информация/General information	320 (47,5 %)	296 (52,4 %)	616 (49,7 %)
Почти все/Almost everything	107 (15,9 %)	81 (14,3 %)	188 (15,2 %)
Источники знаний о скрининге/Screening knowledge sources			
Медработники/Health workers	284 (42,1 %)	249 (44,1 %)	533 (43,0 %)
Друзья/родственники/супруг/Friends/Relatives/Spouse	59 (8,8 %)	35 (6,2 %)	94 (7,6 %)
Интернет/Internet	63 (9,3 %)	73 (12,9 %)	136 (11,0 %)
Брошюры/Brochures	74 (11,0 %)	29 (5,1 %)	103 (8,3 %)
Не получала/Did not receive	194 (28,8 %)	179 (31,7 %)	373 (30,1 %)
Знания о скрининге после прохождения теста/Screening knowledge after passing the test			
Почти ничего нового/Almost nothing	217 (32,2 %)	146 (25,8 %)	363 (29,3 %)
Общая информация/General information	199 (29,5 %)	290 (51,3 %)	489 (39,5 %)
Почти все/Almost everything	258 (38,3 %)	129 (22,9 %)	263 (31,2 %)
Улучшение знаний по скринингу после теста/Improving of post-test screening knowledge			
На том же уровне/At the same level	217 (32,2 %)	136 (24,1 %)	353 (28,5 %)
Улучшились незначительно/Improved slightly	332 (49,3 %)	277 (49,0 %)	609 (49,1 %)
Улучшились значительно/Improved significantly	125 (18,5 %)	152 (26,9 %)	277 (22,4 %)
Необходимость получения дополнительной информации о скрининге/Need for more screening information			
Да/Yes	344 (51,0 %)	388 (68,7 %)	732 (59,1 %)
Нет/No	295 (43,8 %)	136 (24,1 %)	431 (34,8 %)
Затрудняюсь ответить/Difficult to answer	35 (5,2 %)	41 (7,2 %)	76 (6,1 %)
Предпочтительные источники информации/Preferred Sources of Information			
Медработники/Health workers	205 (30,4 %)	211 (37,3 %)	416 (33,6 %)
Друзья/родственники/супруг/Friends /Relatives/Spouse	51 (7,6 %)	36 (6,4 %)	87 (7,0 %)
Интернет/the Internet	104 (15,4 %)	113 (20,0 %)	217 (17,5 %)
Брошюры/Brochures	94 (13,9 %)	44 (7,8 %)	138 (11,1 %)
Видеоролики в общественных местах/Public videos	70 (10,4 %)	46 (8,1 %)	116 (9,4 %)
2 или 3 источника информации/2 or 3 sources of information	150 (22,3 %)	115 (20,4 %)	265 (21,4 %)
Чувства/ощущения в ожидании прохождения скринингового теста/Feelings awaiting screening test			
Никаких/No	175 (26,0 %)	231 (40,8 %)	406 (32,7 %)
Беспокойство/Anxiety	315 (46,7 %)	205 (36,3 %)	520 (42,0 %)
Страх/Fear	164 (24,3 %)	116 (20,6 %)	280 (22,6 %)
Затрудняюсь ответить/Difficult to answer	20 (3,0 %)	13 (2,3 %)	33 (2,7 %)
Чувства/ощущения во время прохождения скринингового теста/Feelings/sensations during the screening test			
Никаких/No	176 (26,1 %)	142 (25,1 %)	318 (25,7 %)
Дискомфорт/Discomfort	257 (38,2 %)	240 (42,5 %)	497 (40,1 %)
Болезненность/Painfulness	61 (9,0 %)	68 (12,0 %)	129 (10,4 %)
Нервозность, чувство стыда/Nervousness, shame	163 (24,2 %)	96 (17,0 %)	259 (20,9 %)
Затрудняюсь ответить/Difficult to answer	17 (2,5 %)	19 (3,4 %)	36 (2,9 %)
Что было особенно неприятным во время теста?/What was especially unpleasant during the test?			
Ничего/Nothing	176 (26,1 %)	142 (25,1 %)	318 (25,7 %)
Неподготовленность к тесту/Not prepared for the test	192 (28,5 %)	131 (23,2 %)	323 (26,1 %)
Сам тест/Test itself	270 (40,1 %)	232 (41,1 %)	502 (40,5 %)
Присутствие посторонних/The presence of strangers	19 (2,8 %)	41 (7,3 %)	60 (4,8 %)
Затрудняюсь ответить/Difficult to answer	17 (2,5 %)	19 (3,3 %)	36 (2,9 %)
Что вам сказали о результатах теста: когда и как вы его получите/What were you told about the test results? When and how will you get it?			
Ничего/Nothing	447 (66,3 %)	292 (51,7 %)	739 (59,6 %)
Нужно узнать самой/Need to know yourself	173 (25,7 %)	229 (40,5 %)	402 (32,4 %)
Мне сообщат/I will be informed	54 (8,0 %)	44 (7,8 %)	98 (8,0 %)
Чувства/ожидания результата теста/Feelings/expectations of the test result			
Никаких/No	107 (15,8 %)	139 (24,5 %)	246 (19,9 %)
Беспокойство/Anxiety	414 (61,4 %)	332 (58,8 %)	746 (60,2 %)
Страх/Fear	91 (13,5 %)	71 (12,6 %)	162 (13,1 %)
Затрудняюсь ответить/Difficult to answer	62 (9,2 %)	23 (4,1 %)	85 (6,8 %)

Окончание табл. 1/End of Table 1

Порекомендовали бы пройти скрининг своим родственникам/друзьям Would you recommend screening to relatives/friends?			
Да/Yes	554 (82,2 %)	407 (72,0 %)	961 (77,6 %)
Нет/No	64 (9,3 %)	126 (22,3 %)	190 (15,3 %)
Затрудняюсь ответить/Difficult to answer	56 (8,3 %)	32 (5,7 %)	88 (7,1 %)
Если да, то почему?/If yes, why?			
Забота о здоровье/Health care	258 (46,6 %)	181 (44,5 %)	439 (45,7 %)
Своевременно обнаружить болезнь/Detect the disease in time	177 (31,9 %)	100 (24,6 %)	277 (28,8 %)
Это требование поликлиники/This is a requirement of the clinic	108 (19,5 %)	126 (30,9 %)	234 (24,4 %)
Затрудняюсь ответить/Difficult to answer	11 (2,0 %)	0 (0 %)	11 (1,1 %)
Если нет, то почему?/If no, why?			
Занимает много времени/Takes a lot of time	17 (26,6 %)	45 (35,7 %)	62 (32,6 %)
Это бесполезно/It's useless	18 (28,1 %)	26 (20,6 %)	44 (23,2 %)
Поликлинике нужна только отчетность/The clinic only needs reporting	29 (45,3 %)	55 (43,7 %)	84 (44,2 %)
Затрудняюсь ответить/Difficult to answer	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)
Почему население не участвует в скрининге?/Why is the population not participating in screening?			
Отсутствие информации о скрининге/Lack of screening information	176 (26,1 %)	149 (26,4 %)	325 (26,2 %)
Отсутствие времени для скрининга/Lack of time for screening	172 (25,5 %)	96 (17,0 %)	268 (21,6 %)
Отсутствие понимания важности скрининга/Lack of understanding of the importance of screening	105 (15,6 %)	120 (21,3 %)	225 (18,2 %)
Безразличие к собственному здоровью/Indifference to one's own health	141 (20,9 %)	117 (20,7 %)	258 (20,8 %)
Страх перед раком/ Fear of cancer	66 (9,8 %)	71 (12,5 %)	137 (11,1 %)
Затрудняюсь ответить/Difficult to answer	14 (2,1 %)	12 (2,1 %)	26 (2,1 %)
Наличие родственников/друзей с раком репродуктивной системы/Presence of relatives/friends with cancer of the reproductive system			
Да/Yes	69 (10,2 %)	42 (7,4 %)	111 (9,0 %)
Нет/No	528 (78,7 %)	372 (65,8 %)	900 (72,6 %)
Затрудняюсь ответить/Difficult to answer	77 (11,4 %)	151 (26,8 %)	228 (18,4 %)

Примечание: * – расчет данных таблицы произведен при уровне значимости $p < 0,0001$.

Note: * – the calculation of data was made at a significance level of $p < 0,0001$.

уровнем знаний о программе скрининга в целом и о проводимом тесте до и после его прохождения, видом источника знаний о скрининге, чувствами/ощущениями во время ожидания и прохождения скринингового теста, необходимостью в получении дополнительной информации, видами предпочтительных источников знаний, рекомендациями родственников/друзей в прохождении скрининга на рак репродуктивной системы (табл. 2).

Многомерный анализ данных, учитывающий взаимовлияние всех изучаемых в исследовании факторов, нивелировал факторы выбора предпочтительного языка общения, образования, вида источника полученных знаний о скрининге и предпочтительных источников и необходимости в получении дополнительной информации о скрининге, что позволило выявить следующие статистически значимые закономерности: женщины младшей возрастной группы в 3,6 раза менее привержены к участию в скрининге, чем женщины старшего возраста; респонденты с высшим образованием в 1,2

раза более привержены к программам скрининга в сравнении с имеющими среднее образование; женщины, пришедшие в поликлинику с иной целью, чем скрининг, с вероятностью менее чем 2,3 раза примут участие в скрининге в следующий раз в сравнении с респондентами, пришедшими в поликлинику только на скрининг; женщины, которых на скрининг направили работодатели или близкие люди, в среднем в 2 раза менее охотно придут повторно в сравнении с теми, кого настойчиво приглашали в поликлинику медработники по телефону. Женщины, которые обладали минимумом информации о программе скрининга и о скрининговом тесте до его прохождения, в 3,1 и в 1,7 раза соответственно более склонны к неучастию в скрининге в дальнейшем в сравнении с теми, кто знал почти все, а те, кто после прохождения теста не приобрел новых знаний о скрининге, в 1,3 раза склонны не участвовать в нем. Те, кто переживал беспокойство и страх во время ожидания скринингового теста, в 2,7 раза менее привержены к

Таблица 2/Table 2

Оценка связи между социально-демографическими особенностями респондентов и приверженностью к участию в скрининге на РМЖ и РШМ с позиций соблюдения этических принципов

Assessment of the relationship between socio-demographic characteristics of respondents and their commitment to screening for breast cancer and cervical cancer from an ethical perspective

Показатель/Parameter	Впервые/ For the first time	Повторно/ Repeatedly	p
Всего/Total	751 (60,6 %)	488 (39,4 %)	
Возрастная категория/Age category			
35–44 года/years	100 (13,3 %)	19 (3,9 %)	<0,001
45–54 года/years	445 (59,3 %)	168 (34,4 %)	
55–60 лет/years	206 (27,4 %)	301 (61,7 %)	
Язык коммуникаций/Communication language			
Казахский/Kazakh	329 (43,8 %)	252 (51,6 %)	0,007
Русский/Russian	422 (56,2 %)	236 (48,4 %)	
Образование/Education			
Среднее/Secondary	257 (34,2 %)	127 (26,0 %)	0,007
Среднее специальное/Secondary special	218 (29,0 %)	162 (33,2 %)	
Неполное высшее/Incomplete higher	42 (5,6 %)	75 (15,4 %)	
Высшее/Higher	234 (31,2 %)	124 (25,4 %)	
Семейное положение/Family status			
Замужем /Married	499 (66,4 %)	310 (63,5 %)	0,133
Не замужем/Single	60 (8,0 %)	38 (7,8 %)	
Разведена/Divorced	159 (21,2 %)	103 (21,1 %)	
Вдова/Widow	33 (4,4 %)	37 (7,6 %)	
Цель посещения поликлиники/Purpose of visiting the clinic			
На скрининг/Screening	559 (74,4 %)	323 (66,2 %)	0,002
Другая причина (получение справки, рецепта, медикаментов, посещение врача по заболеваемости)/Other reasons	192 (25,6 %)	165 (33,8 %)	
Приглашение на скрининг/Invitation to screening			
По телефону сотрудниками поликлиники/On the phone	405 (53,8 %)	202 (41,4 %)	<0,001
Посещение поликлиники по другой причине/Another reason to visit clinic	192 (25,6 %)	165 (33,8 %)	
Отправлен работодателем/invitation sent (posted) by employee	83 (11,4 %)	33 (6,7 %)	
Через СМИ/Through media	30 (3,8 %)	18 (3,7 %)	
Через друзей/родственников/супруга/Via friends/relatives/spouse	22 (2,9 %)	27 (5,6 %)	
Самостоятельно/Independently	19 (2,5 %)	43 (8,8 %)	
Знания о программе скрининга до прохождения теста/Knowledge of the screening program before taking the test			
Почти ничего/Almost nothing	321 (42,7 %)	114 (23,4 %)	<0,001
Общая информация/General information	335 (44,6 %)	279 (57,2 %)	
Почти все/Almost everything	95 (12,7 %)	95 (19,4 %)	
Знания о маммографии/Пап-тесте до его прохождения/Mammography/Pap test knowledge before taking the test			
Почти ничего/Almost nothing	298 (39,7 %)	106 (21,7 %)	<0,001
Общая информация/General information	370 (49,3 %)	272 (55,8 %)	
Почти все/Almost everything	83 (11,0 %)	110 (22,5 %)	
Источники знаний о скрининге/Screening Knowledge Sources			
Медработники/Medical workers	452 (60,2 %)	254 (52,1 %)	<0,001
Друзья/родственники/супруг/Friends/relatives/spouse	30 (4,0 %)	40 (8,2 %)	
Интернет/The internet	64 (8,5 %)	40 (8,2 %)	
Брошюры/Brochures	43 (5,7 %)	52 (10,6 %)	
Не получала/Did not receive	162 (21,6 %)	102 (20,9 %)	
Знания о скрининге после прохождения теста/Knowledge about screening after passing the test			
Почти ничего нового/Almost nothing	258 (34,4 %)	110 (22,5 %)	<0,001
Общая информация/General information	337 (44,8 %)	229 (47,0 %)	
Почти все/Almost everything	156 (20,7 %)	149 (30,5 %)	

Таблица 2/Table 2

Изменение уровня знаний по скринингу после теста/ Changes in the level of knowledge about screening after taking the test			
На том же уровне/At the same level	217 (28,9 %)	136 (27,9 %)	0,545
Улучшились незначительно/Improved slightly	374 (49,8 %)	235 (48,2 %)	
Улучшились значительно/Improved significantly	160 (21,3 %)	117 (23,9 %)	
Необходимость получения дополнительной информации о скрининге/Need for more screening information			
Да/Yes	501 (66,7 %)	231 (47,3 %)	<0,001
Нет/затрудняюсь ответить/No/Difficult to answer	250 (33,3 %)	257 (52,7 %)	
Предпочтительные источники информации/Preferred sources of information			
Медработники/Medical workers	265 (35,3 %)	151 (31,0 %)	
Друзья/родственники/супруг/Friends/Relatives/Spouse	55 (7,3 %)	32 (6,6 %)	
Интернет/The internet	153 (20,4 %)	64 (13,1 %)	<0,001
Брошюры/Brochures	71 (9,5 %)	67 (13,7 %)	
Видеоролики в общественных местах/Public videos	54 (7,2 %)	62 (12,7 %)	
2 или 3 источника информации/2 or 3 sources of information	153 (20,3 %)	112 (22,9 %)	
Чувства/ощущения в ожидании прохождения скринингового теста/Feelings awaiting screening test			
Никаких/затрудняюсь ответить/No/Difficult to answer	222 (29,6 %)	109 (21,3 %)	<0,001
Беспокойство/Anxiety	451 (60,1 %)	295 (60,5 %)	
Страх/Fear	78 (10,3 %)	84 (17,2 %)	
Чувства/ощущения во время прохождения скринингового теста/Feelings during screening test			
Никаких/затрудняюсь ответить/No/Difficult to answer	228 (30,3 %)	126 (25,8 %)	
Дискомфорт/Discomfort	295 (39,3 %)	202 (41,4 %)	<0,001
Болезненность/Painfulness	84 (11,2 %)	45 (9,2 %)	
Нервозность, чувство стыда/Nervousness, shame	144 (19,2 %)	115 (23,6 %)	
Что было особенно неприятным во время теста?/What was especially unpleasant during the test?			
Ничего/Затрудняюсь ответить/Nothing/Difficult to answer	230 (30,6 %)	124 (25,4 %)	
Неподготовленность к тесту/Not prepared for the test	204 (27,2 %)	119 (24,4 %)	0,025
Сам тест/Test itself	276 (36,7 %)	226 (46,3 %)	
Присутствие посторонних/Presence of strangers	41 (5,5 %)	19 (3,9 %)	
Что вам сказали о результатах теста: когда и как вы его получите/ What were you told about the test results? When and how will you get it?			
Ничего/Nothing	438 (58,4 %)	301 (61,7 %)	0,465
Нужно узнать самой/Need to know yourself	250 (33,2 %)	152 (31,1 %)	
Мне сообщат/I will be informed	63 (8,4 %)	35 (7,2 %)	
Чувства/ожидания результата теста/Feelings/expectations of the test result			
Никаких/Затрудняюсь ответить/Difficult to answer	222 (29,5 %)	109 (22,4 %)	0,006
Беспокойство/Anxiety	451 (60,1 %)	295 (60,4 %)	
Страх/Fear	78 (10,4 %)	84 (17,2 %)	
Порекомендовали бы пройти скрининг своим родственникам/ Друзьям/Would you recommend screening to relatives/friends?			
Да/Yes	549 (73,1 %)	412 (84,4 %)	<0,001
Нет/Затрудняюсь ответить/No/Difficult to answer	202 (26,9 %)	76 (15,6 %)	
Если да, то почему?/If yes, why?			
Забота о здоровье/Health care	251 (45,7 %)	188 (45,6 %)	
Своевременно обнаружить болезнь/To detect disease in time	149 (27,1 %)	128 (31,2 %)	<0,001
Это требование поликлиники/This is a requirement of the clinic	144 (26,2 %)	90 (21,8 %)	
Затрудняюсь ответить/Difficult to answer	5 (1,0 %)	6 (1,4 %)	
Если нет, то почему?/If no, why?			
Занимает много времени/It takes a lot of time	46 (22,7 %)	16 (21,0 %)	
Это бесполезно/It's useless	33 (16,4 %)	11 (14,5 %)	<0,001
Поликлинике нужна только отчетность/The clinic only needs reporting	63 (31,2 %)	20 (26,3 %)	
Затрудняюсь ответить/Difficult to answer	60 (29,7 %)	29 (38,2 %)	

Окончание табл. 2/End of Table 2

Почему население не участвует в скрининге?/ Why is the population not participating in screening?			
Отсутствие информации о скрининге/Lack of screening information	206 (27,4 %)	119 (24,4 %)	
Отсутствие времени для скрининга/Lack of the time for screening	165 (22,0 %)	103 (21,2 %)	
Отсутствие понимания важности скрининга/ Lack of understanding of the importance of screening	129 (17,2 %)	96 (19,6 %)	0,200
Безразличие к собственному здоровью/Indifference to one's own health	145 (19,3 %)	113 (23,2 %)	
Страх перед раком/Fear of cancer	86 (11,5 %)	51 (10,4 %)	
Затрудняюсь ответить/Difficult to answer	20 (2,6 %)	6 (1,2 %)	
Наличие родственников/друзей с раком репродуктивной системы/ Presence of relatives/friends with cancer of the reproductive system			0,884
Да/Yes	68 (9,0 %)	43 (8,8 %)	
Нет/Затрудняюсь ответить/No/Difficult to answer	683 (91,0 %)	445 (91,2 %)	

Таблица 3/Table 3

Результаты бинарного логистического регрессионного анализа нарушения приверженности респондентов участия в скрининге на РМЖ и РШМ с позиций соблюдения этических принципов
Results of a binary logistic regression analysis of the violation of respondents' commitment to participate in screening for breast and cervical cancer from the standpoint of ethical principles

Показатель/Parameter	Нескорректированные показатели/ Unadjusted indicators		Скорректированные показатели/ Adjusted indicators	
	ОШ/OR (95 % ДИ/CI)	Р	ОШ/OR (95 % ДИ/CI)	Р
Возрастная категория/Age category		<0,001		<0,001
35–44 года/years	7,69 (4,57;12,96)		3,6 (1,84;7,03)	
45–54 года/years	3,87 (3,01;4,97)		2,57 (1,85;3,57)	
55–60 лет/years	1 (референтная)/ reference		1 (референтная)/ reference	
Язык коммуникации/Communication language		0,007		0,842
Казахский/Kazakh	1 (референтная)/ reference		1 (референтная)/ reference	
Русский/Russia	0,73 (0,58;0,92)		0,97 (0,74;1,28)	
Образование/Education		0,007		0,013
Среднее/Secondary	1 (референтная)/ reference		1 (референтная)/ reference	
Среднее специальное/Secondary special	0,96 (0,52; 0,77)		0,66 (0,27; 1,59)	
Неполное высшее/Incomplete higher	1,05 (0,70; 1,58)		0,85 (0,51; 1,43)	
Высшее/Higher	1,46 (0,98; 2,17)		1,20 (0,71; 2,0)	
Семейное положение/Family status		0,133		0,973
Замужем/Married	1 (референтная)/ reference		1 (референтная)/ reference	
Не замужем/Single	1,02 (0,66;1,57)		0,94 (0,56;1,58)	
Разведена/Divorced	1,04 (0,78;1,39)		0,94 (0,66;1,33)	
Вдова/Widow	1,80 (1,10;2,95)		1,06 (0,59;1,89)	
Цель посещения поликлиники/Purpose of the visit to clinic		0,002		0,018
На скрининг/Screening	1 (референтная)/ reference		1 (референтная)/ reference	
Другая причина (получение справки, медикаментов, рецепта)/ Other reasons	1,49 (1,16;1,91)		2,25 (1,64;3,08)	
Приглашение на скрининг/Invitation to screening		<0,001		<0,001
По телефону сотрудниками поликлиники/ On the phone	1 (референтная)/ reference		1 (референтная)/ reference	
Посещение поликлиники по другой причине/Other reasons to visit clinic	1,71 (0,31;2,24)		2,63 (1,88;3,70)	
Отправлен работодателем/Posted by employee	0,79 (0,51;1,23)		1,94 (1,16;3,24)	
Через СМИ/Through media	1,20 (0,65;2,21)		1,29 (0,64;2,60)	
Через друзей/ родственников/супруга/Via friend/relatives/spouse	2,64 (1,42;4,90)		2,09 (1,01;4,30)	

Таблица 3/Table 3

Самостоятельно/Independently	4,54 (2,57;7,98)	1,72 (0,92;3,20)
Знания о программе скрининга до прохождения теста/Knowledge of the screening program before taking the test	<0,001	0,020
Почти ничего/Almost nothing	3,73 (2,7;5,35)	3,11 (2,64;4,88)
Общая информация/General information	1,81 (1,3;2,5)	1,69 (0,97;3,26)
Почти все/Almost everything	1 (референтная)/reference	1 (референтная)/reference
Знания о маммографии/Пап-тесте до его прохождения/Mammography/Pap test knowledge before taking the test	<0,001	0,005
Почти ничего/Almost nothing	2,83 (1,97;4,02)	1,92 (0,8;3,72)
Общая информация/General information	1,22 (0,87;1,66)	0,84 (0,44;1,24)
Почти все/Almost everything	1 (референтная)/reference	1 (референтная)/reference
Источники знаний о скрининге/Screening Knowledge Sources	<0,001	0,560
Медработники/Medical workers	1 (референтная)/reference	1 (референтная)/reference
Друзья/родственники/супруг/Friends/relatives/spouse	1,58 (1,02;2,46)	1,55 (0,91;2,65)
Интернет/The internet	0,72 (0,49;1,06)	1,16 (0,72;1,87)
Брошюры/Brochures	1,41 (0,92;2,15)	0,96 (0,59;1,56)
Другие/Others	0,46 (0,35;0,61)	1,03 (0,71; 1,49)
Знания о скрининге после прохождения теста/Knowledge about screening after taking the test	<0,001	0,03
Почти ничего нового/Almost nothing	1,24 (0,92; 1,68)	1,25 (0,87; 1,79)
Общая информация/General information	0,62 (0,45; 0,84)	1,14 (0,78; 1,67)
Почти все/Almost everything	1 (референтная)/reference	1 (референтная)/reference
Изменение уровня знаний по скринингу после теста/Changes in the level of knowledge about screening after taking the test	0,545	0,560
Остались на том же уровне/At the same level	1 (референтная)/reference	1 (референтная)/reference
Улучшились незначительно/Improved slightly	1,00 (0,76;1,31)	1,03 (0,74;1,43)
Улучшились значительно/Improved significantly	1,17 (0,85;1,61)	1,22 (0,82;1,80)
Необходимость получения дополнительной информации о скрининге/Need for more screening information	<0,001	0,924
Да/Yes	1 (референтная)/reference	1 (референтная)/reference
Нет/затрудняюсь ответить/No/Difficult to answer	2,23 (1,77; 2,82)	1,01 (0,79; 1,35)
Предпочтительные источники информации/Preferred sources of information	<0,001	0,533
Медработники/Medical workers	1 (референтная)/reference	1 (референтная)/reference
Друзья/родственники/супруг/Friends/Relatives/Spouse	1,02 (0,63;1,65)	0,70 (0,39;1,25)
Интернет/The internet	0,73 (0,52;1,05)	0,94 (0,61;1,43)
Брошюры/Brochures	1,66 (1,12;2,44)	0,87 (0,55;1,38)
Видеоролики в общественных местах/Public videos	2,01 (1,33;3,05)	1,30 (0,80;2,14)
2 или 3 источника информации/2 or 3 sources of information	1,28 (0,94;1,76)	1,09 (0,75;1,61)
Чувства/ощущения в ожидании прохождения скринингового теста/Feelings awaiting screening test	<0,001	0,003
Никаких/Nothing	1 (референтная)/reference	1 (референтная)/reference
Тревога/беспокойство/Anxiety	1,88 (1,46;2,43)	2,69 (1,16;4,23)
Боязнь/страх/Fear	1,76 (0,67;2,78)	2,40 (0,93;3,68)

Таблица 3/Table 3

Чувства/ощущения во время прохождения скринингового теста/ Feelings during screening test		<0,001	0,017
Никаких/Nothing	1 (референтная)/ reference	1 (референтная)/ reference	
Дискомфорт/Discomfort	2,51 (1,61;3,47)	2,49 (1,07;3,92)	
Болезненность/Painfulness	2,83 (1,68;4,14)	1,76 (0,95;2,56)	
Нервозность, чувство стыда/Nervousness, shame	6,58 (3,35;9,76)	3,48 (2,14;5,28)	
Что было особенно неприятным во время теста?/ What was especially unpleasant during the test?		0,025	0,046
Ничего/Nothing	1 (референтная)/ reference	1 (референтная)/ reference	
Неподготовленность к тесту/Not prepared for the test	1,92 (1,16;3,27)	2,56 (1,07;3,92)	
Сам тест/Test itself	2,16 (1,05;2,87)	1,69 (0,95;2,56)	
Присутствие посторонних/Presence of strangers	2,83 (1,46;4,59)	3,55 (2,16;4,87)	
Что вам сказали о результатах теста: когда и как вы его получите/ What were you told about the test results? When and how will you get it?		0,465	0,492
Ничего/Nothing	0,81 (0,52;1,25)	0,79 (0,47;1,31)	
Нужно узнать самой/ Need to know yourself	0,91 (0,58;1,45)	0,81 (0,42;1,21)	
Мне сообщат/I will be informed	1 (референтная)/ reference	1 (референтная)/ reference	
Чувства/ожидания результата теста/ Feelings/expectations of the test result			
Никаких/Nothing	1 (референтная)/ reference	1 (референтная)/ reference	0,428
Беспокойство/Anxiety	0,75 (0,57;0,99)	0,6 (0,45;1,03)	
Страх/Fear	0,66 (0,43;0,87)	0,59 (0,37;0,98)	
Порекомендовали бы пройти скрининг своим друзьям/родственникам/ Would you recommend screening to relatives/friends?		<0,001	0,003
Да/Yes	0,50 (0,37;0,67)	0,82 (0,58;1,16)	
Нет/No	1 (референтная)	1 (референтная)/ reference	
а) Если да, то почему?/If yes, why?		<0,001	0,003
Забота о здоровье/Health care	1 (референтная)/ reference	1 (референтная)/ reference	
Своевременно обнаружить болезнь/To detect disease in time	1,14 (0,84;1,55)	0,75 (0,51;1,08)	
Это требование поликлиники/This is a requirement of the clinic	0,83 (0,60;1,15)	0,73 (0,49;1,08)	
б) Если нет, то почему?/If no, why?		0,003	0,030
Занимает много времени/Takes a lot of time	1 (референтная)/ reference	1 (референтная)/ reference	
Это бесполезно/ It's useless	0,95 (0,39;2,33)	0,58 (0,21;1,57)	
Поликлинике нужна только отчетность/ The clinic only needs reporting	0,91 (0,42;1,95)	1,04 (0,44;2,43)	
Почему население не участвует в скрининге?/ Why is the population not participating in screening?		0,200	0,566
Нет информации о скрининге/Lack of screening information	1 (референтная)/ reference	1 (референтная)/ reference	
Нет времени для скрининга/Lack of time for screening	1,08 (0,77;1,51)	0,88 (0,59;1,33)	
Нет понимания важности скрининга/ Lack of understanding of the importance of screening	1,29 (0,91;1,82)	0,95 (0,62;1,46)	
Безразличие к собственному здоровью/ Indifference to one's own health	1,35 (0,97;1,88)	0,94 (0,63;1,41)	

Окончание табл. 3/End of Table 3

Страх перед раком/Fear of cancer	1,03 (0,68;1,55)	0,75 (0,45;1,24)
Наличие родственников/друзей с раком репродуктивной системы/Presence of relatives/friends with cancer of the reproductive system	0,884	0,186
Да/Yes	0,97 (0,65; 1,45)	0,73 (0,45; 1,17)
Нет/No	1 (референтная)/ reference	1 (референтная)/ reference

скринингу в сравнении с теми, кто не испытывал никаких чувств. Женщины, которые отметили нервозность и чувство стыда во время прохождения скрининга, а также указали на присутствие посторонних в качестве неприятного момента, в 3,5 раза более склонны не прийти на скрининг в следующий раз в сравнении с теми, кто не испытывал никаких эмоций. Респонденты, которые порекомендовали бы пройти скрининг своим друзьям/родственникам, в 2 раза более склонны проходить регулярный скрининг в сравнении с теми, кто не стал бы его рекомендовать.

Обсуждение

Программы скрининга на РМЖ и РШМ являются наиболее этически чувствительными для участников, поскольку связаны с интимными жизненными моментами и неудобством самой процедуры скрининга: необходимостью раздеться для ее прохождения. Требуется соблюдение этических норм, таких как предоставление полной информации о скрининговом тесте и о программе в целом, а также сохранение конфиденциальности на всех этапах скрининга. Особенностью данного исследования является то, что его участники были опрошены сразу после прохождения скринингового теста, что позволило им наиболее точно и правдиво ответить на вопросы о чувствах и знаниях о скрининге.

Результаты исследования выявили, что только 71 % женщин (95 % ДИ: 68,6; 73,6) пришли в поликлинику целенаправленно на скрининг, а 17 % респондентов (95 % ДИ: 15,0; 19,2) обратились в поликлинику по другому вопросу (получение медицинской справки, рецепта или медикамента), но были отправлены работниками регистратуры для прохождения скрининга; 12 % женщин (95 % ДИ: 10,1; 13,7) были направлены на скрининг с врачебного приема. Перенаправление на скрининг женщин, обратившихся в поликлинику по другому поводу, указывает на нарушение этических принципов в связи с тем, что женщины должны прийти на скрининг заблаговременно информированными и подготовленными, о чем свидетельствует мировая практика внедрения скринингов. Поэтому закономерным оказалось то, что у женщин, пришедших в поликлинику не на скрининг, шансы повторного участия в этой программе в 2,3 раза меньше в сравнении с теми участницами иссле-

дования, которые пришли в поликлинику специально на скрининг. Влияние на приверженность к скринингу оказал и способ приглашения на него: шансы повторного участия почти в два раза меньше у женщин, отправленных на скрининг по распоряжению работодателя или пришедших по настоянию родственников, в сравнении с теми, кто пришел в результате настойчивых звонков сотрудников поликлиники.

Такие показатели, как уровень образования, дохода и наличие медицинской страховки, широко изучены, и показана их закономерная связь с приверженностью к программам раннего выявления онкопатологии: чем выше уровень образования и дохода и наличие страхового полиса, тем выше уровень участия в них [12, 13, 15]. В Казахстане скрининг на РМЖ и РШМ проводится на популяционном уровне и участие в нем бесплатное в рамках государственной программы. Учитывая, что в задачу данного исследования входило рассмотрение приверженности с позиции соблюдения этических принципов, фактор «уровень дохода» был опущен. В отношении уровня образования результаты исследования выявили, что шансы на участие в скрининге у женщин с высшим образованием чуть выше, чем у женщин со средним образованием, – в 1,2 раза.

В различных исследованиях по скринингу с позиций изучения поведения людей оценивалось влияние знаний, восприятие риска развития рака и беспокойство, типичные убеждения относительно скрининга, принятие решения о повторном участии в скрининге. Процесс разумного принятия решений относительно участия основан на взвешивании плюсов и минусов скрининга, в том числе предполагаемой эффективности теста. Знания как о преимуществах, так и о недостатках участия в этих программах являются необходимым, хотя и не явным предвестником приверженности. Люди с более высоким уровнем знаний о раковых заболеваниях и скрининге рака имеют более высокий уровень приверженности к скринингу [22]. Результаты проведенного исследования подтверждают эту закономерность тем, что женщины, владеющие минимальной информацией о скрининге в целом и о скрининговом тесте до его прохождения, в среднем в 3 и в 2 раза соответственно менее склонны прийти на скрининг повторно.

Результаты исследования также показали, что при ожидании процедуры скрининга 42 % женщин выражали беспокойство по поводу того, что им предстоит пройти тест (95 % ДИ: 39,0; 44,7), чуть менее четверти респондентов испытывали тревогу и страх (95 % ДИ: 20,3; 25,0). Прохождение скрининговых исследований у 40 % опрошенных вызвало дискомфорт, каждая десятая женщина отметила болезненность процедуры (95 % ДИ: 8,8; 12,2), каждая пятая участница скрининга отмечала нервозность и чувство стыда при прохождении теста (95 % ДИ: 18,7; 23,3). Из тех респондентов, которые указали на наличие неприятных ощущений во время прохождения скрининга (921 женщина), особенно неприятными и неприемлемыми у трети респондентов (95 % ДИ: 32,1; 38,2) были неподготовленность к процедуре сдачи теста и у более половины опрошенных (95 % ДИ: 51,3; 57,7) – сам тест. На присутствие посторонних как нежелательный момент при прохождении скрининга указали 7 % респондентов (95 % ДИ: 5,1; 8,3). Нарушение этических моментов скрининга с позиции соблюдения принципа конфиденциальности привело к снижению шансов в 3,5 раза пройти скрининг повторно тем женщинам, которые испытывали нервозность и чувство стыда во время прохождения скрининга, а также указали на присутствие посторонних во время сдачи теста, в сравнении с теми респондентами, которые не переживали никаких эмоций.

Ключевым моментом в реализации программ популяционного скрининга являются оценка и повышение уровня участия целевых групп населения. При этом важным вопросом остается регулярное участие одних и тех же людей в скрининге (приверженность), что повышает эффективность программ раннего обнаружения рака. Так, по данным Национальной программы скрининга Великобритании, зарегистрированным Национальной службой здравоохранения, в 2018 г. приверженность к скринингу рака молочной железы составила 75 % [23], а к скринингу рака шейки матки – 71 % [24]. Подобная статистика в Казахстане не ведется.

Изучение различных факторов, в том числе и социально-демографических, помогает оценить их влияние на приверженность к скринингу рака. В отношении влияния возраста в проведенном исследовании выяснилось, что женщины от 35 до 44 лет почти в 4 раза менее привержены к участию в скрининге в сравнении с женщинами в возрасте 55–60 лет. Эти данные созвучны с общими тенденциями о большей приверженности старших возрастных групп к скринингу на РМЖ и РШМ в большинстве стран с популяционным скринингом, в то время как, например, в США, где нет популяционного скрининга, уровень участия молодых женщин в скрининге рака шейки матки выше [25].

В результате опроса респондентов были выявлены причины неучастия населения в скрининге: отсутствие информации о скрининге (26 %), от-

сутствие времени для скрининга (22 %), отсутствие понимания важности скрининга (18 %), безразличие к собственному здоровью (21 %), страх обнаружения рака (11 %). Респонденты, готовые рекомендовать прохождение скрининга своим родственникам или друзьям, в 1,2 раза чаще склонны к регулярному участию в скрининге.

В Республике Казахстан изучению вопросов организации и внедрения популяционного скрининга на РМЖ и РШМ уделяется достаточно большое внимание, в том числе и выяснению барьеров для участия в этих программах [17]. Например, в 2014 г. были опубликованы результаты опроса 687 женщин в возрасте от 18 до 72 лет в организациях города Семей, которые выявили, что чуть меньше половины респондентов (47 %) слышали о скрининге на раннее выявление патологии шейки матки, и лишь 22 % опрошенных – о тесте Папаниколау; треть женщин (35 %) придерживалась мнения о болезненности процедуры сдачи теста. В качестве причин неучастия в скрининге 60 % респондентов указали на занятость. Результаты этого исследования созвучны с социологическим опросом женщин, прикрепленных к поликлиникам г. Алматы, подлежащих скрининговому обследованию на рак шейки матки [16]. Изучено мнение 96 женщин целевых возрастных групп (30–60 лет), из которых 58 % были информированы о скрининге на РШМ, а 42 % ничего не слышали о нем. Среди причин неявки на вызов для прохождения скрининга респонденты отметили занятость на работе и невозможность отпроситься для визита к врачу (52 %); большую продолжительность процедуры сдачи скринингового теста (20 %); слишком «старый» возраст для обследования у гинеколога (6 %). Данные исследования отличались от нашего тем, что опрашивали потенциальных участниц скрининга, а не женщин, сдавших скрининговый тест, и при анкетировании не были затронуты этические вопросы.

Сравнение результатов нашего исследования с результатами исследований в Российской Федерации, где скрининги на РМЖ и РШМ проводятся в пилотных регионах, а не на национальном уровне, как в Казахстане, подтверждает низкую приверженность к скринингу онкологических заболеваний органов репродуктивной системы на примере жительниц Кемеровской области [26]. Проведение анкетирования 100 женщин в рамках Всероссийского проекта «От онкофобии к онконебрежности» выявило информированность женщин об онкоцитологическом скрининге в 62 %, о маммографическом – в 79 %. Регулярно проходят онкоцитологический скрининг 22 %, а маммологический – 32 % респондентов; 51 % опрошенных женщин игнорируют прохождение профилактических осмотров и обращаются за медицинской помощью только в случае появления выраженных клинических симптомов заболевания.

Следовательно, проведенные исследования демонстрируют низкую осведомленность женщин о скринингах на онкологическую патологию репродуктивной системы и как результат низкую приверженность к этим программам. Помимо этого, в нашем исследовании выявлено несоблюдение этических принципов при проведении скрининга на РМЖ и РШМ относительно предоставления полной информации и соблюдения конфиденциальности.

Рекомендации профессиональных медицинских организаций по улучшению качества медицинской помощи предполагают участие пациентов в процессе принятия решений относительно своего здоровья [6], в том числе и участия в скрининге. Информированный выбор все чаще признается важным для поддержки автономии пациентов и обеспечения того, чтобы людей не вводили в заблуждение и не принуждали к прохождению каких-либо процедур. При скрининге рака акцент сместился от простого восхваления преимуществ скрининга к предоставлению исчерпывающей информации, позволяющей людям сделать осознанный выбор. Факторы, важные при измерении осознанного выбора при скрининге рака, включают понимание человеком ограничений скринингового теста, способность сделать самостоятельный выбор и разницу между сделанным выбором и конечным поведением. В настоящее время, например, программы скрининга рака в Великобритании руководствуются принципами, которыми утверждается ответственность за то, чтобы участники скрининга делали осознанный выбор [27].

Согласно рекомендациям Европейской обсерватории по системам по политике и здравоохранения ВОЗ [28], для успешного внедрения программ скрининга необходимо проводить работу по обеспечению добросовестной и всеобъемлющей информации о различных скрининговых программах и тестах, а также проводить подготовку и переподготовку лиц, предоставляющих такую информацию, и учить их умению излагать свои мысли четко и объективно. Необходимо также, чтобы лица, приглашенные участвовать в скрининге, смогли сделать информированный выбор и были полностью осведомлены о последствиях участия [28].

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Jaacks L.M., Ali M.K., Bartlett J., Bloomfield G.S., Checkley W., Gaziano T.A., Heimburger D.C., Kishore S.P., Kohler R.E., Lipska K.J., Manders O., Ngaruiya C., Peck R., Pena B.M., Watkins D.A., Siegel K.R., Venkat N.K. Global Noncommunicable Disease Research: Opportunities and Challenges. *Ann Intern Med.* 2015 Nov 3; 163(9): 712–4. doi: 10.7326/M15-1068.
2. Torre L.A., Bray F., Siegel R.L., Ferlay J., Lortet-Tieulent J., Jemal A. Global cancer statistics 2012. *CA Cancer J Clin.* 2015; 65(2): 87–108. doi: org/10.3322/caac.21262.
3. Torre L.A., Islami F., Siegel R.L., Ward E.M., Jemal A. Global Cancer in Women: Burden and Trends. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2017 Apr; 26(4): 444–457. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-16-0858.

В свете новых мировых тенденций, направленных на соблюдение этических принципов при внедрении программ скрининга, считаем наше исследование актуальным. Преимуществами проведенного исследования являются большой объем и репрезентативность выборки, а также включение в анкетирование вопросов, затрагивающих этические аспекты прохождения скрининга на РМЖ и РШМ, и проведение опроса лиц, прошедших скрининговый тест. Нами установлена связь между информированностью женщин целевых групп о скрининге и комфортностью его прохождения с приверженностью к участию в скрининге. Изменения этих факторов повлияют на приверженность к программе раннего выявления рака.

Основные ограничения исследования заключались в том, что социологический опрос проводился только в одном городе страны, хотя и в самом крупном. Однако если принять во внимание полученные результаты исследования о несоблюдении этических принципов в программах скрининга и предположить, что проведение скрининга лучше организовано в городских населенных пунктах, чем в сельской местности, то можно заявить о применимости результатов для всей страны.

Таким образом, изучение приверженности к скринингу на РМЖ и РШМ с позиций соблюдения этических принципов позволило сделать вывод, что приверженность к участию была ассоциирована с причиной визита, уровнем информированности и соблюдением конфиденциальности. Данное исследование позволило разработать методологические подходы для обеспечения реализации соблюдения принципов биоэтики в скрининговых программах по выявлению онкопатологии репродуктивной системы. Полученные результаты способствуют повышению качества реализации скрининговых программ в Казахстане с позиции соблюдения биоэтических принципов в соответствии с международными стандартами, а также повышению солидарной ответственности населения через активное участие в скрининге, что имеет практическую значимость для здравоохранения страны.

Проведение данного исследования на соответствие установленным этическим нормам одобрено решением Локальной этической комиссии Казахского национального медицинского университета им С.Д. Асфендиярова, протокол № 4 от 04.05.2016 г.

4. Santa M., Lopez M.D., Agresti R., Pérez M.J., Holleczeck B., Bielska-Lasota M., Dimitrova N., Innos K., Katalinic A., Langseth H., Larrañaga N., Rossi S., Siesling S., Minicozzi P. Survival of women with cancers of breast and genital organs in Europe 1999–2007: Results of the EUROCARE-5 study. *Eur J Cancer.* 2015 Oct; 51(15): 2191–2205. doi: 10.1016/j.ejca.2015.07.022.

5. Sikora K. Cancer screening. *Medicine.* 2016; 44(1): 59–64. doi: 10.1016/j.mpmed.2015.10.011.

6. Жолдыбай Ж.Ж., Жылкайдарова А.Ж., Жакенова Ж.К., Ткачева А.М., Хамзин А.Х., Талаева Ш.Ж., Соколенко Е.Г., Байтисов Д.М. Руководство по проведению скрининга целевых групп женского населения на раннее выявление рака молочной железы и обеспечению его качества. Алматы, 2012. 135 с. [Zholdybay Zh.Zh., Zhylykaidarova A.Zh., Zhakenova Zh.K., Tkacheva A.M., Khamsin A.Kh., Talayeva Sh.Zh., Sokolenco E.G., Baytysov D.M. Руководство по проведению скрининга целевых групп женского населения на раннее выявление рака молочной железы и обеспечению его качества. Алматы, 2012. 135 с.]

va A.Zh., Zhakenova Zh.K., Tkacheva A.M., Hamzin A.Kh., Talaeva Sh.Zh., Sokolenko E.G., Baypeisov D.M. Guidelines for screening the breast and ensuring its quality. Almaty, 2012. 135 p. (in Russian)].

7. Кайрбаев М.Р., Шибанова А.И., Жылкайдарова А.Ж., Чингисова Ж.К., Елеубаева Ж.Б., Кукубасов Е.К., Кусаинова Б.Т. Ранняя диагностика рака шейки матки на уровне первичной медико-санитарной помощи. Цитологический скрининг. Методические рекомендации. Алматы, 2012. 28 с. [Kairbaev M.R., Shibanova A.I., Zhylkaidarova A.Zh., Chingisova Zh.K., Yeleubaeva Zh.B., Kukubasov E.K., Kusainova B.T. Early diagnosis of cervical cancer at the primary health care level. Cytological screening. Guidelines. Almaty, 2012. 28 p. (in Russian)].

8. Шамсутдинова А.Г., Турдалиева Б.С., Белтенова А.Г., Шалабекова М.Т., Кудайбергенова Т.А. Влияние программ популяционного скрининга на показатели рака репродуктивной системы. Вестник Алматинского государственного института усовершенствования врачей. 2018; 3: 67–75. [Shamsutdinova A.G., Turdalieva B.S., Beltenova A.G., Shalabekova M.T., Kudaibergenova T.A. The effect of population screening programs on reproductive system cancer rates. Herald of Almaty State Institute of Advanced Education. 2018; 3: 67–75. (in Russian)].

9. Бекмухамбетов Е.Ж., Балмагамбетова С.К., Жылкайдарова А.Ж., Елеубаева Ж.Б., Койшыбаев А.К., Уразаев О.Н., Каримсакова Б.К., Рыжкова С.Н., Заваленная О.В., Саханова С.К., Уразаева Ж.Ж., Коктова С.Е., Саркулова К.К., Якупова Л.М. Современные тенденции в области скрининга рака шейки матки. Онкология и радиология Казахстана. 2017; 2(44): 30–38. [Bekmukhambetov Ye.Zh., Balmagambetova S.K., Zhylkaidarova A.Zh., Yeleubayeva Zh.B., Koyshybayev A.K., Urazayev O.N., Karimsakova B.K., Ryzhkova S.N., Zavalennaya O.V., Sukhanova S.K., Urazayeva Zh.Zh., Koktova S.Ye., Sarkulova A.K.K., Yakupova L.M. Current trends in the field of cervical cancer screening. The Oncology and Radiology of Kazakhstan. 2017; 2(44): 30–38. (in Russian)].

10. Jacobsen K.K., von Euler-Chelpin M. Performance indicators for participation in organized mammography screening. J Public Health (Oxf). 2012 Jun; 34(2): 272–8. doi: 10.1093/pubmed/fdr106.

11. Ginsburg O.M. Breast and cervical cancer control in low and middle-income countries: Human rights meet sound health policy. J Canc Policy. 2013; 1(3–4): e35e41. doi: 10.1016/j.jcpo.2013.07.002.

12. Walsh B., Silles M., O'Neill C. The role of private medical insurance in socio-economic inequalities in cancer screening uptake in Ireland. Health Econ. 2012; 21: 1250–1256. doi: 10.1002/hec.1784.

13. Lim J.W., Ojo A.A. Barriers to utilisation of cervical cancer screening in Sub Sahara Africa: a systematic review. Eur J Cancer Care. 2017; 26(1): e12444. doi: 10.1111/ecc.12444.

14. Kavar L.N. Barriers to breast cancer screening participation among Jordanian and Palestinian American women. Eur J Oncol Nursing. 2013; 17(1): 88–94. doi: 10.1016/j.ejon.2012.02.004.

15. Marlow L.V., Wardle J., Waller J. Understanding cervical screening non-attendance among ethnic minority women in England. BJC. 2015; 113: 833–839. doi: 10.1038/bjc.2015.248.

16. Касымова Г.П., Шалкарбаева Н.Ж. Анализ причин низкой приверженности женщин к скринингу рака шейки матки. Вестник КазНМУ. 2015; 3: 107–108. [Kasymova G.P., Shalkarbaeva N.Zh. An analysis of the causes of women's low commitment to cervical cancer screening. Vestnik KazNMU. 2015; 3: 107–108. (in Russian)].

17. Шалгумбаева Г.М., Сагидуллина Г.Г., Сандыбаев М.Н., Мусаханова А.К., Семенова Л.М., Кайдарова С.Б., Сляхманова Н.С., Адиева М.К., Жумырбаева Н.А., Садыбекова Ж.Т. Изучение барьеров для прохождения скрининга на раннее выявление патологии шейки

матки в городе Семей. Наука и здравоохранение. 2014; 2: 55–57. [Shalgumbayeva G.M., Sagidullina G.G., Sandybaev M.N., Musakhanova A.K., Semenova Yu.M., Khaydarova S.B., Slyamhanova N.S., Adiyeva M.K., Zhumyrbaeva N.A., Sadybekova Zh.T. The study of barriers to screening for early detection of cervical pathology in the city of Semey. Science and Healthcare. 2014; 2: 55–57. (in Russian)].

18. Шамсутдинова А.Г., Турдалиева Б.С. Этические вопросы популяционного скрининга на выявление онкопатологии репродуктивной системы. Медицина (Алматы). 2018; 2(188): 2–10. [Shamsutdinova A.G., Turdalieva B.S. Ethical issues of population screening for the detection of cancer pathology of the reproductive system. Medicine (Almaty). 2018; 2 (188): 2–10. (in Russian)].

19. Холматова К.К., Горбатова М.А., Харьковская О.А., Гржибовский А.М. Поперечные исследования: планирование, размер выборки, анализ данных. Экология человека. 2016; 2: 49–56. [Kholmatoeva K.K., Gorbatova M.A., Kharkovskaya O.A., Grjibovskiy A.M. Cross-sectional studies: planning, sample size, data analysis. Human Ecology. 2016; 2: 49–56. (in Russian)].

20. Гржибовский А.М., Иванов С.В., Горбатова М.А. Анализ номинальных и ранговых переменных данных с использованием программного обеспечения Statistica и SPSS. Наука и здравоохранение. 2016; 6: 5–39. [Grjibovskiy A.M., Ivanov S.V., Gorbatova M.A. Analysis of nominal and ordinal data using Statistica and SPSS software. Science & Healthcare. 2016; 6: 5–39. (in Russian)].

21. Бюль А., Цёфель П. SPSS: Искусство обработки информации. Анализ статистических данных и восстановление скрытых закономерностей. СПб., 2005. 608 с. [Buhl A., Zofel P. SPSS: Artificial Information Processing. Analysis of Statistical Data and Identification of Cryptic Relationships. St. Petersburg, 2005. 608 p. (in Russian)].

22. Rees I., Jones D., Chen H., Macleod U. Interventions to improve the uptake of cervical cancer screening among lower socioeconomic groups: A systematic review. Prev Med. 2018 Jun; 111: 323–335. doi: 10.1016/j.ypmed.2017.11.019.

23. Breast Screening Programme, England 2017–18 [Internet]. URL: <https://digital.nhs.uk/data-and-information/publications/statistical/breast-screening-programme/england-2017-18/content> (cited 08.05.2019).

24. Cervical Screening Programme, England 2017–18 [Internet]. URL: <https://digital.nhs.uk/data-and-information/publications/statistical/cervical-screening-programme/england---2017-18> (cited 08.05.2019).

25. Rees I., Jones D., Chen H., Macleod U. Interventions to improve the uptake of cervical cancer screening among lower socioeconomic groups: A systematic review. Prev Med. 2018 Jun; 111: 323–35. doi: 10.1016/j.ypmed.2017.11.019.

26. Червов В.О., Артымук Н.В. Информированность и онкологическая настороженность к раку органов репродуктивной системы у женщин Кемеровской области. Фундаментальная и клиническая медицина. 2016; 1: 64–68. [Chervov V.O., Artyumuk N.V. Gynecological cancer awareness in Kemerovo region. Fundamental and Clinical Medicine. 2016; 1: 64–68. (in Russian)].

27. Irwig L., McCaffery K., Salkeld G., Bossuyt P. Informed choice for screening: implications for evaluation. BMJ. 2006 May 13; 332(7550): 1148–50. doi: 10.1136/bmj.332.7550.1148.

28. Holland W.W., Stewart S., Masseria C. Основы политики. Скрининг в Европе. ВОЗ. Европейская обсерватория по системам по политике и здравоохранения. 2008. 76 с. [Holland W.W., Stewart S., Masseria C. Policy brief: screening in Europe. WHO. Regional Office for Europe. 2008. 76 p. (in Russian)].

Поступила/Received 08.05.2019
Принята в печать/Accepted 04.12.2019

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Шамсутдинова Альфия Гумаровна, кандидат медицинских наук, руководитель центра инноваций и образования, АО «Центральная клиническая больница», Казахский национальный медицинский университет им. С.Д. Асфендиярова (г. Алматы, Республика Казахстан). E-mail: shamsutdinova@cckb.kz. SPIN-код: 4487-0310. AuthorID (РИНЦ): 972187. Researcher ID (WOS): G-1163-2018. ORCID: 0000-0001-7802-4254.

Турдалиева Ботагоз Сантовна, доктор медицинских наук, профессор, руководитель департамента науки и инноваций, АО «Казахский медицинский университет непрерывного образования (г. Алматы, Республика Казахстан). SPIN-код: 4182-3936. AuthorID (РИНЦ): 629008. Researcher ID (WOS): G-1163-2018. ORCID: 0000-0001-9884-0777.

Рамазанова Бахыт Амануллиновна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой микробиологии и вирусологии, Казахский национальный медицинский университет им. С.Д. Асфендиярова (г. Алматы, Республика Казахстан). SPIN-5544-9700. AuthorID (РИНЦ): 715561. ORCID: 0000-0003-3446-202X.

Белтенова Айжан Галымовна, магистр физики, специалист отдела науки и инноваций центра инноваций и образования, АО «Центральная клиническая больница» (г. Алматы, Республика Казахстан). SPIN-код: 3550-0970. AuthorID (РИНЦ): 919052. Researcher ID (WOS): NI-8847-2017. ORCID: 0000-0002-0690-839X.

ВКЛАД АВТОРОВ

Шамсутдинова Альфия Гумаровна: разработка концепции научной работы, интерпретация данных, составление черновика рукописи.

Турдалиева Ботагоз Саитовна: разработка концепции научной работы и дизайна исследования, анализ научной работы, утверждение финальной рукописи.

Рамазанова Бахыт Амануolloвна: анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Белтенова Айжан Галымовна: статистическая обработка первичного материала.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы объявляют, что у них нет конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Alfia G. Shamsutdinova, PhD, Head of the Center for Innovation and Education, Central Clinical Hospital, S.D. Asfendiyarova Kazakh National Medical University (Almaty, the Republic of Kazakhstan). E-mail: shamsutdinova@ckb.kz. Researcher ID (WOS): G-1163-2018. ORCID: 0000-0001-7802-4254.

Botagoz S. Turdalieva, MD, DSc, Professor, Head of the Department of Science and Innovation, Kazakh Medical University of Continuing Education (Almaty, the Republic of Kazakhstan). Researcher ID (WOS): G-1163-2018. ORCID: 0000-0001-9884-0777.

Bakhyt A. Ramazanova, MD, DSc, Professor, Head of the Department of Microbiology and Virology, S.D. Asfendiyarov Kazakh National Medical University (Almaty, the Republic of Kazakhstan). ORCID: 0000-0003-3446-202X.

Ayzhan G. Beltenova, Master of Physics, Specialist of the Department of Science and Innovations at the Center for Innovation and Education of Central Clinical Hospital (Almaty, the Republic of Kazakhstan). Researcher ID (WOS): NI-8847-2017. ORCID: 0000-60002-0690-839X.

AUTHOR CONTRIBUTION

Alfia G. Shamsutdinova: concept design, data interpretation, drafting of the manuscript.

Botagoz S. Turdalieva: study conception and design, analysis of the study results, final approval the manuscript.

Bakhyt A. Ramazanova: analysis of the study results, critical revision for the important intellectual content.

Ayzhan G. Beltenova: statistical data analysis.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

DOI: 10.21294/1814-4861-2020-19-4-24-32
УДК: 616.24-073.756.8

Для цитирования: *Сергеев Н.И., Измайллов Т.Р., Котляров П.М., Лагкуева И.Д., Солодкий В.А.* Перфузионная компьютерная томография в определении природы очаговой патологии легких: клинический и статистический анализ. Сибирский онкологический журнал. 2020; 19(4): 24–32. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-4-24-32.
For citation: *Sergeev N.I., Izmailov T.R., Kotlyarov P.M., Lagkueva I.D., Solodky V.A.* Perfusion computed tomography in determining the nature of focal pulmonary lesions: clinical and statistic analysis. Siberian Journal of Oncology. 2020; 19(4): 24–32. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-4-24-32.

ПЕРФУЗИОННАЯ КОМПЬЮТЕРНАЯ ТОМОГРАФИЯ В ОПРЕДЕЛЕНИИ ПРИРОДЫ ОЧАГОВОЙ ПАТОЛОГИИ ЛЕГКИХ: КЛИНИЧЕСКИЙ И СТАТИСТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ

Н.И. Сергеев, Т.Р. Измайллов, П.М. Котляров, И.Д. Лагкуева, В.А. Солодкий

ФГБУ «Российский научный центр рентгенорадиологии» Министерства здравоохранения
Российской Федерации, г. Москва, Россия
Россия, 117997, г. Москва, ул. Профсоюзная, 86. E-mail: mailbox@rncrr.rssi.ru

Аннотация

Введение. Современный уровень развития диагностических технологий позволяет проводить измерения большого количества параметров кровотока патологических процессов с помощью лучевых методов исследования. Одной из таких методик является перфузионная компьютерная томография (ПКТ), отработка протоколов выполнения и анализ полученных данных при различных патологиях легких – актуальная задача торакальной радиологии. **Целью исследования** явился анализ достоверности показателей КТ-перфузии в определении природы очаговых образований легких данными статистического анализа. **Материал и методы.** Проанализированы данные ПКТ 60 пациентов с доброкачественными и злокачественными изменениями в легких на 128-срезовом компьютерном томографе. **Выводы.** Средние показатели PS, TTP являются основными и ведущими факторами определения природы очага в легких. Комплексный анализ данных МСКТ с КТ-перфузией позволяет достоверно высказаться о природе очагов в легких. Даны практические рекомендации при проведении перфузионных КТ-исследований легких.

Ключевые слова: статистический анализ, перфузионная компьютерная томография, легкие, очаговое образование.

PERFUSION COMPUTED TOMOGRAPHY IN DETERMINING THE NATURE OF FOCAL PULMONARY LESIONS: CLINICAL AND STATISTIC ANALYSIS

N.I. Sergeev, T.R. Izmailov, P.M. Kotlyarov, I.D. Lagkueva, V.A. Solodky

Federal State Budgetary Institution Russian Scientific Center of Roentgenoradiology
of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russia
86, Profsoyuznaya Street, 117997-Moscow, Russia. E-mail: mailbox@rncrr.rssi.ru

Abstract

Introduction. Advances in diagnostic imaging techniques have made it possible to measure a large number of blood flow parameters of pathological processes, and one of these techniques is perfusion computed

tomography (PCT). **The aim of the study** was to confirm the reliability of CT perfusion findings in determining the nature of focal pulmonary lesions using statistical analysis data. **Material and Methods.** A 128-slice CT scanner was used to analyze PCT findings in 60 patients with benign and malignant lung tumors. **Conclusion.** The average PS and TTP values are the main factors in determining the nature of pulmonary lesions. Conclusion: multi-slice CT perfusion imaging is a valuable technique in determining the nature of focal pulmonary lesions. Practical recommendations are given for performing CT-perfusion imaging of the lungs.

Key words: oncology, lung, diagnostics, MRI-DCE, CT-perfusion.

Введение

Первичная и дифференциальная диагностика патологии легких является актуальной проблемой современной рентгенологии, ведущим методом которой является мультиспиральная компьютерная томография [1, 2]. С внедрением скрининговых проектов для раннего выявления рака увеличивается и количество так называемых случайных находок в легких, порой ставящих врача-рентгенолога в затруднительное положение ввиду отсутствия патогномичных признаков [3, 4]. Ответом в подобных ситуациях может служить использование дополнительных методов, позволяющих получать иные качественные или количественные характеристики объектов [5, 6].

С развитием технологий многосрезовой компьютерной томографии появилась методика КТ-перфузии, или перфузионная КТ (ПКТ), позволяющая оценивать распределение и прохождение контрастированной крови в различных тканях организма, в том числе в очаговых образованиях легких. Согласно данным литературы, с помощью ПКТ можно с высокой долей вероятности высказаться о природе очагов в легких размерами свыше 1 см, интерпретированных как неопределенные при стандартной МСКТ [7]. Полученные данные, представленные такими параметрами, как объем и скорость кровотока, проницаемость сосудистой стенки, время максимальной концентрации и др., дают представление об ангиогенезе образования и позволяют предполагать характер выявленных изменений [8, 9]. Однако большое количество измеряемых параметров (стандартный протокол включает 8), разница в гемодинамических показателях как у разных больных, так и у одного пациента при разных исследованиях, сочетание различных патологий имеют зачастую большую вариабельность и неоднозначную трактовку [10]. Полученные результаты исследований требуют комплексной оценки всех данных, достоверность которых должна быть подтверждена современными методами медицинской статистики.

Цель исследования – оценить достоверность показателей КТ-перфузии в определении природы очаговых образований легких данными статистического анализа.

Материал и методы

Перфузионная компьютерная томография (ПКТ) выполнена 60 пациентам с верифицированными доброкачественными и злокачественными изме-

нениями в легких по ранее описанной методике [10]. Очаги злокачественной и доброкачественной природы верифицированы по результатам пункционной биопсии, гистологического исследования операционного материала у 44 (73 %) пациентов; лабораторных методов исследования – у 10 (16 %); а также по отсутствию динамики на протяжении длительного времени – у 6 (10 %) больных. Среди них у 16 (27 %) человек были первичные эпителиальные опухоли легкого (мелкоклеточный рак, немелкоклеточный с различными гистологическими подтипами – аденокарцинома, плоскоклеточный, крупноклеточный). У 14 (23 %) больных имело место метастатическое поражение легких различных первичных злокачественных новообразований: рак молочной железы, легкого, почки, толстой кишки, репродуктивной системы, остеогенная саркома. Доброкачественные изменения у 10 (16 %) пациентов были представлены очагами воспалительной этиологии (бактериальной – 90 %, грибковой – 10 %), у 10 (16 %) – гамартомой с разным соотношением в структуре жировой, мышечной, соединительной ткани, у 6 (10 %) – фиброзными изменениями, у 4 (6 %) – туберкулемами.

Исследования выполнялись на 128-срезовой компьютерной томографе фирмы «General Electric», модель «Optima CT660». Постпроцессинговая обработка данных исследования проводилась на рабочей станции Advantage Workstation (GE). Данные ранее проведенного компьютерного томографического исследования с внутривенным болюсным усилением этих пациентов были дополнены перфузионной компьютерной томографией. Размеры очагов варьировали от 1 до 4 см. В качестве количественных показателей перфузии, отображаемых разницей насыщения на цветовых картах, нами рассчитывались следующие параметры:

- BV, мл/100г – общий объем крови, проходящей через сосуды в выбранной зоне;
- BF, мл/100г/мин – скорость прохождения определенного объема крови через заданный объем ткани за единицу времени;
- МТТсек – среднее время прохождения крови через весь объем опухоли;
- PS, мл/100г/мин – проницаемость сосудов;
- ТТРсек – время достижения пиковой концентрации контрастного вещества.

Статистический анализ был выполнен с помощью специализированного программного

Таблица 1/ Table 1

Количественные показатели ПКТ в очагах с высокими значениями перфузии (средние значения)
Quantitative PCT parameters in lesions with high perfusion values (mean values)

Пациенты/ Patients (n=17)	BV, мл/100г/ BV, ml/100g	P	BF, мл/100г/ мин/ BF, ml/100g/ min	P	PS, мл/100г/ мин/ PS, ml/100g/ min	P	Tmax, сек/сек	P	TTP, сек/сек	P
Рак легкого/ Lung cancer (n=8)	57 (44–70)	0,143	688 (558–818)	0,119	225 (190–261)	0,099	7,5 (5–10)	0,205	29,5 (17–42)	0,255
Метастазы в легких/ Lung metastases (n=5)	55,5 (46–65)	0,108	700 (583–810)	0,106	180 (170–190)	0,035	7 (4–10)	0,258	31 (23–39)	0,161
Воспалительные очаги/ Inflammatory le- sions (n=4)	57 (47–68)	0,115	719 (620–806)	0,087	199 (168–231)	0,1	8 (4–12)	0,295	23,5 (10–37)	0,332

обеспечения IBM SPSS Statistics 20 и Stata 12.0. (Stata Corp, USA). Анализ параметров кровотока в очагах по данным ПКТ проводился по t критерию Стьюдента для двух независимых выборок. Результаты выражались в виде средних значений и стандартных отклонений, при этом оценка исследуемого параметра, которая, по крайней мере, в два раза превосходит свою стандартную ошибку ($t\text{-value} > 2,0$), рассматривалась как статистически значимая (на уровне $p < 0,05$).

Результаты

На основании полученных данных нативной и контрастной компьютерной томографии были определены первичные характеристики очагов – структура и плотность, размеры и наружные контуры, характер контрастирования. Затем были про-

анализированы цветовые карты, а также вычислены показатели перфузии, на основании которых выделены три типа очагов: с высокими значениями – 17 (28 %) наблюдений, средними – 18 (30 %) и низкими – 25 (41 %), которые были разделены на три типа.

В процессе работы получены три основных варианта графика контрастирования для относительных величин, отражающих зависимость плотности от времени в очаге при перфузионном сканировании. К первому типу относились высокие показатели васкуляризации очагов – 17 (28 %) больных (табл. 1). Очаги злокачественной природы имели высокие значения перфузии, что объясняется опухолевым неоангиогенезом. Пик гемодинамической кривой по характеру и интенсивности был сопоставим с аортой, что

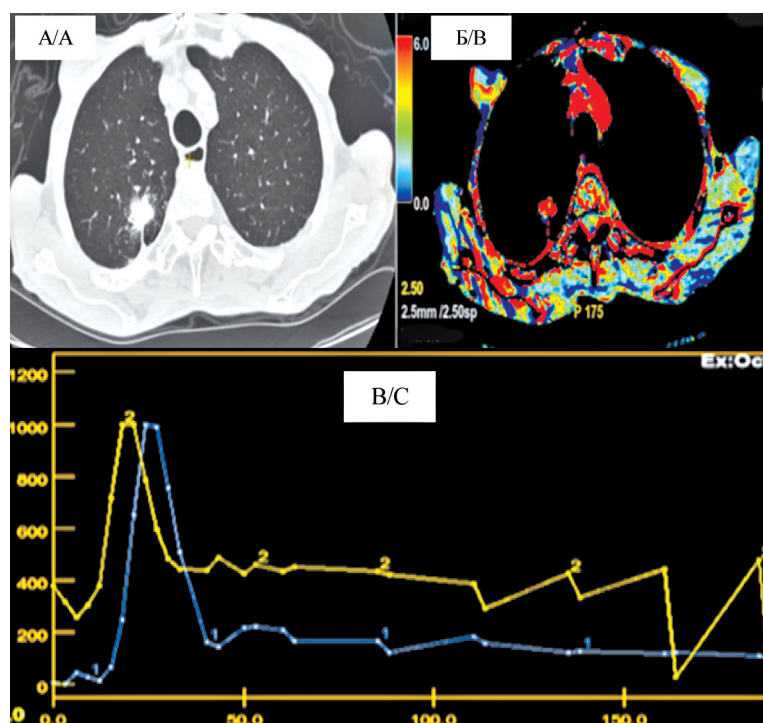


Рис. 1. Аденокарцинома правого легкого, перфузионная компьютерная томография: А) В 10 сегменте правого легкого определяется образование с признаками периферического рака; Б) Цветовая карта демонстрирует высокий неоангиогенез в очаге; В) Кривая концентрации контрастного вещества плотность/время в аорте – высокие количественные показатели перфузии в анализируемом очаге подтверждают его злокачественный характер

Fig. 1. Adenocarcinoma of right lung, CT perfusion: A) In the 10th segment of the right lung, a lesion with signs of peripheral cancer is visualized; B) Color map shows significant neoangiogenesis in the lesion; C) The curve of the concentration of the contrast medium density/time in the aorta – high quantitative perfusion parameters in the lesion confirm its malignant nature

Таблица 2/Table 2

Количественные показатели ПКТ в очагах со средними значениями перфузии (средние значения)
Quantitative PCT parameters in lesions with average perfusion values (average values)

Пациенты/ Patients (n=18)	BV, мл/100г/ BV, ml/100g	P	BF, мл/100г/ мин/ BF, ml/100g/ min	P	PS, мл/100г/ мин/ PS, ml/100g/ min	P	Tmax, сек/sec	P	TTP, сек/sec	P
Рак легкого/ Lung cancer (n=4)	37 (29–45)	0,136	412 (274–551)	0,206	130 (87–174)	0,205	17 (14–20)	0,111	67 (60–74)	0,066
Метастазы в лег- ких/ Lung metastases (n=7)	34 (24–44)	0,182	401 (279–523)	0,188	178 (175–182)	0,012	17 (14–20)	0,111	68 (56–80)	0,111
Хондрогамартома/ Chondrogamartoma (n=1)	25		273		9		15,5 (11–20)	0,18	24	
Воспалительные очаги/ Inflammatory lesions (n=6)	38 (30–46)	0,132	341 (273–409)	0,125	130 (92–168)	0,181	15 (10–20)	0,205	61,5 (46–77)	0,157

наблюдалось в том числе при аденокарциномах легкого (рис. 1).

Ко второму типу были отнесены 18 очаговых изменений, у которых показатели перфузии имели средние значения, не превышающие 50 % значений артериального пика в аорте. Хотя с учетом неоднородности субстрата характер кривой мог иметь небольшие отклонения в пределах 25 % относительно своих начальных значений, в целом при анализе последующих гемодинамических фаз он оставался выше уровня аорты. Подобные варианты перфузионных кривых регистрировались как при доброкачественных, так и при злокачественных изменениях, в связи с чем этот тип представлял наибольшую сложность в проведении дифференциального диагноза (табл. 2).

К третьему типу относились очаги с низкими показателями перфузии – 25 (41 %) больных. Большая часть доброкачественных изменений (гамартоты, туберкулемы и фиброзные изменения паренхимы) имели минимальные или даже нулевые значения

перфузии, при этом на гемодинамической кривой отсутствовала визуализация артериального пика в анализируемом образовании, фазовое деление было не выражено на протяжении всего паттерна (рис. 2). В очагах с низкой перфузией кривые пиковой концентрации плотность/время были минимальными, составляя не более 15 % от пика в аорте, либо вовсе имели отрицательные значения. При анализе цветовых карт в подгруппе изменений с низким типом перфузии в 17 из 25 наблюдений при стандартных настройках порога чувствительности на цветовых картах отсутствовала визуализация самих очагов (табл. 3). Как показал анализ, для их отображения необходимо уменьшать значение порога воздуха в единицах HU до уровня – 1000. При этом оценка параметров гемодинамики зоны интереса (BF, BV, PS, Tmax) производится визуаль-но по цветовым локусам и расчету количественных и качественных показателей кинетической кривой кровотока. Актуальным примером очагов с низкой перфузией являются очаговые фиброзные измене-

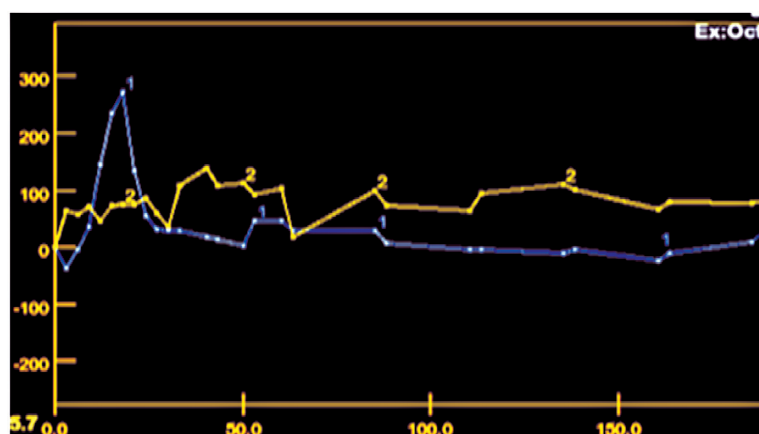


Рис. 2. Характер динамической кривой в очаге (хондрогамартома) с умеренной перфузией. На фоне артериального пика аорты (кривая 1) в образовании (кривая 2) отмечается отсутствие пика как такового, однако определяется повышенный уровень кровотока относительно аорты в последующие фазы

Fig. 2. The nature of the dynamic curve in the lesion (chondrogamartoma) with moderate perfusion. There is the arterial peak of the aorta (curve 1). In the lesion, there is no peak (curve 2), however, an increased level of blood flow relative to the aorta in the subsequent phases is determined

Таблица 3/Table 3

Количественные показатели ПКТ в очагах с низкими значениями перфузии (средние значения)
Quantitative PCT parameters in lesions with low perfusion values (average values)

Пациенты/ Patients (n=18)	BV, мл/100г/ BV, ml/100g	p	BF, мл/100г/ мин/ BF, ml/100g/ min	p	PS, мл/100г/ мин/ PS, ml/100g/ min	p	Tmax, сек/sec	p	TTP, сек/sec	p
Рак легкого/ Lung cancer (n=4)	11,5 (0–23)	0,5	93,5 (0–187)	0,5	27 (0–54)	0,5	30		84	
Метастазы в легких/ Lung metastases (n=2)	7,5 (0–15)	0,5	20 (0–40)	0,5	46 (0–92)	0,5	27,5 (25–30)	0,58	75 (63–87)	0,101
Хондрогамартома/ Chondrogamartoma (n=9)	6 (0–12)	0,5	30 (0–60)	0,5	4,5 (0–9)	0,5	25 (20–30)	0,126	87 (84–90)	0,022
Туберкулема/ Tuberculoma (n=4)	5,5 (0–11)	0,5	15 (0–30)	0,5	2 (0–4)	0,5	27 (26–28)	0,024	99,5 (79–120)	0,129
Фиброзные изме- нения/ Fibrous changes (n=6)	2 (0–4)	0,5	11,5 (0–23)	0,5	3,5 (0–7)	0,5	25,5 (24–27)	0,037	86 (83–89)	0,022

Таблица 4/Table 4

T-критерии параметров кровотока у 60 пациентов с доброкачественными и злокачественными процессами в легких
T-criteria for blood flow parameters in 60 patients with benign and malignant lung tumors

Параметры кровотока/ Blood flow parameters	p	95 % доверительный интервал для разности/ 95% confidence the difference	
		Нижняя/Bottom	Верхняя/Top
PS min	0,017	1,054	9,405
PS max	0,011	30,268	204,638
PS ср.	0,038	2,35039	74,04573
PS ср.откл.	0,018	6,37019	57,65781
TTP min	0,008	2,536	14,511
TTP max	0,002	26,409	98,861
TTP ср.	0,008	8,22026	45,65327
TTP ср.откл.	0,008	4,50647	25,67928
BV min	0,074	-0,596	11,584
BV max	0,069	-3,133	74,650
BV ср.	0,022	2,21602	24,80668
BV ср.откл.	0,060	-0,25780	11,38462
BF min	0,201	-37,383	164,466
BF max	0,004	92,493	408,025
BF ср.	0,018	28,54846	268,41283
BF ср.откл.	0,015	9,40036	76,78175
T-max min	0,152	-0,4684	2,7507
T-max max	0,002	11,3796	42,9804
T-max ср.	0,004	3,13118	13,92011
T-max ср.откл.	0,004	2,43059	11,14247

ния легочной ткани, которые, однако, по данным стандартной МСКТ представляют значительные сложности для дифференциальной диагностики. Из 25 пациентов с верифицированными доброкачественными изменениями фиброзные очаги в легких, размер которых составлял 25–40 мм, были выявлены у 6 (24 %) пациентов. Эти больные отрицали наличие пневмонии в ближайшие 4–5 лет, т.е. данные изменения можно отнести к проявлениям давних воспалительных процессов в легких. КТ с контрастным усилением показала увеличение плотности очагов на 10–14 HU, что не позволяло исключить злокачественность поражения и послужило показанием к проведению перфузионной КТ. У 2 пациентов очаг не отразился на перфузионной карте, что указывало на низкую степень васкуляризации, у 4 пациентов цветовые карты и кривые пиковой концентрации плотность/время в аорте демонстрировали низкие параметры кровотока, близкие к нулевой отметке (рис. 3). Таким образом, несмотря на ограниченное число наблюдений, следует полагать, что перфузионная КТ позволяет уточнить результаты МСКТ с контрастным усилением в трактовке доброкачественности фиброзных изменений в легких.

Сравнительный анализ в группах больных с доброкачественными и злокачественными изменениями в легких проводился по следующим параметрам кровотока в очаговом образовании: проницаемость (PS); время достижения пиковой концентрации контрастного вещества (TTP), объемного кровотока (BV), скорость кровотока (BF). Оценивались минимальные, максимальные, средние и среднее отклонение (табл. 4). При этом отмечено, что имеются значимые различия по PS в средних значениях ($p=0,038$), в максимальных

и минимальных значениях ($p=0,017$; $p=0,011$), а также в среднем отклонении ($p=0,018$). При анализе TTP также отмечены значимые отличия в минимальных, максимальных, средних и среднем отклонении значений ($p=0,008$; $p=0,002$; $p=0,008$; $p=0,008$). Стоит отметить, что при оценке BV в выбранном очаге получены значимые различия лишь в средних значениях ($p=0,022$). Показатель BF в минимальных значениях оказался не значимым ($p=0,201$), в максимальном, среднем и среднем отклонении – достоверным ($p=0,004$; $p=0,018$; $p=0,015$). Показатели времени максимальной концентрации контрастного вещества в очаге (Tmax) были недостоверными в минимальных числах ($p=0,152$), а в среднем, максимальном и среднем отклонении выявлены достоверные различия ($p=0,002$; $p=0,004$; $p=0,004$). Таким образом, средние показатели PS, TTP как при злокачественных, так и при доброкачественных процессах в легких являются ведущими факторами при оценке КТ-перфузии.

По данным анализа выборки и средних значений показателей оценки перфузии очагов в легких группы были сопоставимы. При анализе независимых выборок по t-критерию по показателям перфузии пациентов со злокачественными (1) и доброкачественными (0) очаговыми изменениями в легких выявлено, что значение BF и BV в исследуемой зоне статистически не значимо по всем величинам (минимальные, максимальные, средние и среднее отклонения). PSmin в доброкачественных и злокачественных очагах оказалась статистически достоверна ($p=0,046$; $p=0,013$); средние значения не оказались достоверными в обеих группах ($p=0,130$; $p=0,053$); максимальная проницаемость и средние отклонения были значимыми в группе со

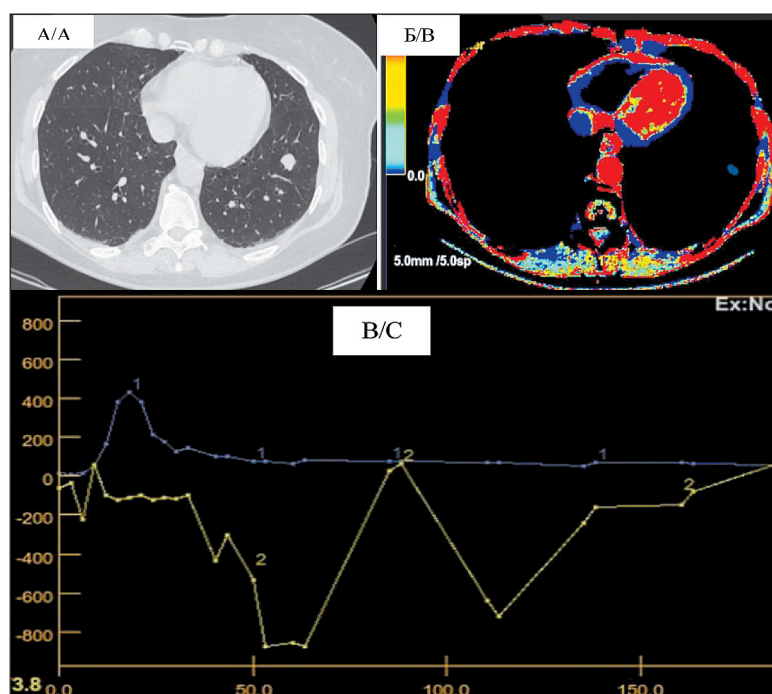


Рис. 3. Фиброзные изменения в левом легком. МСКТ органов грудной клетки с контрастным усилением: А) На границе 6 и 10 сегментов левого легкого определяется мягкотканое образование неправильной формы; Б) ПКТ зоны интереса – низкие показатели кровотока на цветовой карте; В) кривая концентрации контрастного вещества плотность/время в аорте – параметры кровотока близки к нулевой отметке

Fig. 3. Fibrous changes in the left lung. MSCT of the chest organs with contrast enhancement: A) At the border of 6 and 10 segments of the left lung, soft tissue lesion of irregular shape is determined; B) PKT of the area of interest – color map shows low blood flow; C) The curve of the concentration of contrast medium density/time in the aorta – blood flow parameters are close to zero

Таблица 5/Table 5

Однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) показателей перфузии у пациентов со злокачественными и доброкачественными очаговыми изменениями в легких

Univariate analysis (ANOVA) of perfusion parameters in patients with malignant and benign lung tumors

Параметры кровотока/ Blood flow parameters	F	p
PS min	4,746	0,046
PS max	4,134	0,060
PS ср.	2,561	0,130
PS ср.откл.	3,435	0,084
TTP min	5,758	0,030
TTP max	6,792	0,020
TTP ср.	5,849	0,029
TTP ср.откл.	4,132	0,060
BV min	2,137	0,164
BV max	0,947	0,346
BV ср.	1,902	0,188
BV ср.откл.	0,720	0,409
BF min	0,970	0,340
BF max	1,299	0,272
BF ср.	0,506	0,488
BF ср.откл.	0,121	0,733
Tmax min	1,252	0,281
Tmax max	4,700	0,047
Tmax ср.	8,002	0,013
Tmax ср.откл.	5,170	0,038

злокачественными опухолями ($p=0,019$; $p=0,029$), а в группе с доброкачественными – нет ($p=0,06$; $p=0,084$). По TTP в очаге выявлены значимые различия по всем анализируемым величинам в обеих группах, за исключением показателей среднего отклонения у пациентов с доброкачественными изменениями ($p=0,060$). Tmax/min был не значимым в обеих группах ($p=0,281$; $p=0,155$), а максимальные и средние отклонения оказались статистически достоверными при доброкачественных и злокачественных процессах ($p<0,05$).

Таким образом, анализ t-критерия равенства независимых выборок показателей перфузии пациентов со злокачественными и доброкачественными очагами в легких показал, что основными достоверными параметрами кровотока в обеих группах оказались TTP в очаге и Tmax, что является дифференциально диагностическим критерием для определения природы выявленных изменений.

При однофакторном дисперсионном анализе (ANOVA) показателей перфузии у пациентов в

обеих группах BV и BF оказались статистически не значимыми ($p>0,05$) (табл. 5). Показатель PS min сосудистой стенки в сравниваемых группах оказался достоверно значим ($p=0,046$), а другие величины (PS max; PS ср.; PS ср. откл.) были незначимыми. TTP min, TTP max, TTP ср. были статистически достоверными ($p=0,03$; $p=0,02$; $p=0,02$); что касается TTP ср. откл. – различия не выявлены ($p=0,06$). PS min у пациентов в обеих группах был не достоверен ($p=0,281$), а PS max, PS ср., PS ср. откл. оказались статистически значимыми у всех пациентов ($p=0,047$; $p=0,013$; $p=0,038$).

Таким образом, проведенный статистический анализ данных цифровой обработки перфузионной компьютерной томографии, в том числе с помощью разработанной модели многофункционального однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA), в ряде случаев достоверно показывает принадлежность природы очаговой патологии легких, а также выделяет наиболее значимые параметры перфузии.

Обсуждение

Определение уровня перфузии того или иного объекта заключается в анализе цветовых карт и характера кривой гемодинамики образования. Однако результаты работы показали неоднозначную корреляцию между клиническими и статистическими данными. Сложность заключается в наличии высоких показателей кровотока при воспалительных изменениях, которые могут имитировать злокачественные новообразования легких, что подтверждается и предыдущими исследованиями [11]. Анализ литературы показывает также вариативность трактовки данных перфузионной компьютерной томографии, в некоторых работах отмечена недостоверность показателей BV, BF, PS, однако получены значимые различия показателей BF и MTT при аденокарциномах [12]. В нашем исследовании при однофакторном дисперсионном анализе показателей перфузии у пациентов со злокачественными и доброкачественными очаговыми изменениями в легких также не выявлен ведущий критерий, в котором все четыре величины были статистически значимыми, поэтому важным элементом анализа является визуализация гемодинамических кривых с визуализацией изменений на цветовой карте. Временные показатели, а именно TTP и Tmax в очаге, являются наиболее важными в диагностике образований в легких, однако мы также рекомендуем всегда оценивать скорость и объем кровотока, которые в комплексе с уровнем проницаемости (PS), нативными и контрастными данными позволяют приблизиться к пониманию природы выявляемых изменений. Для формирования более четких критериев доброкачественности перфузионных показателей требуется больший объем клинических наблюдений.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Золотницкая В.П., Тишков А.В., Агафонов А.О., Страх Л.В., Амосова О.В. Новые возможности обработки результатов радиологического исследования легких. Российский электронный журнал лучевой диагностики. 2019; 9(2): 98–106. [Zolotnitskaia V.P., Tishkov A.V., Agapov A.O., Strach L.V., Amosova O.V. New possibilities of processing the results of lungs radiological studies. Russian Electronic Journal of Radiology. 2019; 9(2): 98–106. (in Russian)].
2. Котляров П.М., Сергеев Н.И. Лучевые методы исследования в дифференциальной диагностике паразитарных и опухолевых поражений легких. Сибирский онкологический журнал. 2016; 15(4): 33–39. [Kotlyarov P.M., Sergeev N.I. Imaging techniques in the differential diagnosis of parasitic lung diseases and lung cancer. Siberian Journal of Oncology. 2016; 15(4): 33–39. (in Russian)]. doi: 10.21294/1814-4861-2016-15-4-33-39.
3. Sim Y.T., Poon F.W. Imaging of solitary pulmonary nodule—a clinical review. Quant Imaging Med Surg. 2013 Dec; 3(6): 316–26. doi: 10.3978/j.issn.2223-4292.2013.12.08.
4. Юдин А.Л., Афанасьева Н.И., Блажко В.Д., Мясников Д.А., Юматова Е.А. Одновременное выявление туберкулеза и ВИЧ-инфекции. Российский медицинский журнал. 2017; 23(1): 11–17. [Yudin A.L., Afanaseva N.I., Blazhko V.D., Myasnikov D.A., Yumatova E.A. The simultaneous detection of tuberculosis and HIV-infection. Russian Medical Journal. 2017; 23(1): 11–17. (in Russian)].
5. Mazzei M.A., Cioffi Squitieri N., Guerrini S., Di Crescenzo V., Rossi M., Fonio P., Mazzei F.G., Volterrani L. Quantitative CT perfusion measurements in characterization of solitary pulmonary nodules: new insights and limitations. Recent Prog Med. 2013 Jul-Aug; 104(78): 430–7.
6. Котляров П.М., Лагкуева И.Д., Сергеев Н.И., Солодкий В.А. Магнитно-резонансная томография в диагностике заболеваний легких. Пульмонология. 2018; 28(2): 217–223. [Kotlyarov P.M., Lagkueva I.D., Sergeev N.I., Solodkiy V.A. Magnetic resonance imaging for diagnostics of lung diseases. Pulmonologiya. 2018; 28(2): 217–223. (in Russian)].
7. Wang Q., Zhang Z., Shan F., Shi Y., Xing W., Shi L., Zhang X. Intra-observer and inter-observer agreements for the measurement of dual-input whole tumor computed tomography perfusion in patients with lung cancer: Influences of the size and inner-air density of tumors. Thorac Cancer. 2017 Sep; 8(5): 427–435. doi: 10.1111/1759-7714.12458.
8. Lv Y., Jin Y., Xu D., Yan Q., Liu G., Zhang H., Yuan D., Bao J. Assessment of 64-slice spiral computed tomography with perfusion weighted imaging in the early diagnosis of ground-glass opacity lung cancer. J BUON. 2016 Jul-Aug; 21(4): 954–957.
9. Ma E., Ren A., Gao B., Yang M., Zhao Q., Wang W., Li K. ROI for outlining an entire tumor is a reliable approach for quantification of lung cancer tumor vascular parameters using CT perfusion. Onco Targets Ther. 2016 Apr 27; 9: 2377–84. doi: 10.2147/OTT.S98060.
10. Petralia G., Bonello L., Viotti S., Preda L., d'Andrea G., Bellomi M. CT perfusion in oncology: how to do it. Cancer Imaging. 2010 Feb 11; 10(1): 8–19. doi: 10.1102/1470-7330.2010.0001.
11. Лагкуева И.Д., Сергеев Н.И., Котляров П.М., Измайлов Т.Р., Падалко В.В., Солодкий В.А. Перфузионная компьютерная томография в уточнении природы очаговой патологии легких. Лучевая диагностика и терапия. 2019; 1(10): 62–68. [Lagkueva I.D., Sergeev N.I., Kotlyarov P.M., Izmailov T.R., Padalko V.V., Solodkiy V.A. Perfusion computed tomography in refinement nature and focal lung disease. Diagnostic Radiology and Radiotherapy. 2019; 1(10): 62–68. (in Russian)]. doi: 10.22328/2079-5343-2019-10-1-62-68.
12. Силантьева Н.К., Петросян А.П., Каприн А.Д., Иванов С.А., Усачева А.Ю., Мозеров С.А., Куприянова Е.И. Дифференциальная диагностика одиночных очагов легких: что дает перфузионная компьютерная томография? Russian Electronic Journal of Radiology. 2018; 8(4): 83–94. [Silanteva N.K., Petrosian A.P., Kaprin A.D., Ivanov S.A., Usacheva A.Yu., Mozerov S.A., Kupriyanova E.I. Differential diagnosis of solitary pulmonary nodule: what does ct-perfusion give? Russian Electronic Journal of Radiology. 2018; 8(4): 83–94. (in Russian)]. doi: 10.21569/2222-7415-2018-8-4-83-94.

Поступила/Received 04.10.2019
Принята в печать/Accepted 23.03.2020

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Сергеев Николай Иванович, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник научно-исследовательского отдела новых технологий и семиотики лучевой диагностики заболеваний органов и систем, ФГБУ «Российский научный центр рентгенодиагностики» Минздрава России (г. Москва, Россия). E-mail: sergeevnikolay@yandex.ru. SPIN-код: 2408-6502. AuthorID (РИНЦ): 720796. ORCID: 0000-0003-4147-1928.

Измайлов Тимур Раисович, доктор медицинских наук, заведующий дневным радиотерапевтическим стационаром, ФГБУ «Российский научный центр рентгенодиагностики» Минздрава России (г. Москва, Россия).

Котляров Петр Михайлович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий научно-исследовательским отделом новых технологий и семиотики лучевой диагностики заболеваний органов и систем, ФГБУ «Российский научный центр рентгенодиагностики» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 1781-2199. AuthorID (РИНЦ): 194339.

Лагкуева Ирина Джабраиловна, младший научный сотрудник научно-исследовательского отдела новых технологий и семиотики лучевой диагностики заболеваний органов и систем, ФГБУ «Российский научный центр рентгенодиагностики» Минздрава России (г. Москва, Россия).

Солодкий Владимир Алексеевич, академик РАН, профессор, директор ФГБУ «Российский научный центр рентгенодиагностики» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 9556-6556. AuthorID (РИНЦ): 440543.

ВКЛАД АВТОРОВ

Сергеев Николай Иванович: анализ и систематизация материала, написание текста статьи, оформление работы.

Измайлов Тимур Раисович: статистическая обработка данных.

Котляров Петр Михайлович: разработка концепции научной работы, обзор публикаций по теме статьи, написание текста статьи.

Лагкуева Ирина Джабраиловна: проведение исследований, сбор и предоставление материала.

Солодкий Владимир Алексеевич: 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 AUTHOR

Nikolai I. Sergeev, MD, DSc, Leading Researcher, Department of New Technologies and Semiotics of Diagnostic Imaging, Russian Scientific Center of Roentgenoradiology of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation (Moscow, Russia). E-mail: sergeevnickolay@yandex.ru. ORCID: 0000-0003-4147-1928.

Timur R. Izmailov, MD, DSc, Head of Radiotherapy Department, Russian Scientific Center of Roentgenoradiology of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation (Moscow, Russia).

Petr M. Kotlyarov, MD, DSc, Professor, Head of Department of New Technologies and Semiotics of Diagnostic Imaging, Russian Scientific Center of Roentgenoradiology of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation (Moscow, Russia).

Irina D. Lagkueva, Junior Researcher, Department of New Technologies and Semiotics of Diagnostic Imaging, Russian Scientific Center of Roentgenoradiology of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation (Moscow, Russia).

Vladimir A. Solodky, MD, Member of the Russian Academy of Sciences, Professor, Director of the Russian Scientific Center of Roentgenoradiology of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation (Moscow, Russia).

AUTHOR CONTRIBUTION

Nikolai I. Sergeev: analysis of the study results, writing the manuscript.

Timur R. Izmailov: statistical data analysis.

Petr M. Kotlyarov: study conception, review of publications, writing of the manuscript.

Irina D. Lagkueva: data collection, data analysis.

Vladimir A. Solodky: analysis of the study results, 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.

Для цитирования: Сударкина А.В., Дергилев А.П., Горбунов Н.А., Козлов В.В., Фокина Ю.А., Климова И.П., Ягубкин П.А. Возможности диффузионно-взвешенных изображений в дифференциальной диагностике злокачественной и доброкачественной медиастиальной лимфаденопатии. Сибирский онкологический журнал. 2020; 19(4): 33–40. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-4-33-40.

For citation: Sudarkina A.V., Dergilev A.P., Gorbunov N.A., Kozlov V.V., Fokina Yu.A., Klimova I.P., Yagubkin P.A. Diffusion-weighted imaging for differentiating malignant from benign mediastinal lymphadenopathy. Siberian Journal of Oncology. 2020; 19(4): 33–40. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-4-33-40.

ВОЗМОЖНОСТИ ДИФфуЗИОННО-ВЗВЕШЕННЫХ ИЗОБРАЖЕНИЙ В ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКЕ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОЙ И ДОБРОКАЧЕСТВЕННОЙ МЕДИАСТИНАЛЬНОЙ ЛИМФАДЕНОПАТИИ

А.В. Сударкина^{1,2}, А.П. Дергилев^{1,2}, Н.А. Горбунов^{1,2}, В.В. Козлов^{1,3},
Ю.А. Фокина³, И.П. Климова⁴, П.А. Ягубкин⁴

ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет», г. Новосибирск, Россия¹
Россия, 630091, г. Новосибирск, Красный проспект, 52.

E-mail: a.sudarkina@mail.ru¹

ЧУЗ «Клиническая больница «РЖД-Медицина» города Новосибирск», г. Новосибирск, Россия²
Россия, 630003, г. Новосибирск, ул. Владимировский спуск, 2а²

ГБУЗ НСО «Новосибирский областной клинический онкологический диспансер»,
г. Новосибирск, Россия³

Россия, 630108, г. Новосибирск, ул. Плахотного, 2³

ФГБУ «Новосибирский научно-исследовательский институт туберкулеза», г. Новосибирск, Россия⁴
Россия, 630040, г. Новосибирск, ул. Охотская, 81а⁴

Аннотация

Введение. Медиастиальная лимфаденопатия может быть обусловлена широким спектром доброкачественных и злокачественных заболеваний. Определение характера лимфаденопатии играет ключевую роль в выборе тактики лечения и оценке прогноза заболевания. **Цель исследования** – изучить возможности диффузионно-взвешенных изображений (ДВИ) с оценкой измеряемого коэффициента диффузии (ИКД) в дифференциальной диагностике злокачественных и доброкачественных форм медиастиальной лимфаденопатии. **Материал и методы.** В исследование включено 48 пациентов с наличием как минимум одного увеличенного медиастиального лимфоузла по результатам компьютерной томографии. Исследование проводилось на магнитно-резонансном томографе с напряженностью поля 1,5 Тл с получением традиционных изображений и синхронизированных с дыханием ДВИ. У каждого пациента выбирался один из наиболее крупных солидных лимфоузлов, в котором оценивалось среднее значение ИКД. Значения ИКД сравнивались с результатами гистологического исследования (у 41 пациента), комплексного клиничко-лучевого обследования и динамического наблюдения. Для статистической обработки результатов исследования использовались t-критерий Стьюдента, U-критерий Манна – Уитни, ROC-анализ. **Результаты.** У 27 пациентов установлено злокачественное поражение лимфоузлов (метастазы, лимфома), у 21 – доброкачественные изменения (саркоидоз, реактивная гиперплазия, туберкулез). Среднее значение ИКД при злокачественной лимфаденопатии ($1,02 \pm 0,29 \times 10^{-3}$ мм²/с) оказалось ниже, чем при доброкачественной ($1,57 \pm 0,32 \times 10^{-3}$ мм²/с), отличия статистически значимы ($p < 0,0001$). Пороговое значение ИКД, составившее $\leq 1,3 \times 10^{-3}$ мм²/с (95 % доверительный интервал: 1,06; 1,64), позволило выявлять злокачественное поражение лимфоузлов с чувствительностью 81,5 % и специфичностью 85,7 %; площадь под ROC-кривой составила 0,89 (95 % доверительный интервал: 0,77; 0,96), $p < 0,0001$. **Заключение.** ДВИ являются перспективным методом лучевой диагностики патологии органов грудной клетки. ДВИ с оценкой ИКД могут быть использованы в качестве дополнительной методики в комплексном обследовании пациентов с медиастиальной лимфаденопатией.

Ключевые слова: диффузионно-взвешенные изображения, ДВИ, измеряемый коэффициент диффузии, ИКД, медиастиальная лимфаденопатия.

DIFFUSION-WEIGHTED IMAGING FOR DIFFERENTIATING MALIGNANT FROM BENIGN MEDIASTINAL LYMPHADENOPATHY

**A.V. Sudarkina^{1,2}, A.P. Dergilev^{1,2}, N.A. Gorbunov^{1,2}, V.V. Kozlov^{1,3},
Yu.A. Fokina³, I.P. Klimova⁴, P.A. Yagubkin⁴**

Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia¹

52, Krasny prospect, 630091-Novosibirsk, Russia. E-mail: a.sudarkina@mail.ru¹

Novosibirsk Railway Clinical Hospital, Novosibirsk, Russia²

2a, Vladimirovskiy spusk, 630003-Novosibirsk, Russia²

Novosibirsk Regional Oncology Clinic, Novosibirsk, Russia³

2, Plakhotnogo Street, 630108-Novosibirsk, Russia³

Novosibirsk Tuberculosis Research Institute, Novosibirsk, Russia⁴

81a, Okhotskaya Street, 630040-Novosibirsk, Russia⁴

Abstract

Introduction. Mediastinal lymphadenopathy can be caused by a wide range of benign and malignant states. Determination of the genesis of lymphadenopathy is crucial for treatment planning and prognosis of the disease. **The purpose of the study** was to evaluate the diagnostic accuracy of diffusion weighted imaging (DWI) with apparent diffusion coefficient (ADC) measurements in differentiating malignant versus benign mediastinal lymphadenopathy. **Material and Methods.** 48 consecutive patients with at least one enlarged mediastinal lymph node revealed on CT-scans were examined on 1,5 T MR-machine with conventional images and respiratory-triggered DWI. In all patients one of the biggest solid lymph nodes was selected for ADC measurements and mean ADCs of each node were recorded. ADCs were correlated with the results of complete diagnostic work-up (including histopathological diagnosis in 41 patients) and follow-up CT. Statistics included Student's t-test, Mann-Whitney U-test and ROC-curve analysis. **Results.** 27 lymph nodes were classified as malignant (metastases, lymphoma) and 21 lymph nodes were classified as benign (sarcoidosis, reactive hyperplasia, tuberculosis). Mean ADC of malignant lymph nodes ($1,02 \pm 0,29 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$) was significantly lower than that of benign lymph nodes ($1,57 \pm 0,32 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$), $p < 0,0001$. The cut-off value of $\leq 1,3 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$ for ADC indicated the malignancy with a sensitivity of 81,5 % and a specificity of 85,7%. The area under the ROC-curve was 0,89 (95 % confidence interval: 0,77, 0,96), $p < 0,0001$. **Conclusion.** DWI is a promising technique in chest pathology. DWI with ADC measurements could be used as a good complementary tool in the diagnostic work-up of patients with mediastinal lymphadenopathy.

Key words: diffusion-weighted imaging, DWI, apparent diffusion coefficient, ADC, mediastinal lymphadenopathy.

Введение

Медиастинальная лимфаденопатия (МЛАП) может быть выявлена при широком спектре заболеваний, включая воспалительные и опухолевые процессы. Частота случайно выявленной МЛАП составляет 0,15–8,1 % [1–3]. Наиболее частыми доброкачественными причинами увеличения лимфатических узлов (ЛУ) средостения являются гранулематозное воспаление (саркоидоз, туберкулез) и реактивная гиперплазия [1–5]. Злокачественными процессами, вовлекающими медиастинальные лимфоузлы, являются лимфома и метастатическое поражение [1–4]. Определение характера МЛАП играет решающую роль в формировании тактики лечения и оценке прогноза заболевания.

Наиболее распространенным методом визуализации медиастинальных ЛУ является компьютерная томография (КТ), при которой патологически измененными считаются лимфоузлы, превышающие 1 см по наименьшему диаметру. Вероятность зло-

качественного поражения ЛУ возрастает с увеличением размера, однако широко варьирует, по данным разных авторов, составляя 9–42 % для ЛУ диаметром 1–1,5 см, 19–75 % – для ЛУ диаметром 1,62 см и 27–100 % при диаметре ЛУ > 2 см [6]. Таким образом, размерный критерий не является надежным в определении характера изменений.

Методы ядерной медицины (позитронная эмиссионная томография (ПЭТ) и однофотонная эмиссионная компьютерная томография) в визуализации злокачественного поражения лимфоузлов характеризуются высокой чувствительностью, но низкой специфичностью вследствие повышенного метаболизма с гиперфиксацией радиофармпрепарата как при опухолевых, так и при воспалительных и гранулематозных процессах [2, 3, 7–11]. Магнитно-резонансная томография (МРТ) с получением диффузионно-взвешенных изображений (ДВИ) позволяет количественно оценивать диффузию молекул воды в биологиче-

ских тканях *in vivo*. Злокачественные процессы характеризуются повышением сигнала от опухолевых очагов на ДВИ с высоким b-фактором по сравнению с фоновыми тканями. В ряде исследований показаны отличия вычисляемого по ДВИ измеряемого коэффициента диффузии (ИКД) при доброкачественных и злокачественных процессах в различных органах с более низкими значениями ИКД при злокачественных опухолях (за счет ограничения диффузии в опухолевой ткани вследствие высокой пролиферативной активности клеток с сужением межклеточных пространств, увеличения ядерно-цитоплазматического отношения, накопления макромолекул с повышением вязкости жидких сред) по сравнению с доброкачественными процессами [12–15].

Цель исследования – изучение возможностей ДВИ с анализом ИКД в дифференциальной диагностике злокачественной и доброкачественной МЛАП.

Материал и методы

В исследование включено 48 пациентов (33 мужчины, 15 женщин) в возрасте от 28 до 79 лет (средний возраст – 58 ± 14 лет). Критериями включения являлись наличие увеличенных лимфоузлов по результатам КТ, отсутствие предшествующей химиотерапии либо лучевой терапии при уже верифицированном опухолевом процессе. МРТ проводилась на высокопольном томографе с индукцией магнитного поля 1,5 Тл, в протокол исследования включены традиционные T1-, T2-взвешенные изображения, изображения в режиме TIRM (Turbo Inversion-Recovery Magnitude) и ДВИ. Получение ДВИ осуществлялось в аксиальной плоскости при синхронизации сбора данных с ритмом дыхания с использованием диафрагмального триггера. Основные параметры ДВИ: время повторения – 2400–6500 мс (автоматически регулировалось аппаратом в зависимости от частоты дыхания пациента), время эхо – 88 мс, поле обзора – 300×380 мм, матрица – 192×154 , толщина среза – 6 мм, число усреднений – 2, количество b-факторов диффузионной взвешенности – 2 (50, 900 с/мм²), методика подавления сигнала от жира – SPAIR (SPectral Attenuated Inversion Recovery). Использована опция параллельного сканирования с фактором ускорения 2 в направлении фазового кодирования.

При анализе изображений у каждого пациента определялся наиболее крупный из свободно лежащих ЛУ без признаков некроза в структуре. На ДВИ с $b=50$ выбирался срез с наибольшей площадью лимфоузла, на котором задавалась область интереса произвольной формы, максимально охватывающая лимфоузел с исключением краев во избежание эффекта частичного объема. Затем область интереса копировалась на ИКД-карту, автоматически рассчитываемую аппаратом на основе

ДВИ с разными b-факторами, для оценки среднего значения ИКД в лимфоузле.

Верификация генеза МЛАП осуществлялась на основании гистологического исследования у 41 пациента, по данным комплексного клинικο-лучевого обследования и динамического наблюдения без морфологического подтверждения – у 7 пациентов.

Статистическая обработка результатов проводилась с использованием программы MedCalc. Оценка нормальности распределения количественных данных (возраст пациентов, размер ЛУ, значения ИКД) в доброкачественной и злокачественной группах осуществлялась с помощью критерия Шапиро – Уилка, для сравнения групп по количественным признакам в зависимости от характера распределения данных использовались t-критерий Стьюдента либо U-критерий Манна – Уитни. Для оценки диагностической эффективности ДВИ проводился ROC-анализ.

Результаты и обсуждение

На основании результатов гистологического исследования в 27 случаях установлен злокачественный характер поражения лимфоузлов, из них метастазы рака легкого выявлены у 19 больных (плоскоклеточный рак – 11, аденокарцинома – 4, мелкоклеточный рак – 3, крупноклеточный рак – 1), метастазы мезотелиомы плевры – у 1, метастазы рака молочной железы – у 1, лимфома – у 6 больных (лимфома Ходжкина – 4, неходжкинская лимфома – 2). Доброкачественный характер МЛАП гистологически верифицирован у 14 пациентов: саркоидоз – в 11, реактивная гиперплазия – в 3 случаях. У пациента с пневмонией на основании клинικο-лабораторных данных и регресса изменений при проведении контрольной КТ установлена реактивная гиперплазия лимфоузла. У 4 пациентов (1 – со склеродермией, 2 – с хронической обструктивной болезнью легких, 1 – с ревматоидным артритом и хронической сердечной недостаточностью) предположен реактивный характер изменений лимфоузлов на основании отсутствия динамики при ретроспективном анализе архива КТ-изображений за 3–4 года, отсутствия онкологических заболеваний в анамнезе и по данным 12-летнего последующего наблюдения. У 2 пациентов с туберкулезом легких, подтвержденным клинικο-лабораторными данными, также предположен доброкачественный характер МЛАП.

Средний возраст пациентов со злокачественной МЛАП составил $62 \pm 9,9$ года, с доброкачественной МЛАП – $52,3 \pm 16,9$ года; различия статистически значимы ($p=0,0165$). Средний размер (измеренный по короткой оси) исследованных лимфоузлов со злокачественными и доброкачественными изменениями составил $23 \pm 10,2$ мм и $15,4 \pm 4,2$ мм соответственно ($p=0,0004$). Среднее значение

ИКД при злокачественной МЛАП составило $1,02 \pm 0,29 \times 10^{-3} \text{ мм}^2/\text{с}$ (минимальное – 0,63; максимальное – 1,64), при доброкачественной МЛАП – $1,57 \pm 0,32 \times 10^{-3} \text{ мм}^2/\text{с}$ (минимальное – 0,84; максимальное – 2,11); различия ИКД при злокачественной и доброкачественной МЛАП статистически значимы ($p < 0,0001$) (рис. 1). При проведении ROC-анализа установлено пороговое значение ИКД, составившее $\leq 1,3 \times 10^{-3} \text{ мм}^2/\text{с}$ (95 % ДИ 1,06–1,64), позволяющее выявлять злокачественное поражение лимфоузлов с чувствительностью, равной 81,5 %, и специфичностью – 85,7 %; площадь под кривой составила 0,89 (95 % ДИ 0,77–0,96), $p < 0,0001$ (рис. 2). Лимфоузлы при злокачественной МЛАП в большинстве случаев характеризовались высоким сигналом на ДВИ и низким сигналом на ИКД-картах (рис. 3, 4), в то время как при доброкачественных изменениях ДУ не дифференцировались на ДВИ и имели высокий сигнал на ИКД-картах (рис. 5, 6).

Проведенное исследование показало высокую информативность ДВИ с оценкой ИКД лимфоузлов в дифференциальной диагностике МЛАП. В ряде аналогичных исследований также показаны значимые отличия ИКД при доброкачественных и злокачественных формах МЛАП [16–18]. Средние значения ИКД при злокачественной и доброкачественной МЛАП, по данным А.А. Razeq et al., составили у взрослых $1,06 \pm 0,3 \times 10^{-3} \text{ мм}^2/\text{с}$ и $2,39 \pm 0,7 \times 10^{-3} \text{ мм}^2/\text{с}$ [16], у детей – $0,99 \pm 0,18 \times 10^{-3} \text{ мм}^2/\text{с}$ и $1,35 \pm 0,26 \times 10^{-3} \text{ мм}^2/\text{с}$ соответственно [17]. Эти же показатели в исследовании F.E. Ustabasioglu et al. составили $1,03 \pm 0,25 \times 10^{-3} \text{ мм}^2/\text{с}$ и $1,57 \pm 0,56 \times 10^{-3} \text{ мм}^2/\text{с}$ [18]. Такой разброс значений ИКД при доброкачественной МЛАП в разных исследованиях может быть обусловлен разнородностью обследованных, различиями используемых параметров сканирования и способов сбора данных при получении ДВИ.

При использовании определенного в нашем исследовании оптимального порогового значения ИКД ($\leq 1,3 \times 10^{-3} \text{ мм}^2/\text{с}$) для диагностики злокачественной МЛАП в 5 случаях получены ложноотрицательные результаты – ИКД находился выше порогового значения у 2 пациентов с лимфомой Ходжкина ($1,46\text{--}1,5 \times 10^{-3} \text{ мм}^2/\text{с}$) и у 3 пациентов с метастазами аденокарциномы легкого ($1,42\text{--}1,64 \times 10^{-3} \text{ мм}^2/\text{с}$), при этом средние значения ИКД при лимфомах и метастатическом поражении составили $1,1 \pm 0,32 \times 10^{-3} \text{ мм}^2/\text{с}$ и $1 \pm 0,29 \times 10^{-3} \text{ мм}^2/\text{с}$ соответственно и значимо не отличались ($p = 0,52$), как и в исследованиях других авторов [16–19]. В работах других авторов также описываются ложноотрицательные результаты при метастазах мукоэпидермоидного рака с ИКД $1,61 \times 10^{-3} \text{ мм}^2/\text{с}$ [16] и у пациентов с метастазами аденокарциномы легкого со значениями ИКД $1,8 \pm 0,67 \times 10^{-3} \text{ мм}^2/\text{с}$ [19], что, возможно, обусловлено высокой степенью дифференцировки и

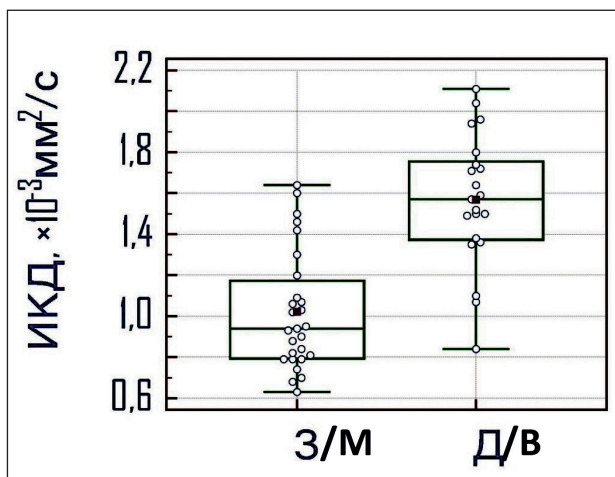


Рис. 1. Диаграмма размаха значений ИКД при злокачественной (З) и доброкачественной (Д) МЛАП. Среднее значение ИКД при злокачественной МЛАП значимо ниже, чем при доброкачественной ($p < 0,0001$)

Fig. 1. Box and whisker plot of ADC values in malignant (M) and benign (B) lymphadenopathy. The mean ADC value in malignant lymphadenopathy is significantly lower than that of benign lymphadenopathy ($p < 0.0001$)

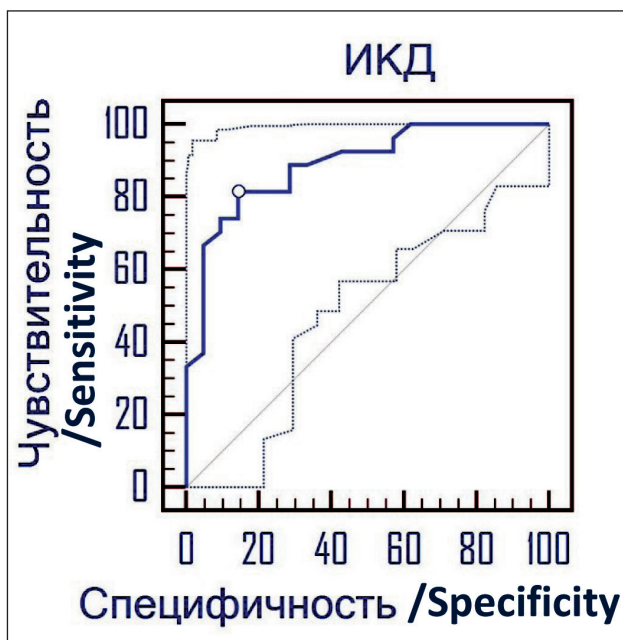


Рис. 2. ROC-кривая значений ИКД всех ЛУ при доброкачественной и злокачественной МЛАП. Пороговое значение ИКД для выявления злокачественной МЛАП $\leq 1,3 \times 10^{-3} \text{ мм}^2/\text{с}$, площадь под кривой – 0,89

Fig. 2. ROC-curve of ADC values of all benign and malignant lymph nodes. Cut-off value of ADC for detection of malignancy $\leq 1.3 \times 10^{-3} \text{ мм}^2/\text{с}$, AUC – 0.89

низкой пролиферативной активностью опухоли [14].

В исследовании M. Sun et al. по результатам ДВИ всего тела у 74 пациентов с лимфомой значения ИКД целевых очагов варьировали в диапазоне $0,32\text{--}2,20 \times 10^{-3} \text{ мм}^2/\text{с}$ (однако не освещены значения ИКД медиастинальных ЛУ). Также авторами от-

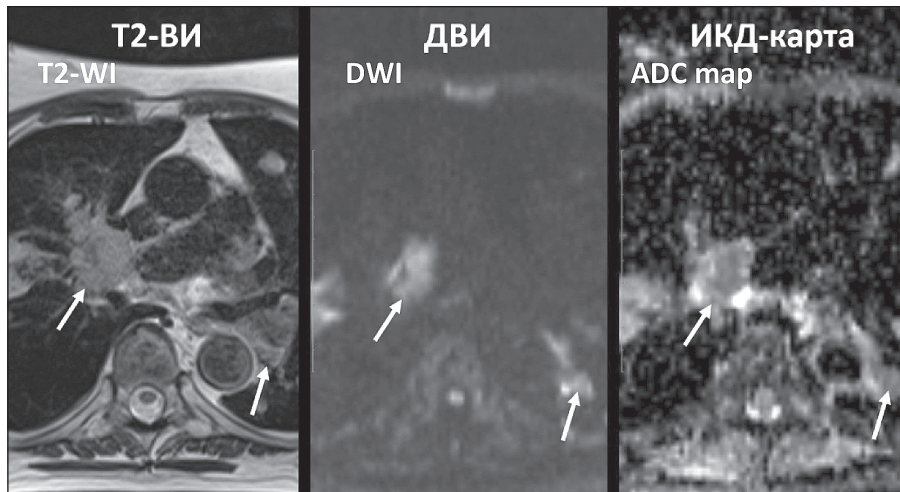


Рис. 3. МР-томограммы средостения пациента с неходжкинской лимфомой с поражением легких и медиастинальных лимфоузлов. ЛУ (обозначены стрелками) имеют высокий сигнал на ДВИ и низкий сигнал на ИКД-карте вследствие ограничения диффузии, ИКД – $1,02 \times 10^{-3} \text{ мм}^2/\text{с}$

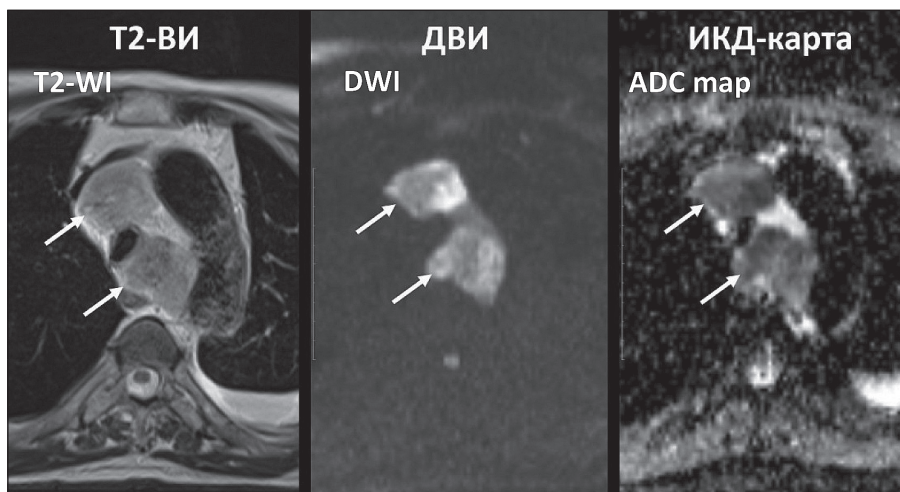


Рис. 4. МР-томограммы средостения пациента с метастазами мелкоклеточного рака легкого в медиастинальных лимфоузлы. ЛУ (обозначены стрелками) имеют высокий сигнал на ДВИ и низкий сигнал на ИКД-карте вследствие ограничения диффузии, ИКД – $0,84 \times 10^{-3} \text{ мм}^2/\text{с}$

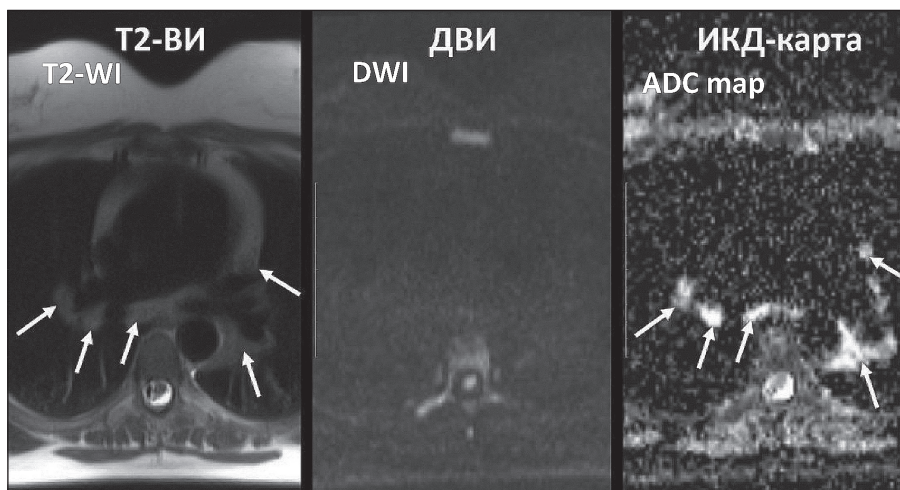


Рис. 5. МР-томограммы средостения пациента с саркоидозом I ст. ЛУ (обозначены стрелками) не визуализируются на ДВИ и имеют высокий сигнал на ИКД-карте, ИКД – $1,57 \times 10^{-3} \text{ мм}^2/\text{с}$

мечена обратная корреляция ИКД и Ki67 при лимфоме, таким образом, высокий ИКД характерен для опухолей с низкой пролиферативной активностью [20]. Это может объяснить полученные нами высокие значения ИКД у 2 пациентов с лимфомой, кроме того, у пациента с лимфомой Ходжкина I стадии с наибольшим ИКД в группе пациентов с лимфомой наблюдалась полная ремиссия с безрецидивным периодом 3 года.

В 3 случаях нами получены ложноположительные результаты. У пациентки с саркоидозом (длительность заболевания 8 лет без какого-либо лечения) ИКД составил $1,1 \times 10^{-3} \text{ мм}^2/\text{с}$. При этом оцениваемый ЛУ характеризовался менее выраженным по сравнению со злокачественными процессами повышением сигнала на ДВИ с высоким b-фактором, а низкий ИКД в данном случае, вероятно, обусловлен формированием фиброза на

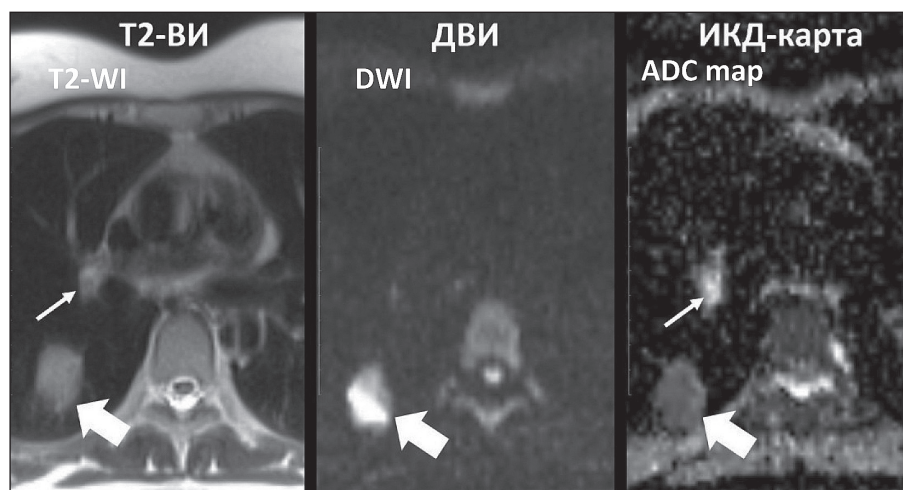


Рис. 6. МР-томограммы средостения пациентки с метастазом плоскоклеточного рака шейки матки в правое легкое и реактивной гиперплазией бронхопульмонального лимфоузла. ЛУ в корне правого легкого (обозначен стрелкой) не визуализируется на ДВИ и имеет высокий сигнал на ИКД-карте, гистологически верифицирована реактивная гиперплазия, ИКД – $1,72 \times 10^{-3} \text{ мм}^2/\text{с}$. Метастаз в легком (обозначен жирной стрелкой) имеет высокий сигнал на ДВИ и низкий сигнал на ИКД-карте вследствие ограничения диффузии, ИКД – $0,86 \times 10^{-3} \text{ мм}^2/\text{с}$

Fig. 6. MR images of mediastinum in a patient with metastasis of squamous cell carcinoma of uterine cervix in right lung and reactive hyperplasia of hilar lymph node. Right hilar lymph node (arrow) is not visualized on DWI and has bright signal on ADC map, reactive hyperplasia is histologically confirmed, ADC – $1.72 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$. Metastasis in the lung (bold arrow) has bright signal on DWI and dark signal on ADC map due to diffusion restriction, ADC – $0.86 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$

фоне длительного течения заболевания. У остальных 10 пациентов с саркоидозом, включенных в исследование в период манифестации заболевания, значения ИКД находились в диапазоне от $1,35$ до $2,04 \times 10^{-3} \text{ мм}^2/\text{с}$; среднее значение ИКД при саркоидозе составило $1,53 \pm 0,25 \times 10^{-3} \text{ мм}^2/\text{с}$.

Второй ложноположительный результат отмечался у пациента с туберкулезом (ИКД $1,07 \times 10^{-3} \text{ мм}^2/\text{с}$), при этом у второго из включенных в исследование пациентов с туберкулезом ИКД соответствовал доброкачественному процессу ($1,49 \times 10^{-3} \text{ мм}^2/\text{с}$). У третьего пациента с ложноположительным результатом при реактивной гиперплазии лимфоузла на фоне воспалительной псевдоопухоли легкого ИКД в лимфоузле составил $0,84 \times 10^{-3} \text{ мм}^2/\text{с}$. У остальных 7 пациентов с реактивной гиперплазией лимфоузлов ИКД находился в диапазоне от $1,5$ до $2,11 \times 10^{-3} \text{ мм}^2/\text{с}$, средний ИКД при реактивной гиперплазии составил $1,69 \pm 0,39 \times 10^{-3} \text{ мм}^2/\text{с}$.

Исследование показало значимые отличия ИКД при лимфоме и саркоидозе ($p=0,007$), на что также указывают другие авторы [16, 19]. Поскольку ПЭТ не позволяет дифференцировать лимфому и активный саркоидоз ввиду повышенного метаболизма глюкозы при обоих состояниях [8–11, 21], можно предположить перспективность использования ДВИ для дифференциальной диагностики этих заболеваний.

Исследование имело ряд недостатков. Во-первых, в исследование вошло ограниченное ко-

личество нозологий. Во-вторых, измерение ИКД проводилось в наиболее крупных ЛУ, поскольку вероятность вовлечения их в патологический процесс максимальна, при этом оцененные лимфоузлы не во всех случаях являлись целевыми при заборе материала для морфологической верификации. Кроме того, в нашем исследовании не проводилось прямое сопоставление с ПЭТ, что позволило бы сравнить диагностические возможности ДВИ и ПЭТ при МЛАП. Несмотря на перечисленные недостатки, результаты исследования показывают, что ДВИ с оценкой ИКД могут быть использованы в качестве дополнительного метода дифференциальной диагностики при МЛАП.

Заключение

ДВИ являются перспективным методом неинвазивной дифференциальной диагностики лимфаденопатии средостения, не требующим проведения внутривенного контрастирования и не связанным с воздействием ионизирующего излучения. Для уточнения возможностей метода целесообразно расширение группы обследуемых за счет увеличения числа нозологий, более детальное изучение подгрупп пациентов с диагностическими ошибками (в первую очередь при туберкулезе и метастазах аденокарциномы), а также оценка ИКД в неувеличенных лимфоузлах для ранней диагностики злокачественного процесса.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Потанин А.В., Визель И.Ю., Потанин В.П., Визель А.А. Инвазивная диагностика при синдроме внутригрудной лимфаденопатии и диссеминации. Вестник современной клинической медицины. 2011; 4(3): 56а–60. [Potanin A.V., Vigel I.Yu., Potanin V.P., Vigel A.A. Invasive diagnosis at intrathoracic syndromes of lymphadenopathy and disseminations. The Bulletin of Contemporary Clinical Medicine. 2011; 4(3): 56a–60. (in Russian)]. doi: 10.20969/vskm.2011.4(3).56-60.
2. Stigt J.A., Boers J.E., Oostdijk A.H., van den Berg J.W., Groen H.J. Mediastinal incidentalomas. J Thorac Oncol. 2011 Aug; 6(8): 1345–9. doi: 10.1097/JTO.0b013e31821d41c8.
3. Munden R.F., Carter B.W., Chiles C., MacMahon H., Black W.C., Ko J.P., McAdams H.P., Rossi S.E., Leung A.N., Boisselle P.M., Kent M.S., Brown K., Dyer D.S., Hartman T.E., Goodman E.M., Naidich D.P., Kazerooni E.A., Berland L.L., Pandharipande P.V. Managing Incidental Findings on Thoracic CT: Mediastinal and Cardiovascular Findings. A White Paper of the ACR Incidental Findings Committee. J Am Coll Radiol. 2018 Aug; 15(8): 1087–1096. doi: 10.1016/j.jacr.2018.04.029.
4. Evison M., Crosbie P.A., Morris J., Martin J., Barber P.V., Booton R. A study of patients with isolated mediastinal and hilar lymphadenopathy undergoing EBUS-TBNA. BMJ Open Respir Res. 2014 May 31; 1(1): e000040. doi: 10.1136/bmjresp-2014-000040.
5. Nin C.S., de Souza V.V., do Amaral R.H., Schuhmacher N.R., Alves G.R., Marchiori E., Irion K.L., Balbinot F., Meirelles G.S., Santana P., Gomes A.C., Hochhegger B. Thoracic lymphadenopathy in benign diseases: A state of the art review. Respir Med. 2016 Mar; 112: 10–7. doi: 10.1016/j.rmed.2016.01.021.
6. de Langen A.J., Rajmakers P., Riphagen I., Paul M.A., Hoekstra O.S. The size of mediastinal lymph nodes and its relation with metastatic involvement: a meta-analysis. Eur J Cardiothorac Surg. 2006 Jan; 29(1): 26–9. doi: 10.1016/j.ejcts.2005.10.002.
7. Wang H., Li Q.K., Auster M., Gong G. PET and CT features differentiating infectious/inflammatory from malignant mediastinal lymphadenopathy: A correlated study with endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration. Radiol Infect Dis. 2018; 5(1): 7–13. doi: 10.1016/j.rid.2018.01.002.
8. Чернов В.И., Дудникова Е.А., Гольдберг В.Е., Кравчук Т.Л., Данилова А.В., Зельчан Р.В., Медведева А.А., Синилкин И.Г., Брагина О.Д., Попова Н.О., Гольдберг А.В. Позитронная эмиссионная томография в диагностике и мониторинге лимфопролиферативных заболеваний. Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2018; 63(6): 41–50. [Chernov V.I., Dudnikova E.A., Goldberg V.E., Kravchuk T.L., Danilova A.V., Zelychan R.V., Medvedeva A.A., Sinilkin I.G., Bragina O.D., Popova N.O., Goldberg A.V. Positron Emission Tomography in the Diagnosis and Monitoring of Lymphomas. Medical Radiology and Radiation Safety. 2018; 63(6): 41–50. (in Russian)]. doi: 10.12737/article_5c0b8d72a8bb98.40545646.
9. Чанчикова Н.Г., Дудникова Е.А., Карлова Е.А., Савельева А.С., Силкина О.А., Зельчан Р.В., Синилкин И.Г., Брагина О.Д., Медведева А.А., Чернов В.И. Возможности ПЭТ/КТ с ¹⁸F-ФДГ в диагностике и стадировании лимфом. Вопросы онкологии. 2019; 65(1): 147–153. [Chanchikova N.G., Dudnikova E.A., Karlova E.A., Savelyeva A.S., Silkina O.A., Zelychan R.V., Sinilkin I.G., Bragina O.D., Medvedeva A.A., Chernov V.I. Possibilities of 18F-FDG PET/CT in the diagnosis and staging of lymphomas. Problems in Oncology. 2019; 65(1): 147–153. (in Russian)].
10. Чернов В.И., Дудникова Е.А., Гольдберг В.Е., Кравчук Т.Л., Данилова А.В., Зельчан Р.В., Медведева А.А., Синилкин И.Г., Брагина О.Д., Белевич Ю.В., Королева Е.С. Однофотонная эмиссионная компьютерная томография в диагностике и мониторинге лимфопролиферативных заболеваний. Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2019; 64(3): 58–63. [Chernov V.I., Dudnikova E.A., Goldberg V.E., Kravchuk T.L., Danilova A.V., Zelychan R.V., Medvedeva A.A., Sinilkin I.G., Bragina O.D., Belevich Yu.V., Koroleva E.S. Single-photon emission computed tomography in the diagnosis and monitoring of lymphoproliferative diseases. Medical Radiology and Radiation Safety. 2019; 64(3): 58–63. (in Russian)]. doi: 10.12737/article_5cf3dfef60b13.90120976.
11. Чернов В.И., Дудникова Е.А., Зельчан Р.В., Кравчук Т.Л., Данилова А.В., Медведева А.А., Синилкин И.Г., Брагина О.Д., Гольдберг В.Е., Гольдберг А.В., Фролова И.Г. Однофотонная эмиссионная компьютерная томография с ^{99m}Tc-1-тио-д-глюкозой в диагностике и стадировании злокачественных лимфом: первый опыт использования. Сибирский онкологический журнал. 2018; 17(4): 81–87. [Chernov V.I., Dudnikova E.A., Zelychan R.V., Kravchuk T.L., Danilova A.V., Medvedeva A.A., Sinilkin I.G., Bragina O.D., Goldberg V.E., Goldberg A.V., Frolova I.G. The first experience of using ^{99m}Tc-1-thio-d-glucose for single-photon emission computed tomography imaging of lymphomas. Siberian Journal of Oncology. 2018; 17(4): 81–87. (in Russian)]. doi: 10.21294/1814-4861-2018-17-4-81-87.
12. Malayeri A.A., El Khoul R.H., Zaheer A., Jacobs M.A., Corona-Villalobos C.P., Kamel I.R., Macura K.J. Principles and applications of diffusion-weighted imaging in cancer detection, staging, and treatment follow-up. Radiographics. 2011 Oct; 31(6): 1773–91. doi: 10.1148/rg.316115515.
13. Bonekamp S., Corona-Villalobos C.P., Kamel I.R. Oncologic applications of diffusion-weighted MRI in the body. J Magn Reson Imaging. 2012 Feb; 35(2): 257–79. doi: 10.1002/jmri.22786.
14. Luna A., Sánchez-González J., Caro P. Diffusion-weighted imaging of the chest. Magn Reson Imaging Clin N Am. 2011 Feb; 19(1): 69–94. doi: 10.1016/j.mric.2010.09.006.
15. Herneth A.M., Mayerhoefer M., Scherthaner R., Ba-Ssalamah A., Czerny Ch., Fruehwald-Pallamar J. Diffusion weighted imaging: lymph nodes. Eur J Radiol. 2010 Dec; 76(3): 398–406. doi: 10.1016/j.ejrad.2010.08.016.
16. Razeq A.A., Elkamary S., Elmorsy A.S., Elshafey M., Elhadeedy T. Characterization of mediastinal lymphadenopathy with diffusion-weighted imaging. Magn Reson Imaging. 2011 Feb; 29(2): 167–72. doi: 10.1016/j.mri.2010.08.002.
17. Razeq A.A., Gaballa G., Elashry R., Elkhamary S. Diffusion-weighted MR imaging of mediastinal lymphadenopathy in children. Jpn J Radiol. 2015 Aug; 33(8): 449–54. doi: 10.1007/s11604-015-0434-1.
18. Ustabasioglu F.E., Samanci C., Alis D., Samanci N.S., Kula O., Olgun D.C. Apparent Diffusion Coefficient Measurement in Mediastinal Lymphadenopathies: Differentiation between Benign and Malignant Lesions. J Clin Imaging Sci. 2017 Mar 6; 7: 12. doi: 10.4103/jcisc. JCIS 84 16.
19. Gümüştas S., Inan N., Sarisoy H.T., Anik Y., Arslan A., Ciftçi E., Akansel G., Demirci A. Malignant versus benign mediastinal lesions: quantitative assessment with diffusion weighted MR imaging. Eur Radiol. 2011 Nov; 21(11): 2255–60. doi: 10.1007/s00330-011-2180-9.
20. Sun M., Cheng J., Zhang Y., Bai J., Wang F., Meng Y., Li Z. Application of DWIBS in malignant lymphoma: correlation between ADC values and Ki-67 index. Eur Radiol. 2018; 28(4): 1701–1708. doi: 10.1007/s00330-017-5135-y.
21. Prabhakar H.B., Rabinowitz C.B., Gibbons F.K., O'Donnell W.J., Shepard J.A., Aquino S.L. Imaging features of sarcoidosis on MDCT, FDG PET, and PET/CT. AJR. 2008 Mar; 190(3 Suppl): S16. doi: 10.2214/AJR.07.7001.

Поступила/Received 10.01.2020
Принята в печать/Accepted 10.02.2020

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Сударкина Анна Владимировна, ассистент кафедры лучевой диагностики, ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет»; врач-рентгенолог рентгенологического отделения, ЧУЗ «Клиническая больница «РЖД-Медицина» города Новосибирск» (г. Новосибирск, Россия). E-mail: a.sudarkina@mail.ru. SPIN-код: 8885-9065. AuthorID (РИНЦ): 966641. ORCID: 0000-0003-0810-4720. Researcher ID (WOS): F-1929-2018.

Дергилев Александр Петрович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой лучевой диагностики, ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет»; заведующий рентгенологическим отделением, ЧУЗ «Клиническая больница «РЖД-Медицина» города Новосибирск» (г. Новосибирск, Россия). SPIN-код: 5768-5293. AuthorID (РИНЦ): 791949. ORCID: 0000-0002-8637-4083. Researcher ID (WOS): AAG-9837-2019.

Горбунов Николай Алексеевич, доктор медицинских наук, профессор кафедры лучевой диагностики, ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет»; врач-рентгенолог рентгенологического отделения, ЧУЗ «Клиническая больница «РЖД-Медицина» города Новосибирск» (г. Новосибирск, Россия). SPIN-код: 9995-1221. AuthorID (РИНЦ): 300890. ORCID: 0000-0003-4799-6338. Researcher ID (WOS): AAG-9432-2019.

Козлов Вадим Викторович, кандидат медицинских наук, ассистент кафедры онкологии, ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет»; заведующий отделением торакальной онкологии, ГБУЗ НСО «Новосибирский областной клинический онкологический диспансер» (г. Новосибирск, Россия). ORCID: 0000-0003-3211-5139.

Фокина Юлия Александровна, врач-онколог отделения торакальной онкологии, ГБУЗ НСО «Новосибирский областной клинический онкологический диспансер» (г. Новосибирск, Россия). ORCID: 0000-0002-4384-951X.

Климова Ирина Петровна, кандидат медицинских наук, заведующая отделением лучевой диагностики, ФГБУ «Новосибирский научно-исследовательский институт туберкулеза» (г. Новосибирск, Россия). ORCID: 0000-0003-2033-2857.

Ягубкин Павел Александрович, врач-рентгенолог отделения лучевой диагностики, ФГБУ «Новосибирский научно-исследовательский институт туберкулеза» (г. Новосибирск, Россия). ORCID: 0000-0002-7932-9719.

ВКЛАД АВТОРОВ

Сударкина Анна Владимировна: разработка концепции научной работы, набор клинического материала, статистическая обработка, составление черновика рукописи.

Дергилев Александр Петрович: анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Горбунов Николай Алексеевич: анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Козлов Вадим Викторович: набор клинического материала.

Фокина Юлия Александровна: набор клинического материала.

Климова Ирина Петровна: набор клинического материала.

Ягубкин Павел Александрович: набор клинического материала.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы объявляют, что у них нет конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Anna V. Sudarkina, MD, Assistant of Diagnostic Imaging Department, Novosibirsk State Medical University; Radiologist of Radiology Department, Railway Clinical Hospital (Novosibirsk, Russia). E-mail: a.sudarkina@mail.ru. ORCID: 0000-0003-0810-4720. Researcher ID (WOS): F-1929-2018.

Alexandr P. Dergilev, MD, DSc, Professor, Head of Diagnostic Imaging Department, Novosibirsk State Medical University; Head of Radiology Department, Railway Clinical Hospital (Novosibirsk, Russia). ORCID: 0000-0002-8637-4083. Researcher ID (WOS): AAG-9837-2019.

Nikolay A. Gorbunov, MD, DSc, Professor of Diagnostic Imaging Department, Novosibirsk State Medical University; Radiologist of Radiology Department, Railway Clinical Hospital (Novosibirsk, Russia). ORCID: 0000-0003-4799-6338. Researcher ID (WOS): AAG-9432-2019.

Vadim V. Kozlov, MD, PhD, Assistant of Oncology Department, Novosibirsk State Medical University; Head of Thoracic Oncology Department, Novosibirsk Regional Oncology Clinic (Novosibirsk, Russia). ORCID: 0000-0003-3211-5139.

Yulia A. Fokina, MD, Oncologist of Thoracic Oncology Department, Novosibirsk Regional Oncology Clinic (Novosibirsk, Russia). ORCID: 0000-0002-4384-951X.

Irina P. Klimova, MD, PhD, Head of Diagnostic Imaging Department, Novosibirsk Tuberculosis Research Institute (Novosibirsk, Russia). ORCID: 0000-0003-2033-2857.

Pavel A. Yagubkin, MD, Radiologist of Diagnostic Imaging Department, Novosibirsk Tuberculosis Research Institute (Novosibirsk, Russia). ORCID: 0000-0002-7932-9719.

AUTHOR CONTRIBUTION

Anna V. Sudarkina: study design, data collection, statistical data analysis, drafting of the manuscript.

Alexandr P. Dergilev: analysis of the study results, critical revision for the important intellectual content.

Nikolay A. Gorbunov: critical revision of the manuscript for important intellectual content.

Vadim V. Kozlov: data collection.

Yulia A. Fokina: data collection.

Irina P. Klimova: data collection.

Pavel A. Yagubkin: data collection.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

Для цитирования: Скоропад В.Ю., Афанасьев С.Г., Гамаюнов С.В., Соколов П.В., Каров В.А., Титова Л.Н., Силантьева Н.К., Иванов С.А., Каприн А.Д. Анализ безопасности проведения неoadъювантной химиолучевой терапии у больных местнораспространенным раком желудка (результаты многоцентрового рандомизированного исследования). Сибирский онкологический журнал. 2020; 19(4): 41–48. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-4-41-48.

For citation: Skoropad V.Yu., Afanasyev S.G., Gamayunov S.V., Sokolov P.V., Karov V.A., Titova L.N., Silanteva N.K., Ivanov S.A., Kaprin A.D. Analysis of safety of neoadjuvant chemoradiotherapy in patients with locally advanced gastric cancer (results of a multicenter randomized trial). Siberian Journal of Oncology. 2020; 19(4): 41–48. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-4-41-48.

АНАЛИЗ БЕЗОПАСНОСТИ ПРОВЕДЕНИЯ НЕОАДЬЮВАНТНОЙ ХИМИОЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ У БОЛЬНЫХ МЕСТНОРАСПРОСТРАНЕННЫМ РАКОМ ЖЕЛУДКА (РЕЗУЛЬТАТЫ МНОГОЦЕНТРОВОГО РАНДОМИЗИРОВАННОГО ИССЛЕДОВАНИЯ)

В.Ю. Скоропад¹, С.Г. Афанасьев², С.В. Гамаюнов³, П.В. Соколов¹,
В.А. Каров³, Л.Н. Титова¹, Н.К. Силантьева¹, С.А. Иванов¹, А.Д. Каприн¹

МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, г. Обнинск, Россия¹
Россия, 249036, г. Обнинск, ул. Королева, 4. E-mail: skoropad@mrrc.obninsk.ru¹

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный
исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия²
Россия, 634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5²

АУ «Республиканский клинический онкологический диспансер» Минздрава Чувашии,
г. Чебоксары, Россия³

Россия, 428020, Чувашская Республика, г. Чебоксары, ул. Гладкова, 31³

Аннотация

Цель исследования – анализ непосредственных результатов проведения неoadъювантной химиолучевой терапии у больных местнораспространенным раком желудка в рамках многоцентрового рандомизированного исследования. **Материал и методы.** Изучены воспроизводимость метода, токсические проявления, послеоперационные осложнения (в сравнительном аспекте). Больным основной группы на первом этапе лечения была проведена конформная лучевая терапия (РОД 2 Гр, СОД 46 Гр) на фоне химиотерапии препаратами Капецитабин в дозе 1850 мг/м² в два приема в течение всего курса лучевой терапии и Оксалиплатин в дозе 85 мг/м² в 1 и 21-й дни курса. Через 4–6 нед после химиолучевой терапии и контрольного обследования, при отсутствии прогрессирования заболевания, пациентам планировался хирургический этап лечения (гастрэктомия либо субтотальная резекция желудка D2) и 4 цикла адъювантной химиотерапии по схеме FOLFOX4 или CAPOX. Программа лечения больных контрольной группы включала в себя выполнение хирургического лечения в том же объеме непосредственно после рандомизации и проведение 6 циклов адъювантной химиотерапии по тем же схемам. В исследование включено 70 больных с равным распределением между группами сравнения. **Результаты.** Среди больных исследуемой группы преобладали I и II степени токсичности; III степень имела место в 9 случаях; случаев токсичности IV и V степени зарегистрировано не было. Среди проявлений гематологической токсичности преобладали тромбоцитопения и лейкопения (57–60 % больных), III степень гематологической токсичности была зафиксирована в 6 (17,1 %) случаях. Среди проявлений гастроинтестинальной токсичности преобладали тошнота, рвота и снижение аппетита; только в 3 (8,6 %) случаях наблюдалась токсичность III степени. Лучевой компонент неoadъювантной терапии был завершен в полном объеме у 32 (91 %) больных. Обе предусмотренные протоколом инфузии оксалиплатина были выполнены у 34 (97 %) больных. Внесение изменений в назначение Капецитабина потребовалось у 8 пациентов. Непосредственно перед хирургическим вмешательством у ряда больных имели место токсические проявления I–II степени, что не препятствовало выполнению хирургического этапа лечения в запланированном объеме. Значимых различий в отношении частоты и тяжести осложнений раннего послеоперационного периода между группами сравнения выявлено не было, преобладали осложнения I–II степени.

Ключевые слова: рак желудка, неoadъювантная химиолучевая терапия, комбинированное лечение, многоцентровое рандомизированное исследование, токсичность, послеоперационные осложнения.

ANALYSIS OF SAFETY OF NEOADJUVANT CHEMORADIOTHERAPY IN PATIENTS WITH LOCALLY ADVANCED GASTRIC CANCER (RESULTS OF A MULTICENTER RANDOMIZED TRIAL)

**V.Yu. Skoropad¹, S.G. Afanasyev², S.V. Gamayunov³, P.V. Sokolov¹,
V.A. Karov³, L.N. Titova¹, N.K. Silanteva¹, S.A. Ivanov¹, A.D. Kaprin¹**

A.F. Tsyb Medical Radiology Research Center affiliated to National Medical Research Center of Radiology of the Ministry of Health of the Russian Federation, Obninsk, Russia¹

4, Koroleva Street, Obninsk-249036, Russia. E-mail: skoropad@mrrc.obninsk.ru¹

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

5, Kooperativny Street, 634050-Tomsk, Russia²

Republic Clinical Cancer Center, of the Ministry of Health of the Chuvash Republic, Cheboksary, Russia³

31, Gladkova Street, 428020-Cheboksary, Russia³

Abstract

The purpose of the study was to immediate results of neoadjuvant chemoradiotherapy in patients with locally advanced gastric cancer were analyzed in a multicenter randomized trial. **Material and Methods.** The comparative analysis of neoadjuvant chemotherapy regimens, toxicity and postoperative complications was carried out. Patients of the study group received conformal radiation therapy (46 Gy in 2 Gy daily fractions) concurrently with chemotherapy with Capecitabine at a dose of 1850 mg/m² divided in two equal doses during the course of radiation therapy, and Oxaliplatin at a dose of 85 mg/m² on days 1 and 21. After an interval of 4–6 weeks and a control examination, in the absence of evident disease progression, patients were scheduled for surgery (gastrectomy or subtotal gastrectomy with D2 lymph node dissection) and 4 cycles of adjuvant chemotherapy according to the FOLFOX4 or CAPOX regimen. The treatment program for patients in the control group included surgery (gastrectomy or subtotal gastrectomy with D2 lymph node dissection) after randomization, and 6 cycles of adjuvant chemotherapy using the same regimens. The study included 70 patients with an equal distribution between groups. **Results.** Among the patients of the study group, grade 1 and 2 toxicity was the most common; grade 3 toxicity occurred in 9 cases; grade 4 and 5 toxicity was not observed. Among the manifestations of hematological toxicity, thrombocytopenia and leukopenia were the most common (57–60 % of patients), and grade 3 hematological toxicity was observed in 6 (17.1 %) cases. Among the manifestations of gastrointestinal toxicity, nausea, vomiting and decreased appetite prevailed; grade 3 toxicity was observed only in 3 (8.6 %) cases. The radiation component of neoadjuvant therapy was completed in 32 (91 %) patients. Both protocol-prescribed oxaliplatin infusions were performed in 34 (97 %) patients. Changes in capecitabine administration were required in 8 patients. Immediately before surgery, some patients had grade 1–2 toxicity, which did not prevent performing surgery. There were no statistically significant differences in the frequency and severity of complications in the early postoperative period between the comparison groups. Grade 1–2 postoperative complications were the most common.

Key words: gastric cancer, neoadjuvant chemoradiotherapy, combination treatment, multicenter randomized trial, toxicity, postoperative complications.

Введение

Рак желудка является одним из наиболее распространенных и агрессивных злокачественных новообразований. В 2018 г. в мире зарегистрирован 1 033 701 новый случай рака желудка (РЖ). За это же время от РЖ в мире умерло 782 685 человек [1, 2]. Несмотря на то, что в последние десятилетия удалось снизить показатели заболеваемости РЖ, летальность в течение первого года после установления диагноза достигает 50 %. В России этот показатель, к сожалению, еще выше, в большинстве лечебно-профилактических учреждений диагноз рака желудка устанавливается уже при III–IV стадиях заболевания (до 80%), что нега-

тивно сказывается на результатах лечения. Общая пятилетняя выживаемость при лечении больных с местнораспространенным РЖ остается весьма низкой, не превышая 25–35 % [2, 3].

Стандартом лечения больных местнораспространенным РЖ признаны комбинированные методы, сочетающие хирургическое вмешательство с расширенной лимфодиссекцией и с различными вариантами химиотерапии и лучевой терапии [4, 5]. Оптимальные состав и последовательность применения дополнительных методов противоопухолевого воздействия являются предметом изучения в рамках различных фаз клинических исследований. Перспективным методом признается применение

химиолучевой терапии в предоперационном периоде [6–9]. Такой подход демонстрирует хорошую переносимость, возможность достижения выраженной степени повреждения опухоли, достоверное положительное влияние на отдаленные результаты лечения.

В рамках многоцентрового рандомизированного исследования впервые в России изучены безопасность и эффективность неоадьювантной химиолучевой терапии [10, 11]. В настоящей публикации проанализированы непосредственные результаты исследования, изучены токсические проявления в процессе и после окончания химиолучевой терапии, а также в сравнительном аспекте – частота развития послеоперационных осложнений.

Материал и методы

Дизайн исследования, основные параметры его проведения, критерии включения больных в исследование и состав групп сравнения были подробно описаны нами ранее [10, 11]. Всего в исследование были включены 70 больных местнораспространенным раком желудка, которые методом рандомизации были разделены на две группы. Больным основной группы на первом этапе лечения проводилась конформная лучевая терапия (РОД 2 Гр, СОД 46 Гр) на фоне химиотерапии препаратами Капецитабин в дозе 1850 мг/м² в два приема в течение всего курса лучевой терапии и Оксалиплатин в дозе 85 мг/м² в 1 и 21-й дни курса. Через 4–6 нед после завершения химиолучевой терапии и при отсутствии прогрессирования заболевания по данным контрольного обследования, пациентам планировались хирургический этап лечения (гастрэктомия либо субтотальная резекция желудка с перигастральной лимфодиссекцией D2) и 4 цикла адьювантной химиотерапии по схеме FOLFOX4 или CAPOX. Программа лечения больных контрольной группы включала в себя выполнение хирургического лечения в том же объеме непосредственно после рандомизации и проведение 6 циклов адьювантной химиотерапии по тем же схемам. Один больной из исследуемой группы не был оперирован в связи с прогрессированием опухоли.

Для стадирования опухоли на этапе обследования после хирургического и комбинированного лечения была применена классификация TNM 8 пересмотра (2018); для изучения токсических реакций – шкала NCIC-CTC, версия 5.0; для оценки тяжести послеоперационных осложнений – классификация Clavien – Dindo.

Статистическая обработка проводилась с использованием статистического пакета SPSS 22.0. Значимость различий между показателями оценивали с применением точного критерия Фишера, между средними величинами – при помощи теста Mann – Whitney и двустороннего непарного критерия р. Различия считали статистически зна-

чимыми, если уровень значимости (величина р) был меньше 0,05.

Результаты и обсуждение

По частоте и степени выраженности различных видов токсичности, которые наблюдались в процессе и после проведения неоадьювантной химиолучевой терапии, установлено, что преобладали нежелательные явления I и II степени, токсичность III степени имела место у 9 больных; случаев токсичности IV и V степени в нашем исследовании зарегистрировано не было (табл. 1). По данным других авторов, частота развития токсических явлений III–IV степени при проведении различных вариантов неоадьювантной химиолучевой терапии составляет 17–56 % [12–15]. У больных, получавших 3–6 циклов неоадьювантной химиотерапии по схемам ECF, ECX, FLOT, гематологическая токсичность III–IV степени отмечалась в 51 %, гастроинтестинальная аналогичной тяжести – в 26 % случаев [6, 7]. В исследовании TOPGEAR, предполагавшем проведение 2 циклов индукционной химиотерапии с последующей химиолучевой терапией, гематологическая токсичность III–IV степени наблюдалась в 52 %, гастроинтестинальная – в 30 % случаев [8]. Летальность, обусловленная токсическими проявлениями неоадьювантной терапии, по данным различных авторов, составила 1–5 % [6–8, 15]; в нашем исследовании подобных случаев зафиксировано не было.

Среди проявлений гематологической токсичности преобладали тромбоцитопения и лейкопения – у 57–60 % больных (табл. 2). Третья степень гематологической токсичности была зафиксирована в 6 (17,1 %) случаях, проявления токсичности IV степени не наблюдались. Полученные нами данные сопоставимы с результатами ряда исследований [9, 14, 15]. В то же время авторами отмечается, что в тех исследованиях, где применялись более интенсивные схемы неоадьювантной терапии, преобладала нейтропения III–IV степени (29–51 %), в том числе фебрильная нейтропения – в 2–10 % [6–8]. Развитие сепсиса, ассоциированного с нейтропенией, было зарегистрировано у 1,7–3,4 % пациентов.

Среди проявлений гастроинтестинальной токсичности преобладали тошнота, рвота и снижение аппетита (табл. 3); только в 3 (8,6 %) случаях наблюдалась токсичность III степени. Подобные результаты приводят и другие авторы, однако, по их данным, диарея наблюдалась существенно чаще – до 48 %, в том числе III–IV степени – в 12–17 % случаев [7, 8].

Печеночная токсичность I–II степени в нашем исследовании была зарегистрирована у 4 (11,4 %) пациентов, она проявлялась повышением уровня АЛТ и щелочной фосфатазы. Существенно более высокие показатели приводят авторы, при-

Таблица 1/Table 1

Виды и степень токсичности при проведении неoadъювантной химиолучевой терапии
Types and grades of neoadjuvant chemoradiotherapy toxicity

Вид токсичности/ Type of toxicity	Всего/ Total	Выраженность токсичности/Grade of toxicity			
		I	II	III	IV–V
Гематологическая токсичность/ Hematological toxicity	25 (71,4 %)	11 (31,4 %)	8 (22,9 %)	6 (17,1 %)	–
Гастроинтестинальная токсичность/ Gastrointestinal toxicity	24 (68,6 %)	11 (31,4 %)	10 (28,6 %)	3 (8,6 %)	–
Печеночная токсичность/ Hepatic toxicity	4 (11,4 %)	3 (8,6 %)	1 (2,9 %)	–	–
Другие виды токсичности/ Other toxicity	5 (14,8 %)	1 (2,9 %)	3 (8,6 %)	1 (2,9 %)	–

Таблица 2/Table 2

Гематологическая токсичность
Hematological toxicity

Вид токсичности/ Type of toxicity	Всего/ Total	Выраженность токсичности/Grade of toxicity			
		I	II	III	IV–V
Тромбоцитопения/Thrombocytopenia	21 (60 %)	18 (51,4 %)	2 (5,7 %)	1 (2,9 %)	–
Лейкопения/Leukopenia	20 (57,1 %)	10 (28,6 %)	7 (20 %)	3 (8,6 %)	–
Нейтропения/Neutropenia	7 (20 %)	2 (5,7 %)	4 (11,4 %)	1 (2,9 %)	–
Анемия/Anemia	2 (5,7 %)	1 (2,9 %)	–	1 (2,9 %)	–

Таблица 3/Table 3

Гастроинтестинальная токсичность
Gastrointestinal toxicity

Вид токсичности/ Type of toxicity	Всего/ Total	Выраженность токсичности/Grade of toxicity			
		I	II	III	IV–V
Тошнота/Nausea	21 (60%)	9 (25,7 %)	11 (31,4 %)	1 (2,9 %)	–
Снижение аппетита/ Decreased appetite	11 (31,4 %)	3 (8,6 %)	6 (17,1 %)	2 (5,7 %)	–
Рвота/Vomiting	11 (31,4%)	6 (17,1 %)	5 (14,3%)	–	–
Диарея/Diarrhea	2 (5,7%)	1 (2,9 %)	1 (2,9 %)	–	–
Боль в эпигастрии/Epigastric pain	1 (2,9 %)	1 (2,9 %)	–	–	–

Таблица 4/Table 4

Послеоперационные осложнения
Postoperative complications

Степень осложнения по классификации Clavien – Dindo/ Complications grades according to the Clavien – Dindo classification	Основная группа/ Study group (n=34)	Контрольная группа/ Control group (n=35)
Нет осложнений/No complications	21 (62 %)	24 (68 %)
Степень I/Grade 1	6 (17 %)	4 (11 %)
Степень II/Grade 2	3 (9 %)	5 (15 %)
Степень IIIa/Grade 3a	2 (6 %)	1 (3 %)
Степень IIIb/Grade 3b	1 (3 %)	1 (3 %)
Степень IV/Grade 4	–	–
Степень V/Grade 5	1 (3 %)	–

менявшие периоперационную химиотерапию по схемам FLOT и ECF/ECX. В этих исследованиях печеночная токсичность имела место у 12–36 % пациентов, в том числе III–IV степень – в 1–3,4 % наблюдений [6, 7]. Другие виды токсичности (кардиоваскулярная, кожные реакции, изменения веса) развивались у единичных больных, включенных в исследование, в подавляющем большинстве случаев эти нежелательные явления соответствовали I–II степени.

Таким образом, полученные нами результаты подтвердили имеющиеся в литературе данные о хорошей переносимости неоадьювантной химиолучевой терапии и по этим показателям выгодно отличаются от непосредственных результатов проведения периоперационной химиотерапии.

Лучевой компонент неоадьювантной терапии был завершен в полном объеме (СОД 46 Гр) у 32 (91 %) из 35 больных. У 3 пациентов в связи с развитием токсических явлений лучевая терапия была прекращена в последние дни курса облучения на СОД 42, 44 и 44 Гр. Обе предусмотренные протоколом инфузии Оксалиплатина произведены у 34 (97 %) из 35 больных, в одном случае была выполнена только первая инфузия. Внесение изменений в назначение Капецитабина потребовалось у 8 пациентов: в 4 случаях препарат был отменен в последние 2–4 дня предоперационной терапии, в 4 случаях – за 4–7 дней до окончания курса. Таким образом, у абсолютного большинства больных неоадьювантная химиолучевая терапия была проведена в запланированном объеме.

Интервал времени от завершения неоадьювантной химиолучевой терапии до операции варьировал от 31 до 92 дней, медиана составила 55 дней. Нами был изучен профиль токсичности у пациентов непосредственно перед хирургическим вмешательством. Проявления гематологической токсичности (лейкопения, тромбоцитопения и анемия) наблюдались у 7 пациентов, в том числе в 4 случаях – I степени, в 3 случаях – II степени. Печеночная токсичность имела место у 8 пациентов (повышение уровня АЛТ, АСТ, щелочной фосфатазы), во всех случаях она была I степени.

В основной группе преобладающим объемом хирургического вмешательства была гастрэктомия (30 пациентов), значительно реже выполняли дистальную и проксимальную субтотальную резекцию желудка (3 и 1 пациент соответственно). В контрольной группе гастрэктомия была выполнена в 24 случаях, дистальная субтотальная резекция желудка – в 11 случаях. Послеоперационные осложнения возникли у 13 больных первой группы и у 11 больных второй группы (табл. 4).

Среди послеоперационных осложнений I степени тяжести в обеих группах преобладала

транзиторная лихорадка (37,5–37,7 °C в течение 3–5 дней) и воспалительные изменения со стороны послеоперационной раны. Среди осложнений II степени тяжести наиболее часто имели место пневмония, панкреатит и нагноение послеоперационной раны, требовавшие назначения консервативной терапии. Инвазивные вмешательства для купирования послеоперационных осложнений III степени потребовались 3 больным, им проводили дренирование внутрибрюшных абсцессов (n=2) и повторные плевральные пункции (n=1). Релапаротомии по поводу абсцесса брюшной полости и внутрибрюшного кровотечения были выполнены в 2 случаях. В послеоперационном периоде умерла одна больная, 63 лет. Среди сопутствующих заболеваний были отмечены: ИБС, ПИКС (давность не известна); атеросклероз аорты, коронарных артерий; НК2А ФК 2. Пациентка умерла на 3-и сут послеоперационного периода (операция – гастрэктомия D2, холецистэктомия; продолжительность хирургического вмешательства – 180 мин, объем кровопотери – 120 мл). Проводилась аутопсия, непосредственная причина смерти – острая (внезапная) сердечная смерть. Таким образом, значимых различий в отношении частоты и тяжести осложнений раннего послеоперационного периода в сравниваемых группах не выявлено ($p>0,05$).

Полученные в настоящем многоцентровом рандомизированном исследовании непосредственные результаты хорошо соотносятся с крупнейшими мировыми исследованиями, по данным которых количество послеоперационных осложнений при хирургических вмешательствах, выполненных по поводу рака желудка, достигает 50 %, в том числе осложнений III степени и выше по классификации Clavien – Dindo – 22 %; при этом частота несостоятельности швов анастомозов и абсцессов брюшной полости составляла 5–10 %; уровень послеоперационной летальности варьировал в пределах от 0 до 10 % [6–9, 15].

Заключение

Предложенный курс неоадьювантной химиолучевой терапии (СОД 46 Гр по 2 Гр за фракцию на фоне приема Капецитабина и инфузии Оксалиплатина) может быть успешно воспроизведен в федеральных научных центрах и онкологических диспансерах. Неоадьювантная терапия сопровождается приемлемым уровнем токсичности, которая полностью купируется к моменту выполнения хирургического этапа лечения и не препятствует его проведению в запланированные сроки и в необходимом объеме. Проведение неоадьювантной химиолучевой терапии не приводит к увеличению числа и тяжести послеоперационных осложнений по сравнению с хирургическим лечением.

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. Amin M.B., Greene F.L., Edge S.B., Compton C.C., Gershenwald J.E., Brookland R.K., Winchester D.P. The eighth edition AJCC cancer staging manual: continuing to build a bridge from a population-based to a more “personalized” approach to cancer staging. *Cancer J Clin.* 2017; 67(2): 93–99.
4. Klevebro F., Nilsson M. The role of neoadjuvant chemoradiotherapy in multimodality treatment of esophageal or gastroesophageal junction cancer. *J Thorac Dis.* 2018 Jan; 10(1): E87E89. doi: 10.21037/jtd.2017.11.139.
5. Beeharri M.K., Zhang T.Q., Liu W.T., Gang Z.Z. Optimization of perioperative approaches for advanced and late stages of gastric cancer: clinical proposal based on literature evidence, personal experience, and ongoing trials and research. *World J Surg Oncol.* 2020 Mar 9; 18(1): 51. doi: 10.1186/s12957-020-01819-6.
6. Al-Batran S.E., Homann N., Pauligk C., Goetze T.O., Meiler J., Kasper S., Kopp H.G., Mayer F., Haag G.M., Luley K., Lindig U., Schmiegel W., Pohl M., Stoecklacher J., Folprecht G., Probst S., Prasnikar N., Fischbach W., Mählberg R., Trojan J., Koenigsmann M., Martens U.M., Thuss-Patience P., Egger M., Block A., Heinemann V., Illerhaus G., Moehler M., Schenk M., Kullmann F., Behringer D.M., Heike M., Pink D., Teschendorf C., Lohr C., Bernhard H., Schuch G., Rethwisch V., von Weikersthal L.F., Hartmann J.T., Kneba M., Daum S., Schulmann K., Weniger J., Belle S., Gaiser T., Oduncu F.S., Güntner M., Hozaeel W., Reichart A., Jäger E., Kraus T., Mönig S., Bechtstein W.O., Schuler M., Schmalenberg H., Hofheinz R.D.; FLOT4-AIO Investigators. Perioperative chemotherapy with fluorouracil plus leucovorin, oxaliplatin, and docetaxel versus fluorouracil or capecitabine plus cisplatin and epirubicin for locally advanced, resectable gastric or gastro-oesophageal junction adenocarcinoma (FLOT4): a randomised, phase 2/3 trial. *Lancet.* 2019 May 11; 393(10184): 1948–1957. doi: 10.1016/S0140-6736(18)32557-1.
7. Schulz C., Kullmann F., Kunzmann V., Fuchs M., Geissler M., Vehlting-Kaiser U., Stauder H., Wein A., Al-Batran S.E., Kubin T., Schäfer C., Stintzing S., Giessen C., Modest D.P., Ridwelski K., Heinemann V. NeoFLOT: Multicenter phase II study of perioperative chemotherapy in resectable adenocarcinoma of the gastroesophageal junction or gastric adenocarcinoma - Very good response predominantly in patients with intestinal type tumors. *Int J Cancer.* 2015 Aug 1; 137(3): 678–85. doi: 10.1002/ijc.29403.
8. Leong T., Smithers B.M., Haustermans K., Michael M., Gebski V., Miller D., Zalberg J., Boussioutas A., Findlay M., O’Connell R.L., Verghis J., Willis D., Kron T., Crain M., Murray W.K., Lordick F., Swallow C., Darling G., Simes J., Wong R. TOPGEAR: A Randomized, Phase III Trial of Perioperative ECF Chemotherapy with or Without Preoperative Chemoradiation for Resectable Gastric Cancer: Interim Results from an International, Intergroup Trial of the AGITG, TROG, EORTC and CCTG. *Ann Surg Oncol.* 2017; 24(8): 2252–58. doi: 10.1245/s10434-017-5830-6.
9. Stahl M., Walz M.K., Stuschke M., Lehmann N., Meyer H.J., Riera-Knorrenschild J., Langer P., Engenhardt-Cabillic R., Bitzer M., Königsrainer A., Budach W., Wilke H. Phase III comparison of preoperative chemotherapy compared with chemoradiotherapy in patients with locally advanced adenocarcinoma of the esophagogastric junction. *J Clin Oncol.* 2009 Feb 20; 27(6): 851–6. doi: 10.1200/JCO.2008.17.0506.
10. Скоропад В.Ю., Афанасьев С.Г., Гамаюнов С.В., Азабабян Т.А., Волков М.Ю., Глуценко С.А., Евдокимов Л.В., Корчагина К.С., Мозеров С.А., Михайлова О.А., Попова Н.О., Рухадзе Г.О., Самцов Е.Н., Сафонова М.А., Свеклова А.А., Старцева Ж.А., Титова Л.Н., Якушина З.К. Планируемое многоцентровое рандомизированное клиническое исследование II фазы: неoadъювантная химиолучевая терапия с последующей гастрэктомией d2 и адъювантной химиотерапией у больных местнораспространенным раком желудка. Сибирский онкологический журнал. 2016; 15(2): 12–20. [Skoropad V.Y., Afanasyev S.G., Gamayunov S.V., Agababyan T.A., Volkov M.Y., Glushchenko S.A., Evdokimov L.V., Korchagina K.S., Mozerov S.A., Mikhaylova O.A., Popova N.O., Rukhadze G.O., Samstov E.N., Safonova M.A., Sveklova A.A., Startseva Z.A., Titova L.N., Yakushina Z.K. Planning phase 2 multicenter randomized trial of neoadjuvant chemo-radiotherapy followed by d2 gastrectomy and adjuvant chemotherapy for locally advanced gastric cancer. *Siberian Journal of Oncology.* 2016; 15(2): 12–20. (in Russian)]. doi: 10.21294/1814-4861-2016-15-2-12-20.
11. Скоропад В.Ю., Афанасьев С.Г., Гамаюнов С.В., Силантьева Н.К., Азабабян Т.А., Соколов П.В., Иванов С.А., Каприн А.Д. Многоцентровое рандомизированное клиническое исследование 2 фазы: неoadъювантная химиолучевая терапия с последующей гастрэктомией D2 и адъювантной химиотерапией у больных местнораспространенным раком желудка. Сибирский онкологический журнал. 2020; 19(1): 5–14. [Skoropad V.Yu., Afanasyev S.G., Gamayunov S.V., Silantyev N.K., Agababyan T.A., Sokolov P.V., Ivanov S.A., Kaprin A.D. Phase 2 multicenter randomized clinical trial: neoadjuvant chemoradiotherapy followed by D2 gastrectomy and adjuvant chemotherapy in patients with locally advanced gastric cancer. *Siberian Journal of Oncology.* 2020; 19(1): 5–14. (in Russian)]. doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-1-5-14.
12. 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.
13. Lee D.J., Sohn T.S., Lim D.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 May; 69(5): 1333–8. doi: 10.1007/s00280-012-1836-8.
14. 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 Sandijk 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.
15. 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 Feb; 82(2): 132–6. doi: 10.1016/j.radonc.2007.01.009.

Поступила/Received 04.03.2020

Принята в печать/Accepted 18.05.2020

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Скоропад Виталий Юрьевич, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник, Медицинский радиологический научный центр имени А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Обнинск, Россия). E-mail: skoropad@mrtc.obninsk.ru. SPIN-код: 2283-1111. Researcher ID (WOS): E-2200-2018. ORCID: 0000-0002-2136-1994.

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

Гамаюнов Сергей Викторович, кандидат медицинских наук, заместитель главного врача по хирургии, АУ «Республиканский клинический онкологический диспансер» Минздрава Чувашии (г. Чебоксары, Россия). SPIN-код: 9828-9522. AuthorID (РИНЦ): 744580.

Соколов Павел Викторович, Медицинский радиологический научный центр имени А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Обнинск, Россия). SPIN-код: 8527-6278. AuthorID (РИНЦ): 1052617.

Каров Владимир Александрович, врач-онколог, торакоабдоминальное отделение, АУ «Республиканский клинический онкологический диспансер» Минздрава Чувашии (г. Чебоксары, Россия).

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 Российской Федерации (г. Обнинск, Россия). ORCID: 0000-0002-6038-2851.

Силантьева Наталья Константиновна, доктор медицинских наук, заведующая отделением компьютерной томографии, Медицинский радиологический научный центр имени А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Обнинск, Россия).

Иванов Сергей Анатольевич, доктор медицинских наук, профессор РАН, директор, Медицинский радиологический научный центр имени А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации (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» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Обнинск, Россия). ORCID: 0000-0001-8784-8415. Researcher ID (WOS): K-1445-2014.

ВКЛАД АВТОРОВ

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

Афанасьев Сергей Геннадьевич: соисследователь, разработка концепции научной работы, набор клинического материала, анализ полученных результатов, составление черновика рукописи.

Гамаюнов Сергей Викторович: соисследователь, разработка концепции научной работы, набор клинического материала, анализ полученных результатов, составление черновика рукописи.

Соколов Павел Викторович: анализ полученных результатов, статистическая обработка, составление черновика рукописи.

Каров Владимир Александрович: анализ полученных результатов, составление черновика рукописи.

Титова Людмила Николаевна: проведение лучевой терапии, составление черновика рукописи.

Силантьева Наталья Константиновна: 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). E-mail: skoropad@mrrc.obninsk.ru. Researcher ID (WOS): E-2200-2018. ORCID: 0000-0002-2136-1994.

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

Sergey V. Gamajunov, MD, PhD, Republic Clinical Cancer Center (Cheboksary, Russia).

Pavel V. Sokolov, MD, 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).

Vladimir A. Karov, MD, Republic Clinical Cancer Center (Cheboksary, Russia).

Ludmila 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.

Natalia K. Silanteva, MD, DSc, Head of the Department of Computer Tomography, 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, 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.

AUHOR CONTRIBUTION

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

Sergey G. Afanasyev: study design and conception, data collection, data analysis, drafting of the manuscript.

Sergey V. Gamajunov: study design and conception, data collection, data analysis, drafting of the manuscript.

Pavel V. Sokolov: data analysis, statistical data analysis, drafting of the manuscript.

Vladimir A. Karov: data analysis, drafting of the.

Ludmila N. Titova: drafting of the manuscript.

Natalia K. Silanteva: analysis of CT data, statistical data analysis, drafting of the manuscript

Sergey A. Ivanov: data analysis, critical revision of the manuscript for important intellectual content.

Andrey D. Kaprin: study supervision, 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.

Для цитирования: Хомяков В.М., Рябов А.Б., Колобаев И.В., Болотина Л.В., Уткина А.Б., Соболев Д.Д., Кузнецова О.С., Каприн А.Д. Внутрибрюшная аэрозольная химиотерапия под давлением в сочетании с системной химиотерапией – новый подход в лечении больных раком желудка с перитонеальным карциноматозом. Сибирский онкологический журнал. 2020; 19(4): 49–58. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-4-49-58.

For citation: Khomyakov V.M., Ryabov A.B., Kolobaev I.V., Bolotina L.V., Utkina A.B., Sobolev D.D., Kuznetsova O.S., Kaprin A.D. Pressurized intraperitoneal aerosol chemotherapy combined with system chemotherapy – a new approach to treatment of gastric cancer patients with peritoneal carcinomatosis. Siberian Journal of Oncology. 2020; 19(4): 49–58. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-4-49-58.

ВНУТРИБРЮШНАЯ АЭРОЗОЛЬНАЯ ХИМИОТЕРАПИЯ ПОД ДАВЛЕНИЕМ В СОЧЕТАНИИ С СИСТЕМНОЙ ХИМИОТЕРАПИЕЙ – НОВЫЙ ПОДХОД В ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ РАКОМ ЖЕЛУДКА С ПЕРИТОНЕАЛЬНЫМ КАРЦИНОМАТОЗОМ

В.М. Хомяков, А.Б. Рябов, И.В. Колобаев, Л.В. Болотина, А.Б. Уткина,
Д.Д. Соболев, О.С. Кузнецова, А.Д. Каприн

ФГБУ «Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Россия
Россия, 125284, г. Москва, 2-ой Боткинский проезд, 3. E-mail: abuk90@bk.ru

Аннотация

Цель исследования – изучить непосредственные и отдалённые результаты применения внутрибрюшной аэрозольной химиотерапии под давлением (ВАХД) у больных с перитонеальным карциноматозом при раке желудка. **Материал и методы.** На первом этапе, согласно протоколу исследования, пациентам выполняли стадирующую лапароскопию, в ходе которой определяли распространённость перитонеального карциноматоза по шкале PCI с обязательной множественной биопсией брюшины и последующим гистологическим исследованием изменённых участков брюшины. Лечение начинали с 4 курсов системной химиотерапии по схеме XELOX или FOLFOX. В дальнейшем больным в условиях торакоабдоминального отделения осуществляли сеансы ВАХД препаратами цисплатин и доксорубин с интервалом 6–8 нед. Между сеансами пациенты продолжали получать системную химиотерапию по прежней схеме. Каждый сеанс ВАХД включал лапароскопию, повторную биопсию и оценку PCI. **Результаты.** У 102 (80,3 %) больных был первичный рак желудка с ПК, у 25 (19,7 %) – перитонеальный рецидив. PCI<10 баллов зафиксирован у 60 (47,2 %), PCI 10–18 – у 33 (26 %), PCI>18 – у 34 (26,7 %). Диффузный тип рака желудка выявлен у 114 больных (89,7 %), кишечный тип – у 6 (4,7 %), смешанный тип – у 7 (5,5 %). С 2013 г. 127 больным проведено 310 процедур ВАХД. Тяжелых осложнений и летальности не отмечено. Лечебный патоморфоз был оценен у 72 больных. У 40 (55,6 %) больных отмечен выраженный патоморфоз (PRGS 2) и у 10 (13,9%) – полный патоморфоз (PRGS 1). Выживаемость оценена у 63 % (n=80), получивших более 1 сеанса ВАХД. Медиана выживаемости составила 16,0 мес, 1-годичная выживаемость – 77,9 %. **Заключение.** Новый подход к лечению больных раком желудка с перитонеальным карциноматозом, сочетающий системную химиотерапию и внутрибрюшную аэрозольную химиотерапию под давлением, зарекомендовал себя как относительно простой и безопасный метод, позволяющий добиться увеличения общей выживаемости у пациентов с диссеминированным раком желудка.

Ключевые слова: рак желудка, перитонеальный карциноматоз, внутрибрюшная аэрозольная химиотерапия под давлением.

PRESSURIZED INTRAPERITONEAL AEROSOL CHEMOTHERAPY COMBINED WITH SYSTEM CHEMOTHERAPY – A NEW APPROACH TO TREATMENT OF GASTRIC CANCER PATIENTS WITH PERITONAL CARCINOMATOSIS

**V.M. Khomyakov, A.B. Ryabov, I.V. Kolobaev, L.V. Bolotina, A.B. Utkina,
D.D. Sobolev, O.S. Kuznetsova, A.D. Kaprin**

P.A. Gertsen Moscow Research Institute of Oncology, Moscow, Russia
3, 2-nd Botkinskiy Proezd, Moscow-125284, Russia. E-mail: abuk90@bk.ru

Abstract

The aim of the study was to analyze the immediate and long-term outcomes of pressurized intraperitoneal aerosol chemotherapy (PIPAC) in gastric cancer patients with peritoneal carcinomatosis (PC). **Material and methods.** The treatment protocol included diagnostic laparoscopy with PCI score assessment and peritoneal biopsy and 4 courses of systemic chemotherapy with XELOX or FOLFOX followed by PIPAC with cisplatin and doxorubicin at 6–8 week intervals. Between the PIPAC cycles patients received systemic chemotherapy according to previous regimen. Each PIPAC procedure included laparoscopy, evaluation of Peritoneal Carcinomatosis Index (PCI) and peritoneal biopsies. **Results.** 102 (80.3 %) patients had primary gastric cancer with PC and 25 (19.7 %) had peritoneal recurrence of gastric cancer. PCI<10 points was found in 60 (47.2%) patients, PCI 10–18 in 33 (26 %) patients and PCI>18 in 34 (26.7 %) patients. Diffuse type of cancer was diagnosed in 114 patients (89.7 %), intestinal type in 6 (4.7 %) patients and the mixed type in 7 (5.5 %) patients. 127 patients underwent 310 PIPAC procedures. No severe complications and were observed. Pathological response (PRGC score) was evaluated in 72 patients. Partial pathological response (PRGS 2) was achieved in 40 (55.6 %) cases and complete pathological response (PRGS 1) – in 10 (13.9 %). Survival was evaluated in 63 % (n=80) patients who received more than one PIPAC. The median survival was 16.0 months and one year survival rate was 77.9 %. **Conclusion.** A new approach to the treatment of gastric cancer with PC combining systemic chemotherapy and pressurized intraperitoneal aerosol chemotherapy is a simple and save method allowing improvement of survival of patients with peritoneal dissemination of gastric cancer.

Key words: gastric cancer, peritoneal carcinomatosis, pressurized intraperitoneal aerosol chemotherapy.

Введение

Несмотря на неуклонное снижение заболеваемости за последние полвека, рак желудка (РЖ) по итогам 2018 г. занимает 6-е место (6,0 %) в структуре онкологической заболеваемости и 3-е место – среди причин смертности от злокачественных новообразований в Российской Федерации [1]. Одним из основных путей метастазирования при раке желудка остается перитонеальный карциноматоз (ПК) [2]. Более чем у 50 % пациентов, погибших в результате прогрессирования рака желудка, обнаруживают перитонеальный карциноматоз [3, 4]. Среди факторов, способствующих развитию перитонеального карциноматоза, наибольшее значение имеют массивная инвазия серозной оболочки желудка, наличие свободных опухолевых клеток в брюшной полости, регионарное лимфогенное метастазирование, а также диффузный тип первичной опухоли [5, 6].

В настоящий момент наличие перитонеального карциноматоза у больного раком желудка зачастую расценивается как терминальная стадия заболевания с ожидаемой продолжительностью жизни без специального лечения от 3 до 5 мес [7, 8]. В

РФ преимущественным видом симптоматической терапии пациентам с диссеминированным раком желудка является выполнение повторных лапароскопических операций с целью эвакуации асцитической жидкости. Основным методом специального лечения при РЖ с ПК, согласно существующим клиническим рекомендациям, является системная химиотерапия на основе фторпиримидинов, препаратов платины и таксанов. Однако даже применение современных схем системного лечения не позволяет преодолеть медиану выживаемости 7–9 мес, поскольку эффективность системного лечения при перитонеальном карциноматозе ниже, чем при других формах метастазирования РЖ, особенно при перстневидноклеточном раке желудка [9, 10]. Между тем у 10–40 % пациентов с раком желудка ПК является единственным проявлением генерализации опухолевого процесса [11, 12].

Согласно современным исследованиям, одним из наиболее эффективных методов лечения ограниченного перитонеального карциноматоза является методика гипертермической интраоперационной внутрибрюшной химиотерапии (ГИВХ), которая в сочетании с хирургической циторедукцией

позволила достоверно увеличить показатели выживаемости больных с перитонеальным карциноматозом по сравнению с консервативной терапией при псевдомиксому брюшины, колоректальном раке, раке яичников. Однако использование ГИВХ при лечении диссеминированного рака желудка не принесло ожидаемых результатов [12, 13]. Так, систематический обзор 10 исследований, опубликованный в 2011 г., показал, что медиана выживаемости больных РЖ с ПК для всей группы составила 7,9 мес и 15 мес – в случае полной циторедукции (CC-0), причем 5-летняя выживаемость (13 %) была зафиксирована лишь в 2 из 10 исследований [14].

Собственный опыт МНИОИ им. П.А. Герцена также продемонстрировал ограниченную эффективность гипертермической интраоперационной внутрибрюшной химиотерапии у больных с диссеминированным раком желудка. Медиана продолжительности жизни при карциноматозе с $PCI > 7$ составила лишь 5,5 мес [2]. Опубликованные в последние годы исследования, включая работу МНИОИ им. П.А. Герцена, показали, что при раке желудка ГИВХ наиболее эффективна в профилактическом режиме у больных с высоким риском развития перитонеального карциноматоза, но без визуальных признаков поражения брюшины. Тем не менее допускается применение ГИВХ у больных диссеминированным раком желудка в комбинации с системной химиотерапией при ограниченном карциноматозе (PCI ниже 7 баллов) в случае ответа на системную химиотерапию – так называемая конверсионная хирургия [15, 16].

На сегодняшний день одним из наиболее перспективных методов лечения перитонеального карциноматоза является внутрибрюшная аэрозольная химиотерапия под давлением (ВАХД). Впервые данная процедура была осуществлена в 2011 г., в Мюнстерском университете (Германия) [17]. Проведенные исследования продемонстрировали высокую эффективность применения цитостатиков в виде терапевтического аэрозоля в условиях длительного пневмоперитонеума по сравнению с другими способами внутрибрюшного лекарственного воздействия. Как показали доклинические исследования, в ходе аэрозольного введения достигаются более глубокое проникновение цитостатика в опухолевую ткань, а также более гомогенное распределение по брюшной полости по сравнению с обычным внутрибрюшным введением или ГИВХ [18–20]. Первые работы, посвященные применению ВАХД, продемонстрировали обнадеживающие результаты. Так, у 25 % больных наблюдался полный патоморфологический ответ на проведенное лечение, еще у 34 % имелись частичный ответ либо стабилизация опухолевого процесса [21]. Немаловажным фактом является то, что для проведения ВАХД используются низкие дозы цитостатиков (в среднем 10 % от обычной

дозы), следствием чего является практически полное отсутствие системной токсичности.

МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» МЗ РФ стал первым учреждением в нашей стране, освоившим методику внутрибрюшной аэрозольной химиотерапии под давлением при диссеминированном раке желудка в 2013 г. В институте был разработан протокол проспективного клинического исследования 2-й фазы, посвященный применению ВАХД у больных раком желудка с ПК, согласно которому проводят повторные сеансы ВАХД с препаратами цисплатин ($7,5 \text{ мг/м}^2$) и доксорубин ($1,5 \text{ мг/м}^2$) в сочетании с системной химиотерапией. По состоянию на март 2019 г. в условиях торакоабдоминального отделения МНИОИ проведено 310 процедур ВАХД у 127 больных раком желудка с ПК.

Целью исследования явилось изучение непосредственных и отдаленных результатов применения внутрибрюшной аэрозольной химиотерапии под давлением у больных с перитонеальным карциноматозом при раке желудка.

Материал и методы

Согласно разработанному протоколу, на первом этапе проводили стадирующую лапароскопию, в ходе которой определяли распространенность перитонеального карциноматоза по шкале PCI с обязательной множественной биопсией брюшины и последующим гистологическим исследованием измененных участков брюшины. Лечение начинали с 4 курсов системной химиотерапии по схеме XELOX или FOLFOX. В дальнейшем больным в условиях торакоабдоминального отделения осуществляли сеансы ВАХД препаратами цисплатин и доксорубин с интервалом 6–8 нед. Между сеансами пациент продолжал получать системную химиотерапию по прежней схеме.

При наличии отрицательной динамики на фоне проводимого лечения (нарастания индекса PCI на 50 % и более, увеличения темпов накопления асцита, появления новых отдаленных гематогенных или лимфогенных метастазов, а также резкого ухудшения общего состояния) пациент выбывал из исследования – лечебный протокол 1 (рис. 1). Если больной обратился к нам уже в процессе проведения ПХТ, то сеанс ВАХД проводили сразу же во время первой лапароскопии, а режим системной химиотерапии выбирали индивидуально – лечебный протокол 2 (рис. 2). С 2018 г. в комбинации с ВАХД наряду со схемами XELOX/FOLFOX начали применение более современных режимов с включением таксанов у относительно молодых сохранных пациентов с диффузным типом РЖ (25 из 127 больных).

После завершения первых 4 курсов системной химиотерапии, а также перед каждым сеансом ВАХД пациентам проводили комплексное обследование (общий и биохимический анализы крови,

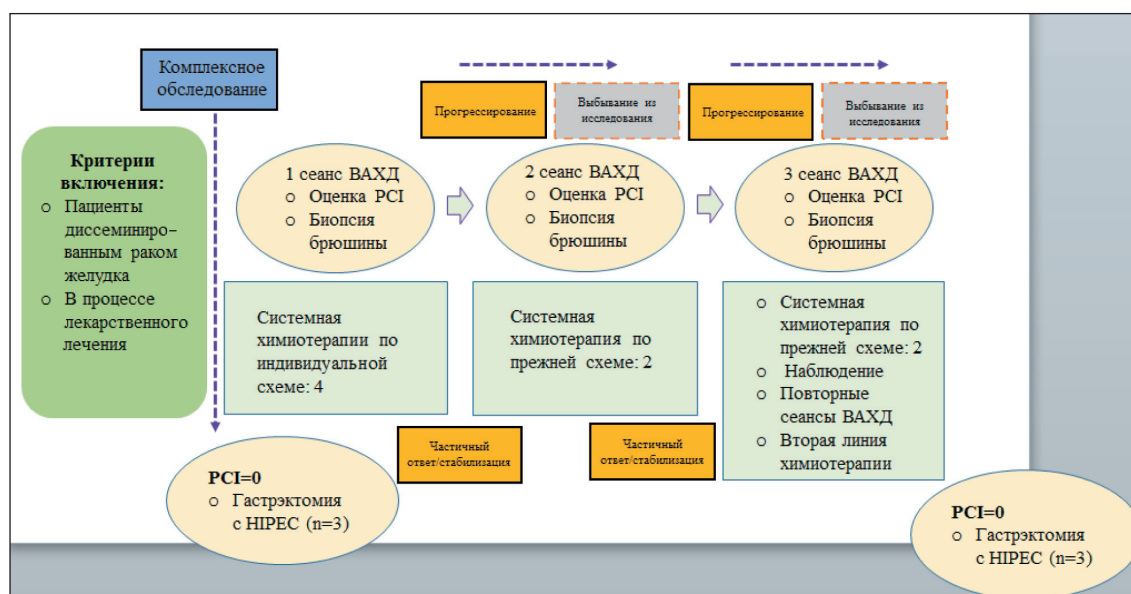


Рис. 1. Лечебный протокол 1 (схема)

Fig. 1. Treatment protocol 1 (scheme)

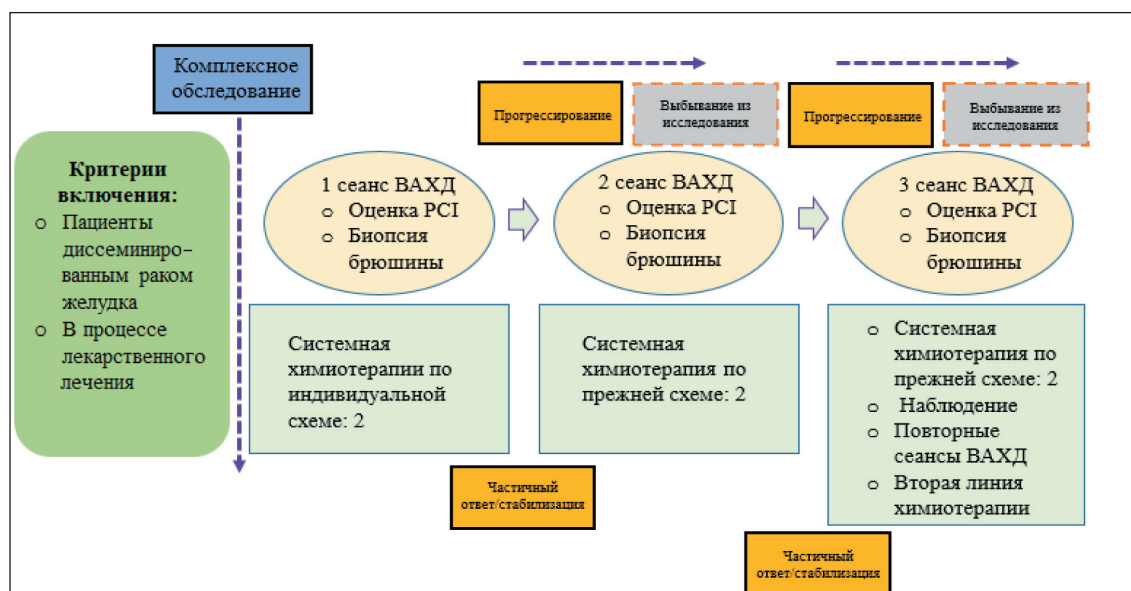


Рис. 2. Лечебный протокол 2 (схема)

Fig. 2. Treatment protocol 2 (scheme)

коагулограмма, общий анализ мочи, маркерный статус, ЭГДС, КТ органов грудной и брюшной полости, УЗИ органов брюшной полости, малого таза, шейно-надключичных зон). У пациенток с подозрением на метастатическое поражение яичников сеанс ВАХД дополняли лапароскопической двухсторонней аднексэктомией.

Методика внутрибрюшной аэрозольной химиотерапии под давлением: в условиях карбоксиперитонеума 12 мм рт. ст. в брюшную полость устанавливается два 11-мм троакара, выполняется видеоревизия брюшной полости с подсчетом индекса PCI, множественная биопсия очагов карциноматоза (не менее 3–4 фрагментов). Далее эвакуируется асцит с замером объема жидкости, через один из троакаров вводится форсунка-распылитель,

которую подключают к ангиоинжектору высокого давления. Осуществляется распыление растворов химиопрепаратов: цисплатин в дозе 7,5 мг/м² в 150 мл 0,9 % NaCl, доксорубин 1,5 мг/м² в 50 мл 0,9 % NaCl. Терапевтический аэрозоль выдерживается в течение 30 мин на фоне постоянного карбоксиперитонеума 12 мм рт. ст. По окончании времени экспозиции производится эвакуация остатков аэрозоля посредством централизованной системы сброса медицинских газов. Описание метода ВАХД подробно представлено на страницах журналов «Онкология. Журнал имени П.А. Герцена» и «Фарматека» [22].

Для оценки эффекта ВАХД используют следующие клинические и морфологические показатели: динамика индекса PCI, темпы накопления асцита,

степень лечебного патоморфоза (PRGS) по данным повторной биопсии. Признаками неэффективности проводимого лечения являются: нарастание индекса PCI на 25 % и более, нарастание объема асцита на 25 % и более, увеличение размеров первичной опухоли, регионарных лимфоузлов, а также появление экстраперитонеальных очагов метастазирования (системное прогрессирование). Безопасность оценивали на основании стандартных лабораторных и клинических тестов.

В процессе наблюдения за больными оценивали общую выживаемость и медиану выживаемости. Расчет выживаемости проводили от даты выявления перитонеального карциноматоза по методу Kaplan – Meier. Для сравнительной оценки эффективности метода использовали группу исторического контроля, в которую вошли 59 больных раком желудка с карциноматозом брюшины, проходивших лечение в МНИОИ им. П.А. Герцена в аналогичный период времени, которым проводили только системную химиотерапию по различным схемам без применения ВАХД.

Результаты и обсуждения

На момент подготовки публикации в торакоабдоминальном хирургическом отделении МНИОИ им. П.А. Герцена внутрибрюшная аэрозольная химиотерапия под давлением проведена 127 больным раком желудка. Средний возраст составил 54 года (22–78 лет). В исследование включено 48 (37,8 %) мужчин и 79 (62,2 %) женщин. В 102 (80,3 %) случаях был диагностирован синхронный перитонеальный карциноматоз, в 25 (19,7 %) – отмечен рецидив РЖ в виде ПК после ранее проведенного комбинированного лечения. Значение индекса PCI варьировало от 3 до 36 баллов. В зависимости от распространенности ПК пациенты были разделены на 3 группы: PCI менее 10 баллов – 60 (47,2 %) больных, PCI от 10 до 18 баллов – 33 (26 %) больных, 18 баллов и более – 34 (26,7 %) пациента. Диффузный тип РЖ являлся преобладающей гистологической формой – 114 (89,7 %) больных, кишечный тип был диагностирован у 6 (4,7 %) больных, смешанный – у 7 (5,5 %).

До начала проведения ВАХД лекарственная терапия в силу различных причин не была проведена 5 больным. В соответствии с протоколом 4 курса химиотерапии по схеме XELOX/FOLFOX получили 64 пациента, остальные 58 – прочие схемы лекарственного лечения (DCF, FLOT и т. д.). Всего за период с августа 2013 г. по январь 2019 г. 127 больным проведено 310 процедур ВАХД (таблица). Основной причиной, по которой был проведен только 1 сеанс ВАХД (47 больных), явилось прогрессирование опухолевого процесса (39 больных, 82,9 %) с появлением экстраперитонеальных метастазов и нарастанием карциноматоза либо выраженным ухудшением общего состояния. Из них 8 пациентов ожидают второй сеанс. Асцит

Таблица/Table

Общая характеристика 127 пациентов

General characteristics of 127 patients

Характеристика/Characteristics	Значение/Value
Пол (М/Ж)/Sex (M/F)	48 (37,8 %)/79 (62,2 %)
Средний возраст, годы (мин-макс)/Mean age, years (min-max)	54 (22–78)
Гистология (Lauren)/Histology (Lauren Classification)	
Диффузный/Diffuse/Signet ring	114 (89,7 %)
Интестинальный/Intestinal	6 (4,7 %)
Смешанный/Mixed	7 (5,5 %)
Перитонеальный раковый индекс (PCI), (средний мин-макс)/Peritoneal Carcinomatosis Index (PCI), (mean min-max)	
<10	60 (47,2 %)
10–18	33 (26 %)
>18	34 (26,7 %)
Перитонеальный карциноматоз/Peritoneal metastasis	
Синхронный/Synchronous	102 (80,3 %)
Метахронный/Metachronous	25 (19,7 %)
Предшествующая химиотерапия/Previous chemotherapy	
По схеме XELOX/FOLFOX/Regimen XEOX/FOLFOX	64 (50,4 %)
Прочие схемы/Other regimens	63 (49,6 %)
Количество сеансов ВАХД/PIRAC sessions, n	
1	47 (37 %)
2	21 (16,5 %)
3	33 (26 %)
4	15 (11,8 %)
5	6 (4,7 %)
6	4 (3,1 %)
8	1 (0,7 %)

был выявлен у 32 (40 %) больных. Метастатическое поражение яичников зарегистрировано у 30 (37,9 %) из 79 женщин, включенных в исследование. При этом тубовариоэктомия выполнена 26 (86,7 %) больным, в том числе симультанно с сеансом ВАХД: у 10 (38,5 %) – до включения в протокол клинического исследования, у 16 (61,5 %) пациенток – на этапах лечения.

Нежелательные явления регистрировались согласно принятым критериям побочных эффектов (СТСАЕ 4.0). При оценке безопасности было зафиксировано 43 (13,8 %) случая развития нежелательных явлений на 310 процедур. Тяжелых осложнений и летальности не было. Самым частым нежелательным явлением в 1-е сут после операции была боль в местах установки троакара – 28 (65,1 %), купируемая приемом анальгетиков. У 8 (18,6 %) больных отмечена послеоперационная тошнота без позывов на рвоту. В 2 (4,6 %) случаях была десерозирована тонкая кишка при установке троакаров, что потребовало наложения серозно-мышечных швов. В 1 наблюдении при биопсии

диафрагмы возникла перфорация с развитием карбокситорака, что потребовало дренирования плевральной полости (СТСАЕ 3). Подкожная эмфизема в месте введения иглы Вереша зафиксирована у 2 больных, и грыжа в области установки троакара в 1-м наблюдении. Средний срок нахождения в стационаре составил 3 дня.

Лечебный патоморфоз (ЛП) по данным повторной биопсии был выявлен у 72 больных, получивших более 1 сеанса ВАХД. Оценка ЛП производилась с помощью международной шкалы лечебного патоморфоза в брюшине – PRGS (Peritoneal Regression Grading Score). Лишь у 4 (5,6 %) больных в повторных биоптатах брюшины было зафиксировано отсутствие лечебного патоморфоза (PRGS 4), у 18 (25 %) пациентов выявлены слабо выраженные признаки лечебного патоморфоза (PRGS 3), у 40 (55,6 %) был отмечен выраженный лечебный патоморфоз (PRGS 2), у 10 (13,9 %) – полный морфологический ответ в виде фиброзной ткани без элементов опухоли (PRGS 1). Случай полного ответа подтверждали иммуногистохимическим исследованием на панцитокератин.

Также дана оценка динамике PCI на втором сеансе ВАХД. Для исключения влияния субъективного фактора был введен допуск, при котором изменения индекса в пределах ± 25 % от исходного расценивали как стабилизацию. Соответственно, нарастание PCI более чем на 25 % характеризовали как прогрессирование. Таким образом, у 15 (18,7 %) больных уровень индекса диссеминации стал ниже исходного, у 42 (52,5 %) отмечена стабилизация, у 23 (28,7 %) зафиксирована отрицательная динамика. Следует отметить, что изменение индекса PCI не всегда коррелировало с лечебным патоморфозом, наблюдались случаи нарастания PCI на фоне выраженного лечебного патоморфоза в биоптатах брюшины и наоборот. В большинстве наблюдений полного и частичного ответа очаги карциноматоза не исчезают полностью, а замещаются фиброзной тканью.

Поскольку 37 % больных выбыло после первого сеанса ВАХД, оценена выживаемость 63 % больных ($n=80$), получивших более 1 сеанса ВАХД. Медиана выживаемости составила 16,0 мес, 1-годовая выживаемость – 77,9 % (рис. 3), что достоверно выше аналогичных показателей в группе исторического контроля – 7 мес и 28,8 % соответственно (рис. 4).

Также нами произведена оценка выживаемости больных в зависимости от основных прогностических факторов: начального уровня PCI и ответа на системную химиотерапию. Для оценки выживаемости в зависимости от уровня перитонеального карциноматоза больные были условно разделены на три группы с низким (<10), средним (10–18) и высоким (>18) значением PCI. Медиана выживаемости в указанных группах составила 16,0; 12,3

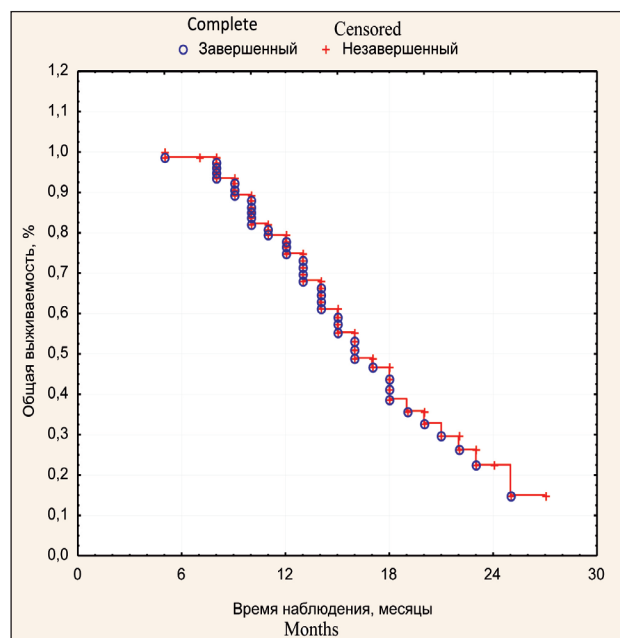


Рис. 3. Общая выживаемость больных
Fig. 3. Overall survival of patients

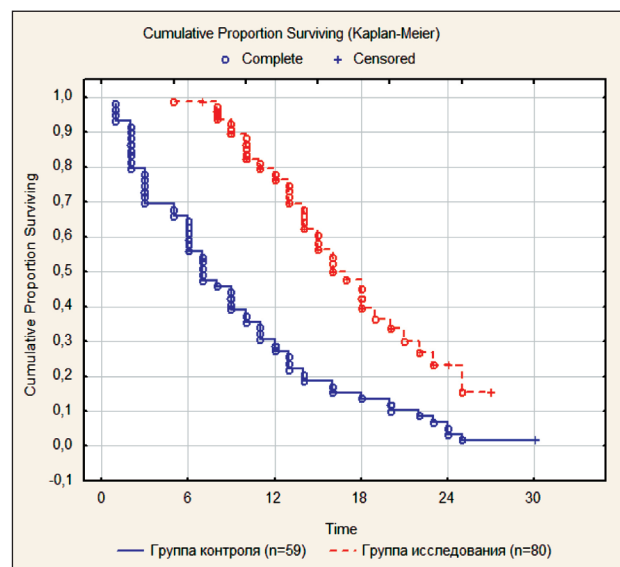


Рис. 4. Общая выживаемость больных по сравнению с группой исторического контроля
Fig. 4. Overall survival of patients compared to the historical control group

и 12,0 мес, 1-годовая выживаемость – 80,5 %, 50,0 % и 49,4 % соответственно (рис. 5). Таким образом, максимальный эффект от применения метода был зафиксирован в группе больных с низким значением PCI.

Еще одним важнейшим фактором прогноза являлся ответ на системную химиотерапию, поскольку у большинства больных первичная опухоль не была удалена и эффективность системной лекарственной терапии определяла контроль над первичной опухолью и экстраперитонеальными

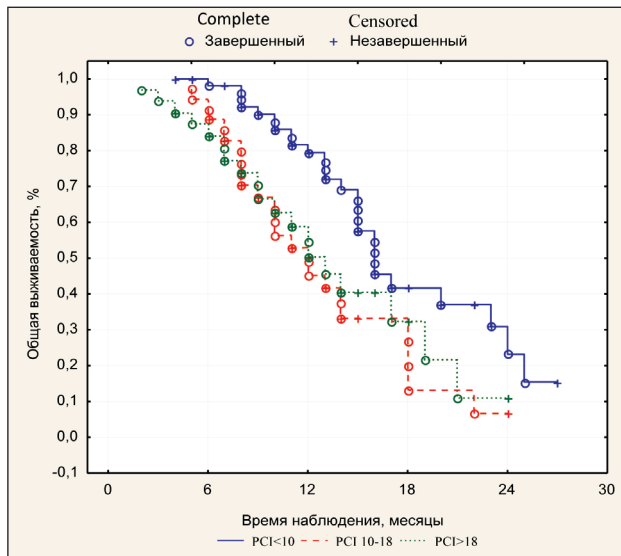


Рис. 5. Общая выживаемость больных в зависимости от исходного значения PCI

Fig. 5. Overall survival of patients with respect to initial PCI value

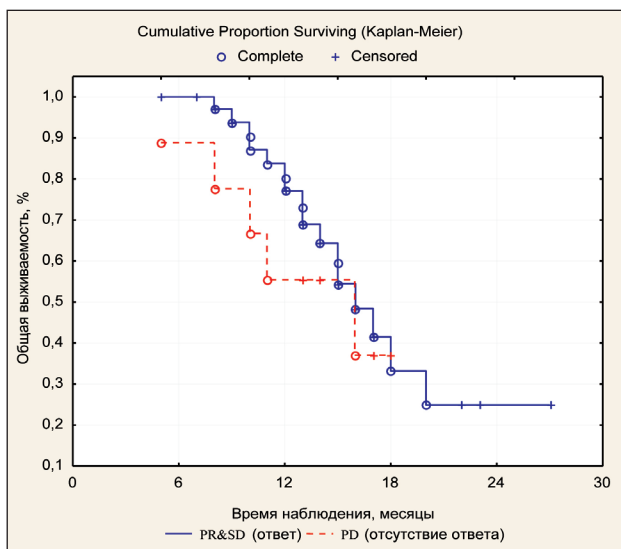


Рис. 6. Общая выживаемость больных в зависимости от ответа на системную химиотерапию

Fig. 6. The overall survival of patients depending on the response to systemic chemotherapy

очагами болезни (метастатические лимфоузлы и т. п.). Медиана выживаемости больных, ответивших на системную химиотерапию в виде частичного регресса или стабилизации, была достоверно выше и составила 15,6 мес против 11,3 мес у больных с прогрессированием. Одногодичная выживаемость – 71,9 % и 47,3 % соответственно (рис. 6). У 5 больных проведение сочетанной ВАХД и системной химиотерапии привело к снижению индекса PCI до 0–2, что позволило выполнить циторедуктивную операцию в сочетании с ГИВХ.

Обсуждение

Перитонеальный карциноматоз является наиболее частой формой прогрессирования при раке желудка. Частота ПК среди первичных больных раком желудка, по данным различных авторов, варьирует от 14 до 43 % [21]. Перитонеальная диссеминация при раке желудка является фактором крайне неблагоприятного прогноза, медиана выживаемости не превышает 3–6 мес.

Стандартным методом лечения больных с карциноматозом брюшины является системная химиотерапия, однако ее эффективность крайне ограничена, что обусловлено наличием гемато-перитонеального барьера, а также особенностями патофизиологии пораженной брюшины, что не позволяет добиться высокой концентрации химиопрепаратов в перитонеальных очагах. Внутривнутрибрюшинная аэрозольная химиотерапия под давлением – новый метод лечения больных с ПК, преимуществом которого является более гомогенное распределение химиопрепаратов в брюшной полости и лучшее проникновение в ткани брюшины по сравнению с обычным внутривнутрибрюшинным введением раствора цитостатиков [23]. У больных раком желудка с распространенным ПК, ожидаемая продолжительность жизни которых ограничена месяцами, ВАХД является доступным, малоинвазивным методом паллиативного лечения, который редко сопровождается тяжелыми осложнениями. Основные риски связаны с лапароскопическим доступом, а не с сеансом ВАХД. Несомненным достоинством метода является тщательный и объективный мониторинг состояния брюшины и достигнутого эффекта, поскольку каждая процедура представляет собой повторную диагностическую лапароскопию, включая морфологическое подтверждение [23]. Впервые метод был использован в Германии в качестве терапии отчаяния на фоне прогрессирования после двух и более линий системной химиотерапии. В настоящее время о применении ВАХД при раке желудка сообщили несколько европейских центров, однако число наблюдений не превышает 20–30 [24].

МНИОИ им. П.А. Герцена обладает крупнейшим в мире опытом в лечении первичного диссеминированного рака желудка с ПК с использованием технологии ВАХД. Разработанный нами клинический протокол предполагает применение ВАХД в комбинации с системной химиотерапией у больных первичным и рецидивным раком желудка с распространенным карциноматозом брюшины в качестве первой линии терапии, что было впервые осуществлено в мировой практике. Наше исследование показывает, что сочетание ВАХД с системной химиотерапией у больных раком желудка с перитонеальным карциноматозом позволяет увеличить медиану выживаемости больных до 16 мес.

Наилучшие показатели выживаемости отмечены в группе больных, ответивших на системную химиотерапию, а также с уровнем PCI менее 10. Оценка ответа на системную химиотерапию, предшествующую первому сеансу ВАХД, является важным критерием отбора больных для дальнейшего лечения. Очевидно, что при первичном РЖ с ПК проведение сочетанной внутрибрюшной и системной химиотерапии не предполагает удаление первичного очага, а это значит, что контроль за первичной опухолью и экстраперитонеальным распространением в значительной степени зависит от эффективности системного компонента. Таким образом, проведение ВАХД в случае явного прогрессирования заболевания на фоне системной химиотерапии оправдано только с симптоматической целью (снижение темпов накопления асцита).

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2017 году. М.: 2016: 4–11. [Kaprin A.D., Starinsky V.V., Petrova G.V. Malignant neoplasms in Russia in 2017. Moscow: 2016: 411. (in Russian)].
- Каприн А.Д., Соболев Д.Д., Хомяков В.М., Болотина Л.В., Рябов А.Б., Хороненко В.Э., Шеметова М.М., Крамская Л.В., Колобаев И.В., Иванов А.В., Уткина А.Б. Опыт лечения местнораспространенного рака желудка (Cyt+) с применением гипертермической интраоперационной внутрибрюшной химиотерапии. Онкология. Журнал им. П.А. Герцена. 2015; (1): 67–70. [Kaprin A.D., Sobolev D.D., Khomiakov V.M., Bolotina L.V., Riabov A.B., Khoronenko V.E., Shemetova M.M., Kramskaya L.V., Kolobaev I.V., Ivanov A.V., Utkina A.B. Experience with hyperthermic intraoperative intraperitoneal chemotherapy in the treatment of locally advanced gastric cancer (Cyt+). P.A. Herzen Journal of Oncology. 2015; (1): 67–70. (in Russian)].
- Nashimoto A., Akazawa K., Isobe Y., Miyashiro I., Katai H., Kadera Y., Tsujitani S., Seto Y., Furukawa H., Oda I., Ono H., Tanabe S., Kaminishi M. Gastric cancer treated in 2002 in Japan: 2009 annual report of the JGCA nationwide registry. Gastric Cancer. 2013 Jan; 16(1): 1–27. doi: 10.1007/s10120-012-0163-4.
- Степанов И.В., Падеров Ю.М., Афанасьев С.Г. Перитонеальный канцероматоз. Сибирский онкологический журнал. 2014; (5): 45–53. [Stepanov I.V., Paderov Yu.M., Afanasyev S.G. Peritoneal carcinomatosis. Siberian Journal of Oncology. 2014; (5): 45–53. (in Russian)].
- Roviello F., Marrelli D., de Manzoni G., Morgagni P., Di Leo A., Saragoni L., De Stefano A.; Italian Research Group for Gastric Cancer. Prospective study of peritoneal recurrence after curative surgery for gastric cancer. Br J Surg. 2003 Sep; 90(9): 1113–9. doi: 10.1002/bjs.4164.
- Thomassen I., van Gestel Y.R., van Ramshorst B., Luyer M.D., Bosscha K., Nienhuijs S.W., Lemmens V.E., de Hingh I.H. Peritoneal carcinomatosis of gastric origin: a population-based study on incidence, survival and risk factors. Int J Cancer. 2014 Feb 1; 134(3): 622–8. doi: 10.1002/ijc.28373.
- Sadeghi B., Arvieux C., Glehen O., Beaujard A.C., Rivoire M., Baulieux J., Fontaumar E., Brachet A., Caillot J.L., Faure J.L., Porcheron J., Peix J.L., François Y., Vignal J., Gilly F.N. Peritoneal carcinomatosis from non-gynecologic malignancies: results of the EVOCAPE 1 multicentric prospective study. Cancer. 2000 Jan 15; 88(2): 358–63. doi: 10.1002/(sici)1097-0142(20000115)88:2<358::aid-cncl16>3.0.co;2-o.
- Kuramoto M., Shimada S., Ikeshima S., Matsuo A., Yagi Y., Matsuda M., Yonemura Y., Baba H. Extensive intraoperative peritoneal lavage as a standard prophylactic strategy for peritoneal recurrence in patients with gastric carcinoma. Ann Surg. 2009 Aug; 250(2): 242–6. doi: 10.1097/SLA.0b013e3181b0c80e.
- Бесова Н.С., Болотина Л.В., Калинин А.Е., Кононец П.В., Малихова О.А., Проценко С.А. Практические рекомендации по лекарственному лечению рака желудка. Злокачественные опухоли. Практические рекомендации RUSSCO. 2019; 9(3s2): 308–323. [Besova N.S., Bolotina L.V., Kalinin A.E., Kononets P.V., Malikhova O.A., Protsenko S.A. Practical recommendations for the treatment of gastric cancer. Malignant tumors. Practical recommendations of RUSSCO. 2019 9 (3s2): 308–323. (in Russian)].
- Rivera F., Vega-Villegas M.E., López-Brea M.F. Chemotherapy of advanced gastric cancer. Cancer Treat Rev. 2007 Jun; 33(4): 315–24. doi: 10.1016/j.ctrv.2007.01.004.
- Mori T., Fujiwara Y., Sugita Y., Azama T., Ishii T., Taniguchi K., Yamazaki K., Takiguchi S., Yasuda T., Yano M., Monden M. Application of molecular diagnosis for detection of peritoneal micrometastasis and evaluation of preoperative chemotherapy in advanced gastric carcinoma. Ann Surg Oncol. 2004 Jan; 11(1): 14–20. doi: 10.1007/BF02524340.
- Elias D., Gilly F., Boutitie F., Quenet F., Bereder J.M., Mansvelt B., Lorimier G., Dubè P., Glehen O. Peritoneal colorectal carcinomatosis treated with surgery and perioperative intraperitoneal chemotherapy: retrospective analysis of 523 patients from a multicentric French study. J Clin Oncol. 2010 Jan 1; 28(1): 63–8. doi: 10.1200/JCO.2009.23.9285.
- Hanker L.C., Loibl S., Burchardt N., Pfisterer J., Meier W., Pujade-Lauraine E., Ray-Coquard I., Sehouli J., Harter P., du Bois A.; AGO and GINECO study group. The impact of second to sixth line therapy on survival of relapsed ovarian cancer after primary taxane/platinum-based therapy. Ann Oncol. 2012 Oct; 23(10): 2605–12. doi: 10.1093/annonc/mds203.
- Каприн А.Д., Хомяков В.М., Соболев Д.Д., Болотина Л.В., Рябов А.Б., Хороненко В.Э., Соболева М.М., Крамская Л.В. Опыт комбинированного лечения больных местно-распространенным и диссеминированным раком желудка с использованием методики гипертермической интраоперационной внутрибрюшной химиотерапии. Исследования и практика в медицине. 2015; (2(4)): 17–27. [Kaprin A.D., Khomyakov V.M., Sobolev D.D., Bolotina L.V., Ryabov A.B., Khoronenko V.E., Soboлева M.M., Kramskaya L.V. Our experience of hyperthermic intraperitoneal chemotherapy for patients with advanced gastric cancer. Research and Practical Medicine Journal. 2015; 2(4): 17–27. (in Russian)]. doi: 10.17709/2409-2231-2015-4.
- Gill R.S., Al-Adra D.P., Nagendran J., Campbell S., Shi X., Haase E., Schiller D. Treatment of gastric cancer with peritoneal carcinomatosis by cytoreductive surgery and HIPEC: a systematic review of survival, mortality, and morbidity. J Surg Oncol. 2011 Nov 1; 104(6): 6928. doi: 10.1002/jso.22017.
- Chia C.S., You B., Decullier E., Vaudoyer D., Lorimier G., Aboud K., Bereder J.M., Arvieux C., Boschetti G., Glehen O.; BIG RENAPE Group. Patients with Peritoneal Carcinomatosis from Gastric Cancer Treated with Cytoreductive Surgery and Hyperthermic Intraperitoneal Chemotherapy: Is Cure a Possibility? Ann Surg Oncol. 2016 Jun; 23(6): 1971–9. doi: 10.1245/s10434-015-5081-3.
- Solass W., Kerb R., Mürdter T., Giger-Pabst U., Strumberg D., Tempfer C., Zieren J., Schwab M., Reymond M.A. Intraperitoneal chemotherapy of peritoneal carcinomatosis using pressurized aerosol as an alternative to liquid solution: first evidence for efficacy. Ann Surg Oncol. 2014 Feb; 21(2): 553–9. doi: 10.1245/s10434-013-3213-1.
- Reymond M.A., Hu B., Garcia A., Reck T., Köckerling F., Hess J., Morel P. Feasibility of therapeutic pneumoperitoneum in a large animal model using a microvapourisator. Surg Endosc. 2000 Jan; 14(1): 515. doi: 10.1007/s004649900010.
- Solass W., Hetzel A., Nadiradze G., Sagynaliev E., Reymond M.A. Description of a novel approach for intraperitoneal drug delivery and the related device. Surg Endosc. 2012 Jul; 26(7): 1849–55. doi: 10.1007/s00464-012-2148-0.
- Eveno C., Haidara A., Ali I., Pimpie C., Mirshahi M., Pocard M. Experimental pharmacokinetics evaluation of chemotherapy delivery by PIPAC for colon cancer: first evidence for efficacy. Pleura Peritoneum. 2017 Jun 1; 2(2): 103–109. doi: 10.1515/pp-2017-0015.

Закключение

Таким образом, внутрибрюшная аэрозольная химиотерапия под давлением представляет собой простой, малоинвазивный и безопасный для пациентов и персонала метод паллиативного лечения больных раком желудка с распространенным перитонеальным карциноматозом. Метод комбинированного лекарственного воздействия (системного и внутрибрюшного) не сопровождается повышением системной токсичности и хорошо переносится большинством пациентов. Результаты проведенного исследования продемонстрировали увеличение медианы выживаемости больных диссеминированным раком желудка по сравнению с группой исторического контроля. Наибольший эффект зафиксирован в группе больных с PCI ниже 10, которые не прогрессировали на фоне системной лекарственной терапии.

21. Nadiradze G., Giger-Pabst U., Zieren J., Strumberg D., Solass W., Reymond M.A. Pressurized Intraperitoneal Aerosol Chemotherapy (PIPAC) with Low-Dose Cisplatin and Doxorubicin in Gastric Peritoneal Metastasis. *J Gastrointest Surg.* 2016 Feb; 20(2): 367–73. doi: 10.1007/s11605-015-2995-9.

22. Каприн А.Д., Хомяков В.М., Рябов А.Б., Болотина Л.В., Иванов А.В., Уткина А.Б., Волченко Н.Н. Внутривнутрибрюшная аэрозольная химиотерапия под давлением (ВАХД) в сочетании с системной химиотерапией у больных раком желудка с перитонеальной диссеминацией. *Фарматека.* 2016; 330(17): 59–65. [Kaprin A.D., Khomyakov V.M., Ryabov A.B., Bolotina L.V., Ivanov A.V., Utkina A.B., Volchenko N.N.

Pressurized intraperitoneal aerosol chemotherapy (PIAC) in combination with systemic chemotherapy for stomach cancer patients with peritoneal dissemination. *Pharmateca.* 2016; 330(17): 59–65. (in Russian)].

23. Jacquet P., Sugarbaker P.H. Clinical research methodologies in diagnosis and staging of patients with peritoneal carcinomatosis. *Cancer Treat Res.* 1996; 82: 359–74. doi: 10.1007/978-1-4613-1247-5_23.

24. Alberto M., Brandl A., Garg P.K., Gül-Klein S., Dahlmann M., Stein U., Rau B. Pressurized intraperitoneal aerosol chemotherapy and its effect on gastric-cancer-derived peritoneal metastases: an overview. *Clin Exp Metastasis.* 2019 Feb; 36(1): 1–14. doi: 10.1007/s10585-019-09955-4.

Поступила/Received 05.08.2019
Принята в печать/Accepted 13.04.2020

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Хомяков Владимир Михайлович, кандидат медицинских наук, заведующий торакоабдоминальным хирургическим отделением отдела торакоабдоминальной онкохирургии, МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 4081-7701.

Рябов Андрей Борисович, доктор медицинских наук, руководитель отдела торакоабдоминальной онкохирургии, МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 9810-5315.

Колобаев Илья Владимирович, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник торакоабдоминального хирургического отделения отдела торакоабдоминальной онкохирургии, МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России (г. Москва, Россия).

Болотина Лариса Владимировна, доктор медицинских наук, заведующая отделением химиотерапии, МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 2787-5414.

Уткина Анна Борисовна, врач-онколог, младший научный сотрудник торакоабдоминального хирургического отделения отдела торакоабдоминальной онкохирургии, МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России (г. Москва, Россия).

Соболев Дмитрий Дмитриевич, кандидат медицинских наук, научный сотрудник торакоабдоминального хирургического отделения отдела торакоабдоминальной онкохирургии, МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России (г. Москва, Россия).

Кузнецова Ольга Сергеевна, врач-патоморфолог, МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России (г. Москва, Россия).

Каприн Андрей Дмитриевич, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, генеральный директор ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 1759-8101. Author ID (Scopus): 6602709853. ORCID: 0000-0001-8784-8415.

ВКЛАД АВТОРОВ

Хомяков Владимир Михайлович: концепция работы, написание статьи, финальная редакция текста.

Рябов Андрей Борисович: руководитель исследования, финальная редакция текста.

Колобаев Илья Владимирович: анализ материала, написание статьи.

Болотина Лариса Владимировна: соруководитель исследования, финальная редакция текста.

Уткина Анна Борисовна: набор и анализ материала, подготовка текста к публикации, написание статьи.

Соболев Дмитрий Дмитриевич: подготовка текста к публикации, написание статьи.

Кузнецова Ольга Сергеевна: анализ патоморфологических аспектов работы.

Каприн Андрей Дмитриевич: руководитель научного направления, финальная редакция текста.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы объявляют, что у них нет конфликта интересов

ABOUT THE AUTHORS

Vladimir M. Khomiakov, MD, PhD, Head of Thoracoabdominal Surgery Department, P.A. Gertsen Moscow Research Institute of Oncology – branch of the National Medical Research Center of Radiology (Moscow, Russia).

Andrey B. Ryabov, MD, DSc, Head of the Department of Thoracoabdominal Oncology, P.A. Gertsen Moscow Research Institute of Oncology – branch of the National Medical Research Center of Radiology (Moscow, Russia).

Ilya V. Kolobaev, MD, PhD, Senior Researcher, Thoracoabdominal Surgery Department, P.A. Gertsen Moscow Research Institute of Oncology – branch of the National Medical Research Center of Radiology (Moscow, Russia).

Larisa V. Bolotina, MD, DSc, Head of Chemotherapy Department, P.A. Gertsen Moscow Research Institute of Oncology – branch of the National Medical Research Center of Radiology (Moscow, Russia).

Anna B. Utkina, MD, PhD, Researcher, Thoracoabdominal Surgery Department, P.A. Gertsen Moscow Research Institute of Oncology – branch of the National Medical Research Center of Radiology (Moscow, Russia).

Dmitriy D. Sobolev, MD, PhD, Researcher, Thoracoabdominal Surgery Department, P.A. Gertsen Moscow Research Institute of Oncology – branch of the National Medical Research Center of Radiology (Moscow, Russia).

Olga S. Kuznetsova, MD, Pathologist, P.A. Gertsen Moscow Research Institute of Oncology – branch of the National Medical Research Center of Radiology (Moscow, Russia).

Andrey D. Kaprin, MD, DSc, Professor, Member of the Russian Academy of Sciences, General Director of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of Russian Federation (Moscow, Russia).

AUTHOR CONTRIBUTION

Vladimir M. Khomiakov: study conception, writing the article, final editing of the text.

Andrey B. Ryabov: research leader, final editing of the text.

Ilya V. Kolobaev: data analysis, writing the article.

Larisa V. Bolotina: co-director, final editing of the text.

Anna B. Utkina: data analysis, prepare text for publication, writing the article.

Dmitriy D. Sobolev: prepare text for publication, writing the article.

Olga S. Kuznetsova: data analysis.

Andrey D. Kaprin: scientific direction, final editing of the text.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

Для цитирования: Прокудин М.Ю., Мартынов Б.В., Свистов Д.В., Литвиненко И.В., Имянитов Е.Н., Чирский В.С., Бушуров С.Е., Яковенко А.И., Чемодакова К.А., Клиценко О.А., Горустович О.А., Медведева Г.Ф., Булатов А.Р. Генетические биологические маркеры глиальных опухолей головного мозга: мутации в генах изоцитратдегидрогеназ 1 и 2. Сибирский онкологический журнал. 2020; 19(4): 59–66. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-4-59-66.

For citation: Prokudin M.Yu., Martynov B.V., Svistov D.V., Litvinenko I.V., Imyanitov E.N., Chirsky V.S., Bushurov S.E., Yakovenko A.I., Chemodakova K.A., Klitsenko O.A., Gorustovich O.A., Medvedeva G.F., Bulatov A.R. Genetic biomarkers of glial brain tumors: IDH1 and IDH2 mutations. Siberian Journal of Oncology. 2020; 19(4): 59–66. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-4-59-66.

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ БИОЛОГИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ГЛИАЛЬНЫХ ОПУХОЛЕЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА: МУТАЦИИ В ГЕНАХ ИЗОЦИТРАТДЕГИДРОГЕНАЗ 1 И 2

М.Ю. Прокудин¹, Б.В. Мартынов¹, Д.В. Свистов¹, И.В. Литвиненко¹,
Е.Н. Имянитов², В.С. Чирский¹, С.Е. Бушуров¹, А.И. Яковенко¹,
К.А. Чемодакова¹, О.А. Клиценко³, О.А. Горустович², Г.Ф. Медведева⁴,
А.Р. Булатов¹

ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова» МО РФ,
г. Санкт-Петербург, Россия¹

Россия, 194044, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, Ж¹

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, г. Санкт-Петербург, Россия²

Россия, 197758, г. Санкт-Петербург, ул. Ленинградская, 68. E-mail: evgeny@imyanitov.spb.ru²

ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова»

Минздрава России, г. Санкт-Петербург, Россия³

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

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный технологический институт

(технический университет)», г. Санкт-Петербург, Россия⁴

Россия, 190013, г. Санкт-Петербург, Московский проспект, 26⁴

Аннотация

Актуальность. Мутации в генах изоцитратдегидрогеназ 1 и 2 (IDH1 и IDH2) относятся к «драйверным» генетическим событиям при глиомах. Их частота достигает 70–80 % в глиомах низкой степени злокачественности и во вторичных глиобластомах, а онкогенный эффект реализуется путем избыточного накопления метаболита 2-гидроксиглутарата, нарушающего нормальные процессы метилирования ДНК и белков в клетках. **Цель исследования** – проанализировать ассоциации между наличием мутаций IDH1/2 и важнейшими клинико-морфологическими параметрами глиальных опухолей. **Материал и методы.** В исследование вошло 147 пациентов с глиальными опухолями головного мозга. Была изучена связь мутаций IDH1/2 с гистологическим типом, возрастом начала заболевания, локализацией опухоли, клиническими проявлениями глиом. **Результаты.** Установлено, что для содержащих мутации IDH1/2 глиом характерен более молодой возраст установки диагноза (39,5 лет) по сравнению с IDH-негативными случаями (47,2 года) ($p < 0,01$). Обнаружено, что опухоли с повреждениями IDH1/2 значительно чаще локализируются в лобной (53,4 %) и теменной долях (61,3 %), чем в других областях головного мозга ($p < 0,05$). Продemonстрировано, что частота развития эпилепсии значительно выше среди пациентов с IDH1/2-мутациями (69,2 % vs 48,2 %, $p < 0,05$). У больных с мутациями IDH1/2 также зафиксировано более благоприятное течение заболевания. При сочетании перечисленных факторов (локализация опухоли в лобной или теменной доле, наличие эпилепсии, возраст моложе 39 лет) частота мутаций IDH1/2 достигла 21/27 (77,8 %) и оказалась намного выше, чем у остальных пациентов (44/119 (37,0 %), OR=5,97, 95 % CI: 2,24–15,91, $p < 0,001$). **Заключение.** Присутствие генетических дефектов IDH1/2 ассоциировано с локализацией глиальных опухолей в лобной и теменной долях головного мозга и с клиническими прогностическими факторами, такими как возраст начала заболевания и наличие эпилептического синдрома.

Ключевые слова: эпилепсия, приступ, мутации IDH1/2, глиомы, глиобластома, анапластическая астроцитома, диффузная астроцитома, опухоли головного мозга.

GENETIC BIOMARKERS OF GLIAL BRAIN TUMORS: IDH1 AND IDH2 MUTATIONS

M.Yu. Prokudin¹, B.V. Martynov¹, D.V. Svistov¹, I.V. Litvinenko¹, E.N. Imyanitov²,
V.S. Chirsky¹, S.E. Bushurov¹, A.I. Yakovenko¹, K.A. Chemodakova¹,
O.A. Klitsenko³, O.A. Gorustovich², G.F. Medvedeva⁴, A.R. Bulatov¹

Military Medical Academy named after S.M. Kirov, Ministry of Defence of the Russian Federation, St. Petersburg, Russia¹

Zh, Academician Lebedev Street, 194044, St. Petersburg, Russia¹

N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology, St. Petersburg, Russia²

68, Leningradskaya str., 197758, St. Petersburg, Russia.

E-mail: evgeny@imyanitov.spb.ru²

North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Ministry of Health of the Russian Federation, St. Petersburg, Russia³

41, Kirochnaya Street, 191015, St. Petersburg, Russia³

Saint-Petersburg State Institute of Technology, St. Petersburg, Russia⁴

24, Moskovsky prospect, 190013, St. Petersburg, Russia⁴

Abstract

Introduction. Mutations in the isocitrate dehydrogenase 1 and 2 genes (IDH1 and IDH2) are considered driver genetic events in gliomas. Their frequency reaches 70–80 % in low-grade gliomas and in secondary glioblastomas, and their oncogenic effect is realized by accumulation of the metabolite 2-hydroxyglutarate, which disrupts DNA and protein methylation processes. **The aim of the study** was to analyze the associations between the presence of IDH1/2 mutations and clinical and morphological parameters of glial tumors.

Material and Methods. The study included 147 patients with glial brain tumors. Associations between IDH1/2 status and tumor histological type, age of disease onset, tumor localization, and clinical manifestations were investigated. **Results.** Gliomas containing IDH1/2 mutations were characterized by a younger age at diagnosis (mean: 39.5 years) compared to IDH-negative cases (47.2 years) ($p < 0.01$). IDH1/2-mutated tumors were more often localized in the frontal (53.4 %) and parietal lobes (61.3 %) than in the other areas of the brain ($p < 0.05$). It was demonstrated that the incidence of epilepsy was significantly higher among patients with IDH1/2 genetic defects (69.2 % vs. 48.2 %, $p < 0.05$). Patients with IDH1/2 mutations had more favorable course of the disease. Among individuals with a combination of these factors (localization of the tumor in the frontal or parietal lobe, presence of epilepsy, age younger than 39 years), the frequency of IDH1/2 mutations reached 21/27 (77.8 %), which was significantly higher than that in all other patients (44/119 (37.0 %), OR = 5.97, 95 % CI: 2.24–15.91, $p < 0.001$). **Conclusion.** The presence of IDH1/2 genetic defects is associated with localization of glial tumors in the frontal and parietal lobes of the brain, earlier age at disease onset and the presence of epileptic syndrome.

Key words: epilepsy, seizure, IDH1 and IDH2 gene mutations, gliomas, glioblastoma, anaplastic astrocytoma, diffuse astrocytoma, brain tumors.

Введение

В настоящее время во всем мире отмечается рост заболеваемости опухолями ЦНС, которая, по данным CBTRUS за 2010–14 гг., в возрасте от 15 до 39 лет составляет 10,94 на 100 тыс. населения в год, в возрасте старше 40 лет – 40,82 на 100 тыс. населения. Смертность в возрастной группе 15–39 лет составляет 0,94 на 100 тыс., старше 40 лет – 8,94 на 100 тыс. населения [1]. Глиомы представляют собой наиболее распространенную первичную опухоль головного мозга, а различные гистологические подтипы отличаются по спектру агрессивности и ответу на терапевтическое воздействие. При этом влияние прогностических факторов на исход более значимо, чем какие-либо минимальные изменения в лечебном воздействии. К клиническим факторам, оказывающим наиболь-

шее влияние на исход лечения, относятся возраст пациента, гистологический тип опухоли и общее состояние больного перед операцией [2–5]. Также было показано, что наличие судорожного синдрома в предоперационном периоде у пациентов с глиомами различной степени злокачественности связано с лучшими показателями выживаемости [6–8].

Помимо клинических факторов, существенное влияние на исход заболевания оказывают молекулярно-генетические характеристики опухолей. К наиболее значимым для глиом генетическим нарушениям относятся мутации в генах изоцитратдегидрогеназ 1 и 2 (IDH1 и IDH2), определение которых необходимо для уточнения диагноза в соответствии с обновленной классификацией опухолей мозга ВОЗ [9]. Установлено, что мутации

IDH1/2 встречаются с высокой частотой (70–80 %) при глиомах низкой степени злокачественности [10] и вторичных глиобластомах и ассоциированы с хорошим прогнозом.

Целью исследования явилась оценка связи между клиническими прогностическими факторами и мутациями IDH1/2 при глиомах.

Материал и методы

В исследование были включены 147 пациентов с глиальными опухолями головного мозга, находившихся на лечении в клинике нейрохирургии и нервных болезней Военно-медицинской академии в период с 2014 по 2017 г. Критериями включения являлись: возраст от 18 лет, опухоли головного мозга, гистологическая характеристика которых соответствует диффузным астроцитарным и олигодендроглиальным опухолям, другим астроцитарным опухолям. Средний возраст начала заболевания составил $43,77 \pm 14,91$ года. В исследование вошли 76 мужчин (51,70 %) и 71 (48,3 %) женщина. Всем больным было выполнено иссле-

дование частых мутаций в генах IDH1 (экзон 4) и IDH2 (экзон 4) в опухолевой ткани посредством высокоразрешающего анализа кривых плавления ПЦР-продуктов и секвенирования.

Статистический анализ выполнялся с использованием программы STATISTICA for Windows (версия 10). Сравнение количественных параметров (возраст) осуществлялось с помощью критериев Манна – Уитни, медианного χ^2 и модуля ANOVA. Сопоставление частотных характеристик качественных показателей (локализация, гистология, степень злокачественности, факт наличия эпилептических приступов) проводили с помощью непараметрических методов χ^2 , χ^2 с поправкой Йетса (для малых групп), критерия Фишера. Принципиально важное для оценки наличия мутации IDH1/2 пороговое значение возраста получено с помощью метода построения классификационных деревьев. Анализ выживаемости и длительности безрецидивного периода на основе цензурированных наблюдений проводили с использованием метода Каплана – Мейера.

Таблица 1/Table 1

Клинико-морфологические параметры опухолей головного мозга в зависимости от наличия мутаций в генах IDH1/2

Association of clinical/morphological parameters of brain tumors with IDH1/2 mutations

Характеристика/Characteristics	Опухоли без мутации/ Tumors having no mutations in IDH1/2 (n=82)	Опухоли с мутацией/ Tumors with mutations IDH1/2 (n=65)	Результат сравнения групп/ Statistical difference
Средний возраст/Mean age	47,2 ± 15,0	39,5 ± 13,8	p<0,01
Гистологический тип/Histological type			
Субэпендимарная астроцитома (n=1)/ Subependymal astrocytoma (n=1)	1 (100 %)	0 (0 %)	p<0,001*
Диффузная астроцитома (n=40)/ Diffuse astrocytoma (n=40)	28 (70,0 %)	12 (30,0 %)	
Олигодендроглиома(n=22)/ Oligodendroglioma (n=22)	0 (0 %)	22 (100 %)	
Анапластическая астроцитома (n=36)/ Anaplastic astrocytoma (n=36)	18 (50,0 %)	18 (50,0 %)	
Глиобластома (n=48)/ Glioblastoma (n=48)	35 (72,9 %)	13 (27,1 %)	
Степень злокачественности/Differentiation grade			
Grade I (n=1)	1 (100 %)	0 (0 %)	p<0,01**
Grade II (n=51)	28 (54,9 %)	23 (45,1 %)	
Grade III (n=47)	18 (38,3 %)	29 (61,7 %)	
Grade IV (n=48)	35 (72,9 %)	13 (27,1 %)	
Пол/Sex			
Мужской/Male (n=76)	43 (56,6 %)	33 (43,4 %)	p>0,05
Женский /Female (n=71)	39 (54,9 %)	32 (45,1 %)	
Наличие эпилептических приступов/Presence of epileptic seizures			
Да/Yes (n=84)	39 (46,4 %)	45 (53,6 %)	p<0,05
Нет/No (n=62)	42 (67,7 %)	20 (32,3 %)	
Продолжительность жизни, grade III/ Life span, grade III (n=46)	n=18	n=28	p>0,05
Медиана, сут/Medium, days	476	678,6	
Длительность безрецидивного периода, grade III/Disesae-free time, grade III (n=46)			
Медиана, сут/Medium, days	243,2	678,2	p>0,05

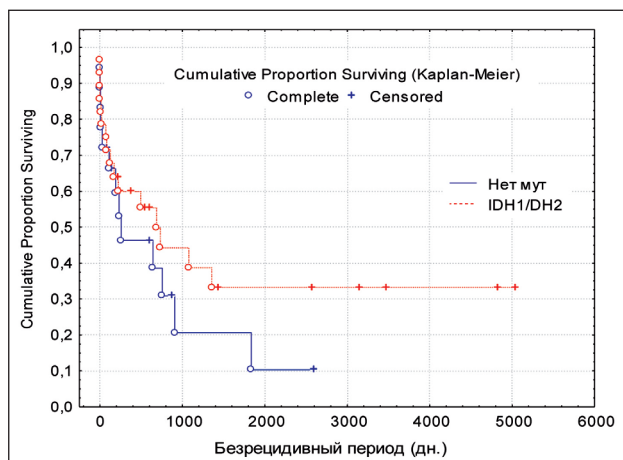


Рис. 1. Длительность безрецидивного периода у больных с глиальными опухолями головного мозга (grade III) с наличием и отсутствием мутации IDH1/2

Fig. 1. Disease-free time in patients with grade III brain tumors with or without IDH1/2 mutations

Результаты

Основные характеристики включённых в исследование пациентов и выявленные ассоциации представлены в табл. 1. В анализируемую группу вошли 1 (0,7 %) случай субэпендимарной астроцитомы, 40 (27,2 %) – диффузной астроцитомы, 22 (15 %) – олигодендроглиомы, 36 (24,5 %) – анапластических астроцитом, 48 (32,7 %) – глиобластом. Частота мутаций IDH1/2 во всей выборке составила 65/147 (44,2 %), при этом их встречаемость существенно отличалась при разных гистологических типах опухолей. Чаще всего мутации наблюдались при олигодендроглиомах (100 %) и анапластических астроцитомах (50 %), значительно реже при диффузных астроцитомах (30 %) и глиобластомах (27,1 %) ($p < 0,001$). Низкая частота мутаций IDH1/2 в группе больных с глиобластомами свидетельствует о преобладании в нашей выборке первичных глиобластом.

По степени злокачественности глиом изучаемые случаи распределялись следующим образом: grade I – 1 (0,7 %) пациент, grade II – 51 (34,7 %), grade III – 47 (32,0 %), grade IV – 48 (32,7 %). Мутации IDH1/2 наиболее часто встречались при grade III (61,7 %) и grade II (45,1 %), и реже при grade IV (27,1 %) ($p < 0,01$).

Присутствие мутаций IDH1/2 ассоциировалось с более молодым возрастом установки диагноза: у пациентов с мутациями средний возраст составил $39,5 \pm 13,8$ года, тогда как в остальных случаях – $47,2 \pm 15,0$ лет ($p < 0,01$). Для определения порогового значения возраста, с наибольшей достоверностью разграничивающего случаи с наличием и отсутствием мутаций IDH1/2, был применен логико-структурный анализ методом построения классификационных деревьев. При его использовании было получено пороговое значение, соот-

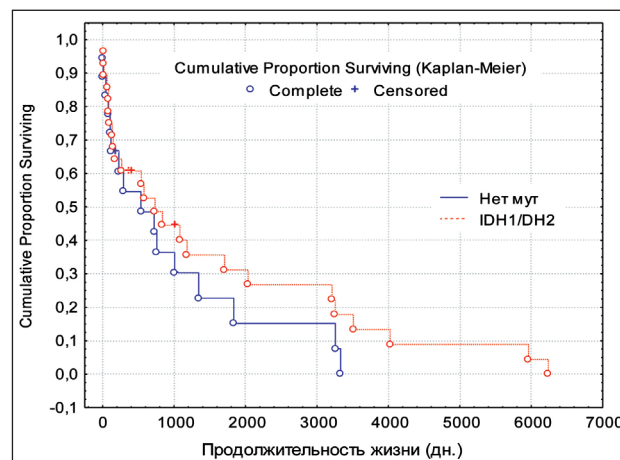


Рис. 2. Продолжительность жизни у больных с глиальными опухолями головного мозга (grade III) с наличием и отсутствием мутации IDH1/2

Fig. 2. Survival of patients with brain tumors (grade III) with or without IDH1/2 mutations

ветствующее 39 годам. В группе больных моложе 39 лет мутации IDH1/2 выявлялись достоверно чаще (63,2 %, $n=36$) в сравнении с группой больных 39 лет и старше (32,2 %, $n=29$) ($p < 0,001$, отношение шансов (Odds Ratio, OR) составило 3,6 (95 % ДИ 1.87.2).

Генетические повреждения IDH1/2 ассоциировались с локализацией опухоли в лобной и теменной долях головного мозга (табл. 2). Их частота в глиомах лобной и теменной доли составила 39/73 (53,4 %) и 19/31 (61,3 %) соответственно, что оказалось значительно выше, чем в глиомах без вовлечения этих областей, – 26/74 (35,1%) и 46/116 (39,7%) соответственно, $p < 0,05$ для обоих сравнений. Схожие результаты были представлены в работе F. Stockhammer et al. [10], в которой выявлена связь между мутацией в генах, кодирующих изоцитратдегидрогеназы 1/2, и локализацией опухоли в островковой и лобной долях головного мозга.

Анализ клинических проявлений глиом выявил, что встречаемость эпилептических приступов значительно выше у больных с IDH1/2-позитивными опухолями (45/65, 69,2 %), чем при отсутствии мутации (39/81, 48,2 %) ($p < 0,05$). Эти данные согласуются с результатами предыдущих исследований [11–14]. При сочетании указанных факторов (локализация опухоли в лобной или теменной доле, наличие эпилепсии, возраст моложе 39 лет) частота мутаций IDH1/2 достигла 21/27 (77,8 %) и оказалась намного выше, чем у остальных пациентов (44/119 (37,0 %), OR=5,97, 95 % ДИ: 2,24–15,91, $p=0,0003$).

Таким образом, исходя из полученных нами данных, при локализации опухоли в лобной или теменной долях головного мозга, возрасте начала заболевания до 39 лет и при наличии в клинической картине эпилептических приступов можно предполагать наличие мутации в генах IDH1/2.

Таблица 2/Table 2

Частота встречаемости мутаций IDH1/2 в зависимости от локализации опухоли в центральной нервной системе

Frequency of IDH1/2 mutations in different lobes of brain tumors

Доля головного мозга/ Lobe of the brain	Наличие мутации IDH1/2/ IDH1/2 mutation		Достоверность различий/ Statistical significance
	Вовлечена/ Presence of mutation	Не вовлечена/ Absence of mutation	
Лобная доля/Frontal lobe	53,42 % (39/73)	35,14 % (26/74)	p<0,05
Височная доля/Temporal lobe	36,21 % (21/58)	49,44 % (44/89)	p>0,05
Теменная доля/Parietal lobe	61,29 % (19/31)	39,66 % (46/116)	p<0,05
Затылочная доля/Occipital lobe	14,29 % (1/7)	45,71 % (64/140)	p>0,05
Парацентральная доля/Paracentral lobule	55,00 % (11/20)	42,52 % (54/127)	p>0,05
Проводящие пути/Pathways	16,67 % (1/6)	45,39 % (64/141)	p>0,05

В группе из 46 пациентов с глиомами grade III была выполнена также оценка длительности безрецидивного периода и общей продолжительности жизни в зависимости от статуса генов IDH1/2. Оба показателя оказались выше у больных с мутациями IDH1/2, хотя различия не были статистически значимыми (рис. 1, 2). Медиана длительности безрецидивного периода в группе пациентов с наличием мутаций составила 678,2 сут, в группе с отсутствием – 243,2 сут. Медиана общей продолжительности жизни у больных с наличием мутаций составила 678,6 сут, с отсутствием таковых – 476,0 сут. Таким образом, качественный анализ показал более благоприятное течение заболевания у больных с глиальными опухолями головного мозга (grade III) с наличием мутации IDH1/2.

Обсуждение

При изучении любого заболевания необходимо поиск доступных для анализа клинических и молекулярных маркеров. В случае первичных опухолей головного мозга важным является поиск биологических маркеров, которые отражают не только прогноз, но и характер течения заболевания, в частности эпилептогенез [10, 15, 16].

В ряде исследований показано, что мутации в генах, кодирующих изоцитратдегидрогеназы 1 и 2 типов, играют существенную роль в патогенезе глиом головного мозга. Связанные с ними метаболические нарушения ассоциируются со скоростью прогрессирования опухолей, вторичной трансформацией глиом низкой степени в глиомы высокой степени злокачественности [16], а также с развитием эпилепсии [10]. Изоцитратдегидрогеназа 1 типа является цитоплазматическим ферментом, а также содержится в пероксисомах, в то время как изоцитратдегидрогеназа 2 типа представлена в митохондриях. Функция изоцитратдегидрогеназы заключается в окислительном декарбоксилировании изоцитрата, который превращается

в α -кетоглутарат. Наиболее распространённые (>90 % случаев) мутации вызывают замену аргинина (R132) на гистидин в IDH1 и аргинина (R172) на лизин в IDH2 [17]. Эти мутации приводят к снижению уровня нормального метаболита α -кетоглутарата и избыточному накоплению 2-гидроксиглутарата, который рассматривается как онкометаболит [11]. Более того, 2-гидроксиглутарат схож по своей структуре с глутаматом, что приводит к активации NMDA рецепторов и развитию эпилепсии [10]. По результатам нашего исследования, эпилепсия наблюдалась в 69,2 % (45/65) в группе больных с мутациями IDH1/2. Эти данные хорошо согласуются с рядом работ, в которых также показана связь между мутациями изоцитратдегидрогеназ 1 и 2 и развитием эпилепсии [13, 14].

Результаты клинических исследований показали, что глиомы с IDH-мутацией составляют отдельную группу, характеризующуюся относительно благоприятным течением заболевания по сравнению с опухолями без мутации [18, 19]. В нашем исследовании было продемонстрировано увеличение как длительности безрецидивного периода, так и общей продолжительности жизни в группе пациентов с глиальными опухолями головного мозга (grade III) при наличии мутаций IDH1/2.

Заключение

Присутствие мутаций в генах IDH1/2 ассоциировано с локализацией глиальных опухолей в лобной и теменной долях головного мозга и с клиническими прогностическими факторами: с более молодым возрастом начала заболевания, присутствием в клинической картине эпилептических приступов. Для пациентов с наличием мутаций IDH1/2 характерно более благоприятное течение заболевания.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Ostrom Q.T., Gittleman H., Liao P., Vecchione-Koval T., Wolinsky Y., Kruchko C., Barnholtz-Sloan J.S. CBTRUS Statistical Report: Primary brain and other central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2010-2014. *Neuro Oncol.* 2017 Nov 6; 19(suppl_5): v1v88. doi: 10.1093/neuonc/nox158.
- Carson K.A., Grossman S.A., Fisher J.D., Shaw E.G. Prognostic factors for survival in adult patients with recurrent glioma enrolled onto the new approaches to brain tumor therapy CNS consortium phase I and II clinical trials. *J Clin Oncol.* 2007 Jun 20; 25(18): 2601–6. doi: 10.1200/JCO.2006.08.1661.
- Curran W.J.Jr., Scott C.B., Horton J., Nelson J.S., Weinstein A.S., Fischbach A.J., Chang C.H., Rotman M., Asbell S.O., Krisch R.E. Recursive partitioning analysis of prognostic factors in three Radiation Therapy Oncology Group malignant glioma trials. *J Natl Cancer Inst.* 1993 May 5; 85(9): 704–10. doi: 10.1093/jnci/85.9.704.
- Iwabuchi S., Bishara S., Herbison P., Erasmus A., Samejima H. Prognostic factors for supratentorial low grade astrocytomas in adults. *Neurol Med Chir (Tokyo).* 1999 Apr; 39(4): 273–9. doi: 10.2176/nmc.39.273.
- Lamborn K.R., Chang S.M., Prados M.D. Prognostic factors for survival of patients with glioblastoma: recursive partitioning analysis. *Neuro Oncol.* 2004 Jul; 6(3): 227–35. doi: 10.1215/S1152851703000620.
- Мартынов Б.В., Парфенов В.Е., Труфанов Г.Е., Фокин В.А., Алексеева Н.П., Цибиров А.А., Холявин А.И., Грачева П.В., Смирнов И.Б., Свистов Д.В. Прогностические факторы у больных с глиомами: симптомно-синдромальный анализ. Вестник Российской Военно-медицинской академии. 2010; 1(29): 7–14. [Martynov B.V., Parfenov V.E., Trufanov G.E., Fokin V.A., Alexeyeva N.P., Tsiyrov A.A., Holiavin A.I., Gracheva P.V., Smirnov I.B., Svistov D.V. Prognostic factors of patients with gliomas: symptomatic-syndrome analysis. *Bulletin of the Russian Military Medical Academy.* 2010; 1(29): 7–14. (in Russian)].
- Lynam L.M., Lyons M.K., Drzakowski J.F., Sirven J.I., Noe K.H., Zimmerman R.S., Wilkens J.A. Frequency of seizures in patients with newly diagnosed brain tumors: a retrospective review. *Clin Neurol Neurosurg.* 2007; 109(7): 634–8. doi: 10.1016/j.clineuro.2007.05.017.
- Ozbek N., Cakir S., Gursel B., Meydan D. Prognostic significance of seizure in patients with glioblastoma multiforme. *Neurol India.* 2004 Mar; 52(1): 76–8.
- Мацко Д.Е., Мацко М.В., Имянитов Е.Н. Нейроонкология. Практическая онкология. 2017; 18(1): 103–14. [Matsko D.E., Matsko M.V., Imyanitov E.N. Neurooncology. *Practical Oncology.* 2017; 18(1): 103–14. (in Russian)].
- Stockhammer F., Misch M., Helms H.J., Lengler U., Prall F., von Deimling A., Hartmann C. IDH1/2 mutations in WHO grade II astrocytomas associated with localization and seizure as the initial symptom. *Seizure.* 2012; 21(3): 194–7. doi: 10.1016/j.seizure.2011.12.007.
- Duan W.C., Wang L., Li K. IDH mutations but not TERTp mutations are associated with seizures in lower-grade gliomas. *Medicine (Baltimore).* 2018; 97(50): e13675. doi: 10.1097/MD.00000000000013675.
- Chen H., Judkins J., Thomas C., Wu M., Khouiry L., Benjamin C.G., Pacione D., Golfinos J.G., Kumthekar P., Ghamisari F., Chen L., Lein P., Chetkovich D.M., Snuderl M., Horbinski C. Mutant IDH1 and seizures in patients with glioma. *Neurology.* 2017; 88(19): 1805–13. doi: 10.1212/WNL.0000000000003911.
- Phan K., Ng W., Lu V.M., McDonald K.L., Fairhall J., Reddy R., Wilson P. Association Between IDH1 and IDH2 Mutations and Preoperative Seizures in Patients with Low-Grade Versus High-Grade Glioma: A Systematic Review and Meta-Analysis. *World Neurosurg.* 2018 Mar; 111: e539–e545. doi: 10.1016/j.wneu.2017.12.112.
- Yang Y., Mao Q., Wang X., Liu Y., Mao Y., Zhou Q., Luo J. An analysis of 170 glioma patients and systematic review to investigate the association between IDH-1 mutations and preoperative glioma-related epilepsy. *J Clin Neurosci.* 2016 Sep; 31: 56–62. doi: 10.1016/j.jocn.2015.11.030.
- Прокудин М.Ю., Одинак М.М., Литвиненко И.В., Мартынов Б.В., Желзняк И.С., Лыткин М.В., Воронцова Д.А. Магнитно-резонансная спектроскопия при глиомах головного мозга: биологические маркеры. Неврология. Психиатрия. 2018; 1(145): 10–15. [Prokudin M.Yu., Odinak M.M., Litvinenko I.V., Martynov B.V., Zheleznyak I.S., Lytkin M.V., Vorontsova D.A. Magnetic Resonance Spectroscopy in Cerebral Gliomas: Biologic Markers. *Neurology. Psychiatry.* 2018; 1(145): 10–15. (in Russian)].
- Chen R., Ravindra V.M., Cohen A.L., Jensen R.L., Salzman K.L., Prescot A.P., Colman H. Molecular features assisting in diagnosis, surgery, and treatment decision making in low-grade gliomas. *Neurosurg Focus.* 2015 Mar; 38(3): E2. doi: 10.3171/2015.1.FOCUS14745.
- Табак Д.В., Катаргин А.Н., Стржанова А.М., Сендерович А.И., Насхлеташвили Д.Р., Киселева Н.П. Мутации изоцитратдегидрогеназ 1 и 2 и метилирование гена MGMT в глиомах. Успехи молекулярной онкологии. 2017; 4: 53–59. [Tabakov D.V., Katargin A.N., Stroganova A.M., Senderovich A.I., Naskhletashvili D.R., Kiseljova N.P. Isocitrate dehydrogenase 1 and 2 genes mutations and MGMT methylation in gliomas. *Advances in Molecular Oncology.* 2017; 4: 53–59. (in Russian)]. doi: 10.17650/2313-805X-2017-4-1-53-59.
- Лобанова Н.В., Шишкина Л.В., Рыжова М.В., Кобыakov Г.Л., Сычева Р.В., Буров С.А., Лукьянов А.В., Омарова Ж.Р. Клинические, иммуногистохимические и молекулярно-генетические факторы прогноза у больных с глиобластомой. Архив патологии. 2016; 78(4): 10–19. [Lobanova N.V., Shishkina L.V., Ryzhova M.V., Kobayakov G.L., Sycheva R.V., Burov S.A., Lukyanov A.V., Omarova Zh.R. Clinical, immunohistochemical, and molecular genetic prognostic factors in adult patients with glioblastoma. *Archive of Pathology.* 2016; 78(4): 10–19. (in Russian)]. doi: 10.17116/patol201678410-19.
- Schittenhelm J., Mittelbronn M., Meyermann R., Melms A., Tatagiba M., Capper D. Confirmation of R132H mutation of isocitrate dehydrogenase 1 as an independent prognostic factor in anaplastic astrocytoma. *Acta Neuropathol.* 2011 Nov; 122(5): 651–2. doi: 10.1007/s00401-011-0885-0.

Поступила/Received 27.12.2019
Принята в печать/Accepted 24.01.2020

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Прокудин Михаил Юрьевич, кандидат медицинских наук, преподаватель кафедры нервных болезней, ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» МО РФ (г. Санкт-Петербург, Россия). ORCID: 0000-0003-1545-8877.

Мартынов Борис Владимирович, доктор медицинских наук, профессор кафедры нейрохирургии, ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» МО РФ (г. Санкт-Петербург, Россия).

Свистов Дмитрий Владимирович, кандидат медицинских наук, доцент, начальник кафедры нейрохирургии, ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» МО РФ (г. Санкт-Петербург, Россия). ORCID: 0000-0002-3922-9887.

Литвиненко Игорь Вячеславович, доктор медицинских наук, профессор, начальник кафедры нервных болезней, ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» МО РФ (г. Санкт-Петербург, Россия).

Имянитов Евгений Наумович, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент Российской академии наук, заведующий научным отделом биологии опухолевого роста, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава РФ (г. Санкт-Петербург, Россия). ORCID: 0000-0003-4529-7891.

Чирский Вадим Семенович, доктор медицинских наук, профессор, начальник Центральной патологоанатомической лаборатории (МО РФ) – главный патологоанатом МО РФ, ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» МО России (г. Санкт-Петербург, Россия).

Бушуров Станислав Евгеньевич, кандидат медицинских наук, заместитель начальника центральной патологоанатомической лаборатории, ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» МО РФ (г. Санкт-Петербург, Россия).

Яковенко Андрей Игоревич, заведующий патологоанатомическим отделением патоморфологического отдела Центральной патологоанатомической лаборатории, ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» МО РФ (г. Санкт-Петербург, Россия).

Чемадакова Ксения Андреевна, врач-нейрохирург клиники нейрохирургии, ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» МО РФ (г. Санкт-Петербург, Россия).

Клиценко Ольга Анатольевна, кандидат биологических наук, доцент кафедры педагогики, философии и права, ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). ORCID: 0000-0002-2686-8786.

Горустович Ольга Андреевна, кандидат биологических наук, младший научный сотрудник научной лаборатории молекулярной онкологии, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия).

Медведева Галина Федоровна, студентка факультета биотехнологии СПбГТИ(ТУ), лаборант-исследователь научной лаборатории молекулярной онкологии, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава РФ (г. Санкт-Петербург, Россия).

Булатов Альберт Ренатович, преподаватель кафедры нервных болезней, ФГБОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» МО РФ (г. Санкт-Петербург, Россия).

ВКЛАД АВТОРОВ

Прокудин Михаил Юрьевич: сбор и интерпретация данных.

Мартынов Борис Владимирович: сбор и интерпретация данных.

Свистов Дмитрий Владимирович: анализ публикаций по теме, анализ данных.

Литвиненко Игорь Вячеславович: статистический анализ результатов.

Имянитов Евгений Наумович: критический анализ текста статьи с внесением ценных замечаний.

Чирский Вадим Семенович: сбор клинических данных.

Бушуров Станислав Евгеньевич: сбор клинических данных.

Яковенко Андрей Игоревич: описание клинических данных.

Чемодакова Ксения Андреевна: сбор и интерпретация данных.

Клиценко Ольга Анатольевна: анализ публикаций по теме, анализ данных.

Горустович Ольга Андреевна: сбор и анализ данных.

Медведева Галина Федоровна: анализ данных.

Булатов Альберт Ренатович: критический анализ данных, коррекция текста публикации, разработка задач исследования.

Финансирование

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (проект №075-15-2019-1721, RFMEFI60419X0216).

Конфликт интересов

Авторы объявляют, что у них нет конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Mikhail Yu. Prokudin, MD, PhD, Department of Nervous Diseases, Military Medical Academy named after S.M. Kirov (St. Petersburg, Russia). ORCID: 0000-0003-1545-8877.

Boris V. Martynov, MD, Professor, Department of Nervous Diseases, Military Medical Academy named after S.M. Kirov (St. Petersburg, Russia).

Dmitry V. Svistov, MD, PhD, Head of Department of Nervous Diseases, Military Medical Academy named after S.M. Kirov (St. Petersburg, Russia). ORCID: 0000-0002-3922-9887.

Igor V. Litvinenko, MD, Professor, Head of Department of Nervous Diseases, Military Medical Academy named after S.M. Kirov (St. Petersburg, Russia).

Evgeny N. Imyaninov, MD, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Head of Department of Tumor Progression Biology, N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology (St. Petersburg, Russia). ORCID: 0000-0003-4529-7891.

Vadim S. Chirsky, MD, Professor, Head of Central Pathological Laboratory, Chief Pathologist, Military Medical Academy named after S.M. Kirov (St. Petersburg, Russia).

Stanislav E. Bushurov, PhD, Central Pathological Laboratory, Military Medical Academy named after S.M. Kirov (St. Petersburg, Russia).

Andrey I. Yakovenko, MD, Head of Pathology Department, Central Pathological Laboratory, Military Medical Academy named after S.M. Kirov (St. Petersburg, Russia).

Ksenia A. Chemodakova, MD, Neurosurgeon, Neurosurgery Clinic, Military Medical Academy named after S.M. Kirov (St. Petersburg, Russia).

Olga A. Klitsenko, PhD, Associate Professor of the Department of Pedagogy, Philosophy and Law, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov (St. Petersburg, Russia). ORCID: 0000-0002-2686-8786.

Olga A. Gorustovich, PhD, Researcher, Laboratory of Molecular Oncology, N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology (St. Petersburg, Russia).

Galina F. Medvedeva, Laboratory Assistant, Research Laboratory of Molecular Oncology, N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology (St. Petersburg, Russia).

Albert R. Bulatov, MD, Lecturer, Department of Nervous Diseases, Military Medical Academy named after S.M. Kirov (St. Petersburg, Russia).

AUTHOR CONTRIBUTION

Mikhail Yu. Prokudin: collection of samples, description of clinical data.

Boris V. Martynov: collection of samples, data analysis.

Dmitry V. Svistov: data analysis, description of the results.

Igor V. Litvinenko: data analysis.

Evgeny N. Imyanitov: critical revision of the manuscript for important intellectual content.

Vadim S. Chirsky: data collection.

Stanislav E. Bushurov: data collection.

Andrey I. Yakovenko: description of clinical data.

Ksenia A. Chemodakova: collection of samples, description of clinical data.

Olga A. Klitsenko: data analysis and interpretation.

Olga A. Gorustovich: collection of samples, description of clinical data.

Galina F. Medvedeva: data analysis.

Albert R. Bulatov: critical revision of the manuscript for important intellectual content.

Funding

This work was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (grant № 075-15-2019-1721, RFMEFI60419X0216).

Conflict of interest

Authors declare lack of the possible conflicts of interests.

DOI: 10.21294/1814-4861-2020-19-4-67-78

УДК: 577.21:615.277.3:615.015.4

Для цитирования: Максимова В.П., Макус Ю.В., Усалка О.Г., Лылова Е.С., Бугаева П.С., Жидкова Е.М., Федоров Д.А., Лизогуб О.П., Лесовая Е.А., Белицкий Г.А., Якубовская М.Г., Кирсанов К.И. Эпигенетические эффекты энзастаурина – новый аспект в механизме действия противоопухолевого препарата из группы ингибиторов протеинкиназ. Сибирский онкологический журнал. 2020; 19(4): 67–78. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-4-67-78.

For citation: Maksimova V.P., Makus J.V., Usalka O.G., Lylova E.S., Bugaeva P.E., Zhidkova E.M., Fedorov D.A., Lizogub O.P., Lesovaya E.A., Belitsky G.A., Yakubovskaya M.G., Kirsanov K.I. Epigenetic effects of enzastaurin – A new aspect in the mechanism of action of an anticancer drug from protein kinase inhibitors. Siberian Journal of Oncology. 2020; 19(4): 67–78. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-4-67-78.

EPIGENETIC EFFECTS OF ENZASTAURIN – A NEW ASPECT IN THE MECHANISM OF ACTION OF AN ANTICANCER DRUG FROM PROTEIN KINASE INHIBITORS

V.P. Maksimova¹, J.V. Makus², O.G. Usalka³, E.S. Lylova¹, P.E. Bugaeva³,
E.M. Zhidkova¹, D.A. Fedorov³, O.P. Lizogub³, E.A. Lesovaya^{1,4}, G.A. Belitsky¹,
M.G. Yakubovskaya¹, K.I. Kirsanov^{1,5}

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

24, Kashirskoe shosse, 115478, Moscow, Russia. E-mail: lavarvar@gmail.com¹

MIREA – Russian Technological University, Moscow, Russia²

86, Vernadsky prospect, 119571, Moscow, Russia. E-mail: ymakus@yandex.ru²

I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia³

8, Trubetskaya Street, 119991, Moscow, Russia. E-mail: ousalka@mail.ru³

I.P. Pavlov Ryazan State Medical University, Ryazan, Russia⁴

9, Vysokovoltynaya Street, 390026, Ryazan, Russia. E-mail: lesovenok@yandex.ru⁴

RUDN University, Moscow, Russia⁵

6, Miklukho-Maklaya Street, 117198, Moscow, Russia. E-mail: kkirsanov85@yandex.ru⁵

Abstract

The purpose of the study was to analyze the ability of five antitumor drugs from the pharmaceutical group of protein kinase inhibitors (gefitinib, imatinib, pazopanib, ponatinib and enzastaurin) to reactivate the expression of the epigenetically silenced *GFP* in HeLa TI cells, and to estimate the effect of epigenetically active drugs on: 1) acetylation and methylation of histones H3 and H4; 2) integral DNA methylation; 3) activity of HAT and HDAC1 enzymes; 4) expression levels of the genes encoding epigenetic regulation enzymes (*DNMT1*, *DNMT3A*, *DNMT3B*; *SIRT1*, *HDAC1*; *SETD1A*, *SETD1B*, *SUV420H1*, *SUV420H2*, *SUV39H1*, *SUV39H2*). **Material and Methods.** The epigenetic activity of antitumor drugs was determined using the HeLa TI test system, a population of HeLa cells with the retroviral vector containing the epigenetically silenced *GFP*. The level of integral DNA methylation was analyzed using MspI/HpaII methyl-sensitive restriction analysis. Histone modifications were analyzed by Western blotting with antibodies to acetylated and methylated histones H3 and H4. The total activity of HAT enzymes was analyzed using Histone Acetyltransferase Activity Assay Kit. Expression of the epigenetic enzyme genes was analyzed using real-time quantitative RT-PCR. **Results.** It was shown that only the enzyme inhibitor C β protein kinase enzastaurin had the ability to reactivate the expression of epigenetically silenced *GFP* in the HeLa TI cells. We showed that under the action of enzastaurin, the level of integral DNA methylation and expression of *DNMT3A* and *DNMT3B* DNA methyltransferase genes decreased. It was also found that enzastaurin reduced the expression levels of histone deacetylases *HDAC1* and *SIRT1*, but did not affect the activity and expression levels of histone acetylases, the level of histone methylation (H3K4me3, H3K9me3, H3K27me3, H4K20me3), and the level of expression of the histone methyltransferases (*SUV39H1*, *SUV39H2*, *SUV420H1*, *SUV420H2*, *SETD1A* u *SETD1B*). **Conclusion.** The data obtained are important for clarifying the mechanisms of action of 5 protein kinase inhibitors, in particular with respect to enzastaurin, the protein kinase C β inhibitor, for which the ability to reactivate epigenetically silent genes due to the effect on DNA methylation and histone acetylation was demonstrated.

Key words: protein kinase inhibitors, enzastaurin, epigenetic activity, HeLa TI, histone modifications, DNA methylation, HAT, HDAC.

ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ЭНЗАСТАУРИНА – НОВЫЙ АСПЕКТ В МЕХАНИЗМЕ ДЕЙСТВИЯ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ПРЕПАРАТА ИЗ ГРУППЫ ИНГИБИТОРОВ ПРОТЕИНКИНАЗ

**В.П. Максимова¹, Ю.В. Макус², О.Г. Усалка³, Е.С. Лылова¹, П.С. Бугаева³,
Е.М. Жидкова¹, Д.А. Федоров³, О.П. Лизогуб³, Е.А. Лесовая^{1,4},
Г.А. Белицкий¹, М.Г. Якубовская¹, К.И. Кирсанов^{1,5}**

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

Россия, г. Москва, 115478, Каширское шоссе, 24. E-mail: lavarvar@gmail.com¹

ФГБОУ ВО «МИРЭА – Российский технологический университет» ИТХТ, г. Москва, Россия²

Россия, г. Москва, 119571, Проспект Вернадского, 86. E-mail: ymakus@yandex.ru²

ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России, г. Москва, Россия³

Россия, г. Москва, 119991, ул. Трубецкая, 8/2. E-mail: ousalka@mail.ru³

ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет» Минздрава России,
г. Рязань, Россия⁴

Россия, г. Рязань, 390026, ул. Высоковольная, 9.

E-mail: lesovenok@yandex.ru⁴

ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», г. Москва, Россия⁵

Россия, г. Москва, 117198, ул. Миклухо-Маклая, 6. E-mail: kkirsanov85@yandex.ru⁵

Аннотация

Цель исследования – провести анализ способности 5 противоопухолевых препаратов из фармакологической группы ингибиторов протеинкиназ (гепитиниб, иматиниб, пазопаниб, понатиниб и энзастаурин) реактивировать экспрессию эпигенетически репрессированного гена *GFP* в клетках HeLa TI, а также изучить влияние препаратов, обладающих реактивирующим эффектом, на: 1) ацетилирование и метилирование гистонов H3 и H4; 2) интегральное метилирование ДНК; 3) активность ферментов HAT и HDAC1; 4) уровень экспрессии генов, кодирующих ферменты эпигенетической регуляции (*DNMT1*, *DNMT3A*, *DNMT3B*; *SIRT1*, *HDAC1*; *SETD1A*, *SETD1B*, *SUV420H1*, *SUV420H2*, *SUV39H1*, *SUV39H2*).

Материал и методы. Скрининг эпигенетической активности противоопухолевых препаратов осуществляли с помощью тест-системы HeLa TI – популяции клеток HeLa с интегрированным ретровирусным вектором, содержащим эпигенетически репрессированный ген *GFP*. Изменение уровня интегрального метилирования ДНК анализировали с помощью метил-чувствительного рестрикционного анализа *MspI*/HpaII. Изменение уровня гистоновых модификаций анализировали методом Вестерн-блоттинг с антителами к ацетилированным и метилированным сайтам гистонов H3 и H4. Анализ тотальной активности ферментов семейства HAT проводили при использовании набора реактивов для определения активности гистоновых ацетилтрансфераз. Анализ экспрессии генов эпигенетических регуляторных ферментов осуществляли с помощью метода количественной ОТ-ПЦР в реальном времени. **Результаты.** Показано, что среди исследуемых препаратов способностью реактивировать экспрессию эпигенетически репрессированного гена *GFP* в популяции HeLa TI обладает только ингибитор протеинкиназы Сβ энзастаурин. Мы продемонстрировали, что при действии энзастаурина происходит снижение уровня интегрального метилирования ДНК и экспрессии генов ДНК-метилтрансфераз *DNMT3A* и *DNMT3B*. Также установлено, что энзастаурин снижает уровень экспрессии гистоновых деацетилаз *HDAC1* и *SIRT1*, но не влияет на активность и уровни экспрессии гистоновых ацетилаз, уровень метилирования гистонов (H3K4me3, H3K9me3, H3K27me3, H4K20me3) и уровень экспрессии гистоновых метилтрансфераз (*SUV39H1*, *SUV39H2*, *SUV420H1*, *SUV420H2*, *SETD1A* и *SETD1B*). **Заключение.** Полученные данные важны в плане уточнения механизмов действия 5 противоопухолевых препаратов группы ингибиторов протеинкиназ, в особенности в отношении ингибитора протеинкиназы Сβ энзастаурина, для которого была продемонстрирована способность реактивировать экспрессию эпигенетически молчащих генов за счет влияния на механизмы метилирования ДНК и ацетилирования гистонов.

Ключевые слова: ингибиторы протеинкиназ, энзастаурин, эпигенетическая активность, HeLa TI, гистоновые модификации, метилирование ДНК, HAT, HDAC.

Introduction

Disruption of epigenetic regulation, along with genetic aberrations, plays a significant role in initiation, promotion, and progression of tumor growth. Activation of proliferation, inhibition of apoptosis, intercellular interactions, and cell aging can occur during carcinogenesis as a result of changes in the profile of epigenetic modifications due to impaired histone acetylation and methylation, as well as DNA methylation [1]. These changes can be due to a mutation or dysregulation of the expression of histone- and DNA-modifying enzymes or direct inhibition of the activity of these enzymes and activation of their degradation. Epigenetic regulatory enzymes include histone acetyltransferases (HATs) and deacetylases (HDACs), histone methyltransferases (HMTs) and demethylases (HDMs), as well as DNA methyltransferases (DNMTs). Epigenetic changes are usually reversible: restoration of the activity of enzymes responsible for epigenetic regulation of transcription leads to normalization of the epigenetic profile [2, 3]. Thus, enzymes responsible for epigenetic regulation of transcription represent targets for anticancer therapy. Low-molecular-weight compounds selectively inhibiting the enzymes of epigenetic regulation are already used for the treatment of certain types of cancer.

Currently, the use of azacitidine and decitabine, inhibitors of DNA methyltransferase (DNMT), is one of the most successful epigenetic anticancer strategies. However, these drugs have a number of limitations. Firstly, since these molecules are modified by cytosine analogues, they can be mistakenly incorporated into nascent DNA and RNA, which increases the probability of mutations. Secondly, azacitidine and decitabine are highly toxic and of low chemical stability [4]. Nowadays, the properties of non-nucleoside inhibitors of DNMTs selectively interacting with the catalytic sites of enzymes are actively studied; these inhibitors include RG108, Psammaphin, hydralazine, and procainamide, with non-nucleoside inhibitors being less effective than azacitidine [1]. Histone deacetylase (HDAC) inhibitors are a class of compounds that can modulate the epigenetic regulation of gene expression via histone acetylation. HDAC inhibitors are the most commonly used epigenetically active agents in the treatment of cancer [5]. Over the past few years, a series of clinical trials on the use of HDAC inhibitors in antitumor therapy have begun. By the beginning of 2020, five histone deacetylase inhibitors were approved by the US Food and Drug Administration (FDA) for the treatment of oncological diseases: vorinostat, romidepsin, belinostat, panobinostat, and chidamide [6]. Moreover, a series of perspective agents are currently under the phase II/III clinical trial: valproic acid, mocetinostat, entinostat, trichostatin A, phenylacetate, phenylbutyrate, tacedinaline, etc. [1]. Over the past 15 years, an essential role of impaired activity of histone methyltransferases (HMTs) in tumorigenesis has been demonstrated. For this reason, another class of

compounds, namely HMT inhibitors, was introduced among epigenetic modulators [7]. Other important antitumor targets are methyltransferases SUV391H, EZH2, MLL, Nsd1, and RIZ. A series of selective HMT inhibitors are currently under the phase I/II clinical study: pinometostat, GSK2816126, CPI-1205, TCP, and 4SC-202. In 2020, the FDA approved a selective inhibitor of EZH2 methyltransferase, tazemetostat, for the treatment of metastatic or locally advanced epithelioid sarcoma that cannot be completely resected [8]. Thus, the search for new epigenetically active drugs is a promising trend in the field of chemotherapy of oncological diseases.

The search, development, as well as preclinical and clinical studies of a new drug require a lot of funding and last 5–15 years. For this reason, a promising trend in pharmacology in general and, in particular, and oncology is the drug repurposing. The search for agents with inhibitory activity against HDAC, DNMT, and HMT among the approved drugs that are already used in medical practice is undertaken. For this reason, protein kinase inhibitors approved for the treatment of various tumors (gefitinib, imatinib, pazopanib), as well as drugs undergoing clinical trials (ponatinib and enzastaurin), were chosen as the object of the current study. The multi-target action of these small molecules allowed suggesting their potential effect on the system of epigenetic regulation of transcription [9]. Another reason for choosing this group of drugs was the ability of natural polyphenolic compounds known as modulators of epigenetic regulatory enzymes to inhibit protein kinases [10].

Identification of epigenetically active agents among numerous drugs was complicated by the lack of available test systems that allow quick and inexpensive screening of drugs for their ability to exert an epigenetic effect [11]. For this, we decided to use HeLa TI cells, which were obtained for the study of the mechanisms of retroviral epigenetic silencing in the laboratory of prof. A.M. Skalka in 2007. HeLa TI is a population of cells carrying a retroviral vector integrated into various sites of the genome and containing epigenetically repressed *GFP* reporter gene. Analysis of the mechanisms of the *GFP* reporter gene suppression revealed the involvement of more than 15 different factors of epigenetic regulation of transcription in this process [12, 13]. HeLa TI cells are sensitive to HDAC and DNMT, as well as HMT inhibitors [14].

The aim of the current work was to study the ability of five antitumor protein kinase inhibitors to reactivate the expression of epigenetically repressed *GFP*, as well as to analyze the effect of epigenetically active drugs on: 1) acetylation and methylation of histones H3 and H4; 2) integrated DNA methylation; 3) HAT and HDAC1 enzyme activity; 4) expression level of the genes encoding for epigenetic regulatory enzymes.

Material and methods

Cell lines and reagents

The following cell cultures were used in the study: HeLa TI, a polyclonal population of HeLa cells containing a vector integrated into genome (derived from avian sarcoma retrovirus) carrying epigenetically repressed *GFP*; CasKi, an epidermoid cervical carcinoma cell line, characterized by higher level of DNA methylation than HeLa cells [15, 16]. The cells were cultured in DMEM medium supplemented with 10% fetal bovine serum (Biosera), L-glutamine (2 mM, PanEco, Russia), and penicillin/streptomycin mixture (50 units, PanEco, Russia) in 5 % CO₂ at 37 °C. Upon reaching 80 % confluence, the cells were passaged at a rate of 1:5.

For the study, the following drugs were selected from the pharmacological group of protein kinase inhibitors: gefitinib, imatinib, pazopanib, ponatinib, and enzastaurin (all provided by Sellek). Compounds with epigenetic activity that were used as positive controls, namely trichostatin A and vorinostat (histone deacetylase inhibitors), as well as azacitidine (inhibitor of DNA methyltransferases) were obtained from Sigma Aldrich. All of the above-mentioned compounds were dissolved in DMSO to obtain stock solutions; the solvent concentration did not exceed 0.1% in the culture medium.

Evaluation of drug cytotoxicity

Cytotoxicity of protein kinase inhibitors was measured using the MTT test [17]. The cells were seeded at 5×10^3 cells per well in 96-well flat-bottom plates and incubated overnight. Next, serial dilutions of the preparations were added in triplicate and incubated for 72 h under standard conditions (37 °C, 5 % CO₂). After this, the cells were treated with 3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT, Dia-M, Russia). After four hours of exposure to MTT, the medium was removed, and 100 µl of DMSO was added. The optical density of the solution was measured at 540 nm using a Multiskan Sky microplate spectrophotometer (Thermo Scientific). The cytotoxicity index was determined using 0.1 % DMSO as a negative control.

Analysis of the drug ability to reactivate the expression of epigenetically repressed GFP gene in the HeLa TI cell test system

Flow cytometry was used to analyze the ability of the drugs to reactivate the expression of epigenetically repressed *GFP*. Cells were seeded in 24-well plates at 2.5×10^4 cells per well and treated with gefitinib, imatinib, pazopanib, ponatinib (25 µM IC₂₀ for all drugs) and enzastaurin (IC₂₀, 30 µM) 24 h later. After 24-hour incubation, the medium in the plates was replaced with fresh one, and the cells were incubated for another 48 h. Next, the cells were detached from the culture plates using 0.25 % trypsin-EDTA solution (PanEco, Russia). The relative number of GFP-positive

cells was assessed using BD FACSCanto™ II flow cytometer. Cells treated with trichostatin A (TCA), a histone deacetylase inhibitor, were used as a positive control. An antitumor drug was considered epigenetically active if *GFP* reactivation was observed in 12 % of the cells or more. The proportion of GFP-positive cells among 0.01 % DMSO-treated cells did not exceed 4.5–5 %.

Histone extraction

Cells were seeded in 60-mm Petri dishes (3×10^5 cells per dish) and incubated overnight in standard conditions. Next, enzastaurin (30 µM) was added, and the cells were incubated for 4 h, 12 h, 24 h, and 72 h. Abcam acid extraction protocol and trichloroacetic acid precipitation protocol presented by Shechter et al. [18] were used for obtaining a histone fraction.

Analysis of the effect of enzastaurin on the level of histone modifications

Western blotting was used to analyze the effect of enzastaurin on acetylation and methylation of H3 and H4 histones. Histone proteins were separated by 15 % PAGE and transferred to nitrocellulose membranes with a pore size of 0.22 µm (100 mA, 40 min). The membranes were then blocked in TBST buffer containing 5 % skim milk at room temperature for 30 min. Abcam antibodies to the following histone modifications were used in the study: H3acK9 + H3acK14 + H3acK18 + H3acK23 + H3acK27 (ab47915), H3K9me3 (ab8898), H3K4me3 (ab8580), H4K20me3 (ab9053), and H4 (ab10158). Membranes were incubated with primary antibodies at +4 °C overnight, washed with TBST and incubated with secondary antibodies (ab6721). For protein detection, Clarity™ Western ECL Substrate visualization reagent (Bio-Rad) and ImageQuant LAS 4000 digital imaging system (GE Healthcare) were used. Densitometric analysis of the blots was performed using ImageJ software. The results were calculated as described by Li et. al. [19]. All experiments were performed in triplicate.

Preparation of nuclear extracts

HeLa TI cells were seeded in 60-mm Petri dishes (8×10^5 cells per dish). After the cells were attached to the substrate, they were incubated with enzastaurin (30 µM) for 24 h. The nuclear fraction of the cells was obtained according to the Abcam protocol (Nuclear extraction and fractionation protocol, <https://www.abcam.com/protocols/nuclear-extraction-protocol-nuclear-fractionation-protocol>). Cells were washed with PBS, passed through a 26 G needle and centrifuged at 720 g for 5 min for precipitation of a nuclear fraction. Then, the precipitate was resuspended and passed through a 23 G needle, centrifuged in the same conditions, and the resulting precipitate was resuspended in ddH₂O. For DNA destruction, the suspension was sonicated for 3 seconds at an amplitude of 20 µm using a Soniprep 150 Plus ultrasonic disintegrator (MSE).

The effect of enzastaurin on HAT activity

The effect of enzastaurin on the overall activity of HAT was analyzed using Histone Acetyltransferase Activity Assay Kit (ab65352, Abcam) according to the manufacturer's instructions. A total of 50 µg of nuclear extract was incubated with HAT I/II and NADH-generating enzyme in HAT assay buffer for 4 h at 37 °C. The optical density was measured at 450 nm in a Multiskan Sky microplate spectrophotometer (Thermo Scientific), and an active nuclear extract was used as a positive control. HAT activity was expressed in µM/µg as indicated by the manufacturer, after which the activity was calculated in % relative to the negative control. All experiments were performed in triplicate.

The effect of enzastaurin on the level of HDAC1

To analyze the effect of enzastaurin on the level of HDAC1, the nuclear fraction of the proteins was separated by 10 % PAGE, and then standard Western blotting was performed (as previously described). Abcam antibodies to HDAC1 (ab53091) and H3 histone (ab18521), which served as a load control, were used in the study. Protein detection was performed as described above. Densitometric analysis of the blots was conducted using ImageJ software. All experiments were performed in triplicate.

The effect of enzastaurin on the integrated DNA methylation

The effect of enzastaurin on integrated DNA methylation was analyzed using a commercial EpiJet kit (K1441, Thermo Scientific) based on methylation-sensitive HpaII/MspI restriction assay. CasKi cells were seeded in 6-well plates (1.5×10^5 cells per well). After the cells were attached to the substrate, they were incubated with enzastaurin (2 µM) or the demethylating agent azacitidine (1 µM) as a positive control for 72 h. After every 24 h of incubation, half of the culture medium was replaced with fresh medium, and the drugs under study were added to the concentration indicated above. Next, genomic DNA was extracted from the cells using the GeneJET Genomic DNA Purification Kit (K0721, Thermo Scientific), and the enzymatic reaction with HpaII and MspI restriction enzymes was performed according to the manufacturer's protocol. Restriction products were analyzed by 1 % agarose gel electrophoresis and detected on a Typhoon 9400 scanner (GE Healthcare). Densitometric analysis of the obtained images was carried out using the ImageJ software. All experiments were performed in triplicate.

The effect of enzastaurin on the genes of chromatin-modifying enzymes

Analysis of the expression level of chromatin-modifying enzyme genes was carried out using quantitative real-time RT-PCR. Cells were seeded in 60-mm Petri dishes (8×10^5 cells per dish) and treated with enzastau-

rin at concentrations of 30, 15 and 7.5 µM after 16–20 h. After 24 h, the cells were removed from the substrate, and the total RNA was extracted using the GeneJET RNA Purification Kit (Thermo Scientific). Next, 2 µg of cDNA were obtained using the reverse transcription kit (Synthol). Sequences of the primers for PCR are presented in table 1. Real-time PCR was performed using a reagent kit for RT-PCR (Syntol). Data were analyzed by calculating the threshold cycle value (Ct) with normalization to the expression of the housekeeping gene *ACTB* in each sample. Next, the samples were normalized to the negative control (0.1 % DMSO).

Таблица 1/Table 1

Nucleotide sequences of the primers used in the study

Нуклеотидные последовательности используемых праймеров

Название/ Name	Последовательность 5'-3'/Sequences 5'-3'	
<i>HDAC1</i>	CACCCATTCTTCCCGTTCTT	Forward
	GGCATTTCAGGAGTTGTCTTAT	Reverse
<i>SIRT1</i>	GCAAAGAAGAAACAGCATTGAAG	Forward
	ATGAATGCTGAGTTGCTGGAT	Reverse
<i>DNMT1</i>	AGCACAGAAGTCAACCCAAA	Forward
	TGCGTCTCTTCTCCTCCTTT	Reverse
<i>DNMT3A</i>	AGCCCAAGGTCAAGGAGATT	Forward
	TACGCACACTCCAGAAAGC	Reverse
<i>DNMT3B</i>	CAACAGCATCGGCAGGAA	Forward
	GTCCTCTGTGTCGTCTGTGA	Reverse
<i>HAT1</i>	GCGATAGAGGCACAACAGAA	Forward
	TGTATTGTTCCGCATCACTCA	Reverse
<i>CREBBP</i>	CTGGCAGACCTCGGAAAGAA	Forward
	CTGGCGCCGCAAAACT	Reverse
<i>EP300</i>	CGCTTTGTCTACACCTGCAA	Forward
	TGCTGGTTGTTGCTCTCATC	Reverse
<i>SETD1A</i>	GCGGGCTATTCTCTCACTTG	Forward
	CCCTTCATCCGCTTGGT	Reverse
<i>SETD1B</i>	GGATGTTTGTGCGGGTAGAC	Forward
	AGACACACAACGGAAACACT	Reverse
<i>SUV420H1</i>	CCCGTGTAGCATAAAAGCAGC	Forward
	CCAGTTTCACCAAGGAACCAG	Reverse
<i>SUV420H2</i>	CGTGCTTGAAGAAGAATGA	Forward
	GCAGTCATGGTTGATGAAGG	Reverse
<i>SUV39H1</i>	GCTAGGCCCGAATGTCGTTA	Forward
	TAGAGATACCGAGGGCAGGG	Reverse
<i>SUV39H2</i>	GCAGGACGAACTCAACAGAA	Forward
	CAACCAAAGGTGGCTTCATT	Reverse

Relative expression of the genetic locus (Exp) was calculated using the 2- $\Delta\Delta C_t$ method.

Statistical methods

Statistical analysis of the data was performed using Microsoft Excel. To assess the significance of differences between the groups, including the expression

levels, a paired two-sample Student’s t-test with a level of statistical significance of $p<0.05$ was used.

Results and Discussion

Impaired regulation of protein kinase activity leads to various pathophysiological disorders, in particular, hyperproliferation of tumor cells, stimulation of inva-

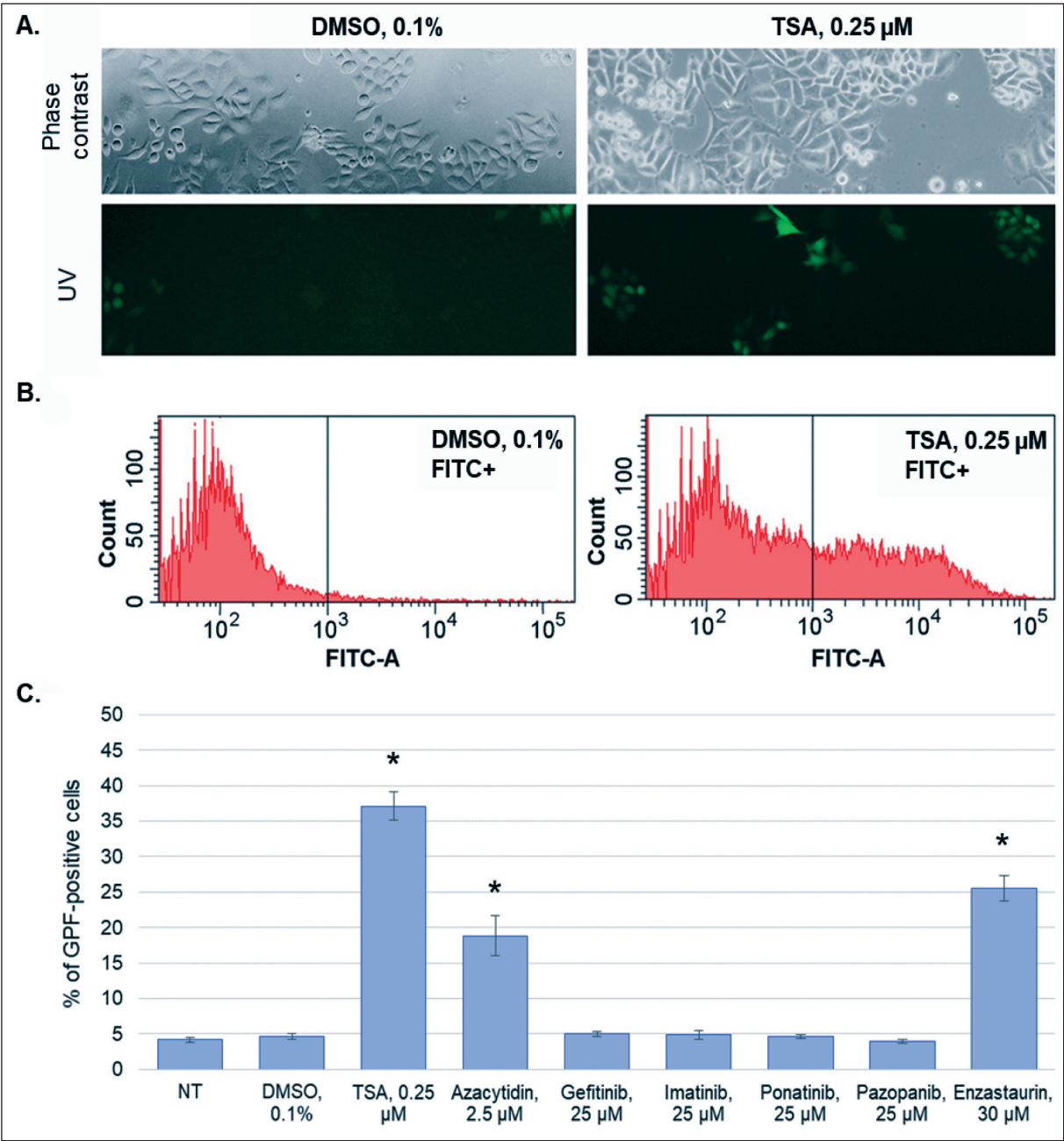


Рис. 1. Анализ эпигенетической активности противоопухолевых препаратов из группы ингибиторов протеинкиназ в тест-системе HeLa TI: A, B. Анализ доли GFP-положительных клеток в популяции HeLa TI при обработке 0,1 % ДМСО и при обработке ингибитором гистоновых деацетилаз трихостатином А с помощью флуоресцентной микроскопии (А) и проточной цитофлуориметрии (В). С. Результаты проточной цитофлуориметрии для исследуемых препаратов. Все результаты представлены в виде $M \pm SD$. Примечание: * – различия статистически значимы по сравнению с контролем ($p<0,05$)

Fig. 1. Analysis of the epigenetic activity of antitumor drugs of the group of protein kinase inhibitors in the HeLa TI cell test system: A, B. Analysis of the proportion of GFP-positive cells in the HeLa TI cell population treated with 0.1 % DMSO and histone deacetylase inhibitor trichostatin A (TSA) by fluorescence microscopy (A) and flow cytometry (B). C. Flow cytometry results of the drug analysis. All data are presented as $M \pm SD$. Notes; * – differences are statistically significant as compared to the control ($p<0.05$)

sion and metastasis [20]. In this regard, inhibition of protein kinases is an effective approach to treat cancer. To date, 37 drugs of this group have been approved for the treatment of various oncological diseases, including non-small cell lung carcinoma, acute lymphoblastic leukemia, chronic myeloid leukemia, breast cancer, etc. [21]. The ability of protein kinase inhibitors to influence gene expression via epigenetic regulation has not been studied yet. The list of the drugs used in the current study includes agents that were approved for antitumor therapy: (1) gefitinib, a selective inhibitor of the epidermal growth factor receptor (EGFR) tyrosine kinase used for the treatment of non-small cell lung cancer; (2) imatinib, a Bcr-Abl tyrosine kinase inhibitor used to treat chronic myeloid leukemia; (3) pazopanib, a non-selective tyrosine kinase inhibitor, which is active against vascular endothelial growth factor receptors (VEGFRs), platelet-derived growth factor receptors (PDGFRs), fibroblast growth factor receptors (FGFRs) and used in the treatment of kidney cancer; as well as two drugs that are currently undergoing clinical trials, namely (4) ponatinib and (5) enzastaurin. Ponatinib is a multi-target inhibitor of tyrosine kinases; it was shown to exert antitumor activity against chronic myeloid leukemia and acute lymphoblastic leukemia [22, 23]. Enzastaurin is a selective inhibitor of C β protein kinase and currently undergoing phase III clinical trials in patients with diffuse large B-cell lymphoma [24].

At the first stage, we analyzed the ability of non-toxic doses of gefitinib, imatinib, pazopanib, ponatinib, and enzastaurin to reactivate the expression of epigenetically repressed *GFP* in HeLa TI test system. As shown by flow cytometry, treatment with enzastaurin results in a 6-fold increase in the proportion of GFP-positive cells. No statistically significant increase in the number of GFP-expressing cells was detected for the other drugs (Fig. 1).

The obtained data indicate that, of the tested drugs, only enzastaurin has an effect on epigenetic regulation of gene expression. For this reason, further work was aimed at analysis of the mechanisms of the epigenetic effect of enzastaurin, in particular, at the study of its effect on the profile of histone modifications and DNA methylation.

Histone acetylation/deacetylation is one of the key mechanisms of chromatin remodeling. Acetylation of histones at lysine residues neutralizes the positive charge of the amino acid and reduces the interaction between the N termini of histones and DNA phosphate groups [3]. This, in its turn, promotes the transformation of silent heterochromatin into transcriptionally active euchromatin. A decrease in the level of lysine acetylation at positions H3K9, H3K14, H3K18, and H4K16 was shown to be associated with promotion and progression of tumor growth, as well as with tumor resistance to chemotherapy [25].

Changes in the global level of H3 histone acetylation caused by enzastaurin were analyzed by Western

blotting using antibodies to a number of acetylation sites (H3acK9+H3acK14+H3acK18+H3acK23+H3acK27). The obtained results indicate that the effect of enzastaurin results in a more than 1.5-fold increase in the level of histone acetylation (Fig. 2A).

Changes in the level of histone acetylation are the result of an altered balance in the activity of histone acetyltransferases (HATs) and deacetylases (HDACs). We demonstrated that treatment of the cells with enzastaurin did not change the activity of histone acetyltransferases and did not affect the expression level of the corresponding genes (Fig. 2B, 2C).

Among histone deacetylases, enzymes HDAC1 and HDAC2 [26], as well as SIRT1 deacetylase [27], had the greatest contribution to the regulation of histone modifications. We demonstrated that enzastaurin resulted in a decreased *HDAC1* expression both at the mRNA and protein levels (1.8-fold decrease). A slight (1.5-fold) decrease in *SIRT1* expression was also shown (Fig. 2D, 2E).

In contrast to acetylation, methylation of histones H3 and H4 does not change the total charge of the molecule, and the effect on transcription occurs due to interaction of the effector molecules with modified bases [1]. At the same time, methylation of the amino acid residues of histones can lead to both gene silencing (lysine methylation at H3K9, H3K27, and H4K20 positions) and to induction of gene expression (lysine methylation at H3K4, H3K36, and H3K79 positions), that depends on the modification site and the number of methyl groups (mono-, di-, and trimethylation) [28]. Using Western blotting, we analyzed the effect of enzastaurin on the following sites: H3K4me3, H3K9me3, H4K20me3; no effect of enzastaurin on the methylation level of these sites was observed (Fig. 3A). The data obtained are consistent with the results of real-time PCR, which indicate that the drug has no effect on the expression level of the corresponding histone methyltransferases: (1) *SUV39H1* and *SUV39H2* (methylation at the H3K9 site), (2) *SUV420H1* and *SUV420H2* (methylation at H4K20), and (3) *SETD1A* и *SETD1B* (methylation of the H3K4 site) (Fig. 3B).

Another major epigenetic mechanism of gene expression regulation is DNA methylation. Hypermethylation of the promoters of tumor suppressor genes inhibits their expression, and, by this way, contributes to the initiation of carcinogenesis and tumor progression [29, 30]. Methylation-sensitive HpaII/MspI restriction assay demonstrated that enzastaurin decreased the level of DNA methylation, which was indicated by a higher degree of DNA cleavage by the methylation-sensitive restriction enzyme HpaII (55.8 % compared to the control) (Fig. 4A, 4B). Moreover, the demethylation effect of the drug was comparable with the effect of the positive control 5-azacitidine. These results were consistent with real-time PCR data concerning the drug influence on the expression level of DNA methyltransferases. Enzastaurin was shown to reduce the mRNA level of *de novo* DNA methyltransferases

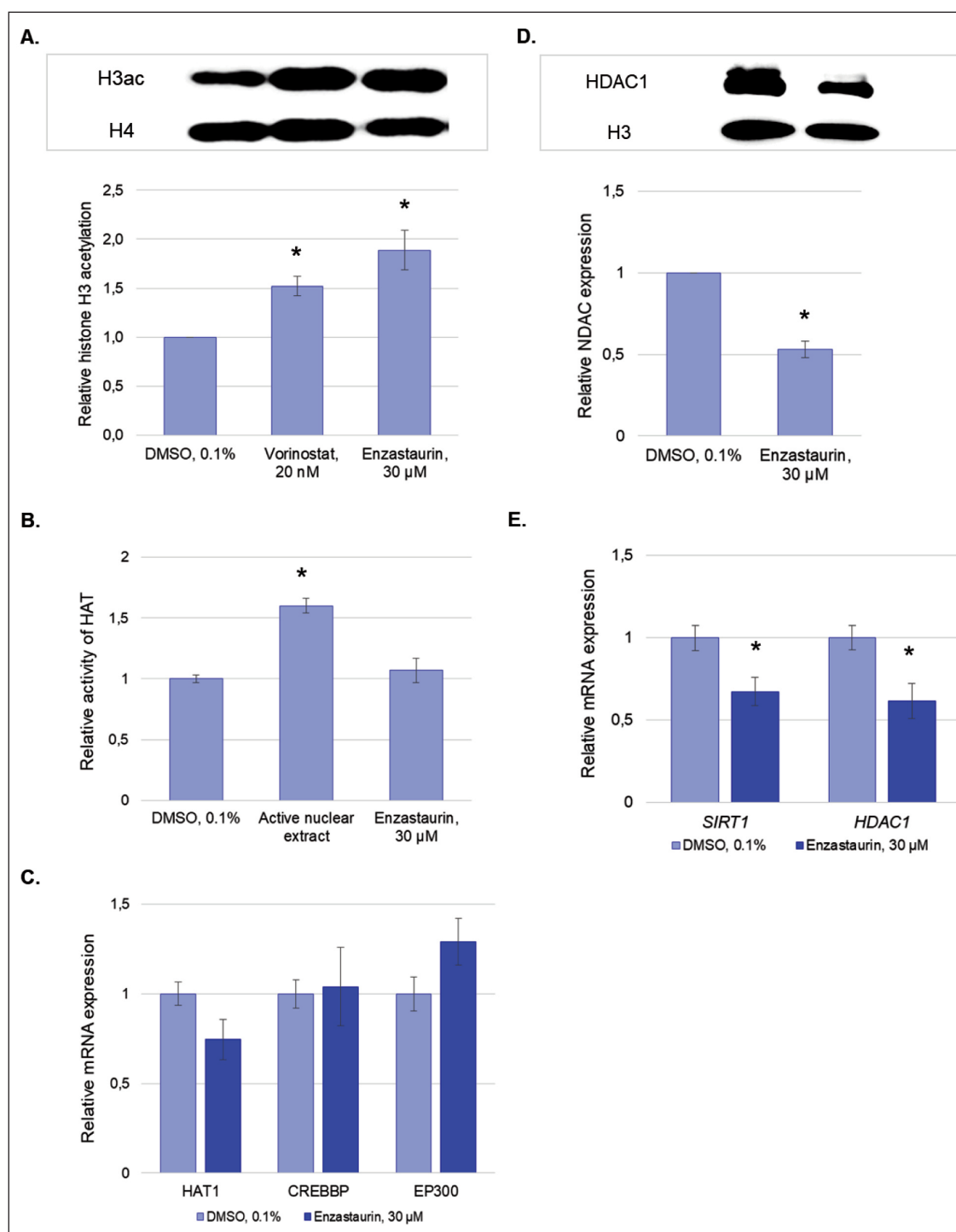


Рис. 2. Анализ эффектов энзастаурина на ацетилирование гистонов:

A. Влияние энзастаурина на ацетилирование гистона H3, Вестерн-блоттинг и его денситометрический анализ; B. Влияние энзастаурина на общую активность ферментов семейства HAT; C. Анализ влияния энзастаурина на экспрессию генов HATs; D. Анализ влияния энзастаурина на экспрессию белка HDAC1, Вестерн-блоттинг и его денситометрический анализ; E. Анализ влияния энзастаурина на экспрессию генов SIRT1 и HDAC1 методом ОТ-ПЦР в реальном времени. Для анализа данных использовали метод 2-ΔΔCt, в качестве референсного гена использовали ACTB, далее нормирование проводили по отрицательному контролю. Все результаты представлены в виде M ± SD.

Примечание: * – различия статистически значимы по сравнению с контролем (p<0,05).

Fig. 2. Analysis of the effect of enzastaurin on histone acetylation:

A. Effect of enzastaurin on H3 histone acetylation, Wetsern blotting and densitometric analysis; B. Effect of enzastaurin on the total activity of the HAT family enzymes; C. Analysis of the effect of enzastaurin on the expression of HAT genes; D. Analysis of the effect of enzastaurin on the expression of HDAC1 protein, Wetsern blotting and densitometric analysis; E. Analysis of the effect of enzastaurin on the expression of SIRT1 and HDAC1 by real-time RT-PCR. The 2-ΔΔCt method was used for data analysis, ACTB was used as a reference gene, and the samples were also normalized to the negative control. All data are presented as M ± SD.

Notes: * – differences are statistically significant as compared to the control (p<0.05)

DNMT3A and *DNMT3B* (by 2.5-fold and 1.6-fold, respectively), while the expression level of *DNMT1*, which was responsible for methylation during replication, remained unchanged.

Thus, screening of the epigenetic activity of five antitumor drugs from the group of protein kinase inhibitors (gefitinib, imatinib, pazopanib, ponatinib, and enzastaurin) allowed us to demonstrate for the first time the ability of enzastaurin to reactivate the expression

of epigenetically repressed genes. Our original data concerning enzastaurin effects demonstrate both significant decrease of integrated DNA methylation and inhibition of *de novo* methyltransferases *DNMT3A* and *DNMT3B* expression. Also, an increase in the level of histone acetylation under the action of enzastaurin was shown for the first time, which is consistent with our data on the inhibition of expression of histone deacetylases.

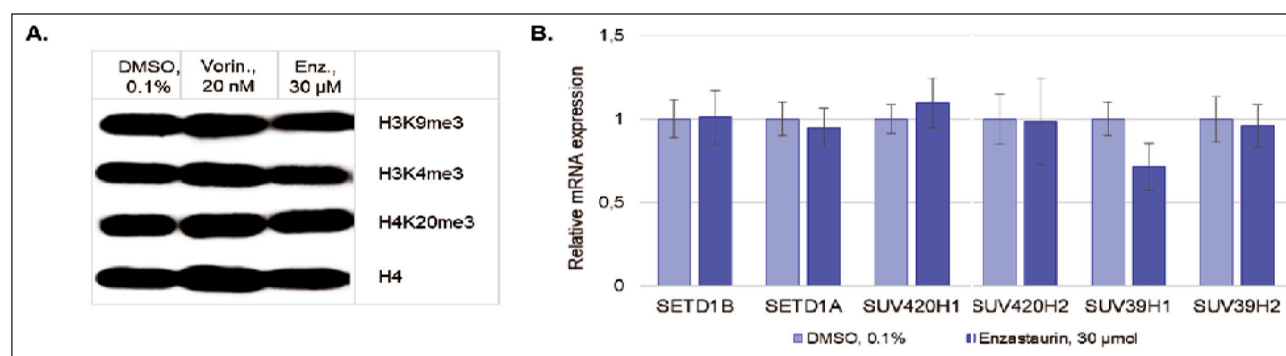


Рис. 3. Анализ эффектов энзастаурина на метилирование гистонов:

A. Влияние энзастаурина на метилирование гистонов H3 и H4, Вестерн-блоттинг; B. Анализ влияния энзастаурина на экспрессию генов HMTs методом ОТ-ПЦР в реальном времени. Для анализа данных использовали метод $2^{-\Delta\Delta Ct}$, в качестве референсного гена использовали *ACTB*, далее нормирование проводили по отрицательному контролю. Все результаты представлены в виде $M \pm SD$.

Примечание: * – различия статистически значимы по сравнению с клетками контроля ($p < 0,05$)

Fig. 3. Analysis of the effect of enzastaurin on histone methylation:

A. The effect of enzastaurin on the methylation of H3 and H4 histones, Wetsern blotting; B. Analysis of the effect of enzastaurin on the expression of HMT genes by real-time RT-PCR. The $2^{-\Delta\Delta Ct}$ method was used for data analysis, *ACTB* was used as a reference gene, and the samples were also normalized to the negative control. All data are presented as $M \pm SD$.

Notes: * – differences are statistically significant as compared to the control ($p < 0.05$)

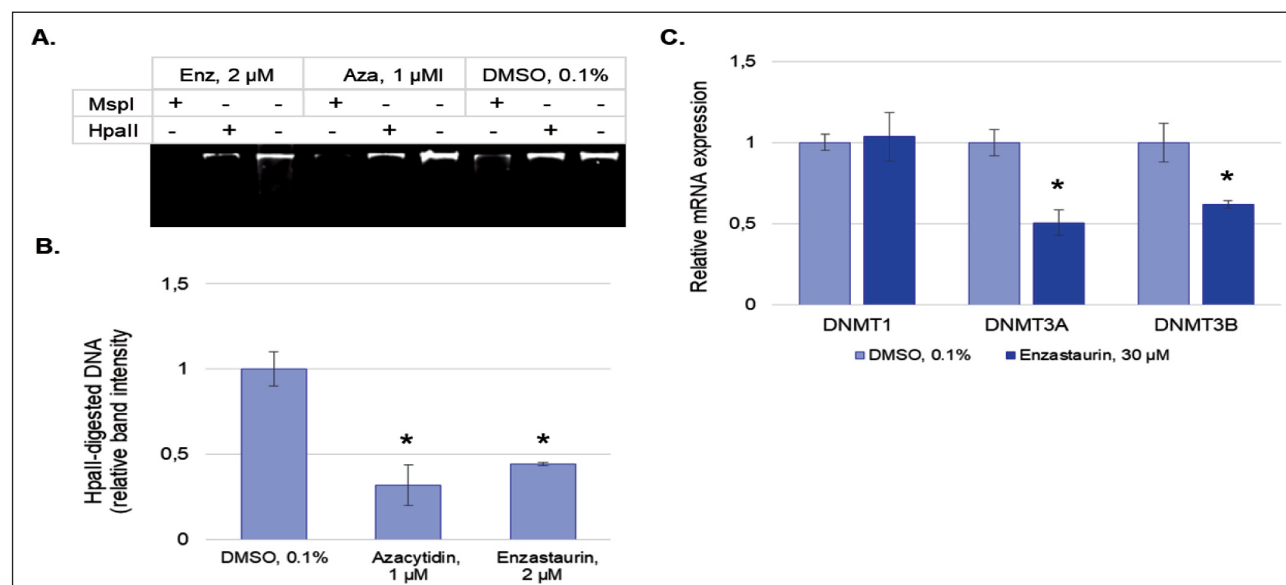


Рис. 4. Влияние энзастаурина на интегральное метилирование ДНК:

A. Электрофореграмма геномной ДНК, обработанной рестриктазами HpaII и MspI; B. Денситометрический анализ полос HpaII-рестрицированной ДНК относительно геномной ДНК; C. Анализ влияния энзастаурина на экспрессию генов DNMTs методом ОТ-ПЦР в реальном времени. Все результаты представлены в виде $M \pm SD$.

Примечание: * – различия статистически значимы по сравнению с контролем ($p < 0,05$)

Fig. 4. The effect of enzastaurin on integrated DNA methylation:

A. Electrophoregram of the genomic DNA treated with restriction enzymes HpaII and MspI; B. Densitometric analysis of the bands of HpaII-restricted DNA relative to the genomic DNA; C. Real-time RT-PCR analysis of the effect of enzastaurin on the expression of DNMT genes. All data are presented as $M \pm SD$.

Notes: * – differences are statistically significant as compared to the control ($p < 0.05$)

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Cheng Y, He C., Wang M., Ma X., Mo F., Yang S., Han J., Wei X. Targeting epigenetic regulators for cancer therapy: mechanisms and advances in clinical trials. *Signal Transduct Target Ther.* 2019 Dec 17; 4: 62. doi: 10.1038/s41392-019-0095-0.
- Ravegnini G., Sammarini G., Hrelia P., Angelini S. Key Genetic and Epigenetic Mechanisms in Chemical Carcinogenesis. *Toxicol Sci.* 2015 Nov; 148(1): 2–13. doi: 10.1093/toxsci/kfv165.
- Han M., Jia L., Lv W., Wang L., Cui W. Epigenetic Enzyme Mutations: Role in Tumorigenesis and Molecular Inhibitors. *Front Oncol.* 2019 Mar 29; 9: 194. doi: 10.3389/fonc.2019.00194.
- Gnyska A., Jastrzebski Z., Flis S. DNA methyltransferase inhibitors and their emerging role in epigenetic therapy of cancer. *Anticancer Res.* 2013 Aug; 33(8): 2989–96.
- Li Y., Seto E. HDACs and HDAC Inhibitors in Cancer Development and Therapy. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2016 Oct 3; 6(10): a026831. doi: 10.1101/cshperspect.a026831.
- McClure J.J., Li X., Chou C.J. Advances and Challenges of HDAC Inhibitors in Cancer Therapeutics. *Advances in Cancer Research.* Academic Press. 2018. 183–211 p.
- Zagni C., Chiacchio U., Rescifina A. Histone methyltransferase inhibitors: novel epigenetic agents for cancer treatment. *Curr Med Chem.* 2013; 20(2): 167–85. doi: 10.2174/092986713804806667.
- Italiano A., Soria J.C., Toulmonde M., Michot J.M., Lucchesi C., Verga A., Coindre J.M., Blakemore S.J., Clawson A., Suttle B., McDonald A.A., Woodruff M., Ribich S., Hedrick E., Keilhack H., Thomson B., Owa T., Copeland R.A., Ho P.T.C., Ribrag V. Tazemetostat, an EZH2 inhibitor, in relapsed or refractory B-cell non-Hodgkin lymphoma and advanced solid tumours: a first-in-human, open-label, phase 1 study. *Lancet Oncol.* 2018 May; 19(5): 649–659. doi: 10.1016/S1470-2045(18)30145-1.
- Verma N., Rai A.K., Kaushik V., Brünnert D., Chahar K.R., Pandey J., Goyal P. Identification of gefitinib off-targets using a structure-based systems biology approach; their validation with reverse docking and retrospective data mining. *Sci Rep.* 2016 Sep 22; 6: 33949. doi: 10.1038/srep33949.
- Ratovitski E.A. Anticancer Natural Compounds as Epigenetic Modulators of Gene Expression. *Curr Genomics.* 2017 Apr; 18(2): 175–205. doi: 10.2174/1389202917666160803165229.
- Chung F.F., Hecceg Z. The Promises and Challenges of Toxicopigenomics: Environmental Chemicals and Their Impacts on the Epigenome. *Environ Health Perspect.* 2020 Jan; 128(1): 15001. doi: 10.1289/EHP6104.
- Katz R.A., Jack-Scott E., Narezkina A., Palagin I., Boimel P., Kulkosky J., Nicolas E., Greger J.G., Skalka A.M. High-frequency epigenetic repression and silencing of retroviruses can be antagonized by histone deacetylase inhibitors and transcriptional activators, but uniform reactivation in cell clones is restricted by additional mechanisms. *J Virol.* 2007 Mar; 81(6): 2592604. doi: 10.1128/JVI.01643-06.
- Poleshko A., Einarson M.B., Shalginskikh N., Zhang R., Adams P.D., Skalka A.M., Katz R.A. Identification of a functional network of human epigenetic silencing factors. *J Biol Chem.* 2010 Jan 1; 285(1): 422–33. doi: 10.1074/jbc.M109.064667.
- Shalginskikh N., Poleshko A., Skalka A.M., Katz R.A. Retroviral DNA methylation and epigenetic repression are mediated by the antiviral host protein Daxx. *J Virol.* 2013 Feb; 87(4): 2137–50. doi: 10.1128/JVI.02026-12.
- Varley K.E., Gertz J., Bowling K.M., Parker S.L., Reddy T.E., Pauli-Behn F., Cross M.K., Williams B.A., Stamatoyanopoulos J.A., Crawford G.E., Absher D.M., Wold B.J., Myers R.M. Dynamic DNA methylation across diverse human cell lines and tissues. *Genome Res.* 2013 Mar; 23(3): 555–67. doi: 10.1101/gr.147942.112.
- Huang Y., Song H., Hu H., Cui L., You C., Huang L. Trichosanthin inhibits DNA methyltransferase and restores methylation-silenced gene expression in human cervical cancer cells. *Mol Med Rep.* 2012 Oct; 6(4): 872–8. doi: 10.3892/mmr.2012.994.
- Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods.* 1983 Dec 16; 65(1–2): 55–63. doi: 10.1016/0022-1759(83)90303-4.
- Shechter D., Dormann H.L., Allis C.D., Hake S.B. Extraction, purification and analysis of histones. *Nat Protoc.* 2007; 2(6): 1445–57. doi: 10.1038/nprot.2007.202.
- Li R., Hebert J.D., Lee T.A., Xing H., Boussommier-Calleja A., Hynes R.O., Lauffenburger D.A., Kamm R.D. Macrophage-Secreted TNFα and TGFβ1 Influence Migration Speed and Persistence of Cancer Cells in 3D Tissue Culture via Independent Pathways. *Cancer Res.* 2017 Jan 15; 77(2): 279–290. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-16-0442.
- Bhullar K.S., Lagarón N.O., McGowan E.M., Parmar I., Jha A., Hubbard B.P., Rupasinghe H.P.V. Kinase-targeted cancer therapies: progress, challenges and future directions. *Mol Cancer.* 2018; 17(1): 48. doi: 10.1186/s12943-018-0804-2.
- Kannaiyan R., Mahadevan D. A comprehensive review of protein kinase inhibitors for cancer therapy. *Expert Rev Anticancer Ther.* 2018 Dec; 18(12): 1249–1270. doi: 10.1080/14737140.2018.1527688.
- Huang W.S., Metcalf C.A., Sundaramoorthi R., Wang Y., Zou D., Thomas R.M., Zhu X., Cai L., Wen D., Liu S., Romero J., Qi J., Chen I., Banda G., Lentini S.P., Das S., Xu Q., Keats J., Wang F., Wardwell S., Ning Y., Snodgrass J.T., Broudy M.I., Russian K., Zhou T., Commodore L., Narasimhan N.I., Mohemmad Q.K., Iulucci J., Rivera V.M., Dalgarno D.C., Sawyer T.K., Clackson T., Shakespeare W.C. Discovery of 3-[2-(imidazo[1,2-b]pyridazin-3-yl)ethynyl]-4-methyl-N-{4-[(4-methylpiperazin-1-yl)methyl]-3-(trifluoromethyl)phenyl}benzamide (AP24534), a potent, orally active pan-inhibitor of breakpoint cluster region-abelson (BCR-ABL) kinase including the T315I gatekeeper mutant. *J Med Chem.* 2010 Jun 24; 53(12): 4701–19. doi: 10.1021/jm100395q.
- O'Hare T., Shakespeare W.C., Zhu X., Eide C.A., Rivera V.M., Wang F., Adrian L.T., Zhou T., Huang W.S., Xu Q., Metcalf C.A., Tyner J.W., Loriaux M.M., Corbin A.S., Wardwell S., Ning Y., Keats J.A., Wang Y., Sundaramoorthi R., Thomas M., Zhou D., Snodgrass J., Commodore L., Sawyer T.K., Dalgarno D.C., Deininger M.W., Druker B.J., Clackson T. AP24534, a pan-BCR-ABL inhibitor for chronic myeloid leukemia, potentially inhibits the T315I mutant and overcomes mutation-based resistance. *Cancer Cell.* 2009 Nov 6; 16(5): 401–12. doi: 10.1016/j.ccr.2009.09.028.
- Nowakowski G.S., Zhu J., Zhang Q., Brody J., Sun X., Maly J., Song Y., Rizvi S., Song Y., Lansigan F., Jing H., Cao J., Lue J.K., Luo W., Zhang L., Li L., Han I., Sun J., Jivani M., Liu Y., Heineman T., Smith S.D. ENGINE: a Phase III randomized placebo controlled study of enzastaurin/R-CHOP as frontline therapy in high-risk diffuse large B-cell lymphoma patients with the genomic biomarker DGM1. *Future Oncol.* 2020 May; 16(15): 991–9. doi: 10.2217/fon-2020-0176.
- Wilting R.H., Dannenberg J.H. Epigenetic mechanisms in tumorigenesis, tumor cell heterogeneity and drug resistance. *Drug Resist Updat.* 2012; 15(1–2): 21–38. doi: 10.1016/j.drug.2012.01.008.
- Delcuve G.P., Khan D.H., Davie J.R. Roles of histone deacetylases in epigenetic regulation: emerging paradigms from studies with inhibitors. *Clin Epigenetics.* 2012 Mar 12; 4(1): 5. doi: 10.1186/1868-7083-4-5.
- Rifai K., Judes G., Idrissou M., Daures M., Bignon Y.J., Penault-Llorca F., Bernard-Gallon D. SIRT1-dependent epigenetic regulation of H3 and H4 histone acetylation in human breast cancer. *Oncotarget.* 2018 Jul 17; 9(55): 30661–30678. doi: 10.18632/oncotarget.25771.
- Volkel P., Angrand P.O. The control of histone lysine methylation in epigenetic regulation. *Biochimie.* 2007; 89(1): 1–20. doi: 10.1016/j.biochi.2006.07.009.
- Koch A., Joosten S.C., Feng Z., de Ruijter T.C., Draht M.X., Melotte V., Smits K.M., Veeck J., Herman J.G., Van Neste L., Van Criekinge W., De Meyer T., van Engeland M. Analysis of DNA methylation in cancer: location revisited. *Nat Rev Clin Oncol.* 2018; 15(7): 459–466. doi: 10.1038/s41571-018-0004-4.
- Patnaik S., Anupriya. Drugs Targeting Epigenetic Modifications and Plausible Therapeutic Strategies Against Colorectal Cancer. *Front Pharmacol.* 2019; 10: 588. doi: 10.3389/fphar.2019.00588.

Поступила/Received 20.04.2020
Принята в печать/Accepted 19.05.2020

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Максимова Варвара Павловна, младший научный сотрудник отдела химического канцерогенеза, НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина (г. Москва, Россия). E-mail: lavarvar@gmail.com. SPIN-код: 5090-7297. Researcher ID (WOS): S-7580-2019. Author ID (Scopus): 57195322203. ORCID: 0000-0003-0896-2952.

Макусь Юлия Валерьевна, студент, МИРЭА – Российский технологический университет; практикант отдела химического канцерогенеза, НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина (г. Москва, Россия). Researcher ID (WOS): AAK-2145-2020. ORCID: 0000-0001-6820-4198.

Усалка Ольга Геннадьевна, студент, МГМУ им. И.М. Сеченова; практикант отдела химического канцерогенеза, НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина (г. Москва, Россия). Researcher ID (WOS): AAK-2008-2020. ORCID: 0000-0001-9525-0771.

Лылова Евгения Сергеевна, лаборант-исследователь отдела химического канцерогенеза, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» (г. Москва, Россия). SPIN-код: 2739-8808. Author ID (Scopus): 57202944330. ORCID: 0000-0001-6388-1624.

Бугаева Полина Евгеньевна, студент, МГМУ им. И.М. Сеченова; практикант отдела химического канцерогенеза, НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина (г. Москва, Россия). ORCID: 0000-0001-8745-2568.

Жидкова Екатерина Михайловна, младший научный сотрудник отдела химического канцерогенеза, НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина (г. Москва, Россия). SPIN-код: 6899-7280. Researcher ID (WOS): AAK-3626-2020. Author ID (Scopus): 57195322730. ORCID: 0000-0003-3318-9391.

Федоров Дмитрий Андреевич, студент, МГМУ им. И.М. Сеченова; лаборант-исследователь отдела химического канцерогенеза, НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина (г. Москва, Россия). Researcher ID (WOS): AAK-1914-2020. ORCID: 0000-0002-6232-2078.

Лизогуб Ольга Павловна, студент, МГМУ им. И.М. Сеченова; лаборант-исследователь отдела химического канцерогенеза, НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина (г. Москва, Россия). Researcher ID (WOS): AAK-1935-2020. ORCID: 0000-0003-4788-0474.

Лесовая Екатерина Андреевна, доктор биологических наук, старший научный сотрудник отдела химического канцерогенеза, НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина (г. Москва, Россия). SPIN-код: 7593-2167. Researcher ID (WOS): J-7790-2015. Author ID (Scopus): 583044. ORCID: 0000-0002-1967-9637.

Белицкий Геннадий Альтерович, доктор медицинских наук, профессор, ведущий научный сотрудник отдела химического канцерогенеза, НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина (г. Москва, Россия). SPIN-код: 4037-0033. Researcher ID (WOS): L-3062-2015. Author ID (Scopus): 107231.

Якубовская Марианна Геннадиевна, доктор медицинских наук, заведующая отделом химического канцерогенеза, НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина (г. Москва, Россия). SPIN-код: 6858-3880. Researcher ID (WOS): R-6984-2016. Author ID (Scopus): 583045. ORCID: 0000-0002-9710-8178.

Кирсанов Кирилл Игоревич, кандидат биологических наук, заведующий лабораторией канцерогенных веществ отдела химического канцерогенеза, НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина (г. Москва, Россия). SPIN-код: 7329-7263. Researcher ID (WOS): L-3062-2015. Author ID (Scopus): 184421. ORCID: 0000-0002-8599-6833.

ВКЛАД АВТОРОВ

Максимова Варвара Павловна: эпигенетический анализ, анализ данных, написание рукописи.

Макусь Юлия Валерьевна: исследование уровня гистоновых модификаций и уровня экспрессии HDAC1.

Усалка Ольга Геннадьевна: анализ метилирования ДНК.

Лылова Евгения Сергеевна: анализ экспрессии регуляторных белков.

Бугаева Полина Евгеньевна: исследование уровня экспрессии регуляторных белков.

Жидкова Екатерина Михайловна: работа над иллюстрациями.

Федоров Дмитрий Андреевич: изучение уровня гистоновых модификаций.

Лизогуб Ольга Павловна: анализ уровня гистоновых модификаций.

Лесовая Екатерина Андреевна: статистическая обработка.

Белицкий Геннадий Альтерович: анализ данных, написание статьи.

Якубовская Марианна Геннадиевна: дизайн исследования, анализ данных, подготовка рукописи.

Кирсанов Кирилл Игоревич: дизайн исследования, анализ данных, подготовка рукописи.

Информация о финансировании

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (грант № 18-75-00115).

Информация о конфликте интересов

Авторы объявляют, что у них нет конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Varvara P. Maksimova, Junior Researcher, Department of Chemical Carcinogenesis, N.N. Blokhin NMRCO (Moscow, Russia). E-mail: lavarvar@gmail.com.

Julia V. Makus, Intern, Department of Chemical Carcinogenesis, N.N. Blokhin NMRCO (Moscow, Russia).

Olga G. Usalka, Intern, Department of Chemical Carcinogenesis, N.N. Blokhin NMRCO (Moscow, Russia).

Eugenia S. Lylova, Laboratory Assistant, Department of Chemical Carcinogenesis, N.N. Blokhin NMRCO (Moscow, Russia).

Polina E. Bugaeva, Intern, Department of Chemical Carcinogenesis, N.N. Blokhin NMRCO (Moscow, Russia).

Ekaterina M. Zhidkova, Junior Researcher, Department of Chemical Carcinogenesis, N.N. Blokhin NMRCO (Moscow, Russia).

Dmitry A. Fedorov, Laboratory Assistant, Department of Chemical Carcinogenesis, N.N. Blokhin NMRCO (Moscow, Russia).

Olga P. Lizogub, Laboratory Assistant, Department of Chemical Carcinogenesis, N.N. Blokhin NMRCO (Moscow, Russia).

Ekaterina A. Lesovaya, PhD, Senior Researcher, Department of Chemical Carcinogenesis, N.N. Blokhin NMRCO (Moscow, Russia).

Gennady A. Belitsky, MD, DSc, Professor, Leading Researcher, Department of Chemical Carcinogenesis, N.N. Blokhin NMRCO (Moscow, Russia).

Marianna G. Yakubovskaya, MD, DSc, Head of Department of Chemical Carcinogenesis, N.N. Blokhin NMRCO (Moscow, Russia).

Kirill I. Kirsanov, PhD, Head of Laboratory of Chemical Carcinogens, N.N. Blokhin NMRCO (Moscow, Russia).

AUTHOR CONTRIBUTION

Varvara P. Maksimova: study protocols, epigenetic analyses, data analyses, drafting of manuscript.

Julia V. Makus: analysis of the levels of histone modifications and HDAC1.

Olga G. Usalka: DNA methylation analysis.

Eugenia S. Lylova: analysis of gene expression of regulatory enzymes.

Polina E. Bugaeva: analysis of gene expression of regulatory enzymes.

Ekaterina M. Zhidkova: work on illustrations.

Dmitry A. Fedorov: analysis of histone modifications level.

Olga P. Lizogub: analysis of histone modifications level.

Ekaterina A. Lesovaya: statistical analyses.

Gennady A. Belitsky: data analysis, critical revision of manuscript for important intellectual content.

Marianna G. Yakubovskaya: conception of the work and experiments design; interpretation of the results; manuscript editing.

Kirill I. Kirsanov: conception of the work and experiments design; interpretation of the results; manuscript editing.

Funding

The Russian Science Foundation (project 187500 115) supported this work.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

Для цитирования: Смирнова С.Г., Орлова Н.В., Смирнова И.А., Двинских Н.Ю., Харитоновна А.А., Киселева М.В., Замулаева И.А. Экспрессия маркеров CD44 и CD24 в биопсийном материале больных тройным негативным раком молочной железы до лечения. Сибирский онкологический журнал. 2020; 19(4): 79–87. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-4-79-87.

For citation: Smirnova S.G., Orlova N.V., Smirnova I.A., Dvinskikh N.Yu., Charitonova A.A., Kiseleva M.V., Zamulaeva I.A. Expression of CD44 and CD24 markers in biopsy samples of triple negative breast cancer patients before treatment. Siberian Journal of Oncology. 2020; 19(4): 79–87. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-4-79-87.

ЭКСПРЕССИЯ МАРКЕРОВ CD44 И CD24 В БИОПСИЙНОМ МАТЕРИАЛЕ БОЛЬНЫХ ТРОЙНЫМ НЕГАТИВНЫМ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ДО ЛЕЧЕНИЯ

С.Г. Смирнова, Н.В. Орлова, И.А. Смирнова, Н.Ю. Двинских,
А.А. Харитоновна, М.В. Киселева, И.А. Замулаева

МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, г. Обнинск, Россия
Россия, 249031, г. Обнинск, ул. Маршала Жукова, 10. E-mail: sgsmirn@mail.ru

Аннотация

Индивидуальные особенности экспрессии CD44 и CD24 при раке молочной железы (РМЖ) изучаются во многих лабораториях мира в рамках поиска прогностических маркеров агрессивности опухолевого процесса и эффективности противоопухолевой терапии, что во многом обусловлено участием этих белков в процессах опухолевого роста, метастазирования и формирования популяции опухолевых стволовых клеток (ОСК), которые составляют наиболее резистентную часть злокачественных новообразований к радиационным и многим химиотерапевтическим воздействиям. Особый интерес представляет исследование экспрессии CD44 и CD24 в случае тройного негативного (ТН) РМЖ – наиболее агрессивного среди различных молекулярных подтипов злокачественных новообразований данной локализации. **Цель исследования** – выяснение возможной взаимосвязи экспрессии маркеров CD44 и CD24 в биопсийном материале больных ТН РМЖ до лечения с клинико-морфологическими характеристиками опухоли. **Материал и методы.** В исследование включено 67 больных ТН РМЖ I–IV стадии. С помощью проточной цитометрии в биоптатах из первичного опухолевого очага 65 больных и лимфоузлов 6 больных определяли долю клеток с иммунофенотипом ОСК, которые характеризуются наличием на клеточной мембране CD44 при низкой экспрессии CD24 или отсутствии таковой (CD44⁺/CD24^{-/low}). Кроме того, оценивали долю клеток со всеми возможными комбинациями экспрессии этих поверхностных белков. **Результаты.** Клетки с иммунофенотипом ОСК выявлены в первичном очаге всех больных при широкой индивидуальной вариативности их доли – от 0,4 до 77,0 % (медиана – 10,9 %). Не обнаружено различий доли ОСК в первичном очаге и в лимфоузлах. Ни при одно-, ни при многофакторном анализе не установлено значимой корреляции доли ОСК ни с одним из клинико-морфологических показателей, включая размер и степень дифференцировки опухоли, наличие регионарных и отдаленных метастазов, размер фракции пролиферирующих клеток, оцениваемый по экспрессии Ki67. Также не установлено ассоциации указанных показателей (кроме Ki67) ни с одним из преобладающих в исследованном материале иммунофенотипов. В первичном опухолевом очаге высокая доля Ki67-позитивных клеток была ассоциирована с фенотипом CD44⁺CD24⁺. **Заключение.** Экспрессия маркеров CD44 и CD24 в клетках биопсийного материала больных ТН РМЖ до лечения не коррелирует с клинико-морфологическими характеристиками опухоли, кроме экспрессии Ki67.

Ключевые слова: тройной негативный рак молочной железы, опухолевые стволовые клетки, CD44, CD24, проточная цитометрия.

EXPRESSION OF CD44 AND CD24 MARKERS IN BIOPSY SAMPLES OF TRIPLE NEGATIVE BREAST CANCER PATIENTS BEFORE TREATMENT

S.G. Smirnova, N.V. Orlova, I.A. Smirnova, N.Yu. Dvinskikh, A.A. Charitonova, M.V. Kiseleva, I.A. Zamulaeva

A.F. Tsyb MRRC – branch of the NMRC of the Ministry of Health of the Russian Federation, Obninsk, Russia
10, Zhukov street, Obninsk-249031, Russia. E-mail: sgsmirn@mail.ru

Abstract

The role of the expression of CD44 and CD24 in breast cancer (BC) has been explored in many laboratories around the world to identify predictive markers of tumor aggressiveness and patient's response to anticancer therapy. These proteins participate in the process of tumor growth, metastasis and formation of cancer stem cells (CSCs). The study of CD44 and CD24 expression in triple negative (TN) BC, which is the most aggressive breast cancer subtype, is of particular interest. **The aim of this study** was to determine the relationship between the expression of CD44 and CD24 markers in biopsy samples of TNBC patients before treatment and clinical/ morphological characteristics of the tumors. **Material and Methods.** The study group included 67 patients with stage I–IV TNBC. Flow cytometry was used to determine the proportion of cells with CSC immunophenotype (CD44⁺/CD24^{-low}) in biopsy samples from the primary tumor of 65 patients and lymph nodes of 6 patients. In addition, the proportion of cells with all possible combinations of expression of these surface proteins was estimated. **Results.** Cells with CSC immunophenotype were detected in all patients with a wide individual variability of CSC proportion from 0.4 % to 77.0 % (median – 10.9 %). There were no differences in the proportion of CSCs in the primary tumor and lymph nodes. No statistically significant correlation between the proportion of CSCs in the primary tumor and the clinical/morphological parameters, including tumor size and differentiation grade, evidence of regional or distant metastases, tumor, size of the fraction of proliferating cells estimated by Ki67 expression, was found in either single or multivariate analysis. There was also no association of the above parameters (except Ki67) with immunophenotypes. A high proportion of Ki67-positive cells in the primary tumor was associated with the CD44-CD24-phenotype. **Conclusion.** The expression of CD44 and CD24 in biopsy samples of TNBC before treatment did not correlate with the clinical and morphological characteristics of the tumors, excepting Ki67 expression.

Key words: triple negative breast cancer, cancer stem cells, CD44, CD24, flow cytometry.

Введение

Тройной негативный рак молочной железы (ТН РМЖ) характеризуется наиболее агрессивным течением заболевания по сравнению с другими подтипами РМЖ. Он составляет 15–25 % среди всех видов РМЖ и по гистологическим характеристикам чаще всего (около 70 %) относится к базальноподобному низкодифференцированному протоковому раку с высокой метастатической активностью и высоким митотическим потенциалом. Отличительной особенностью ТН РМЖ является отсутствие на поверхности клеток 3 типов клинически значимых рецепторов: эстрогенов, прогестерона и эпидермального фактора роста HER2/neu. Именно эти рецепторы в настоящее время являются мишенями таргетного воздействия, их отсутствие ограничивает возможности направленной терапии.

Как и при других злокачественных новообразованиях, при ТН РМЖ наблюдается значительная вариабельность индивидуального ответа на терапевтическое воздействие даже при одинаковых клинико-морфологических характеристиках

опухоли. При этом у ряда больных отмечается частичная регрессия опухоли и происходит прогрессирование заболевания. Одной из основных причин низкой эффективности лечения является гетерогенность опухолевых клеток одного и того же новообразования по чувствительности к противоопухолевым воздействиям. Это явление изучается не один десяток лет, но в последнее время рассматривается с позиции концепции о существовании опухолевых стволовых клеток (ОСК), что позволило достичь определенных успехов в решении этой проблемы. Можно считать доказанным, что популяция ОСК устойчива ко многим терапевтическим воздействиям, поэтому для успешной противоопухолевой терапии необходимо найти способы воздействия на эти клетки. Для идентификации ОСК РМЖ и, в частности, его тройной негативной формы предложен ряд биомаркеров, среди которых CD44 и CD24 занимают заметное место, поскольку именно с их помощью было впервые показано существование ОСК в солидных опухолях, они входят в число наиболее часто используемых маркеров при выявлении

ОСК РМЖ. Было установлено, что экспрессия этих маркеров отличается в опухолях с различными клиническими характеристиками и молекулярными подтипами РМЖ [1–3]. Отмечается, что наибольшая доля опухолей с ОСК, выявляемыми по фенотипу CD44⁺/CD24^{-low}, а также наибольшая доля таких клеток встречаются в новообразованиях с базальноподобным подтипом, в частности в тройных негативных опухолях. Предполагается, что популяция ОСК и относительное количество этих клеток могут иметь значение для уточняющей диагностики опухолевого процесса, прогноза течения и эффективности лечения, а также выбора метода терапии. Это предположение подвергается интенсивному исследованию во многих лабораториях мира, однако полученные результаты достаточно противоречивы.

Поэтому **целью исследования**, состоящего из двух этапов, является выяснение возможной взаимосвязи экспрессии маркеров CD44 и CD24 в клетках биопсийного материала больных ТН РМЖ до лечения с клинико-морфологическими характеристиками опухоли, а также оценка прогностического значения доли ОСК в первичной опухоли и количественных изменений данного показателя в процессе терапии в отношении ближайших и отдаленных результатов лечения. В статье представлены результаты первого этапа исследования.

Материал и методы

Объектом исследования являлся биопсийный материал пациенток с ТН РМЖ, находившихся на лечении в МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиале ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России с 2015 по 2018 г. До начала лечения обследовано 67 больных РМЖ I–IV стадии со средней или низкой степенью дифференцировки опухоли, в возрасте от 27 до 79 лет (в среднем – 55 лет). Во всех случаях диагноз ТН РМЖ установлен иммуногистохимически. Большинство опухолей (97 %) характеризовалось как инвазивная протоковая карцинома неспецифического типа, остальные – как инвазивная дольковая карцинома. Анализ биопсийного материала из первичного очага проведен у 65 человек, из них у 4 пациенток также проанализирован биопсийный материал лимфоузлов. У двух пациенток проведен анализ только материала лимфоузлов.

Биопсийный материал первичной опухоли и лимфоузлов получали методом трепан-биопсии, при этом 2–3 фрагмента ткани помещали в пробирку с полной питательной средой RPMI-1640 (ПанЭко, РФ), содержащей 10 % фетальной сыворотки (ФС) крупного рогатого скота («Gibco», США), пенициллин (50000 ед/л) (ПанЭко, РФ), стрептомицин (50 мг/л) (ПанЭко, РФ), глютамин (292 мг/л) (ПанЭко, РФ) и доставляли в лабораторию в течение 1 ч для дальнейшего исследования.

Анализ маркеров CD44 и CD24 в биопсийном материале проводили с помощью проточной цитометрии. Для этого ткань механически разобщали до 1 мм³ и помещали в среду RPMI-1640, содержащую коллагеназу (1 мг/мл, Sigma), ДНКазу (0,02 %, Sigma) и Нерес-буфер (20 мкл/мл, Sigma). Инкубировали при +37 °C в течение 40–60 мин при постоянном перемешивании. После удаления среды с ферментами действие коллагеназы останавливали добавлением холодной (+4 °C) среды RPMI-1640, содержащей 10 % инактивированной ФС. Образцы промывали в фосфатно-солевом буфере (PBS), pH 7,4 (ПанЭко, РФ) и фильтровали через нейлоновый фильтр с диаметром пор 45 мкм. Клетки подсчитывали под фазово-контрастным микроскопом в камере Горяева. Отбирали аликвоты по 10⁵ клеток. Затем клетки первой аликвоты окрашивали меченными флуорохромами моноклональными антителами к следующим поверхностным маркерам: CD44-FITC (Becton Dickinson – BD, Германия), CD24-PE и CD45-PE-Cy5 (BD, Германия). CD45 использовали в качестве маркера лимфоидных клеток для их отрицательной селекции. Для контроля неспецифического связывания использовали вторую аликвоту клеток, которые инкубировали с моноклональными антителами соответствующих изотипов к гемоцианину улитки, конъюгированными с теми же флуорохромами, что и антитела к указанным поверхностным маркерам (BD, Германия). Инкубацию проводили в течение 20 мин, затем клетки отмывали в PBS от несвязавшихся антител. Для идентификации ядросодержащих клеток и избавления от клеточных обломков, неизбежно возникающих в процессе дезагрегации ткани, использовали флуоресцентный краситель Hoechst 33342 (Ho) (Calbiochem, США). Суспензию клеток фильтровали через нейлоновый фильтр с диаметром пор 45 мкм и анализировали на проточном цитометре FACS Vantage (BD, США), оснащенном 2 лазерами с длинами волн 488 нм и 365 нм.

Анализ клеток проводили по шести параметрам: интенсивности прямого и бокового светорассеяния, флуоресценции FITC, PE, PE-Cy5 и Ho. Полученную информацию записывали в файл. Компьютерную обработку проводили с использованием программы CellQuestPro (BD, США). Среди CD45⁺Ho⁺ клеток определяли долю клеток с фенотипами CD44⁺/CD24^{-low}; CD44⁺/CD24⁺; CD44⁺/CD24⁻; CD44⁺/CD24⁺ и CD44⁺/CD24⁻. На рис. 1 показаны типичные графики распределения клеток по интенсивности флуоресценции CD44 и CD24.

Принадлежность опухоли к одному из 4 фенотипов (CD44⁺/CD24⁺; CD44⁺/CD24⁻; CD44⁺/CD24⁺ и CD44⁺/CD24⁻) определяли согласно принципу, использованному в работе [4]. Опухоль определялась как CD44⁺/CD24⁻, если ни один из остальных 3 фенотипов не был более 10 %. Опухоль относили к одному из остальных фенотипов, если доля клеток этого фенотипа была больше 10 %. Если доля двух

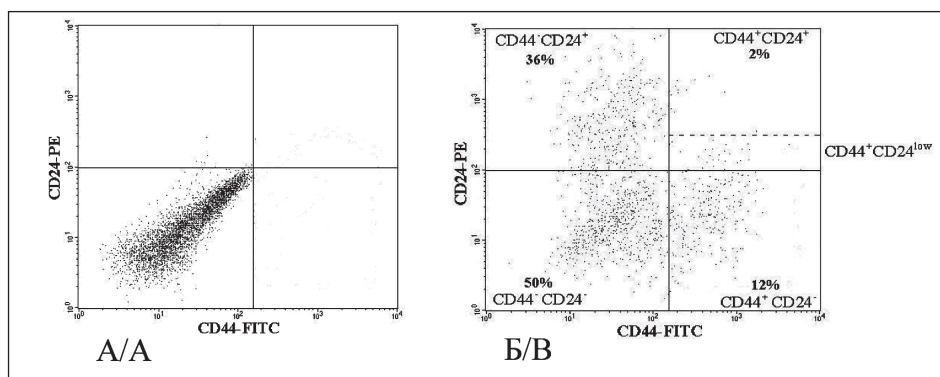


Рис. 1. Проточнотитриметрические графики распределения CD45⁺ Ho⁺ клеток биопсийного материала первичного очага ТН РМЖ по интенсивности связывания антител к CD44 и CD24: А – изотипический контроль неспецифического связывания, Б – реакция с антителами

Fig. 1. Flow cytometric graphs of the distribution of CD45⁺ Ho⁺ cells of the biopsy material of the primary tumor of breast cancer by the intensity of binding of antibodies to CD44 and CD24: А – isotypic control of nonspecific binding, В – reaction with antibodies

или трех положительных фенотипов была больше 10 %, то выбирали тот, который имел большее значение.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью пакета программ Statistica 6.0 (StatSoft, Inc., США). Для описательной статистики доли клеток с изучаемыми фенотипами использовали медиану и размах квартилей. Значимость различий показателей в двух выборках оценивали по U-критерию Манна – Уитни. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Множественный регрессионный анализ проводили по методу, реализованному в программе Statistica 6.0.

Результаты и обсуждение

Клетки с фенотипом CD44⁺/CD24^{-low}, который, по данным многочисленных авторов, соответствует ОСК, были обнаружены нами в биоптатах первичной опухоли всех обследованных больных. Их доля среди CD45⁺ Ho⁺ клеток составляла от 0,4 до 77,0 % в разных образцах. Значения данного показателя имели распределение, отличное от нормаль-

ного (рис. 2). В 48 % опухолей (31/65) доля этих клеток была ≤ 10 %; в 46 % опухолей (30/65) – в интервале 10–50 %; и в 4 случаях доля составляла > 50 %. Медиана доли ОСК составляла 10,9 %.

Если сравнивать полученные нами результаты с данными, представленными в литературе, то можно отметить следующее. По данным разных исследователей, процент опухолей, имеющих популяцию CD44⁺/CD24^{-low} клеток, сильно различается [1, 5–8]. Авторами отмечается, что чаще всего эти клетки встречаются в опухолях базальноподобной подгруппы, характеризующихся отсутствием рецепторов эстрогенов, прогестерона и эпидермального фактора роста HER2/neu, и особенно часто – в группе ТН РМЖ (до 100 %). В этих опухолях наблюдается и более высокий процент таких клеток. В целом наши данные по количеству опухолей, имеющих популяцию CD44⁺/CD24^{-low} клеток, и по доле ОСК в опухолях согласуются с данными, полученными другими авторами [7, 10].

У 6 человек был проведен анализ биопсийного материала лимфоузлов на содержание ОСК (табл. 1). При этом для 4 человек результаты можно было сравнить с данными, полученными для соответствующей первичной опухоли. Согласно нашим немногочисленным данным, значения доли CD44⁺/CD24^{-low} клеток в первичных опухолях и лимфоузлах практически одинаковы.

В литературе данные по экспрессии маркеров ОСК в первичном очаге и лимфоузлах достаточно противоречивы. В одних работах показано, что доля CD44⁺/CD24⁻ клеток больше в микрометастатических сторожевых лимфоузлах [11] или подмышечных лимфатических узлах, имеющих вторичное метастазирование [8], чем в исходной опухоли. В то же время имеются данные о том, что доля этих клеток в лимфоузлах, метастазах и рецидивирующих опухолях не меняется по сравнению с исходной опухолью [6, 10, 12–13].

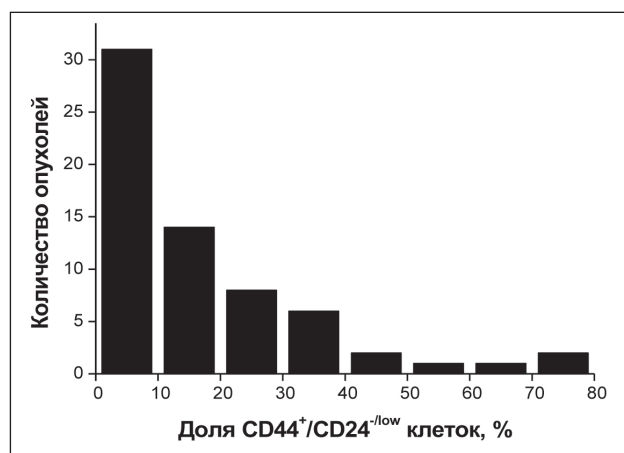


Рис. 2. Гистограмма распределения опухолей по доле клеток с фенотипом CD44⁺/CD24^{-low}

Fig. 2. Histogram of the distribution of tumors by the proportion of cells with a phenotype CD44⁺/CD24^{-low}

Таблица 1/Table 1

Доля CD44⁺/CD24^{-low} клеток в первичных опухолях и лимфоузлах
Proportion of CD44⁺/CD24^{-low} cells in primary tumors and lymph nodes

Пациенты/ Patients	Доля CD44 ⁺ /CD24 ^{-low} клеток/ Proportion of CD44 ⁺ /CD24 ^{-low} cells	
	Первичная опухоль/Tumor	Лимфоузлы/Lymph nodes
1	7,4 %	5,7 %
2	16,6 %	16,3 %
3	35,0 %	39,4 %
4	15,9 %	11,6 %
5		21,9 %
6		22,1 %

Таблица 2/Table 2

Доля CD44⁺/CD24^{-low} и CD44⁺/CD24⁺ клеток в опухолях с различными клиническо-морфологическими характеристиками
Proportion of CD44⁺/CD24^{-low} and CD44⁺/CD24⁺ cells in tumors with different clinical and morphological characteristics

Клинические характеристики/ Clinical character- istics	Пациенты/ Patients	CD44 ⁺ /CD24 ^{-low} , медиана (квартили*)/ CD44 ⁺ /CD24 ^{-low} , median (quartiles *)	p	CD44 ⁺ /CD24 ⁺ , медиана (квартили*)/ CD44 ⁺ /CD24 ⁺ , median (quartiles *)	p
Размер опухоли/Tumor size					
T1	10 (15,4 %)	10,2 % (5,2–30,5)		26,2 % (15,7–30,4)	0,1**
T2	29 (44,6 %)	12,3 % (4,4–27,5)		14,5 % (6,6–29,8)	
T3	5 (7,7 %)	16,7 % (10,9–33,4)		27,3 % (13,8–32,0)	
T4	21 (32,3 %)	10,0 % (5,5–16,6)		29,5 % (12,5–47,7)	
Количество вовлеченных регионарных лимфоузлов/The number of regional lymph nodes involved					
0	27 (41,5 %)	7,8 % (3,4–27,5)	0,21	18,8 % (8,3–32,0)	
1–3	38 (58,5 %)	12,1 % (6,6–26,0)		19,9 % (11,0–33,9)	
Количество отдаленных метастазов/The number of distant metastases					
0	62 (95,4 %)	11,2 % (5,4–27,3)		19,4 % (10,3–32,7)	
1	3 (4,6 %)				
Степень дифференцировки/Differentiation degree					
G1	1 (1,5 %)				
G2	34 (52,3 %)	10,7 % (5,4–30,5)		18,7 % (6,6–33,0)	
G3	30 (46,2)	10,9 % (5,2–19,0)		19,4 % (12,5–32,7)	
Ki67					
120 %	10 (15,4 %)	10,3 % (4,3–33,4)		25,9 % (17,5–41,7)	
2150 %	22 (33,8 %)	10,3 % (7,3–30,0)		14,9 % (12,5–33,0)	
51100 %	33 (50,8 %)	11,4 % (5,2–22,0)		20,0 % (8,3–32,0)	

Примечание: * – (Q₁Q₃); ** – сравнивались наиболее представленные по численности группы: T2 (n=29) и T4 (n=21).

Notes: * – (Q₁Q₃); ** – the most represented groups were compared: T2 (n=29) and T4 (n=21).

Анализ возможной корреляции доли CD44⁺/CD24^{-low} клеток с клинико-морфологическими характеристиками опухоли

Данные о доле CD44⁺/CD24^{-low} клеток в опухолях с разными клиническими характеристиками представлены в табл. 2. Так как распределение данного параметра отличается от нормального, для его характеристики были использованы медиана и квартили. При проведении однофакторного анализа нам не удалось выявить каких-либо корреляций доли ОСК с клиническими параметрами. Только в

случае наличия вовлеченных лимфоузлов наблюдалась тенденция к увеличению доли ОСК. Был проведен также множественный регрессионный анализ. При этом значимых корреляций установлено не было. Результаты, представленные по этому вопросу в литературе, очень противоречивы. В большей части работ отмечается корреляция доли ОСК с отдельными клиническими показателями [8, 14]. Чаще всего более высокая доля ОСК ассоциирована с наличием вовлеченных лимфоузлов [10, 13, 15] и отдаленными метастазами [9]. В ряде работ показано отсутствие корреляций с

Фенотип опухоли и пролиферативный индекс Ki67

Tumor phenotype and proliferative index Ki67

Фенотип CD44/CD24/ Phenotype CD44/CD24	n	Ki67, медиана (квартили)/ Ki67, median (quartiles)
+/-	21	40 % (30–80)
+/+	1	40 %
-/+	35	60 % (30–80)
-/-	8	85 % (60–92)*

Примечание: * – $p=0,05$ по сравнению с группой CD44+/CD24-; $p=0,09$ по сравнению с группой CD44-/CD24+.

Note: * – $p=0.05$ compared to группой CD44+/CD24- group; $p=0.09$ compared with CD44-/CD24+ group.

какими-либо клиническими характеристиками [2, 6, 16–18]. Имеются также данные [7], в которых установлена корреляция доли CD44+/CD24^{-low} клеток со многими клиническими показателями, такими как возраст больных, размер опухоли, степень дифференцировки, уровень экспрессии Ki67, количество вовлеченных лимфоузлов.

Экспрессия клетками опухоли маркеров CD44 и CD24

В некоторых статьях, посвященных РМЖ, было показано, что клетки опухоли часто экспрессируют либо CD44, либо CD24 и реже позитивны по обоим маркерам [1]. Пока остается неясным, связаны ли эти различия с какими-либо клиническими показателями. Чтобы выяснить это, нами был проведен анализ четырех вариантов экспрессии маркеров CD44 и CD24 клетками опухоли. Опухоль относили к одному из возможных 4 фенотипов согласно принципу, описанному в разделе «Материал и методы».

В 21 образце из 65 (32,3 %) наиболее высокий процент составляли клетки с фенотипом CD44+/CD24-; в 35 (53,8 %) образцах – с фенотипом CD44-/CD24+; только в 1 образце (1,5 %) выявлен высокий процент клеток (17 %), экспрессирующих оба маркера; и в 8 (12,3 %) образцах преобладали клетки с фенотипом CD44-/CD24- (все остальные фенотипы <10 %).

Для сравнения приведем данные, полученные в работе [4] при аналогичном анализе, проведенном у 145 пациентов с ТН РМЖ с помощью метода иммуногистохимии. Четыре разных фенотипа были представлены в соотношении: CD44+/CD24- (30,3 %), CD44-/CD24+ (22,8 %), CD44+/CD24+ (3,4 %), CD44-/CD24- (43,4 %). Наибольшую группу в этом исследовании представляли опухоли с двойным негативным фенотипом, тогда как в нашей работе большая часть опухолей имела фенотип CD44-/CD24+. Эти различия могут быть обусловлены гетерогенностью опухолей, взятых в анализ, и особенностями использованных методик анализа материала. Как известно, проточная цитометрия не позволяет точно идентифицировать опухолевые клетки (в отличие от метода иммуногистохимии), а иммунофенотип CD44-/CD24+ может относиться не

только к опухолевым, но и стромальным клеткам, поэтому при проточноцитометрическом исследовании возможна переоценка этого иммунофенотипа при классификации опухолей.

Нами было проведено сопоставление фенотипа опухоли с клинико-морфологическими показателями. Для установления связи между фенотипом опухоли и представленными клиническими показателями был проведен множественный регрессионный анализ. При этом статистически значимая связь установлена только с уровнем экспрессии маркера клеточной пролиферации Ki67 ($p=0,05$) (табл. 3).

Таким образом, значения Ki67 и, следовательно, размер фракции пролиферирующих клеток статистически значимо выше в опухолях с высокой долей CD44-/CD24- клеток по сравнению с опухолями с фенотипом CD44+/CD24- ($p=0,05$), в то время как при сравнении их с опухолями с высокой долей CD44-/CD24+ клеток отмечается только тенденция ($p=0,09$). Интересно, что опухоли с высокой долей CD44+/CD24- клеток (иммунофенотип, который соответствует части ОСК) характеризовались самой низкой пролиферативной активностью по критерию экспрессии Ki67, что соответствует данным литературы и ранее полученным собственным результатам о состоянии покоя ОСК в стабильных культурах опухолевых клеток различных линий [19].

По данным ряда авторов [5, 20], преобладание CD44+/CD24- клеток чаще встречается при неблагоприятных клинических характеристиках опухолевого процесса (поздняя стадия, метастазирование в лимфоузлы), по данным других исследователей [15], – при благоприятных характеристиках. Во многих работах отмечается отсутствие корреляции какого-либо фенотипа с клиническими характеристиками опухоли [21].

Доля клеток с фенотипом CD44-/CD24+ в первичной опухоли

В ряде работ [19, 22] отмечается корреляция между экспрессией CD24 и характеристиками опухоли, имеющими неблагоприятное прогностическое значение, в частности характеристиками, определяющими тройной негативный подтип.

Большая часть (53,8 %) ТН опухолей, проанализированных нами, имела фенотип CD44⁺/CD24⁺. Как известно, CD24 является гликопротеином, принимающим участие в клеточной адгезии. Его роль в опухолевом процессе при РМЖ пока еще не ясна, но предполагают, что он может способствовать росту опухоли и ее метастазированию [3].

Клетки с фенотипом CD44⁺/CD24⁺ были обнаружены в биоптатах всех опухолей. Значения данного показателя варьировали у разных больных от 0,5 до 87,1 % и имели распределение, отличное от нормального. В 53,8 % опухолей (35/65) доля этих клеток была ≤20 %; в 30,8 % опухолей (20/65) – в интервале 20–40 %; и в остальных 10 случаях доля составляла >40 %. Медиана доли CD44⁺/CD24⁺ клеток – 10,9 %.

При сопоставлении доли клеток с фенотипом CD44⁺/CD24⁺ с клиническими характеристиками опухолей значимых корреляций не установлено (табл. 2). Наблюдалась только тенденция положительной корреляции с размером опухоли. Аналогичные данные представлены в работе [19], где показано отсутствие корреляции доли CD44⁺/CD24⁺ клеток с такими характеристиками опухоли, как размер, вовлеченность лимфоузлов, наличие отдаленных метастатических очагов. При этом была отмечена положительная корреляция с ответом на химиотерапию. При исследовании ТН опухолей получена ассоциация экспрессии CD24 с инвазивным протоковым типом [22].

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Honeth G., Bendahl P.O., Ringnér M., Saal L.H., Gruvberger-Saal S.K., Lövgren K., Grabau D., Fernö M., Borg A., Hegardt C. The CD44⁺/CD24⁺ phenotype is enriched in basal-like breast tumors. *Breast Cancer Res.* 2008; 10(3): R53. doi: 10.1186/bcr2108.
2. Ma F., Li H., Wang H., Shi X., Fan Y., Ding X., Lin C., Zhan Q., Qian H., Xu B. Enriched CD44⁺/CD24⁺ population drives the aggressive phenotypes presented in triple-negative breast cancer (TNBC). *Cancer Lett.* 2014 Oct 28; 353(2): 153–9. doi: 10.1016/j.canlet.2014.06.022.
3. Shima H., Yamada A., Ishikawa T., Endo I. Are breast cancer stem cells the key to resolving clinical issues in breast cancer therapy? *Gland Surg.* 2017 Feb; 6(1): 82–88. doi: 10.21037/gls.2016.08.03.
4. Wang H., Wang L., Song Y., Wang S., Huang X., Xuan Q., Kang X., Zhang Q. CD44⁺/CD24⁺ phenotype predicts a poor prognosis in triple-negative breast cancer. *Oncol Lett.* 2017 Nov; 14(5): 5890–5898. doi: 10.3892/ol.2017.6959.
5. Idowu M.O., Kmiecik M., Dumur C., Burton R.S., Grimes M.M., Powers C.N., Manjili M.H. CD44⁺/CD24⁺ cancer stem/progenitor cells are more abundant in triple-negative invasive breast carcinoma phenotype and are associated with poor outcome. *Hum Pathol.* 2012 Mar; 43(3): 364–73. doi: 10.1016/j.humpath.2011.05.005.
6. Perrone G., Gaeta L.M., Zagami M., Nasorri F., Coppola R., Borzomati D., Bartolozzi F., Altomare V., Trodella L., Tonini G., Santini D., Cavani A., Mudda A.O. In situ identification of CD44⁺/CD24⁺ cancer cells in primary human breast carcinomas. *PLoS One.* 2012; 7(9): e43110. doi: 10.1371/journal.pone.0043110.
7. Camerlingo R., Ferraro G.A., De Francesco F., Romano M., Nicoletti G., Di Bonito M., Rinaldo M., D'Andrea F., Pirozzi G. The role of CD44⁺/CD24⁺ low biomarker for screening, diagnosis and monitoring of breast cancer. *Oncol Rep.* 2014 Mar; 31(3): 1127–32. doi: 10.3892/or.2013.2943.
8. Makki J., Myint O., Wynn A.A., Samsudin A.T., John D.V. Expression distribution of cancer stem cells, epithelial to mesenchymal transition, and telomerase activity in breast cancer and their association with clinicopathologic characteristics. *Clin Med Insights Pathol.* 2015; 8: 1–16. doi: 10.4137/CPath.S19615.
9. Abraham B.K., Fritz P., McClellan M., Hauptvogel P., Athellogou M., Brauch H. Prevalence of CD44⁺/CD24⁺ low cells in breast cancer may not be associated with clinical outcome but may favor distant metastasis. *Clin Cancer Res.* 2005 Feb 1; 11(3): 1154–9.
10. Tiezzi D.G., Valejo F.A., Marana H.R., Carrara H.H., Benevides L., Antonio H.M., Sicchieri R.D., Milanezi C.M., Silva J.S., de Andrade J.M. CD44⁺/CD24⁺ cells and lymph node metastasis in stage I and II invasive ductal carcinoma of the breast. *Med Oncol.* 2012; 29(3): 1479–85. doi: 10.1007/s12032-011-0014-x.
11. Kai M., Onishi H., Souzaki M., Tanaka H., Kubo M., Tanaka M., Katano M. Semi-quantitative evaluation of CD44⁺/CD24⁺ tumor cell distribution in breast cancer tissue using a newly developed fluorescence immunohistochemical staining method. *Cancer Sci.* 2011; 102(12): 2132–8. doi: 10.1111/j.1349-7006.2011.02063.x.
12. Guler G., Balci S., Costinean S., Ussakli C.H., Irkkan C., Suren D., Sari E., Altundag K., Ozisik Y., Jones S., Bacher J., Shapiro C.L., Huebner K. Stem cell-related markers in primary breast cancers and associated metastatic lesions. *Mod Pathol.* 2012 Jul; 25(7): 949–55. doi: 10.1038/modpathol.2012.37.
13. Zhong Y., Shen S., Zhou Y., Mao F., Guan J., Lin Y., Xu Y., Sun Q. ALDH1 is a better clinical indicator for relapse of invasive ductal breast cancer than the CD44⁺/CD24⁺ phenotype. *Med Oncol.* 2014 Mar; 31(3): 864. doi: 10.1007/s12032-014-0864-0.
14. Liu C., Luo Y., Liu X., Lu P., Zhao Z. Clinical implications of CD44⁺/CD24⁺ tumor cell ratio in breast cancer. *Cancer Biother Radiopharm.* 2012 Jun; 27(5): 324–8. doi: 10.1089/cbr.2011.1155.
15. Mylona E., Giannopoulou I., Fasomytakos E., Nomikos A., Magkou C., Bakarakos P., Nakopoulou L. The clinicopathologic and prognostic significance of CD44⁺/CD24⁺ low and CD44⁺/CD24⁺ tumor cells in invasive breast carcinomas. *Hum Pathol.* 2008 Jul; 39(7): 1096–102. doi: 10.1016/j.humpath.2007.12.003.
16. Lü X., Xu K., Lü H., Yin Y., Ma C., Liu Y., Li H., Suo Z. CD44⁺/CD24⁺ cells are transit progenitors and do not determine the molecular subtypes and clinical parameters in breast carcinomas. *Ultrastruct Pathol.* 2011 Apr; 35(2): 72–8. doi: 10.3109/01913123.2010.544843.

Заключение

Таким образом, CD44⁺/CD24⁺ клетки, соответствующие по иммунофенотипу ОСК РМЖ, были выявлены в биопсийном материале первичного опухолевого очага всех больных до лечения. В группе больных ТН РМЖ медиана доли CD44⁺/CD24⁺ клеток составила 10,9 %, что соответствует данным литературы, и выше, чем при других молекулярных подтипах РМЖ. Обнаружена широкая индивидуальная вариабельность доли CD44⁺/CD24⁺ клеток, но не установлено статистически значимых корреляций этого показателя с клинико-морфологическими характеристиками опухоли. Выяснение прогностического значения доли CD44⁺/CD24⁺ клеток является предметом дальнейших исследований.

Интересно, что в биоптатах более чем 50 % ТН опухолей, проанализированных нами, преобладал иммунофенотип CD44⁺/CD24⁺. Хотя проточная цитометрия не позволяет идентифицировать опухолевые клетки в сложном клеточном составе суспензий, получаемых из биопсийного материала, вследствие чего иммунофенотип CD44⁺/CD24⁺ может относиться не только к опухолевым, но и к стромальным клеткам опухоли, тем не менее факт преобладания этих клеток у большинства больных ставит под сомнение эффективность таргетного воздействия на CD44 при ТН РМЖ и указывает на необходимость предварительного иммунофенотипирования по этому маркеру с целью отбора группы пациентов для такой терапии.

17. Uchôa Dde M., Graudenz M.S., Callegari-Jacques S.M., Hartmann C.R., Ferreira B.P., Fitarelli-Kiehl M., Edelweiss M.I. Expression of cancer stem cell markers in basal and penta-negative breast carcinomas--a study of a series of triple-negative tumors. *Pathol Res Pract.* 2014 Jul; 210(7): 432–9. doi: 10.1016/j.prp.2014.03.005.

18. Yang F., Cao L., Sun Z., Jin J., Fang H., Zhang W., Guan X. Evaluation of Breast Cancer Stem Cells and Intratumor Stemness Heterogeneity in Triple-negative Breast Cancer as Prognostic Factors. *Int J Biol Sci.* 2016 Dec 7; 12(12): 1568–1577. doi: 10.7150/ijbs.16874.

19. Матчук О.Н., Замулаева И.А., Ковалев О.А., Саенко А.С. Механизмы радиорезистентности клеток *sp* культуры мышиной меланомы B16. *Цитология.* 2013; 55(8): 553–9. [Matshuk O.N., Zamulaeva I.A., Kovalev O.A., Saenko A.S. Radioresistance mechanisms of side population cells in mouse melanoma cell line B16. *Tsitologiya.* 2013; 55(8): 553–9. (in Russian)].

20. Chen Y., Song J., Jiang Y., Yu C., Ma Z. Predictive value of CD44 and CD24 for prognosis and chemotherapy response in invasive breast ductal carcinoma. *Int J Clin Exp Pathol.* 2015; 8(9): 11287–11295.

21. Kapucuoglu N., Bozkurt K.K., Başpınar Ş., Koçer M., Eroğlu H.E., Akdeniz R., Akçil M. The clinicopathological and prognostic significance of CD24, CD44, CD133, ALDH1 expressions in invasive ductal carcinoma of the breast: CD44/CD24 expression in breast cancer. *Pathol Res Pract.* 2015 Oct; 211(10): 740–7. doi: 10.1016/j.prp.2015.05.011.

22. Collina F., Di Bonito M., Li Bergolis V., De Laurentiis M., Vitaliano C., Cerrone M., Nuzzo F., Cantile M., Botti G. Prognostic Value of Cancer Stem Cells Markers in Triple-Negative Breast Cancer. *Biomed Res Int.* 2015; 2015: 158682. doi: 10.1155/2015/158682.

Поступила/Received 11.09.2019

Принята в печать/Accepted 28.10.2019

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Смирнова Светлана Гурьевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела радиационной биохимии, МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России (г. Обнинск, Россия). E-mail: sgsmirn@mail.ru. SPIN-код: 6082-2438. Researcher ID (WOS): T-3533-2017. Author ID (Scopus): 7006472458. ORCID: 0000-0002-4754-9784.

Орлова Нина Владимировна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела радиационной биохимии, МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России (г. Обнинск, Россия). SPIN-код: 7579-9150. Researcher ID (WOS): T-1036-2017. Author ID (Scopus): 7102251319. ORCID: 0000-0003-3739-9193.

Смирнова Ия Алексеевна, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник отделения новых медицинских технологий с группой лечения заболеваний молочной железы, МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России (г. Обнинск, Россия). SPIN-код: 2727-5334. Researcher ID (WOS): U4570-2018. Author ID (Scopus): 13405418300. ORCID: 0000-0002-9172-9598.

Двинских Нина Юрьевна, кандидат медицинских наук, заведующая патолого-анатомическим отделением, МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России (г. Обнинск, Россия). Author ID (РИНЦ): 149539.

Харитоновна Алена Андреевна, научный сотрудник отделения новых медицинских технологий с группой лечения заболеваний молочной железы, МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России (г. Обнинск, Россия). ORCID: 0000-0001-9893-5143.

Киселева Марина Викторовна, доктор медицинских наук, заведующая отделением новых медицинских технологий с группой лечения заболеваний молочной железы, МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России (г. Обнинск, Россия). SPIN-код: 3283-5745. Author ID (Scopus): 56358076600.

Замулаева Ирина Александровна, доктор биологических наук, заведующая отделом радиационной биохимии, МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России (г. Обнинск, Россия). SPIN-код (РИНЦ): 9542-6211. Researcher ID (WOS): R-4906-2016. Author ID (Scopus): 6603693422. ORCID: 0000-0002-6136-8445.

ВКЛАД АВТОРОВ

Смирнова Светлана Гурьевна: поиск и анализ научной литературы, составление черновика рукописи.

Орлова Нина Владимировна: анализ данных, статистическая обработка данных, оформление иллюстративного материала.

Смирнова Ия Алексеевна: набор и анализ материала.

Двинских Нина Юрьевна: набор и анализ материала.

Харитоновна Алена Андреевна: редактирование рукописи в части описания групп больных.

Киселева Марина Викторовна: набор и анализ материала.

Замулаева Ирина Александровна: разработка концепции научной работы, критический анализ предварительных материалов и подготовка финального варианта рукописи.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы объявляют, что у них нет конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Svetlana G. Smirnova, PhD, Senior Researcher, Department of Radiation Biochemistry, A. Tsyb MRRC (Obninsk, Russia). E-mail: sgsmirn@mail.ru. Researcher ID (WOS): T-3533-2017. Author ID (Scopus): 7006472458. ORCID: 0000-0002-4754-9784.

Nina V. Orlova, PhD, Senior Researcher, Department of Radiation Biochemistry, A. Tsyb MRRC (Obninsk, Russia). Researcher ID (WOS): T-1036-2017. Author ID (Scopus): 7102251319. ORCID: 0000-0003-3739-9193.

Iya A. Smirnova, MD, DSc, Leading Researcher, Department of New Medical Technologies, A. Tsyb MRRC (Obninsk, Russia). Researcher ID (WOS): U4570-2018. Author ID (Scopus): 13405418300. ORCID: 0000-0002-9172-9598.

Nina Yu. Dvinskikh, MD, PhD, Head of Pathology and Anatomy Department, A. Tsyb MRRC (Obninsk, Russia).

Alyona A. Charitonova, Researcher, Department of New Medical Technologies, A. Tsyb MRRC (Obninsk, Russia). ORCID: 0000-0001-9893-5143.

Marina V. Kiseleva, MD, DSc, Head of the Department of New Medical Technologies, A. Tsyb MRRC (Obninsk, Russia). Author ID (Scopus): 56358076600.

Irina A. Zamulaeva, DSc, Head of the Department of Radiation Biochemistry, A. Tsyb MRRC (Obninsk, Russia). Researcher ID (WOS): R-4906-2016. Author ID (Scopus): 6603693422. ORCID: 0000-0002-6136-8445.

AUTHOR CONTRIBUTION

Svetlana G. Smirnova: review of publications, drafting of the manuscript.

Nina V. Orlova: data analysis, statistical analysis, design of illustrative material.

Iya A. Smirnova: data collection, data analysis.

Nina Yu. Dvinskikh: data collection, data analysis.

Alyona A. Charitonova: edition of the final version of the manuscript.

Marina V. Kiseleva: data collection, data analysis.

Irina A. Zamulaeva: study conception, critical analysis of preliminary materials, edition of the final version of the manuscript.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

Для цитирования: *Какурина Г.В., Шашова Е.Е., Черемисина О.В., Чойнзонов Е.Л., Кондакова И.В.* Циркулирующие актин-связывающие белки при прогрессировании рака гортани и гортаноглотки. Сибирский онкологический журнал. 2020; 19(4): 88–93. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-4-88-93.

For citation: *Kakurina G.V., Shashova E.E., Cheremisina O.V., Choinzonov E.L., Kondakova I.V.* Circulating actin-binding proteins in progression of laryngeal and hypopharyngeal cancers. Siberian Journal of Oncology. 2020; 19(4): 88–93. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-4-88-93.

ЦИРКУЛИРУЮЩИЕ АКТИН-СВЯЗЫВАЮЩИЕ БЕЛКИ ПРИ ПРОГРЕССИРОВАНИИ РАКА ГОРТАНИ И ГОРТАНОГЛОТКИ

Г.В. Какурина, Е.Е. Шашова, О.В. Черемисина,
Е.Л. Чойнзонов, И.В. Кондакова

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия
Россия, 634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5. E-mail: kakurinagv@oncology.tomsk.ru

Аннотация

Высокая агрессивность плоскоклеточного рака гортани и гортаноглотки (РГ) определяет проблему изучения молекулярных механизмов его метастазирования. Метастазирование злокачественных опухолей связано с ремоделированием цитоскелета, которое осуществляют актин-связывающие белки (АСБ). В настоящее время недостаточно данных о возможности определения уровня циркулирующих АСБ при лимфогенном метастазировании РГ. **Материал и методы.** Анализ сыворотки крови 42 больных РГ и 15 здоровых волонтеров проводили с помощью ИФА наборов на микропланшетном ИФА ридере Multiskan FC 100 (ThermoFisher Scientific). Из числа АСБ были изучены кофилин 1 (CFL1), фасцин 1 (FSCN1), эзрин (EZR), профилин 1 (PFN1), аденилил-циклаза ассоциированный протеин 1 (CAP1). Статистическая обработка результатов выполнена с применением пакета программ Statistica 6.0. **Результаты.** Показано, что сывороточный уровень CAP1 значимо выше у больных РГ по сравнению с группой здоровых волонтеров ($p=0.00$). С увеличением размера первичной опухоли значимо увеличивался уровень FSCN1, CAP1 и PFN1. В группе больных РГ с лимфогенными метастазами уровень FSCN1 был выше в 10 раз, а уровень CAP1 – на 40 % по сравнению с неметастазирующими опухолями. Таким образом, из изученных АСБ в патогенезе РГ важную роль играют FSCN1, CAP1 и PFN1. **Заключение.** Данные о сывороточном уровне АСБ при РГ получены впервые и определяют фундаментальную базу для разработки новых способов прогнозирования развития метастазов.

Ключевые слова: циркулирующие маркеры, актин-связывающие белки, рак гортани и гортаноглотки, метастазирование.

CIRCULATING ACTIN-BINDING PROTEINS IN PROGRESSION OF LARYNGEAL AND HYPHARYNGEAL CANCERS

G.V. Kakurina, E.E. Shashova, O.V. Cheremisina,
E.L. Choinzonov, I.V. Kondakova

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia
5, Kooperativny Street, 634009-Tomsk, Russia. E-mail: kakurinagv@oncology.tomsk.ru

Abstract

High aggressiveness of laryngeal and hypopharyngeal squamous cell carcinomas dictates the necessity of studying the molecular mechanisms of metastasis. Cancer metastasis is associated with remodeling of the cytoskeleton, which is carried out by actin-binding proteins (ABPs). Currently, there is insufficient data on the feasibility of determining the level of circulating ASBs in lymphogenous metastasis of laryngeal cancer (LC).

Material and Methods. Blood serum analysis was carried out in 42 LC patients and 15 healthy volunteers using ELISA kits on a microplate ELISA reader Multiskan FC 100 (ThermoFisher Scientific). Among ASBs, cofilin1 (CFL1), fascin1 (FSCN1), ezrin (EZR), profilin1 (PFN1), adenylyl cyclase associated protein 1 (CAP1) were studied. Statistical processing of the results was performed using the Statistica 6.0 software package. **Results.** It was shown that the serum level of CAP1 was significantly higher in patients with LC compared with the group of healthy volunteers ($p=0.00$). As the size of the primary tumor increased, the levels of FSCN1, CAP1 and PFN1 significantly increased. The level of FSCN1 was 10 times higher and the level of CAP1 was 40% higher in LC patients with metastases than in LC patients without metastases. Thus, among the studied ASBs, FSCN1, CAP1, and PFN1 play an important role in the pathogenesis of LC. **Conclusion.** The results of the serum level of ASB in LC were obtained for the first time, and they determine the fundamental basis for the development of new methods for predicting the development of metastases.

Key words: circulating markers, actin-binding proteins, cancer of the larynx and laryngopharynx, metastasis.

Введение

Плоскоклеточный рак гортани и гортаноглотки (РГ), как правило, выявляется на поздних стадиях и характеризуется частым рецидивированием и высокой смертностью [1]. Развитие опухолевой прогрессии связано с приобретением клетками мобильности, которая зависит от ремоделирования цитоскелета и обеспечивается рядом молекулярных каскадов, в которых участвуют различные белки, в том числе и актин-связывающие (АСБ) [2, 3]. Актин-связывающие белки, кроме обеспечения локомоции, ассоциированы с другими клеточными процессами: пролиферацией, апоптозом, эндо- и экзоцитозом. Важное значение в развитии злокачественных опухолей принадлежит актин-связывающим белкам: кофиллину, профилину, эзрину, фасцину и аденилил-циклаза ассоциированному протеину 1 (CAP1) [3–9]. Основная функция CAP1 у эукариот – регуляция реконструкции актина в ответ на клеточные сигналы. Показано, что CAP1 функционально связан с кофиллином 1 и профилином 1 – белками, осуществляющими разборку актиновых филаментов [10–13]. Другими актин-связывающими белками, важными для реорганизации цитоскелета, являются эзрин и фасцин. Эзрин выступает в качестве линкера между плазматической мембраной и актиновым цитоскелетом, участвует в самых разнообразных клеточных процессах, таких как клеточная адгезия, выживание, подвижность, а также сигнальная трансдукция [8]. Фасцин вовлечен в формирование пучков фибриллярного актина и участвует в образовании стабильных долгоживущих протрузий, которые способствуют нарушению эпителиальных межклеточных контактов и приводят к инвазии опухолевых клеток во внеклеточный матрикс [6]. Таким образом, клеточные функции описанных белков разнообразны и поэтому интересны в плане их комплексного изучения при опухолевой прогрессии РГ. До настоящего времени уровень АСБ в кровеносном русле изучен недостаточно, а относительно эзрина и профилина 1 не известно, относятся ли эти белки к циркулирующим маркерам. Не исследовано также, связаны ли циркулирующие АСБ с течением РГ.

Целью исследования явилось изучение циркулирующих АСБ у больных РГ при прогрессировании заболевания.

Материал и методы

Материалом для исследования явилась сыворотка крови 42 больных, поступивших на лечение в 2016–19 гг. в НИИ онкологии Томского НИМЦ РАН. В группу контроля вошли практически здоровые волонтеры без клинически выявленных опухолевых процессов и хронических заболеваний в стадии обострения. Работа проведена в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава РФ № 266 от 19.06.2003. Все больные, вошедшие в исследование, в обязательном порядке подписывали информированное согласие на участие в протоколе, после чего получено разрешение этического комитета института.

Материал для исследований получали в соответствии со стандартным протоколом и хранили при -80°C . При выполнении стандартной видеоларингоскопии проводился забор материала для комплексного морфологического исследования с целью верификации диагноза. Во всех случаях опухоли имели гистологическое строение плоскоклеточной карциномы разной степени дифференцировки. Все пациенты с РГ до настоящего исследования не получали никакого специального лечения.

Анализ сыворотки крови проводили на микропланшетном ИФА ридере Multiskan FC 100 (ThermoFisher Scientific) с помощью ИФА наборов (табл. 1).

Статистическую обработку результатов проводили с применением пакета программ Statistica 8.0. Для проверки распределения на нормальность использовали критерий Колмогорова – Смирнова и критерий Шапиро – Уилкса. Для проверки значимости различий в группах использовали непараметрические критерии: тест Крускала –

Таблица 1/Table 1

Наборы для иммуноферментного анализа
Immuno-enzyme assay kits

Набор для ИФА/ Immuno-enzyme assay kits	Белок/ Protein	Производитель/ Manufacturer	Чувствительность/ Sensitivity
Human Adenyl cyclase-associated protein 1(CAP1) ELISA kit	CAP1	Cusabio	0,025–1,6 ng/mL
ELISA Kit for Fascin (FSCN1)	Фасцин 1/ Fascin 1	Cloud-Clone Corp.	0,312–20 ng/mL
ELISA Kit for Profilin 1 (PFN1)	Профилин 1/ Profilin 1	Cloud-Clone Corp.	78–5000 pg/mL
ELISA Kit for Cytovillin (CVL; Ezrin)	Эзрин/ Ezrin	Cloud-Clone Corp.	0,312–20 ng/mL
ELISA Kit for Cofilin 1 (CFL1)	Кофилин 1/ Cofilin 1	Cloud-Clone Corp.	0,312–20 ng/mL

Таблица 2/Table 2

**Содержание актин-связывающих белков в сыворотке крови в зависимости от тяжести
патологического процесса**

The content of actin-binding proteins in blood serum depending on the state of the pathological process

Ng/ml	Контроль/Control (n=15)	Рак/Cancer (n=41)	p U-test	p Median Test
CFL1	0,84 (0,77;0,93)	0,80 (0,63;1,14)	0,41	0,053
FSCN1	5,46 (3,65;6,9)	1,8 (0,43;8,1)	0,07	0,08
CAP1	0,025 (0,02;0,028)	0,11 (0,08;1,15)	0,001	0,000
EZR	2,3 (1,9;2,5)	2,1 (1,69;2,56)	0,89	0,1
PFN1	0,26 (0,22;0,29)	0,28 (0,23;0,38)	0,06	0,08

Уоллиса и тест Манна – Уитни. Результаты, приведенные в таблицах, представлены как медиана (Me) с интерквартильным размахом (Q;Q3). Корреляционный анализ проведен с использованием непараметрического критерия Спирмена. Критический уровень значимости для принятия гипотезы о статистически значимом различии был принят равным 0,05.

Результаты

Сравнительный анализ содержания циркулирующих АСБ в системном кровотоке показал, что уровень CAP1 значимо был выше в представленной группе больных РГ, чем в группе здоровых волонтеров. При оценке зависимости уровней циркулирующих АСБ от размера опухолевого узла было выявлено, что при увеличении критерия Т значимо увеличивается содержание FSCN1, CAP1 и PFN1, причем изменение профилина 1 носило нелинейный характер (табл. 2).

При местнораспространенном опухолевом процессе (T3N0–1M0 и T4N0–1M0 стадии) уровень таких АСБ, как FSCN1 и CAP1, был значимо выше, при РГ начальной стадии (T1N0M0). Уровень PFN1 в системном кровотоке значимо был выше при запущенных новообразованиях гортани и гортаноглотки (T4N0–1M0) по сравнению с больными с ранним РГ – T1N0M0 стадии (табл. 3).

На данной выборке больных РГ продемонстрировано, что в метастазировании опухолей

этой локализации в основном участвуют 2 циркулирующих АСБ – FSCN1 и CAP1. Так, в группе больных РГ, у которых клинически зарегистрированы регионарные метастазы, уровень FSCN1 был достоверно выше в 10 раз, уровень CAP1 – на 40 % (табл. 4).

В табл. 5 представлены результаты анализа связи между содержанием актин-связывающих белков в сыворотке крови больных РГ с разным метастатическим статусом методом ранговой корреляции Спирмена. Корреляционный анализ результатов показал, что в сыворотке крови у 27 больных РГ без лимфогенных метастазов (T2–4N0M0) уровень FSCN1 отрицательно коррелировал с уровнем CAP1, и положительно был связан с уровнем EZR. У 19 больных РГ (T2–4N1–2M0) в сыворотке крови возникала сильная положительная корреляция между уровнем CAP1 и CFN1.

Обсуждение

Формирование инвазивного и метастатического потенциала трансформированной клетки тесно связано с ремоделированием цитоскелета [7, 14]. Показано, что высокая экспрессия CAP1 связана с лимфогенным метастазированием и выживаемостью больных злокачественными опухолями некоторых локализаций [4, 5, 15]. Чрезмерная экспрессия кофилина 1 обнаружена при раке пищевода, мочевого пузыря и молочной железы [9, 12, 16]. Изменения в экспрессии профилина 1

Таблица 3/Table 3

Содержание актин-связывающих белков в сыворотке крови в зависимости от стадии опухолевого процесса

The content of actin-binding proteins in the blood serum depending on the tumor stage

Ng/ml	T1N0M0 (n=9)	T2N0–1M0 (n=10)	T3N0–1M0 (n=18)	T4N0–1M0 (n=9)
CFL1	0,78 (0,69;1,2)	0,83 (0,6;1,1) p=0,74	0,85 (0,57;0,99) p=0,76	0,76 (0,72;1,3) p=0,81
FSCN1	0,47 (0,46;1,2)	3,18 (0,8;7,8) p=0,11	6,5 (0,3;8,9) p=0,05	5,4 (0,52;7,38) p=0,08
CAP1	0,09 (0,8;1,1)	0,09 (0,7;0,14) p=0,82	0,13 (0,08;0,20) p=0,05	0,15 (0,09;0,2) p=0,01
EZR	2,1 (1,8;2,3)	1,9 (1,47;2,6) p=0,11	2,2 (1,67;2,6) p=0,14	2,5 (1,9;2,67) p=0,13
PFN1	0,24 (0,2;0,35)	0,35 (0,26;0,43) p=0,54	0,28 (0,24;0,34) p=0,08	0,4 (0,22;0,42) p=0,01

Примечание: p – значимость различий с группой T1N0M0.

Note: p – significance of differences with the T1N0M0 group.

Таблица 4/Table 4

Содержание актин-связывающих белков в сыворотке крови в зависимости от наличия лимфогенных метастазов

The content of actin-binding proteins in the blood serum depending on the lymphogenous metastasis

Ng/ml	T2–4N0M0 (n=27)	T2–4N1–2M0 (n=19)	P, U-test
CFL1	0,83 (0,60;1,03)	0,9 (0,65;1,28)	0,42
FSCN1	0,64 (0,34;7,43)	6,73 (6,14;8,3)	0,05
CAP1	0,09 (0,07;0,14)	0,14 (0,07;0,20)	0,05
EZR	2,12 (1,54;2,60)	2,2 (1,89;2,50)	0,83
PFN1	0,34 (0,28;0,41)	0,26 (0,23;0,33)	0,06

Таблица 5/Table 5

Содержание актин-связывающих белков в сыворотке крови в зависимости от наличия лимфогенных метастазов: коэффициенты корреляции Спирмена (r) (в группах без лимфогенных метастазов и с метастазами)

The content of actin-binding proteins in the blood serum depending on the presence of lymphogenous metastases: Spearman's correlation coefficients (in groups without lymphogenous metastases and with metastases)

АСБ	CFL1	FSCN1	CAP1	EZR	PFN1
CFL1	1	0,2	-0,1	-0,2	0,2
FSCN1	-0,7	1	-0,5	0,6	-0,5
CAP1	0,8	-0,1	1	-0,1	0,1
EZR	0,0	0,4	0,0	1	-0,2
PFN1	0,5	-0,2	0,3	-0,1	1

Примечание: жирным шрифтом выделены корреляционные связи с достоверностью $p \leq 0,05$; ячейки, помеченные серым цветом, – группа больных РГ с регионарными метастазами; ячейки, помеченные белым цветом, – группа больных РГ без признаков метастазов.

Note: correlations with significance $p \leq 0.05$ are highlighted in bold; cells marked in gray – a group of RH patients with regional metastases; cells marked in white – a group of RH patients without signs of metastases.

отмечены при раке различных локализаций [16]. Эзрин избыточно экспрессирован в ткани рака языка [17] и ассоциирован с прогрессией рака желудка [8]. Повышенный уровень фасцина зарегистрирован в тканях плоскоклеточного рака головы и шеи [6]. Таким образом, представленные данные касаются содержания АСБ в тканях новообразований. В настоящей работе впервые полу-

чены данные о циркулирующих АСБ в системном кровотоке и связи их содержания с основными клинико-морфологическими характеристиками больных РГ.

Современные знания о содержании актин-связывающих белков в сыворотке крови крайне скудны. Методом протеомного анализа ранее нами было показано, что в сыворотке крови больных

плоскоклеточным раком головы и шеи повышено содержание САР1 [5]. Показано увеличение содержания фасцина в сыворотке крови при раке легкого по сравнению со здоровыми донорами [18]. Отмечено увеличение содержания кофилина 1 в сыворотке крови больных раком поджелудочной железы [19].

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Какурина Г.В., Кондакова И.В., Чойнзонов Е.Л. Прогнозирование метастазирования плоскоклеточных карцином головы и шеи. Вопросы онкологии. 2012; 58(1): 26–32. [Kakurina G.V., Kondakova I.V., Chojnzonov E.L. Prognosis for the metastasis of squamous cell carcinoma of the head and neck. Problem in Oncology. 2012; 58(1): 26–32. (in Russian)].
2. Александрова А.Ю. Пластичность миграции опухолевых клеток: приобретение новых свойств или возврат к «хорошо забытым» старым? Биохимия. 2014; 79(9): 1169–1187. [Alexandrova A.Y. Plasticity of tumor cell migration: Acquisition of new properties or return to the past? Biochemistry (Moscow). 2014; 79(9): 947–963. (in Russian)].
3. Бочкарева Н.В., Кондакова И.В., Коломиец Л.А. Роль актинсвязывающих белков в клеточном движении в норме и при опухолевом росте. Молекулярная медицина. 2011; 6: 14–18. [Bochkareva N.V., Kondakova I.V., Kolomic L.A. The role of actin binding proteins in normal and tumor cell motility. Molecular medicine. 2011; 6: 14–18. (in Russian)].
4. Какурина Г.В., Колегова Е.С., Кондакова И.В. Аденилатциклаза-ассоциированный протеин 1: структура, регуляция и участие в клеточных процессах. Биохимия. 2018; 83(1): 127–136. [Kakurina G.V., Kolegova E.S., Kondakova I.V. Adenylyl Cyclase-Associated Protein 1: Structure, Regulation, and Participation in Cellular Processes. Biochemistry (Mosc). 2018; 83(1): 45–53. (in Russian)].
5. Kakurina G.V., Kondakova I.V., Cheremisinina O.V., Shishkin D.A., Chojnzonov E.L. Adenylyl Cyclase-Associated Protein 1 in the Development of Head and Neck Squamous Cell Carcinomas. Bull Exp Biol Med. 2016; 160(5): 695–7. Doi: 10.1007/s10517-016-3252-2
6. Rodrigues P.C., Sawazaki-Calone I., Ervolino de Oliveira C., Soares Macedo C.C., Dourado M.R., Cervigne N.K., Miguel M.C., Ferreira do Carmo A., Lambert D.W., Graner E., Daniela da Silva S., Alaoui-Jamali M.A., Paes Leme A.F., Salo T.A., Coletta R.D. Fascin promotes migration and invasion and is a prognostic marker for oral squamous cell carcinoma. Oncotarget. 2017 Aug 19; 8(43): 74736–74754. doi: 10.18632/oncotarget.20360.
7. Jimenez-Lopez J.C. Cytoskeleton: Structure, Dynamics, Function and Disease. BoD: Books on Demand. 2017; 342 p. doi: 10.5772/62622.
8. Liang F., Wang Y., Shi L., Zhang J. Association of Ezrin expression with the progression and prognosis of gastrointestinal cancer: a meta-analysis. Oncotarget. 2017 Oct 4; 8(54): 93186–93195. doi: 10.18632/oncotarget.21473.
9. Wang F., Wu D., Fu H., He F., Xu C., Zhou J., Li D., Li G., Xu J., Wu Q., Chen J., Su L., Wang W., Zhang S. Cofilin 1 promotes bladder

Закключение

Полученные данные свидетельствуют о том, что наличие метастатического рака гортани и гортаноглотки связано с повышением уровня фасцина и САР1, эти показатели можно рассматривать в качестве кандидатных маркеров прогноза метастазирования рака данной локализации.

cancer and is regulated by TCF7L2. Oncotarget. 2017; 8(54): 92043–54. doi: 10.18632/oncotarget.20664.

10. Xie S., Shen C., Tan M., Li M., Song X., Wang C. Systematic analysis of gene expression alterations and clinical outcomes of adenylate cyclase-associated protein in cancer. Oncotarget. 2017 Apr 18; 8(16): 27216–27239. doi: 10.18632/oncotarget.16111.

11. Zhang H.H., Wang W., Feng L., Yang Y., Zheng J., Huang L., Chen D.B. S-nitrosylation of Cofilin-1 Serves as a Novel Pathway for VEGF-Stimulated Endothelial Cell Migration. J Cell Physiol. 2015 Feb; 230(2): 406–17. doi: 10.1002/jcp.24724.

12. Zhang Y., Liao R., Li H., Liu L., Chen X., Chen H. Expression of Cofilin-1 and Transgelin in Esophageal Squamous Cell Carcinoma. Med Sci Monit. 2015; 21: 2659–2665.

13. Yan J., Ma C., Gao Y. MicroRNA-30a-5p suppresses epithelial-mesenchymal transition by targeting profilin-2 in high invasive non-small cell lung cancer cell lines. Oncol Rep. 2017 May; 37(5): 3146–3154. doi: 10.3892/or.2017.5566.

14. Nersesian S., Williams R., Newsted D., Shah K., Young S., Evans P.A., Allingham J.S., Craig A.W. Effects of Modulating Actin Dynamics on HER2 Cancer Cell Motility and Metastasis. Sci Rep. 2018 Nov 22; 8(1): 17243. doi: 10.1038/s41598-018-35284-9.

15. Li M., Yang X., Shi H., Ren H., Chen X., Zhang S., Zhu J., Zhang J. Downregulated expression of the cyclase-associated protein 1 (CAP1) reduces migration in esophageal squamous cell carcinoma. Jpn J Clin Oncol. 2013 Sep; 43(9): 856–64. doi: 10.1093/jjco/hyt093.

16. Coumans J.V.F., Davey R.J., Moens P.D.J. Cofilin and profilin: partners in cancer aggressiveness. Biophys Rev. 2018 Oct; 10(5): 1323–1335. doi: 10.1007/s12551-018-0445-0.

17. Saito S., Yamamoto H., Mukaisho K., Sato S., Higo T., Hattori T., Yamamoto G., Sugihara H. Mechanisms underlying cancer progression caused by ezrin overexpression in tongue squamous cell carcinoma. PLoS One. 2013; 8(1): e54881. doi: 10.1371/journal.pone.0054881.

18. Yang L., Teng Y., Han T.P., Li F.G., Yue W.T., Wang Z.T. Clinical significance of fascin-1 and laminin-5 in non-small cell lung cancer. Genet Mol Res. 2017 Jun 20; 16(2). doi: 10.4238/gmr16029617.

19. Satoh M., Takano S., Sogawa K., Noda K., Yoshitomi H., Ishibashi M., Mogushi K., Takizawa H., Otsuka M., Shimizu H., Miyazaki M., Nomura F. Immune-complex level of cofilin-1 in sera is associated with cancer progression and poor prognosis in pancreatic cancer. Cancer Sci. 2017 Apr; 108(4): 795–803. doi: 10.1111/cas.13181.

Поступила/Received 21.02.2020

Принята в печать/Accepted 22.06.2020

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Какурина Гелена Валерьевна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории биохимии опухолей, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). E-mail: kakurinagv@oncology.tomsk.ru. SPIN-код: 1896-3144. AuthorID (РИНЦ): 335166. Researcher ID (WOS): C-8668-2012. AuthorID (Scopus): 23667534500. ORCID: 0000-0002-4506-9429.

Шашова Елена Евгеньевна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории биохимии опухолей, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 5079-8784. AuthorID (РИНЦ): 635210. Researcher ID (WOS): D-1472-2012. AuthorID (Scopus): 54994115800. ORCID: 0000-0002-7752-9346.

Черемисина Ольга Владимировна, доктор медицинских наук, заведующая эндоскопическим отделением, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 9579-2691. AuthorID (РИНЦ): 562287. Researcher ID (WOS): C-9259-2012. AuthorID (Scopus): 6602197938. ORCID: 0000-0001-7234-4708.

Чойнзонов Евгений Лхаматирович, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, директор Научно-исследовательского института онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 2240-8730. AuthorID (РИНЦ): 550195. Researcher ID (WOS): P-1470-2014. AuthorID (Scopus): 6603352329. ORCID: 0000-0002-3651-0665.

Кондакова Ирина Викторовна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая лабораторией биохимии опухолей, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 9338-4149. AuthorID (РИНЦ): 349081. Researcher ID (WOS): C-8658-2012. AuthorID (Scopus): 6701872510. ORCID: 0000-0002-0947-8778.

ВКЛАД АВТОРОВ

Какурина Гелена Валерьевна: разработка концепции научной работы, проведение исследования, анализ результатов, статистическая обработка, составление черновика рукописи.

Шашова Елена Евгеньевна: статистическая обработка, составление черновика рукописи.

Черемисина Ольга Владимировна: сбор и анализ материала.

Чойнзон Евгений Лхамцыренович: анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Кондакова Ирина Викторовна: анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Финансирование

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 20-015-00151 А).

Конфликт интересов

Авторы объявляют, что у них нет конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Gelena V. Kakurina, PhD, Senior Researcher, Laboratory of Tumor Biochemistry, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). E-mail: kakurinagv@oncology.tomsk.ru. Researcher ID (WOS): C-8668-2012. AuthorID (Scopus): 23667534500. ORCID: 0000-0002-4506-9429.

Elena E. Shashova, PhD, Senior Researcher, Laboratory of Tumor Biochemistry, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): D-1472-2012. AuthorID (Scopus): 54994115800. ORCID: 0000-0002-7752-9346.

Olga V. Cheremisina, MD, DSc, Head of Endoscopy Department, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): C-9259-2012. Author ID (Scopus): 6602197938. ORCID: 0000-0001-7234-4708.

Evgeny L. Choyzonov, MD, DSc, Professor, Member of the Russian Academy of Sciences, Director of the Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center; Head of Oncology Department of Siberian State Medical University (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): P-1470-2014. Author ID (Scopus): 6603352329. ORCID: 0000-0002-3651-0665.

Irina V. Kondakova, DSc, Professor, Head of the Laboratory of Tumor Biochemistry, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): C-8658-2012. AuthorID (Scopus): 6701872510. ORCID: 0000-0002-0947-8778.

AUTHOR CONTRIBUTION

Gelena V. Kakurina: study conception, research, analysis of results, statistical analysis, drafting of the manuscript.

Elena E. Shashova: statistical analysis, drafting of the manuscript.

Olga V. Cheremisina: data collection, data analysis.

Evgeny L. Choyzonov: analysis of the study results, critical revision for the important intellectual content.

Irina V. Kondakova: analysis of the study results, critical revision for the important intellectual content.

Funding

This study was financially supported by the Russian Foundation for Basic Research (Grant No. 20-015-00151 А).

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

Для цитирования: Златник Е.Ю., Ситковская А.О., Новикова И.А., Бондаренко Е.С., Сагакянц А.Б. Показатели клеточного иммунитета у больных колоректальным раком разных стадий при наличии и отсутствии циркулирующих опухолевых клеток. Сибирский онкологический журнал. 2020; 19(4): 94–98. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-4-94-98.

For citation: Zlatnik E.Y., Sitkovskaya A.O., Novikova I.A., Bondarenko E.S., Sagakyants A.B. Cell mediated immunity in patients with stage II–IV colorectal cancer with or without circulating tumor cells. Siberian Journal of Oncology. 2020; 19(4): 94–98. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-4-94-98.

ПОКАЗАТЕЛИ КЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА У БОЛЬНЫХ КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ РАЗНЫХ СТАДИЙ ПРИ НАЛИЧИИ И ОТСУТСТВИИ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК

Е.Ю. Златник, А.О. Ситковская, И.А. Новикова, Е.С. Бондаренко, А.Б. Сагакянц

ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Россия
Россия, 344037, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, 63. E-mail: elena-zlatnik@mail.ru, rnioi@list.ru

Аннотация

Циркулирующие опухолевые клетки (ЦОК) рассматриваются в настоящее время в качестве одного из важнейших механизмов метастазирования опухоли. Их обнаружение расценивается как прогностический фактор при различных злокачественных опухолях, в том числе при колоректальном раке (КРР). Однако ЦОК могут быть источником опухолевых антигенов, способных индуцировать как иммунный ответ, так и развитие толерантности, участвуя в «иммуноредактировании». **Цель исследования** – изучить показатели клеточного иммунитета у больных колоректальным раком различной распространенности в зависимости от наличия и отсутствия циркулирующих опухолевых клеток. **Материал и методы.** Изучены показатели клеточного иммунитета у 60 больных КРР различной распространенности (II–IV стадий) при наличии и отсутствии ЦОК. В крови больных до начала лечения определяли уровень ЦОК по технологии анализа в системе CellSearch System™ и с помощью проточного цитометра FACSCantoII (BD) оценивали субпопуляционный состав лимфоцитов: T-B-NK-клеток, T-reg; CD4+ и CD8+ клеток, экспрессирующих активационные маркеры (CD69+, CD38+, CD25+, HLA-DR+ CD95+); «наивных» T-лимфоцитов и T-клеток памяти (CD45RA-/CD45RO+); среди NK-клеток определяли лимфоциты, экспрессирующие CD335, перфорин, гранзим В. **Результаты.** Установлен ряд различий иммунологических показателей у больных с наличием и отсутствием ЦОК в зависимости от стадии КРР. При наличии ЦОК у больных местнораспространенным КРР отмечена стимуляция функциональных показателей врожденного иммунитета (CD335+ NK-клеток, кислородного взрыва в гранулоцитах) и активированных Th (CD38+, CD25+, HLA-DR+), а у больных генерализованным КРР – угнетение цитотоксических лимфоцитов врожденного (CD16/56+) и адаптивного (CD8+CD25+) иммунитета, что является, вероятно, неблагоприятным фактором прогноза. **Заключение.** Присутствие в крови больных КРР ЦОК сопровождается наличием иммунологических изменений: стимулирующих факторы T-хелперного и врожденного иммунитета при опухолях II–III стадий и угнетающих T- и NK-звенья при IV стадии.

Ключевые слова: клеточный иммунитет, циркулирующие опухолевые клетки, колоректальный рак, иммуноредактирование.

CELL MEDIATED IMMUNITY IN PATIENTS WITH STAGE II–IV COLORECTAL CANCER WITH OR WITHOUT CIRCULATING TUMOR CELLS

E.Y. Zlatnik, A.O. Sitkovskaya, I.A. Novikova, E.S. Bondarenko, A.B. Sagakyants

Rostov Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don, Russia
63, 14-th Liniya Street, 344037, Rostov-on-Don, Russia. E-mail: elena-zlatnik@mail.ru, rnioi@list.ru

Abstract

Nowadays, circulating tumor cells (CTCs) are considered to be one of the most important mechanisms of tumor dissemination. Detection of CTCs in patients' blood is estimated as a prognostic factor for various tumors including colorectal cancer (CRC). However, CTCs may also be a source of tumor antigens capable of inducing both immune response and tolerance and participating in «immunoediting». **The aim of the study** was to assess the parameters of cell-mediated immunity in patients with stage II–IV CRC with respect to the presence or absence of CTCs. **Materials and Methods.** We studied the parameters of cell-mediated immunity in 60 patients with stage II–IV CRC with respect to the presence or absence of CTCs. Before treatment, we evaluated the CTC levels in patients' blood using CellSearch System™ and lymphocyte subsets: T-B-NK-cells, T-reg, CD4+ and CD8+ expressing markers of activation (CD69+, CD38+, CD25+, HLA-DR+ CD95+); naïve and memory T-lymphocytes (CD45RA-/CD45RO+); NK-cells expressing CD335, perforin and granzyme B using flow cytometry (FACSCantoII, BD). **Results.** A difference in the immunologic parameters between patients with CTCs and without CTCs depending on the stage of CRC was found. In CTC-positive patients with locally-advanced CRC, increase in the parameters of innate immunity (CD335+ NK-cells, neutrophils' respiratory burst) and activated Th (CD38+, CD25+, HLA-DR+) was found, while in CTC-positive patients with generalized CRC, suppression of cytotoxic lymphocytes of both innate (CD56/16+) and adaptive (CD8+CD25+) immunity was observed, which is, apparently, an unfavorable prognostic factor. **Conclusion.** The presence of CTC in CRC patients is accompanied by some immunologic changes rather stimulating Th-link and innate immunity factors in II–III stages and doubtlessly suppressive in patients with IV stage.

Key words: cellular immunity, circulating tumor cells, colorectal cancer, immunoediting.

Введение

Взаимодействие между злокачественной опухолью и иммунной системой опухоленосителя в современной литературе описывается термином «иммуноредактирование» [1, 2]. Циркулирующие опухолевые клетки (ЦОК) считаются одним из важных механизмов метастазирования злокачественных опухолей, но они же могут нести опухолевые антигены и потенциально индуцировать иммунный ответ или вызывать толерантность, вероятно, в зависимости от состояния иммунной системы больного. Накоплен ряд данных о роли ЦОК в прогнозе течения некоторых злокачественных опухолей [3, 4]; при колоректальном раке (КРР) отмечена прогностическая ценность изменения данного показателя в динамике лечения [5]. Нами ранее показано, что количество ЦОК у больных КРР находится в прямой зависимости от экспрессии маркеров апоптоза (p53), микрососудистой инвазии (CD31), ММП-2, а у больных с повышенным количеством ЦОК метастазы и рецидивы возникали в более ранние сроки [6]. В последние годы появляется все больше данных, относительно взаимодействия ЦОК с иммунной системой опухоленосителей [7, 8]. Оно представляется важным, например, в аспекте использования цельноклеточных вакцин [9, 10], которые могут быть изготовлены и на основе ЦОК,

так как возможность индукции полноценного иммунного ответа на опухолевые антигены является решающей в успехе такого подхода.

Ранее нами [11] и другими авторами [12] была показана не только связь уровня ЦОК с некоторыми биологическими свойствами опухолей у больных раком легкого, но и выявлен ряд корреляций уровня ЦОК и показателей иммунного статуса, обнаруженных не в основных субпопуляциях Т, В, NK-клеток, T-regs, а во фракциях активированных Т-лимфоцитов, Т-клеток памяти, функционально активных NK-клеток. В данной работе нами было предпринято подобное исследование при КРР.

Цель исследования – изучить показатели клеточного иммунитета у больных колоректальным раком различной распространенности в зависимости от наличия и отсутствия циркулирующих опухолевых клеток.

Материал и методы

Изучали содержание ЦОК и показатели иммунного статуса у больных КРР; результаты анализировали в зависимости от распространенности (стадии) и наличия ЦОК в крови. Обследовано 60 больных: 52 (86,7 %) мужчины и 8 (13,3 %) женщин; средний возраст – $62 \pm 1,3$ года. На момент установления диагноза у 20 (33,3 %) паци-

ентов была II, у 12 (20 %) – III, у 28 (46,7 %) – IV стадия заболевания; у всех больных выявлена аденокарцинома.

В крови больных до начала лечения определяли уровень ЦОК по технологии анализа в системе CellSearch System™ (Janssen Diagnostics, LLC) с микрочастицами железа, покрытыми антителами к маркерам адгезии эпителиальных клеток EpCAM, CD45 и цитоцератинам 8,18,19. Качество работы системы оценивали с использованием стандартного контроля CTC control kit. Материал сканировали в анализаторе CellTracks®Analyzer II®. ЦОК регистрировали с учетом морфологических характеристик и экспрессии маркеров. В крови больных с помощью проточного цитометра FACSCantoII (BD) определяли субпопуляционный состав лимфоцитов: процент Т-В-НК-клеток, Т-reg; CD4+ и CD8+ клеток, экспрессирующих активационные маркеры (CD69+, CD38+, CD25+, HLA-DR+ CD95+); «наивных» Т-лимфоцитов и Т-клеток памяти (CD45RA-/CD45RO+); среди НК-клеток определяли лимфоциты, экспрессирующие CD335, перфорин, гранзим В. Результаты выражали в процентах. Статистическую обработку выполняли с использованием параметрических и непараметрических методов.

Результаты

Полученные данные позволили выявить некоторые различия в исследованных иммунологических показателях у больных КРР с наличием и

отсутствием ЦОК при II, III и IV стадиях. Так, при II стадии КРР у больных с наличием ЦОК обнаружены значимо более высокие уровни лимфоцитов ($19,1 \pm 2,7$ % против $15,6 \pm 1,4$ %), уровень CD335+ НК-клеток ($44,9 \pm 7,6$ % против $19,2 \pm 4,0$ %) и показатель кислородного взрыва в гранулоцитах ($97,5 \pm 1,6$ % против $92,3 \pm 1,2$ %); для всех показателей $p < 0,05$.

На рис. 1 представлены показатели иммунного статуса у больных КРР III стадии в зависимости от наличия или отсутствия у них ЦОК. Наличие ЦОК у этих больных сопровождалось снижением уровня лимфоцитов и моноцитов на фоне возрастания количества гранулоцитов. Кроме того, у них отмечено повышение содержания CD4+ клеток с маркерами ранней и поздней активации ($36,3 \pm 4,4$ % против $16,4 \pm 6,4$ % для CD4+CD38+; $15,7 \pm 5,1$ % против $2,7 \pm 1,0$ % для CD4+CD25+; $8,4 \pm 1,2$ % против $3,4 \pm 0,6$ % для CD4+HLA-DR+) (рис. 1А). Наблюдаются также различия и в цитотоксических звеньях: происходит повышение количества CD3+/CD8+/CD25+ клеток ($5,9 \pm 0,9$ % против $1,1 \pm 0,7$ %) и CD3+/CD56/16+ клеток ($7,9 \pm 1,9$ % против $2,6 \pm 0,2$ %) (рис. 1Б); для всех показателей $p < 0,05$.

Различия иммунологических показателей у ЦОК-положительных и ЦОК-отрицательных больных КРР IV стадии представлены на рис. 2, они характеризуются статистически значимо более низкими уровнями НК-клеток ($16,6 \pm 2,0$ % против $28,4 \pm 5,5$ %), CD4+CD69+ ($5,1 \pm 0,8$ % против

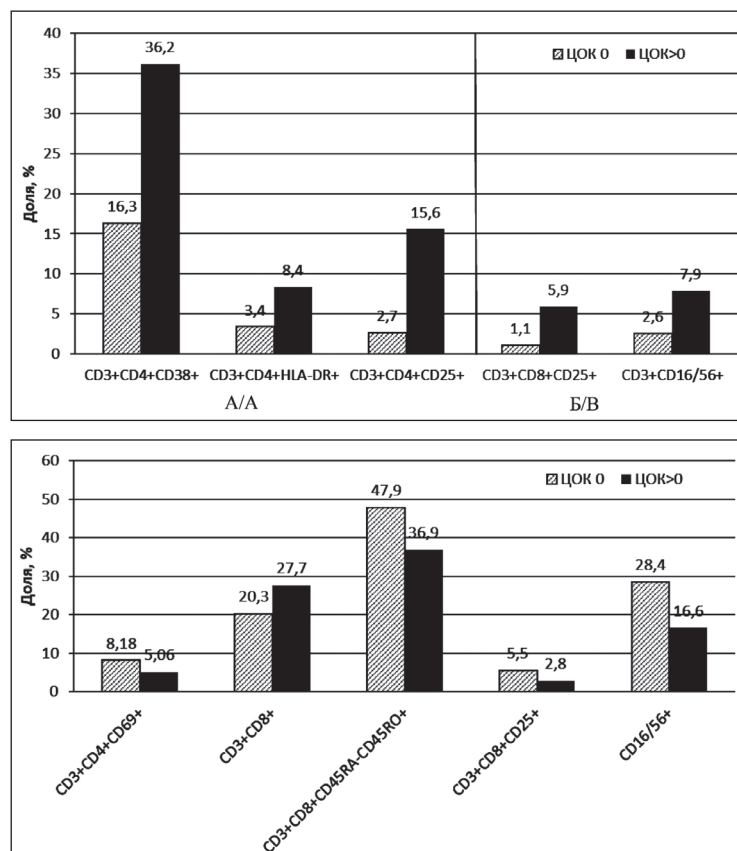


Рис. 1. Некоторые показатели клеточного иммунитета у больных КРР III стадии с наличием или отсутствием ЦОК: А) Th-звено,

Б) цитотоксическое звено
Fig. 1. Parameters of cell-mediated immunity in patients with stage III CRC with and without of CTCs: A) Th-link, B) cytotoxic link

Рис. 2. Некоторые показатели клеточного иммунитета у больных КРР IV стадии с наличием или отсутствием ЦОК

Fig. 2. Parameters of cell-mediated immunity in patients with stage IV CRC with and without of CTC

8,2 ± 1,0 %). Следует отметить, что, хотя наличие ЦОК при генерализованном КРР сопровождается более высоким уровнем CD8+ лимфоцитов (27,7 ± 2,0 против 20,3 ± 2,3 %), выявляется меньше активированных цитотоксических Т-лимфоцитов CD8+CD25+ (2,8 ± 0,48 % против 5,5 ± 1,1 % у ЦОК-отрицательных больных, $p < 0,05$). Кроме того, количество Т-клеток памяти с фенотипом CD8+/CD45RA-/CD45RO+ также было меньше при наличии ЦОК (36,9 ± 3,4 против 47,9 ± 4,3 % при их отсутствии, $p < 0,05$) (рис. 2). Остальные исследованные показатели не имели значимых различий в зависимости от наличия ЦОК.

Обсуждение

Таким образом, наличие ЦОК при местнораспространенном КРР ассоциируется со стимуляцией функциональных показателей врожденного иммунитета и активированных Th, а при генерализованном – с угнетением цитотоксических лимфоцитов врожденного и адаптивного иммунитета, что является, вероятно, неблагоприятным фактором прогноза, как отмечено в литературе [7, 13]. Следует отметить, что различия у ЦОК-позитивных и ЦОК-негативных больных КРР найдены, как и ранее при раке легкого, в субпопуляциях активиро-

ванных Т-лимфоцитов и Т-клеток памяти. Однако признаки иммуностимулирующего действия, отмеченные при местнораспространенном КРР, не реализуются в виде эффективного противоопухолевого ответа. По всей вероятности, причина этого состоит в том, что вскоре после попадания ЦОК в кровь в них развивается состояние «уклонения» от действия иммунной системы, характеризующееся гиперэкспрессией CD47, которая приводит к угнетению цитотоксичности НК-клеток и макрофагов и снижению экспрессии кальретикулина – маркера иммуногенной гибели опухолевых клеток [14].

Заключение

Присутствие в крови больных КРР ЦОК сопровождается наличием иммунологических изменений, неодинаковых при различных стадиях заболевания. У больных КРР II–III стадии такие изменения можно рассматривать как стимулирующие: при II стадии они касаются только звеньев врожденного иммунитета; максимальное количество их отмечено при III стадии (8 показателей из изученных 28, в основном относящихся к активированным Т-клеткам), при КРР IV стадии различия установлены по 5 показателям и являются супрессивными.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Mittal D., Gubin M.M., Schreiber R.D., Smyth M.J. New insights into cancer immunoeediting and its three component phases—elimination, equilibrium and escape. *Curr Opin Immunol.* 2014; 27: 16–25. doi: 10.1016/j.coi.2014.01.004.
- Kitamura T., Qian B.Z., Pollard J.W. Immune cell promotion of metastasis. *Nat Rev Immunol.* 2015 Feb; 15(2): 73–86. doi: 10.1038/nri3789.
- Кит О.И., Новикова И.А., Никителова Е.А., Нистратова О.В., Бахтин А.В., Селютин О.Н., Черникова Е.Н. Циркулирующие опухолевые клетки как высокоспецифичный прогностический фактор. Обзор литературы. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований.* 2014; 12(2): 252–257. [Kit O.I., Novikova I.A., Nikipelova E.A., Nistratova O.V., Bachtin A.V., Selutina O.V., Chernikova E.N. Circulating tumor cell as a highly specific prognostic factors. Review of the literature. *International Journal of Applied and Fundamental Research.* 2014; 12(2): 252–257. (in Russian)].
- Bidard F.C., Peeters D.J., Fehm T., Nolé F., Gisbert-Criado R., Mavroudis D., Grisanti S., Generali D., Garcia-Saenz J.A., Siebberg J., Caldas C., Gazzaniga P., Manso L., Zamarchi R., de Lascoiti A.F., De Mattos-Arruda L., Ignatiadis M., Lebofsky R., van Laere S.J., Meier-Stiegen F., Sandri M.T., Vidal-Martinez J., Politaki E., Consoli F., Bottini A., Diaz-Rubio E., Krell J., Dawson S.J., Raimondi C., Rutten A., Janni W., Munzone E., Carañana V., Agelaki S., Almici C., Dirix L., Solomayer E.F., Zorzino L., Johannes H., Reis-Filho J.S., Pantel K., Pierga J.Y., Michiels S. Clinical validity of circulating tumour cells in patients with metastatic breast cancer: A pooled analysis of individual patient data. *Lancet Oncol.* 2014; 15: 406–14. doi:10.1016/S1470-2045(14)70069-5.
- Burc C., Pop V.V., Buiga R., Daniel S., Samasca G., Aldea C., Lupan I. Circulating tumor cells in clinical research and monitoring patients with colorectal cancer. *Oncotarget.* 2018; 9(36): 24561–71. doi: 10.18632/oncotarget.25337.
- Непомнящая Е.М., Кит О.И., Нистратова О.В., Новикова И.А., Никителова Е.А., Бахтин А.В., Ульянова Е.П., Вострикова Ж.И., Селютин О.Н. Циркулирующие опухолевые клетки и некоторые морфо-иммуногистохимические показатели при колоректальном раке. Современные проблемы науки и образования. 2016; 2 [Интернет]. URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=24378> (дата обращения: 28.05.2020). [Nepomnyashchaya E.M., Kit O.I., Nistratova O.V., Novikova I.A., Nikipelova E.A., Bakhtin A.V., Ulyanova E.P., Vostrikova Zh.I., Selyutina O.N. Circulating tumor cells and some morpho-immunohistochemical parameters in colorectal cancer. Modern problems of science and education. 2016; 2 [Internet]. URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=24378> (cited 28.05.2020). (in Russian)].
- Mego M., Gao H., Cohen E.N., Anfossi S., Giordano A., Sanda T., Fouad T.M., De Giorgi U., Giuliano M., Woodward W.A., Alvarez R.H., Valero V., Ueno N.T., Hortobagyi G.N., Cristofanilli M., Reuben J.M. Circulating Tumor Cells (CTC) Are Associated with Defects in Adaptive Immunity in Patients with Inflammatory Breast Cancer. *J Cancer.* 2016 Jun 3; 7(9): 1095–104. doi: 10.7150/jca.13098.
- Leone K., Poggiana C., Zamarchi R. The Interplay between Circulating Tumor Cells and the Immune System: From Immune Escape to Cancer Immunotherapy. *Diagnostics (Basel).* 2018 Aug 30; 8(3): 59. doi: 10.3390/diagnostics8030059.
- Манина И.В., Сапрыкина Н.М., Козлов А.М., Михайлова И.Н., Григорьева И.Н., Касаткина Н.Н., Барышников А.Ю. Повышение эффективности цельноклеточной gm-csf-секретирующей противоопухолевой вакцины путем преинкубации с цитокинами. Российский биотерапевтический журнал. 2011; 3: 61–66. [Manina I.V., Saprikina N.S., Kozlov A.M., Mikhaylova I.N., Grigorieva I.N., Kasatkina N.N., Barishnikov A.Y. The increasing of gm-csf produced vaccine efficiency by inhibition the cells with cytokines. *Russian Journal of Biotherapy.* 2011; 3: 61–66. (in Russian)].
- Ермакова Н.П., Михайлова И.Н., Меркулова И.Б., Коняева О.И., Кульбачевская Н.Ю., Абрамова Т.В., Барышников К.А., Михайлова Л.М. Доклинические исследования токсичности противоопухолевой вакцины «Меловак». Российский биотерапевтический журнал. 2010; 1: 57–62. [Ermakova N.P., Mikhaylova I.N., Merkulova I.B., Konyaeva O.I., Kulbachevskaya N.Yu., Abramova T.V., Baryshnikov K.A., Mikhaylova L.M. Re-clinical study of anticancer vaccine «Melovac» toxicity. *Russian Journal of Biotherapy.* 2010; 1: 57–62. (in Russian)].
- Бахтин А.В., Кит О.И., Новикова И.А., Златник Е.Ю., Исаева Р.Г., Селютин О.Н., Шульгина О.Г. Детекция циркулирующих в крови опухолевых клеток и их взаимоотношение с иммунокомпетентными клетками у больных генерализованными формами рака лёгкого. Современные проблемы науки и образования. 2015; 3 [Интернет]. URL: <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=19734> (дата обращения: 28.05.2020). [Bakhtin A.V., Kit O.I., Novikova I.A., Zlatnik E.Yu., Isaeva R.G., Selyutina O.N., Shulgina O.G. Detection of tumor cells circulating in the blood and their relationship with immunocompetent cells in patients with generalized forms of lung cancer. Modern Problems of Science and Education. 2015; 3 [Internet]. URL: <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=19734> (cited 28.05.2020). (in Russian)].
- Ye L., Zhang F., Li H., Yang L., Lv T., Gu W., Song Y. Circulating Tumor Cells Were Associated with the Number of T Lymphocyte Subsets and NK Cells in Peripheral Blood in Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer. *Dis Markers.* 2017; 2017: 5727815. doi: 10.1155/2017/5727815.

13. Green T.L., Cruse J.M., Lewis R.E., Craft B.S. Circulating tumor cells (CTCs) from metastatic breast cancer patients linked to decreased immune function and response to treatment. *Exp Mol Pathol.* 2013 Oct; 95(2): 174–9. doi: 10.1016/j.yexmp.2013.06.013.

14. Schölch S., Bork U., Rahbari N.N., García S., Swiersy A., Betzler A.M., Weitz J., Koch M. Circulating tumor cells of colorectal cancer. *Cancer Cell Microenvironment.* 2014; 1: e323. doi: 10.14800/ccm.323.

Поступила/Received 28.05.2019
Принята в печать/Accepted 17.09.2019

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Златник Елена Юрьевна, доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории иммунофенотипирования опухолей, ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). E-mail: elena-zlatnik@mail.ru. SPIN-код: 4137-7410. Author ID (Scopus): 6603160432.

Ситковская Анастасия Олеговна, научный сотрудник лаборатории клеточных технологий, ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 1659-6976. Researcher ID (WOS): E-7496-2018. Author ID (Scopus): 56381527400. ORCID: 0000-0002-6035-1756.

Новикова Инна Арнольдовна, кандидат медицинских наук, заместитель генерального директора по науке, ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 4810-2424. ResearcherID (WOS): E-7710-2018. Author ID (Scopus): 7005153343. ORCID: 0000-0002-6496-9641.

Бондаренко Елена Сергеевна, младший научный сотрудник лаборатории иммунофенотипирования опухолей, ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 3117-4040. Author ID (Scopus): 57200132337. ORCID: 0000-0002-8522-1026.

Сагакянц Александр Борисович, кандидат биологических наук, доцент, руководитель лаборатории иммунофенотипирования опухолей, ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России (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.

ВКЛАД АВТОРОВ

Златник Елена Юрьевна: анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Ситковская Анастасия Олеговна: составление черновика рукописи.

Новикова Инна Арнольдовна: выполнение определения циркулирующих опухолевых клеток.

Бондаренко Елена Сергеевна: выполнение проточной цитометрии.

Сагакянц Александр Борисович: статистическая обработка данных.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы объявляют, что у них нет конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Elena Y. Zlatnik, MD, Professor, Chief Researcher, Laboratory of Immunophenotyping of Tumors, Rostov Research Institute of Oncology (Rostov-on-Don, Russia). E-mail: elena-zlatnik@mail.ru. Author ID (Scopus): 6603160432.

Anastasia O. Sitkovskaya, Researcher, Laboratory of Cellular Technologies, Rostov Research Institute of Oncology (Rostov-on-Don, Russia). Researcher ID (WOS): E-7496-2018. Author ID (Scopus): 56381527400. ORCID: 0000-0002-6035-1756.

Inna A. Novikova, PhD, Deputy General Director for Science, Rostov Research Institute of Oncology (Rostov-on-Don, Russia). Researcher ID (WOS): E-7710-2018. Author ID (Scopus): 7005153343. ORCID: 0000-0002-6496-9641.

Elena S. Bondarenko, Junior Researcher, Laboratory of Immunophenotyping of Tumors, Rostov Research Institute of Oncology (Rostov-on-Don, Russia). Author ID (Scopus): 57200132337. ORCID: 0000-0002-8522-1026.

Alexander 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.

AUTHOR CONTRIBUTION

Elena Y. Zlatnik: analysis of the study results, critical revision for the important intellectual content.

Anastasia O. Sitkovskaya: drafting of the manuscript.

Inna A. Novikova: performing a determination of circulating tumor cells.

Elena S. Bondarenko: performing flow cytometry.

Alexander B. Sagakyants: statistical data analysis.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

Для цитирования: Вязовая Е.А., Лебедев Л.Р., Даниленко Е.Д. Индукция апоптоза клеток меланомы B16 при воздействии препарата фактора некроза опухолей альфа в составе вирусоподобных частиц *in vitro*. Сибирский онкологический журнал. 2020; 19(4): 99–104. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-4-99-104.

For citation: Vyazovaya E.A., Lebedev L.R., Danilenko E.D. Induction of apoptosis in B16 melanoma cells under the action of drug containing tumor necrosis factor alpha as a part of virus-like particles *in vitro*. Siberian Journal of Oncology. 2020; 19(4): 99–104. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-4-99-104.

ИНДУКЦИЯ АПОПТОЗА КЛЕТОК МЕЛАНОМЫ B16 ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ПРЕПАРАТА ФАКТОРА НЕКРОЗА ОПУХОЛЕЙ АЛЬФА В СОСТАВЕ ВИРУСОПОДОБНЫХ ЧАСТИЦ *IN VITRO*

Е.А. Вязовая, Л.Р. Лебедев, Е.Д. Даниленко

Институт медицинской биотехнологии ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, г. Бердск, Россия
Россия, 633010, г. Бердск, ул. Химзаводская, 9. E-mail: viazovaia@mail.ru

Аннотация

Цель исследования – оценка противоопухолевой активности препарата, содержащего фактор некроза опухолей альфа (ФНО-альфа) и двуспиральную рибонуклеиновую кислоту (дсРНК) в составе молекулярной конструкции («вирусоподобной частицы») (ВПЧ-ФНО-альфа), на клетках меланомы B16-F10. **Материал и методы.** Анализ антипролиферативного действия ВПЧ-ФНО-альфа и его компонентов ФНО-альфа и дсРНК проводили с помощью МТТ-теста, апоптоз клеток меланомы оценивали методом проточной цитофлуориметрии с ФИТЦ-аннексином V. **Результаты.** Показано, что токсическое воздействие препарата, содержащего ФНО-альфа и дсРНК в составе вирусоподобных частиц, на клетки меланомы значительно превышает суммарный токсический эффект ФНО-альфа и дсРНК в отдельности (ЛД₅₀ составляет, соответственно, для комплексного препарата 0,05 мкг/мл, ФНО-альфа – 9,5 мкг/мл, дсРНК >20 мкг/мл). **Заключение.** Препарат, содержащий ФНО-альфа и дсРНК в молекулярной конструкции, может быть многообещающим терапевтическим средством для лечения злокачественных новообразований, включая меланому.

Ключевые слова: фактор некроза опухолей альфа, двуспиральная РНК, вирусоподобная частица, ВПЧ-ФНО-альфа, апоптоз, антипролиферативное действие, меланома.

INDUCTION OF APOPTOSIS IN B16 MELANOMA CELLS UNDER THE ACTION OF DRUG CONTAINING TUMOR NECROSIS FACTOR ALPHA AS A PART OF VIRUS-LIKE PARTICLES *IN VITRO*

Е.А. Vyazovaya, L.R. Lebedev, E.D. Danilenko

Institute of Medical Biotechnology, State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector»,
Berdsk, Russia
9, Khimzavodskaya Street, 633010-Berdsk, Russia. E-mail: viazovaia@mail.ru

Abstract

Aim: to evaluate the antitumor activity of the drug containing TNF-alpha and high-polymer double-stranded RNA (dsRNA) in the composition of virus-like particles (VLP-TNF-alpha) on B16-F10 melanoma cells. **Material and Methods.** Analysis of the anti-proliferative effect of VLP-TNF-alpha as well as its components, TNF-alpha and dsRNA, was carried out using the MTT-test. Apoptosis of melanoma cells was assessed by flow cytometry with FITC-annexin V. **Results.** It was shown that the cytotoxic effect of the drug containing the combination of TNF-alpha and dsRNA on melanoma cells significantly exceeded the total cytotoxic effect of TNF-alpha or dsRNA alone (LD₅₀ for combination drug was 0.05 µg/ml, TNF-alpha – 9.5 µg/ml, dsRNA >20 µg/ml).

µg/ml). **Conclusion.** The drug containing TNF-alpha and dsRNA molecules may be a promising drug for the treatment of malignant tumors, including melanoma.

Key words: tumor necrosis factor alpha, double-stranded RNA, virus-like particle, VLP-TNF-alpha, apoptosis, antiproliferative activity, melanoma.

Введение

Неконтролируемый рост и устойчивость к апоптозу являются двумя важнейшими признаками возникновения злокачественных новообразований (ЗНО), а также прогрессирования онкологического процесса. Следовательно, методы лечения, нацеленные на эти механизмы элиминации трансформированных клеток, могут быть идеальными способами лечения рака. Кроме того, индукция апоптоза может быть более действенной терапией по сравнению с ингибированием пролиферации, поскольку она способна полностью устранить опухолевые клетки. По мере накопления знаний о механизмах клеточной гибели появляются новые идеи и методы борьбы со злокачественными клетками. Комплексное воздействие на опухоль, обеспечивающее активацию противоопухолевого иммунного ответа и апоптоза клеток опухоли, — одно из перспективных направлений в современной онкологии [1].

Фактор некроза опухолей альфа (ФНО-альфа, TNF-alpha) в течение многих лет привлекает внимание исследователей, фармакологов и клиницистов как потенциальное противоопухолевое средство, что связано с его многофакторным воздействием на опухоль: избирательной способностью тормозить рост и вызывать лизис злокачественных клеток, вызывать геморрагический некроз опухолей, активировать иммунный противоопухолевый ответ [2]. Однако в ходе системного введения ФНО-альфа выявлены его нестабильность в кровеносном русле, широкий спектр побочных эффектов, а также недостаточная селективность накопления в опухолевых клетках [3].

Среди разнообразных методических приемов, которые используются в настоящее время для решения этого комплекса проблем, можно выделить подход, направленный на создание средств адресной доставки ФНО-альфа к клеткам-мишеням [4, 5]. Одной из таких разработок является оригинальная молекулярная конструкция для депонирования белка с целью защиты от протеаз и транспортировки к клеткам-мишеням [6]. Средство адресной доставки представляет собой так называемую вирусоподобную частицу (ВПЧ), ядро которой образовано двуспиральными РНК из дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* и окружено полисахаридной оболочкой с экспонированными на ее поверхности молекулами белка. Достоинство конструкции состоит в ее биодegradуемости и наличии биологической активности у всех ее компонентов.

Активным компонентом молекулярной конструкции, помимо рекомбинантного ФНО-альфа человека, является двуспиральная дрожжевая РНК.

Известно, что dsРНК способны усиливать продукцию интерферона (ИФН) 1 типа, который обладает свойством индуцировать апоптоз в нормальных и опухолевых клетках [7, 8]. Важно отметить, что в некоторых трансформированных клетках человека и мыши, включая клетки меланомы В16-F10, были обнаружены мРНК, необходимые для синтеза ИФН [9, 10].

Препарат ВПЧ-ФНО-альфа отличается повышенной по сравнению с ФНО-альфа противоопухолевой активностью, а также тропностью к ткани опухоли и коже [6, 11], что открывает интересные перспективы его применения для лечения злокачественных новообразований, включая меланому.

Целью исследования явилась оценка прямого токсического действия препарата ВПЧ-ФНО-альфа и его компонентов на клетки меланомы В16-F10.

Материал и методы

В работе использовали препараты производства ИМБТ ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор»: двуспиральную РНК из дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, полученную по ранее описанной методике [12]; рекомбинантный человеческий фактор некроза опухоли альфа с активностью 8×10^7 МЕ/мг [13]; препарат ВПЧ-ФНО-альфа с концентрацией белка 0,16 мг/мл и специфической цитолитической активностью $1,9 \times 10^7$ МЕ/мг [6]. Клеточная линия мышиной меланомы В16 клон F10 получена из Российской коллекции клеточных культур Института цитологии РАН, г. Санкт-Петербург.

MTT-тест

Токсическое (антипролиферативное) действие изучаемых препаратов оценивали с помощью МТТ-теста [14]. Клетки меланомы В16-F10 помещали по 10^4 /лунку в 96-луночный микропланшет (TPP, Швейцария) в полной среде DMEM (Биолот) с 10 % эмбриональной телячьей сывороткой (HyClone, США) и 0,04 мг/мл гентамицина. Через сутки в лунки вносили ФНО-альфа, dsРНК или ВПЧ-ФНО-альфа в убывающих концентрациях, каждое разведение исследовали в 6 повторах, в контрольные лунки вносили физиологический раствор. Клетки инкубировали в CO₂-инкубаторе (SHEL-LAB, США) при температуре 37 °C в течение 72 ч, затем измеряли оптическую плотность восстановленного МТТ-реагента (Sigma – Aldrich) на ридере Multiskan EX (Thermo, Финляндия) при длине волны 540 нм. Поскольку восстановление 3-(4,5-диметилтиазолил-2)-2,5-дифенил тетразолия бромид (МТТ) возможно только в метаболически активных клетках, оптическая плотность в каждой лунке планшета соответствовала коли-

честву живых клеток, и по соотношению оптической плотности опытных и контрольных лунок рассчитывали процент живых клеток для каждого разведения исследуемых препаратов (индекс $MTT = O/K \times 100$). Экспериментальные данные обрабатывали методами вариационной статистики с помощью пакета программ «Statgraphics, Vers.5.0». Для оценки значимости межгрупповых различий использовали U-критерий Манна – Уитни, критический уровень значимости при проверке статистических гипотез (p) принимали равным 0,05.

Метод изучения апоптоза опухолевых клеток

Анализ механизма цитотоксического действия препаратов проводили методом выявления специфического молекулярного маркера фосфатидилсерина на клеточной мембране гибнущих клеток-мишеней меланомы B16-F10 с помощью проточной цитофлуориметрии. Исследование проводили с помощью диагностического набора для цитофлуориметрической оценки апоптоза «FITC Annexin V Detection Kit 1» (BD Pharmingen, США). Для определения апоптотических изменений в плазматической мембране клетки меланомы помещали в 24-луночный планшет (TPP, Швейцария) по 10^6 клеток/лунку в объеме 1 мл полной среды, куда вносили растворы ВПЧ-ФНО-альфа, ФНО-альфа или дсРНК в конечных концентрациях, выбранных на основании МТТ-теста. Планшеты инкубировали в CO_2 -инкубаторе при температуре $37^\circ C$ в атмосфере с 5 % CO_2 в течение 48 ч. Затем клетки снимали с подложки смесью трипсин-версен (ПанЭко), окрашивали согласно инструкции к диагностическому набору и проводили анализ на цитофлуориметре BD FACS Aria (BD Pharmingen, США) с помощью пакета программ BD FACS DiVa. Определяли соотношение количества клеток в раннем и позднем апоптозе, т.е. числа клеток,

положительных по аннексину V и отрицательных по метке иодидом пропидия (PI) к клеткам, положительным по аннексину V и PI.

Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета статистических программ «Statgraphics, Vers.5.0» (Statistical Graphic Corp., USA). Рассчитывали групповые показатели суммарной статистики – среднюю арифметическую и ошибку средней. Для оценки значимости межгрупповых различий использовали U-критерий Манна – Уитни. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез (p) принимали равным 0,05.

Результаты исследования

Результаты исследования МТТ-анализ показал, что клеточная линия мышинной меланомы B16-F10 обладает высокой чувствительностью к препарату ВПЧ-ФНО-альфа. Около 70 % популяции клеток утрачивают жизнеспособность под действием препарата в концентрациях от 1,2 до 30,5 мкг/мл, и его эффект зависит от дозы (таблица).

В результате оценки антипролиферативного эффекта препаратов ФНО-альфа и дсРНК на клетках меланомы B16-F10 установлено, что ФНО-альфа проявляет умеренную токсичность по отношению к опухолевым клеткам (рис. 1), и даже его высокие концентрации (9–46 мкг/мл) снижали количество живых клеток в популяции не более чем на 50 %. ДсРНК в исследованных концентрациях была менее токсична для опухолевых клеток, чем ФНО-альфа: максимальное снижение числа живых клеток составило 40 % (4,5–22,5 мкг/мл). По уровню цитотоксичности смесь ФНО-альфа и дсРНК соответствовала показателям токсичности индивидуального ФНО-альфа (данные не приведены). Эффект препарата ВПЧ-ФНО-альфа на клетки B16-F10 значительно превышал суммарный токсический эффект ФНО-альфа и дсРНК в

Таблица/Table

Жизнеспособность клеток B16-F10, инкубированных с ВПЧ-ФНО-альфа, в сравнении с контрольными необработанными клетками
Viability of B16-F10 cells incubated with VLP-TNF-alpha in comparison with untreated control cells

№ разведения/ No. breeding	Концентрация ВПЧ-ФНО-альфа, мкг/ мл/ VLP-TNF-alpha concentration, µg/ml	Средняя оптическая плотность/ Optical Density	Ошибка среднего/ Error of mean	Индекс МТТ/ MTT indices
1	30,5	0,208*	0,016	29 %
2	6,1	0,255*	0,009	36 %
3	1,2	0,220*	0,022	33 %
4	0,24	0,262*	0,023	37 %
5	0,049	0,359*	0,017	50 %
6	0,0097	0,336*	0,016	47 %
7	0,002	0,394*	0,025	55 %
8	0,0004	0,470*	0,016	66 %
9	0,000078	0,550*	0,029	77 %
10	контроль	0,711	0,029	100 %

Примечание: * – отличия статистически значимы по сравнению с контролем по U-критерию Манна – Уитни ($p \leq 0,05$).

Note: * – a significant difference with the control, $p \leq 0.05$ (according to the Mann – Whitney U-criterion).

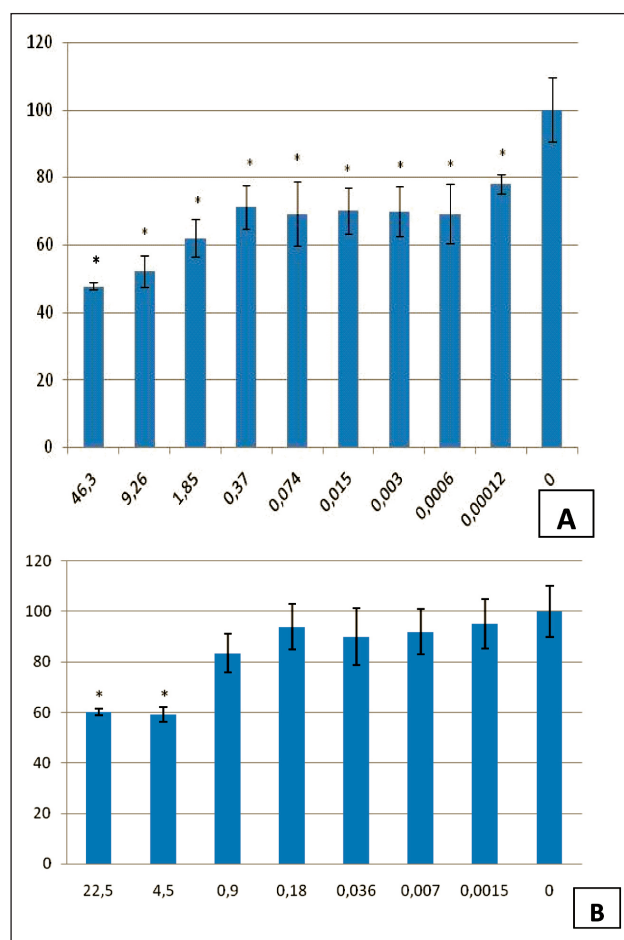


Рис. 1. Жизнеспособность клеток меланомы B16-F10 после инкубации в течение 72 ч с ФНО-альфа (А) и дсРНК (В) относительно показателя контрольных необработанных клеток. По оси абсцисс – концентрация препарата в культуральной среде, мкг/мл; по оси ординат – индексы МТТ, %. Примечание: * – отличия статистически значимы по сравнению с контролем ($p \leq 0,05$)

Fig. 1. Viability of B16-F10 melanoma cells after incubation (72 hrs) with TNF-alpha (A) and dsRNA (B) relative to the untreated control cells. The values on the abscissa indicate the drug concentration in the culture medium, µg/ml; the values on the ordinate – MTT indices, %.

Notes: * – significant difference from control ($p \leq 0,05$)

отдельности или в смеси. Снижение количества клеток на 50 % относительно контроля достигается при концентрациях: для комплексного препарата 0,05 мкг/мл, ФНО-альфа – 9,5 мкг/мл, дсРНК >20 мкг/мл (рис. 1).

Исследование апоптотических изменений клеток меланомы B16-F10 методом проточной цитофлуориметрии показало, что при контакте с ФНО-альфа и ВПЧ-ФНО-альфа в дозе 0,05 мкг/мл через 48 ч культивирования, 18,1 % и 38 % клеток меланомы подвергались апоптозу (рис. 2); к 72 ч культивирования погибало уже 38,1 % и 64,5 % клеток соответственно. ДсРНК в исследованных концентрациях апоптогенных свойств не проявляла.

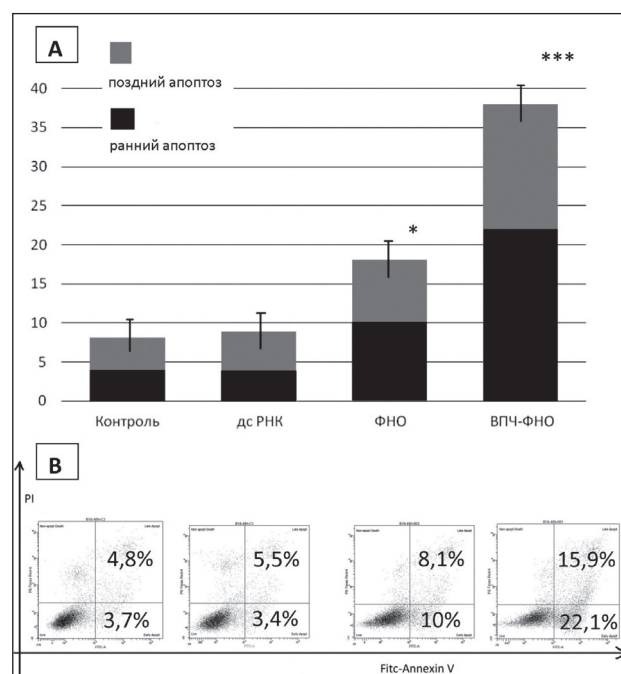


Рис. 2. Апоптоз клеток B16-F10 под действием ВПЧ-ФНО-альфа, дсРНК и ФНО-альфа, 48 ч инкубации, концентрация по ФНО-альфа и дсРНК 0,05 мкг/мл. Тест *in vitro* с аннексин-пропидий-йодидом, цитофлуориметрия. (А): По оси ординат – число клеток меланомы в разных фазах апоптоза, %; (В): По оси ординат – клетки, положительные по PI, по оси абсцисс – положительные по FITC-Annexin V. В правом нижнем квадрате – число клеток на стадии раннего апоптоза, %; в правом верхнем квадрате – на стадии позднего апоптоза, %.

Примечание: * – отличия статистически значимы по сравнению с контролем ($p \leq 0,05$), *** – по сравнению с контролем и ФНО-альфа ($p < 0,05$)

Fig. 2. Apoptosis of B16-F10 cells induced by VLP-TNF-alpha, dsRNA, and TNF-alpha (48 hrs incubation). The concentration of TNF-alpha and dsRNA is 0.05 µg/ml. *In vitro* test with annexin-propidium iodide, cytofluorimetry.

(A): The ordinate shows the number of melanoma cells in different phases of apoptosis, %;

(B): The ordinate presents PI positive cells, the abscissa – FITC-Annexin V positive cells. The right lower square indicates the number of cells at early apoptosis, %; the upper right square – the number of cells at late apoptosis, %.

Notes: significant difference: * – from control ($p < 0,05$); *** – from control and TNF-alpha ($p < 0,05$)

Обсуждение

Учитывая существующие в настоящее время проблемы терапии онкологических заболеваний, очевидно, что задача создания новых эффективных и безопасных противоопухолевых средств требует новых подходов. За последнее десятилетие был предложен ряд стратегий, учитывающих современные знания о противоопухолевом иммунитете. Один из подходов к созданию противоопухолевых препаратов нового поколения основан на конструировании средств адресной доставки цитокинов к клеткам опухоли [5, 6]. В ходе изучения противоопухолевых свойств ФНО-альфа в составе вирусоподобных частиц в экспериментах на мышах с трансплантированной карциномой Эрлиха был продемонстрирован высокий терапевтический по-

тенциал этого препарата: рост опухоли снижался при использовании ФНО-альфа в составе ВПЧ в дозах, в 10–100 раз меньших, чем при введении ФНО-альфа [6]. Вероятно, присутствие дсРНК может вносить существенный вклад в торможение роста опухоли: на модели перевивной меланомы В16-F10 были получены аналогичные результаты (неопубликованные данные). В ходе недавних исследований было обнаружено повышение уровня экспрессии ряда интерферон-стимулированных генов в перитонеальных макрофагах мыши [7] и клетках меланомы [15] в ответ на введение дрожжевой дсРНК. В литературе есть сведения об участии ИФН разных типов (альфа, бета и гамма), 2',5'-олигоденилатсинтетазы и протеинкиназы R в ингибировании пролиферации клеток и индукции апоптоза [16].

Полученные нами данные показали, что препарат ВПЧ-ФНО-альфа отличался достоверно более высоким антипролиферативным и апоптогенным действием на клетки меланомы В16-F10 по сравнению как с ФНО-альфа и дсРНК, так и с их смесью. Это позволяет заключить, что эффекты ВПЧ-ФНО-альфа не являются результатом простого суммирования эффектов отдельных компонентов конструкции или их взаимного потенцирования, но базируются на более сложных механизмах. Возможно, это связано с биологическими свойствами других компонентов вирусоподобной частицы. Так, например, известно, что полисахариды клеточных стенок бактерий, такие как зимозан и пептидогликаны, способны связываться с рецепто-

ром TLR2, который экспрессируется, в частности, меланоцитами и клетками меланомы [17]. Можно предположить, что полисахарид оболочки вирусоподобной частицы способен взаимодействовать с TLR2 и модулировать эффект ФНО-альфа через запуск дополнительных сигнальных каскадов. С другой стороны, микрочастицы декстрана способны усиливать доставку синтетической дсРНК роу I:C к эндосомам клетки [18], что может приводить к повышению доступности внутриклеточных TLR3 для дсРНК и усилению сигнала с рецепторов клеточной мембраны. Несомненно то, что вопрос о механизмах синергидного эффекта компонентов молекулярной конструкции важен и требует дальнейшего внимательного изучения.

Заключение

Изучение цитотоксического действия препарата ФНО-альфа в составе вирусоподобных частиц (ВПЧ-ФНО-альфа) на клеточную линию меланомы В16-F10 показало, что клетки меланомы обладают высокой чувствительностью к препарату, антипролиферативное действие которого оказалось дозозависимым. Комплексный препарат обладал более выраженным апоптогенным действием в отношении опухолевых клеток по сравнению с ФНО-альфа. Полученные результаты свидетельствуют о наличии синергидного антипролиферативного эффекта ФНО-альфа и дсРНК в составе конструкции, изучение молекулярных механизмов которого требует дальнейшего исследования.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Bernardo A.R., Cosgaya J.M., Aranda A., Jiménez-Lara A.M. Synergy between RA and TLR3 promotes type I IFN-dependent apoptosis through upregulation of TRAIL pathway in breast cancer cells. *Cell Death Dis.* 2013 Jan 31; 4: e479. doi: 10.1038/cddis.2013.5.
- Кетлинский С.А., Симбирцев А.С. Цитокины. СПб., 2008. 552 с. [Ketlinsky S.A., Simbircev A.S. Cytokines. Saint Petersburg, 2008. 552 p. (in Russian)].
- Lienard D., Ewalenko P., Delmotte J.J., Renard N., Lejeune F.J. High-dose recombinant tumor necrosis factor alpha in combination with interferon gamma and melphalan in isolation perfusion of the limbs for melanoma and sarcoma. *J Clin Oncol.* 1992 Jan; 10(1): 52–60. doi: 10.1200/JCO.1992.10.1.52.
- Чубенко В.А. Иммуноterapia на основе цитокинов (ИЛ-1, ИЛ-2, ТНФ, КСФ, Интерфероны). Практическая онкология. 2016; 17(2): 99–109. [Chubenko V.A. Immunotherapy is based on cytokines (IL-1, IL-2, FNO, CSF, IFN). *Practical Oncology.* 2016; 17(2): 99–109. (in Russian)]. doi: 10.31917/1702099.
- Xu G., Gu H., Hu B., Tong F., Liu D., Yu X., Zheng Y., Gu J. PEG-b-(PELG-g-PLL) nanoparticles as TNF- α nanocarriers: potential cerebral ischemia/reperfusion injury therapeutic applications. *Int J Nanomedicine.* 2017 Mar 23; 12: 2243–2254. doi: 10.2147/IJN.S130842.
- Масычева В.И., Лебедев Л.Р., Даниленко Е.Д., Сысоева Г.М., Гамалей С.Г.; ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора. Противоопухолевое средство на основе наночастицы, несущей рекомбинантный фактор некроза опухолей альфа. Патент № 2386447 РФ, МКП А61К 38/19. № 2008140246/15; Заявл. 13.10.08; Опубл. 20.04.10, Бюл. № 11. [Masycheva V.I., Lebedev L.R., Danilenko E.D., Sysoeva G.M., Gamaley S.G.; State Scientific Center of Virology and Biotechnology «Vector». An antitumor agent based on a nanoparticle carrying a recombinant tumor necrosis factor alpha. Patent No 2386447 of the Russian Federation, MKP A61K 38/19. № 2008140246/15; Publ. 04.20.10. (in Russian)].
- Chawla-Sarkar M., Leaman D.W., Borden E.C. Preferential induction of apoptosis by interferon (IFN)-beta compared with IFN-alpha2: correlation with TRAIL/Apo2L induction in melanoma cell lines. *Clin Cancer Res.* 2001 Jun; 7(6): 1821–31.
- Dai X., Zhang J., Arfuso F., Chinnathambi A., Zayed M.E., Alharbi S.A., Kumar A.P., Ahn K.S., Sethi G. Targeting TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) receptor by natural products as a potential therapeutic approach for cancer therapy. *Exp Biol Med (Maywood).* 2015 Jun; 240(6): 760–73. doi: 10.1177/1535370215579167.
- Gantier M.P., Williams B.R. The response of mammalian cells to double-stranded RNA. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2007 Oct-Dec; 18(5–6): 363–71. doi: 10.1016/j.cytogfr.2007.06.016.
- Salaun B., Lebecque S., Matikainen S., Rimoldi D., Romero P. Toll-like receptor 3 expressed by melanoma cells as a target for therapy? *Clin Cancer Res.* 2007 Aug 1; 13(15 Pt 1): 456574. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-07-0274.
- Гамалей С.Г., Даниленко Е.Д., Батенева А.В., Лебедев Л.Р., Масычева В.И. Фармакокинетика молекулярной конструкции для депонирования и транспортировки к клеткам-мишеням биологически активных веществ. Сибирский медицинский журнал. 2008; (3): 92–5. [Gamaley S.G., Danilenko E.D., Bateneva A.V., Lebedev L.R., Masycheva V.I. Pharmacokinetics of molecular construction for deposition and transportation of biologically active substances to target cells. *Siberian Journal of Oncology.* 2008; (3): 92–5. (in Russian)].
- Лебедев Л.Р., Аликин Ю.С., Рослякова Е.Ю., Подгорный В.Ф., Дубинкина О.С., Азаев М.Ш. Выделение и очистка двуспиральной рибонуклеиновой кислоты из киллерного штамма дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Биофармацевтический журнал. 2014; 6(6): 32–8. [Lebedev L.R., Alikin Yu.S., Roslyakova E.Y., Podgorny V.F., Dubinkina O.S., Azaev M.Sh. Isolation and purification of double stranded RNA from killer strain of yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Russian Journal of Biopharmaceuticals.* 2014; 6(6): 32–8. (in Russian)].
- Пустошилова Н.М., Килева Е.В., Денисова Л.Я., Шингарева Н.В., Коробко В.Г., Денисов Л.А., Масычева В.И., Сандахчиев Л.С., Калинин Ю.Т.; ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора. Способ получения рекомбинантного фактора некроза опухолей человека. Патент № 2144958 РФ, МКП C12N 15/28. № 97106895; Заявл. 23.04.97; Опубл. 27.01.00, Бюл. № 3. [Pustoshilova N.M., Kileva E.V., Denisova L.Ya., Shingareva N.V., Korobko V.G., Denisov L.A., Masycheva V.I., Sandakhchiev L.S., Kalinin Yu .T.; State Scientific Center of Virology and Bio-

technology «Vector». A method of producing a recombinant human tumor necrosis factor. Patent No. 2144958 of the Russian Federation, MCP C12N 15/28. № 97106895; Publ. 01.27.00. (in Russian)].

14. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. J Immunol Methods. 1983 Dec 16; 65(1–2): 55–63. doi: 10.1016/0022-1759(83)90303-4.

15. Zhao Y., Liu H., Xu L., Guo B., Kalvakolanu D.V., Liu X., Hu J., Zhang D., Sun Y., Zhang L., Xu D., Zhao X. Synergistic Suppression of Melanoma Growth by a Combination of Natural dsRNA and Panaxadiolsaponins. J Interferon Cytokine Res. 2018 Sep; 38(9): 378–387. doi: 10.1089/jir.2018.0037.

16. Chawla-Sarkar M., Lindner D.J., Liu Y.F., Williams B.R., Sen G.C., Silverman R.H., Borden E.C. Apoptosis and interferons: role of interferon-stimulated genes as mediators of apoptosis. Apoptosis. 2003 Jun; 8(3): 237–49. doi: 10.1023/a:1023668705040.

17. Coati L., Miotto S., Zanetti L., Alaiabac M. Toll-like receptors and cutaneous melanoma. Oncol Lett. 2016; 12(5): 3655–3661. doi: 10.3892/ol.2016.5166.

18. Peine K.J., Bachelder E.M., Vangundy Z., Papenfuss T., Brackman D.J., Gallovic M.D., Schully K., Pesce J., Keane-Myers A., Ainslie K.M. Efficient delivery of the toll-like receptor agonists polyinosinic:polycytidylic acid and CpG to macrophages by acetalated dextran microparticles. Mol Pharm. 2013 Aug 5; 10(8): 2849–57. doi: 10.1021/mp300643d.

Поступила/Received 02.07.2019

Принята в печать/Accepted 17.12.2019

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Вязовая Елена Алексеевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела биологических исследований ИМБТ ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора (г. Бердск, Россия). E-mail: viazovaia@mail.ru. SPIN-код: 3768-1883.

Лебедев Леонид Рудольфович, доктор медицинских наук, заведующий лабораторией нуклеиновых кислот и рекомбинантных белков ИМБТ ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора (г. Бердск, Россия). SPIN-код: 4637-3440.

Даниленко Елена Дмитриевна, кандидат биологических наук, директор ИМБТ ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора (г. Бердск, Россия). SPIN-код: 1388-4127. Researcher ID (WOS): A-7083-2014. ORCID: 0000-0001-5026-1602.

ВКЛАД АВТОРОВ

Вязовая Елена Алексеевна: разработка концепции научной работы, статистическая обработка, составление черновика рукописи.

Лебедев Леонид Рудольфович: анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Даниленко Елена Дмитриевна: анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Финансирование

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ в рамках Федеральной целевой программы «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности Российской Федерации на период до 2020 года и дальнейшую перспективу», Государственный контракт № 14.N08.12.0089 от 29.08.2016 г.

Конфликт интересов

Авторы объявляют, что у них нет конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Elena A. Vyazovaya, MD, PhD, Senior Researcher, Department of Biological Research, Institute of Medical Biotechnology, State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector», Rospotrebnadzor (Berdsk, Russia). E-mail: viazovaia@mail.ru.

Leonid R. Lebedev, MD, DSc, Head of the Laboratory of Nucleic Acids and Recombinant Proteins, Institute of Medical Biotechnology, State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector», Rospotrebnadzor (Berdsk, Russia).

Elena D. Danilenko, MD, PhD, Director of the Institute of Medical Biotechnology, State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector», Rospotrebnadzor (Berdsk, Russia). Researcher ID (WOS): A-7083-2014. ORCID: 0000-0001-5026-1602.

AUTHOR CONTRIBUTION

Elena A. Vyazovaya: concept design, statistical data analysis, drafting of the manuscript.

Leonid R. Lebedev: analysis of the study results, critical revision for the important intellectual content.

Elena D. Danilenko: analysis of the study results, critical revision for the important intellectual content.

Funding

The study was carried out with the financial support of the Ministry of Education and Science of the Russian Federation within the framework of the Federal target program «Development of pharmaceutical and medical industry of the Russian Federation for the period up to 2020 and beyond», State Contract No. 14.N08.12.0089 of August 29, 2016.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

DOI: 10.21294/1814-4861-2020-19-4-105-111
УДК: 616.45-006.6-02-089:616.24-006.6-033.2

Для цитирования: *Мурадян А.Г., Костин А.А., Толкачев А.О., Воробьев Н.В.* Хирургическое лечение солитарного метастатического поражения надпочечника при немелкоклеточном раке легкого. Сибирский онкологический журнал. 2020; 19(4): 105–111. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-4-105-111.

For citation: *Muradyan A.G., Kostin A.A., Tolkachev A.O., Vorobyev N.V.* Surgical treatment of solitary adrenal metastasis from non-small cell lung cancer. Siberian Journal of Oncology. 2020; 19(4): 105–111. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-4-105-111.

ХИРУРГИЧЕСКОЕ ЛЕЧЕНИЕ СОЛИТАРНОГО МЕТАСТАТИЧЕСКОГО ПОРАЖЕНИЯ НАДПОЧЕЧНИКА ПРИ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОМ РАКЕ ЛЕГКОГО

А.Г. Мурадян^{1,2}, А.А. Костин^{2,3}, А.О. Толкачев¹, Н.В. Воробьев^{1,4}

Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиал
ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, г. Москва, Россия¹

Россия, 125284, г. Москва, 2-й Боткинский проезд, 3. E-mail: mdmuradyan@gmail.com¹

ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», г. Москва, Россия²

Россия, 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6²

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России,
г. Москва, Россия³

Россия, 249036, г. Обнинск, ул. Королева, 4³

ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)»,
г. Москва, Россия⁴

Россия, 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, 8/2⁴

Аннотация

Введение. Надпочечники (НП) являются местом солитарного синхронного и метасинхронного метастатического поражения при немелкоклеточном раке легкого (НМРЛ). Наличие солитарного поражения дает преимущество в выживаемости пациентов, однако в настоящее время нет точных алгоритмов лечения таких пациентов. **Цель исследования** – оценка непосредственных и отдаленных результатов лечения пациентов с метастатическим поражением НП при НМРЛ. **Материал и методы.** Выполнялся ретроспективный анализ историй болезни и результатов лечения пациентов, которым проводилась адреналэктомия при НМРЛ. **Результаты.** С 1993 по 2014 г. в исследование включено 13 пациентов (11 мужчин и 2 женщины; медиана возраста – 58 лет), которым проводилась адреналэктомия, по поводу солитарного метастатического поражения НП: в 7 – аденокарциномы, в 4 – плоскоклеточного рака, в 2 наблюдениях – крупноклеточный рак; синхронное поражение – 5 (38,5%), метасинхронное поражение – 8 (61,5%) случаев. Лапароскопический доступ использовался в 10 (76,9 %), открытый доступ – в 3 (23,1 %) случаях. Средний диаметр опухоли надпочечника составил $74,6 \pm 13,3$ мм (25–170 мм). В раннем послеоперационном периоде наблюдалось 2 случая летального исхода. Медиана времени наблюдения после адреналэктомии составила 20 мес (от 3 до 267 мес), среднее время наблюдения – $51,5 \pm 23,5$ мес. Трехлетняя общая выживаемость в группе синхронного поражения составила $25,0 \pm 2,2$ %, в группе метасинхронного поражения – $57,1 \pm 1,9$ %, различия статистически не значимы ($p=0,63$; Log Rank). Объем хирургического вмешательства, морфологический тип опухоли, статус регионарных лимфатических узлов, сторона поражения НП не явились факторами, влияющими на выживаемость ($p>0,05$). **Выводы.** Нами не выявлено факторов, влияющих на выживаемость пациентов с солитарным метастатическим поражением НП при НМРЛ.

Ключевые слова: солитарные метастатические опухоли надпочечника, немелкоклеточный рак легкого.

SURGICAL TREATMENT OF SOLITARY ADRENAL METASTASIS FROM NON-SMALL CELL LUNG CANCER

A.G. Muradyan^{1,2}, A.A. Kostin^{2,3}, A.O. Tolkachev¹, N.V. Vorobyev^{1,4}

P.A. Gertsen Moscow Oncology Research Center – branch of the National Medical Research Radiological Center of the Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia¹

3, 2-nd Botkinsky proezd, 125284-Moscow, Russia. E-mail: mdmuradyan@gmail.com¹

Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia²

6, Miklukho-Maklaya Street, 117198-Moscow, Russia²

FSBI NMRRC of the Ministry of Health of the Russian Federation, Obninsk, Russia³

4, Koroleva Street, 249036-Obninsk, Russia³

First Moscow State Medical University, Moscow, Russia⁴

8-2, Trubetskaya Street, 119991-Moscow, Russia⁴

Abstract

Background. Adrenal glands are the site of solitary synchronous and metachronous metastases in non-small cell lung cancer (NSCLC). The presence of solitary adrenal metastasis from lung cancer provides survival benefit; however, currently, there are no exact treatment algorithms. **Objectives of the study:** to assess short- and long-term treatment outcomes in patients with adrenal metastases from NSCLC. **Material and Methods.** Treatment outcomes of patients undergoing adrenalectomy for NSCLC were analyzed. **Results.** From 1993 to 2014, 13 patients (11 males/2 females aged between 44 and 78, median age 58 years) with solitary adrenal metastases (adenocarcinoma (n=7), squamous cell carcinoma (n=4), large cell carcinoma (n=2); synchronous metastases – 5 cases (38.5%) and metachronous metastases – 8 cases (61.5 %), underwent adrenalectomy (one patient was given stereotactic radiation therapy for brain metastasis). Laparoscopic adrenalectomy was performed in 10 (76.9 %) cases, open adrenalectomy was performed in 3 (23.1 %) cases. The average adrenal tumor diameter was 74.6 ± 13.3 mm (25–170 mm). In the early postoperative period, two lethal outcomes were recorded. The median follow-up time after adrenalectomy was 20 months (3 to 267 months), the average follow-up time was 51.5 ± 23.5 months. The 3-year overall survival rates in patients with synchronous and metachronous metastases were 25.0 ± 2.2 % and 57.1 ± 1.9 %, respectively; however, the differences were not statistically significant ($p=0.63$; LogRank). The extent of surgery, morphological tumor type and status of regional lymph nodes produced no influence on the survival rate ($p>0.05$). **Conclusion.** No factors influencing survival in patients with solitary adrenal metastases from NSCLC were identified.

Key words: solitary adrenal metastases, non-small-cell lung carcinoma.

Введение

Рак легкого занимает первое место в структуре онкологической заболеваемости и смертности в мире, в 2018 г. зарегистрировано более 2 млн новых случаев [1, 2]. В Российской Федерации в 2018 г. рак легкого выявлен у 55 717 пациентов, при этом у 41 % на момент постановки диагноза была IV стадия заболевания, что сопоставимо с мировыми данными, согласно которым 40–50 % больных на момент диагностики немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ) имеют отдаленные метастазы [3, 4]. Однако у 7 % пациентов имеются солитарные или олигометастатические очаги, что и привело к выделению отдельной категории M1b как одиночного отдаленного метастатического очага в классификации TNM 8-го издания, так как данная группа пациентов имеет более благоприятный прогноз [4, 5]. Опираясь на теорию S. Hellman и R.R. Weichselbaum об олигометастазах (количество очагов, по различным данным, варьирует от 3 до 5) как о промежуточном состоянии между локализованными и диссеминированными опухолями, можно рассматривать

возможное преимущество методов локального воздействия (хирургическое лечение, лучевая терапия и аблативные технологии) при солитарном или олигометастатическом опухолевом процессе. Другим фактором, оправдывающим воздействие на солитарные метастатические очаги, является возможная профилактика вторичных метастазов, возникающих из уже существующих [4, 6, 7].

При выявлении синхронной (до 6 мес от момента постановки диагноза) или метакронной опухоли в надпочечнике (НП) необходима дифференциальная диагностика между метастатическим поражением, первичными злокачественными и доброкачественными опухолями НП, несмотря на общепризнанную вероятность вторичного поражения, равную 50 % [8]. В настоящее время для оценки распространенности опухоли при НМРЛ все чаще используется ПЭТ/КТ всего тела с ^{18}F -фтордезоксиглюкозой (^{18}F -ФДГ) и МРТ головного мозга с внутривенным контрастированием [4]. Обязательным в диагностике является исключение гормональной активности опухоли

НП, что особенно важно для проведения биопсии, при этом необходимо отметить уменьшение роли предоперационной морфологической верификации при вторичном поражении НП, так как ПЭТ/КТ с ^{18}F -ФДГ в последние годы используется как эффективный инструмент для выявления злокачественных опухолей НП с чувствительностью 74–100 % и специфичностью 66–100 % при дифференциальной диагностике доброкачественных и злокачественных новообразований у пациентов с известной первичной локализацией опухоли [9].

В рандомизированном исследовании, сравнивающем выживаемость пациентов с олигометастатическим поражением (не более 3 очагов) при применении методов локального воздействия и без них после первой линии лекарственной терапии, авторы пришли к выводу, что их использование является эффективным и увеличивает выживаемость без прогрессирования (ВБП) – 11,9 против 3,9 мес ($p=0,005$) [10]. При этом показания к применению локального воздействия окончательно не определены.

В качестве факторов, влияющих на эффективность хирургического лечения, выступают категория Т, поражение регионарных лимфатических узлов, местнораспространенные опухоли НП, наличие тромба в нижней полой вене [11]. Кроме того, указывают на высокие показатели выживаемости при ипсилатеральном поражении НП по сравнению с контралатеральным [12]. Однако до сих пор, учитывая малое количество пациентов с солитарным метастатическим поражением надпочечника, остается нерешенным вопрос о необходимости метастазэктомии.

Целью исследования явился анализ непосредственных и отдаленных результатов лечения пациентов с синхронными и метакронными метастатическими поражениями НП при НМРЛ.

Материал и методы

Нами проанализированы истории болезни пациентов отделения онкоурологии и торакальной хирургии МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России с клиническим диагнозом НМРЛ и солитарными метастатическими очагами, которым в период с 1993 по 2014 г. проводились хирургическое вмешательство на первичной опухоли и адреналэктомия. Одному пациенту дополнительно проводилась стереотаксическая лучевая терапия в связи с метастатическим поражением головного мозга. При прогрессировании заболевания после хирургического вмешательства пациентам назначалась лекарственная терапия. Стадирование проводилось согласно классификации TNM 7-го издания.

Синхронным метастатическим поражением считалось наличие вторичных очагов на момент

диагностики или их выявление в течение 6 мес после постановки диагноза. Данные о последующем наблюдении были собраны путем телефонной связи с пациентами или их семьями.

Согласно определению, период времени от момента выявления заболевания до момента смерти пациента считается общей выживаемостью. Под выживаемостью без прогрессирования понимается время от момента первичного лечения пациента до момента выявления рецидива или прогрессирования заболевания.

Статистический анализ проводился при помощи программы SPSS Statistics 23 (IBM, США). Для оценки достоверности различий в двух группах использовался критерий Стьюдента. Уровень достоверности был принят как достаточный при $p<0,05$. Анализ выживаемости в группах больных в определенный период времени осуществлялся с применением метода Каплана – Мейера.

Результаты

В исследование включены 13 пациентов (11 мужчин и 2 женщины) с НМРЛ и солитарным метастатическим поражением надпочечника, которым в период с 1993 по 2014 г. проводилась адреналэктомия. Медиана возраста – 58 лет (44–78 лет). Морфологическая структура опухолей в 7 (53,8 %) случаях была представлена аденокарциномой, в 5 (30,8 %) – плоскоклеточным раком, в 2 (15,4 %) наблюдениях – крупноклеточным раком. У 12 (92,3 %) пациентов метастатическая болезнь проявлялась в виде солитарного метастатического поражения надпочечника, у 1 пациента наблюдалось сочетание вторичного поражения надпочечника и головного мозга (два очага). Синхронное поражение было выявлено в 5 (38,5 %), метакронное – в 8 (61,5 %) случаях. Поражение левого легкого встречалось чаще, чем правого, с соотношением 2,25:1 (9 и 4 случая). Локализация первичной опухоли в верхней доле наблюдалась в 9 (69 %) случаях. Ипсилатеральная сторона поражения надпочечника относительно локализации опухоли в легком была выявлена у 7 (53,8 %) пациентов, контралатеральное поражение – у 4 (30,8 %), билатеральное поражение – у 2 (15,4 %) больных. Средний диаметр опухоли надпочечника – $74,6 \pm 13,3$ мм (25–170 мм). Распределение больных по категориям Т и N, согласно классификации TNM, 7-е издание, представлено в табл. 1.

Объем хирургического вмешательства на легком в 6 (46,2 %) случаях был представлен лобэктомией, в 5 (38,5 %) – пневмонэктомией, в 2 (15,4 %) – резекцией одной доли. Адреналэктомия выполнялась лапароскопическим доступом в 10 (76,9 %) наблюдениях (конверсия в 1 (7,7 %) случае), в 3 (23,1 %) – открытым доступом. В 5 случаях поражение надпочечника выявлено синхронно, при этом двум больным хирургическое вмешательство проводилось симультанно, в 2 случаях – после

Таблица 1/Table 1

Распределение пациентов по категориям Т и N
Distribution of patients by T and N categories

Параметр/ Parameter	N0	N1	N2	N3	Всего/ Total
T1	1	1	—	—	2
T2	3	—	2	—	5
T3	2	1	—	—	3
T4	2	—	1	—	3
Всего/Total	8	2	3	0	13

Таблица 2/Table 2

Категориальные переменные и их достоверность
Categorical variables and their significance (p-value)

Категориальные переменные/ Categorical variables	Достоверность (p)/ Significance (p-value)
Пол/Gender	0,157
Время метастазирования: синхронное или метакхронное/ Time to metastasis: synchronous and metachronous metastases	0,63
Объем хирургического вмешательства: пневмонэктомия или меньший объем вмешательства/ Extent of surgery: pneumonectomy or lesser extent of surgery	0,156
Морфологический типа опухоли: аденокарцинома или другие типы опухоли/ Histological type of tumor: adenocarcinoma or other types of tumor	0,865
N-категория: N0 или N1–2/N-category: N0 or N1–2	0,407
Сторона поражения: ипсилатеральная или контралатеральная или билатеральная/ Side of involvement: ipsilateral or contralateral or bilateral	0,413

вмешательства на первичном очаге, в одном – до проведения резекции легкого.

Одному пациенту с метастазом в головном мозге проводилась стереотаксическая лучевая терапия. Неoadъювантная терапия назначалась 1 больному в объеме 2 курсов с последующим хирургическим вмешательством, 2 пациента получали лекарственную терапию в адъювантном режиме.

В раннем послеоперационном периоде умерло 2 (15,4 %) пациента в связи с развитием панкреонекроза и разлитого фибринозно-гнойного перитонита. Данные пациенты не входили в анализ при расчете общей выживаемости и выживаемости без прогрессирования.

Медиана времени наблюдения после адrenaлэктомии за всеми пациентами составила 20 мес (от 3 до 267 мес), среднее время наблюдения – $51,5 \pm 23,5$ мес. В группе синхронного поражения медиана составила – 16,0 мес (6,0–44,0), среднее время наблюдения – $20,5 \pm 8,3$ мес; в группе метакхронного поражения – 37,0 мес (3,0–267,0) со средним временем наблюдения – $69,3 \pm 35,8$ мес. На момент анализа 5 (38,5 %) пациентов живы без признаков прогрессирования заболевания (4 пациента из группы метакхронного, 1 пациент из группы синхронного поражения). У 6 (46,1 %) больных наступила смерть от прогрессирования заболевания, 2 (15,4 %) пациента умерли в раннем послеоперационном периоде. Трехлетняя общая

выживаемость (ОВ) в группе синхронного поражения составила $25,0 \pm 2,2$ %, в группе метакхронного поражения – $57,1 \pm 1,9$ % (рис. 1), однако различия статистически не значимы ($p=0,63$; Log Rank). Медиана выживаемости без прогрессирования составила 11,0 мес (от 1 до 267), среднее время наблюдения – $51,1 \pm 24,3$ мес. В группе синхронного поражения медиана – 8,5 мес (3,0–44,0), среднее время наблюдения – $16,0 \pm 9,5$ мес; в группе метакхронного поражения – 37,0 мес (1,0–267,0) со средним временем наблюдения – $71,1 \pm 36,6$ мес. При однофакторном анализе значимых факторов, влияющих на выживаемость, нами не выявлено (табл. 2).

Обсуждение

В настоящее время возрастает интерес к проблеме лечения пациентов с солитарными и олигометастатическими очагами при НМРЛ, что связано с улучшением диагностики при первичном обращении и последующем динамическом наблюдении после лечения. В крупном метаанализе, проведенном под руководством S. Li et al., включавшем 1935 пациентов с олигометастатическим НМРЛ, при однофакторном анализе выявлены такие факторы благоприятного прогноза, как женский пол (ОР 1,21, 95 % ДИ: 1,02–1,45, $p=0,03$), (y)pN0-категория (ОР 1,82, 95 % ДИ: 1,40–2,36, $p<0,00001$), аденокарцинома (ОР 1,44, 95 % ДИ:

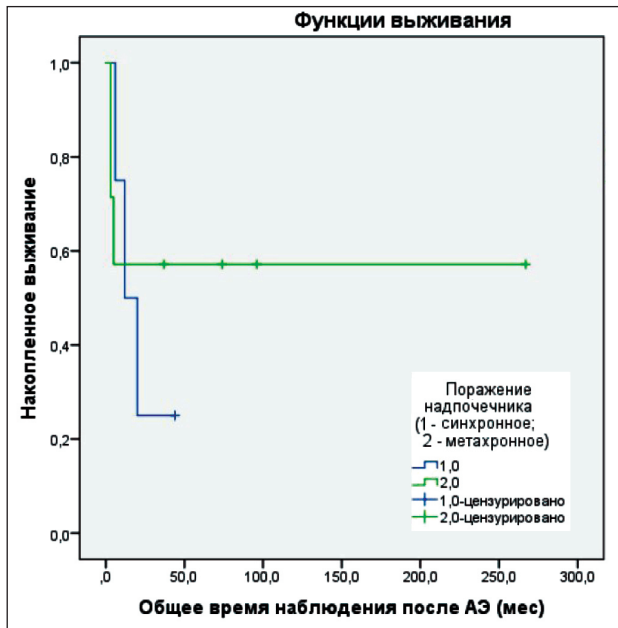


Рис. 1. Кривые общей выживаемости в группах синхронного и метасинхронного метастатического поражения надпочечника при НМРЛ

Fig. 1. Curves of overall survival in patients with synchronous and metachronous adrenal metastases from NSCLC

1,10–1,88, $p=0,008$). Однако при многофакторном анализе статистически значимая разница в общей выживаемости выявлена лишь в подгруппах N0 и N1 (ОР 1,63, 95 % ДИ: 1,27–2,10, $p=0,001$), но не при N2 [13]. В метаанализе, включавшем 757 пациентов с медианой общей выживаемости 26 мес, где хирургическое вмешательство было основным методом локального воздействия на очаги (от 1 до 5), авторы выделили такие факторы благоприятного прогноза, как метасинхронное поражение ($p<0,001$), N0-категория ($p=0,002$) и морфологический тип, представленный аденокарциномой ($p=0,036$). В исследовании удалось выделить три группы риска: пациенты с метасинхронными очагами, относящиеся к благоприятному прогнозу с 5-летней ОВ, – 47,8 %, промежуточный прогноз – пациенты с синхронными метастазами и отсутствием поражения регионарных лимфатических узлов (5-летняя ОВ – 36,2 %), группа неблагоприятного прогноза – синхронное метастатическое поражение, в том числе и регионарных лимфатических узлов (N1, N2) – 5-летняя ОВ составила 13,8 % [4, 14]. В нашем исследовании не выявлено взаимосвязи между различными факторами (пол, синхронное или метасинхронное поражение НП, объем операции, морфологический типа опухоли, категория N, сторона поражения НП в зависимости от локализации первичной опухоли), что, возможно, связано с малой выборкой пациентов.

Опираясь на то, что прогрессирование опухолевого процесса у пациентов с олигометастатическим НМРЛ (≤ 3 очагов) происходит за счет уже известных на момент первичной диагностики очагов, в 2012 г. начато проспективное рандомизированное исследование ($n=49$), оценивающее время без прогрессирования у пациентов после первой линии лекарственной терапии (дуплет на основе платины, эрлотиниб или кризотиниб – в случае наличия активирующей мутации EGFR или транслокации гена ALK), в группе локального воздействия (хирургическое лечение и/или лучевая терапия), с/без поддерживающей терапии (пеметрексед и бевацизумаб (для неплоскоклеточного НМРЛ), эрлотиниб, кризотиниб (для пациентов с перестройкой ALK)), в группе только наблюдения с/без поддерживающей терапии [10]. Среднее время наблюдения составило 12,39 мес (5,52–20,30), суммарная четырехлетняя выживаемость пациентов в группе локального воздействия составила 12,6 %, в группе наблюдения – 2,0 %. К аналогичным выводам пришли О.В. Пикин и соавт. при анализе результатов лечения 139 больных НМРЛ с резектабельными отдаленными метастазами, в том числе 11 (8,0 %) пациентов с метастазами в надпочечнике. Авторы отметили преимущество лишь в группе хирургического лечения метастазов в головной мозг (5-летняя выживаемость – 25,6 %). При оценке результатов лечения в группе вторичного поражения надпочечника медиана общей выживаемости составила 10 мес [15].

В случае выявления солитарного синхронного или метасинхронного метастатического поражения надпочечника при категории N0/N1, отсутствии других очагов по данным ПЭТ/КТ всего тела и КТ/МРТ головного мозга, согласно рекомендациям Американской коллегии торакальных врачей (American College of Clinical Pharmacy – ACCP), возможно проведение адреналэктомии с последующей адъювантной лекарственной терапией. При этом рекомендуется проводить инвазивную оценку состояния регионарных лимфатических узлов при помощи эндобронхиального ультразвукового исследования (EBUS) или медиастиноскопии, так как категория N2 связана с худшим прогнозом заболевания [4].

Заключение

Несмотря на то, что в нашем исследовании не выявлено факторов, влияющих на прогноз заболевания, необходимо дальнейшее изучение эффективности локальных методов воздействия, особенно в эпоху применения иммунотерапии и ингибиторов тирозинкиназы в лечении немелкоклеточного рака легкого.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Ferlay J., Colombet M., Soerjomataram I., Mathers C., Parkin D.M., Piñeros M., Znaor A., Bray F. Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018: GLOBOCAN sources and methods. *Int J Cancer*. 2019 Apr 15; 144(8): 1941–1953. doi: 10.1002/ijc.31937.
2. *Cancer Today*. Estimated number of new cases in 2018, worldwide, both sexes, all ages [Internet]. URL: https://geo.iarc.fr/today/online-analysis-table?v=2018&mode=cancer&mode_population=continents&population=900&populations=900&key=asr&sex=0&cancer=39&type=0&statistic=5&prevalence=0&population_group=0&ages_group%5B%5D=0&ages_group%5B%5D=17&nb_items=5&group_cancer=1&include_nmssc=1&include_nmssc_other=1 (cited 10.11.2019).
3. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Состояние онкологической помощи населению России в 2018 году. М., 2019. 250 с. [Kaprin A.D., Starinsky V.V., Petrova G.V. The status of cancer care for the population of Russia in 2018. Moscow, 2019. 250 p. (in Russian)].
4. Fernandez R.A.S., Lau R.W.H., Ho J.Y.K., Yu P.S.Y., Chow S.C.Y., Wan I.Y.P., Ng C.S.H. Evidence for surgical resections in oligometastatic lung cancer. *J Thorac Dis*. 2019 Apr; 11(Suppl 7): S969-S975. doi: 10.21037/jtd.2019.04.09.
5. Lim W., Ridge C.A., Nicholson A.G., Mirsadraee S. The 8th lung cancer TNM classification and clinical staging system: review of the changes and clinical implications. *Quant Imaging Med Surg*. 2018 Aug; 8(7): 709–718. doi: 10.21037/qims.2018.08.02.
6. Смоленов Е.И., Рагулин Ю.А., Пикин О.В. Классификация легочных метастазов: возможности применения в клинической практике. *Сибирский онкологический журнал*. 2018; 17(2): 34–40. [Smolenov E.I., Ragulin Yu.A., Pikin O.V. Classification of pulmonary metastases: potential application in clinical practice. *Siberian Journal of Oncology*. 2018; 17(2): 34–40. (in Russian)]. doi: 10.21294/1814-4861-2018-17-2-34-40
7. Klein C.A. Parallel progression of primary tumours and metastases. *Nat Rev Cancer*. 2009 Apr; 9(4): 302–12. doi: 10.1038/nrc2627.
8. Mansmann G., Lau J., Balk E., Rothberg M., Miyachi Y., Bornstein S.R. The clinically inapparent adrenal mass: update in diagnosis and management. *Endocr Rev*. 2004 Apr; 25(2): 309–40. doi: 10.1210/er.2002-0031.
9. Stone W.Z., Wymer D.C., Canales B.K. Fluorodeoxyglucose-positron-emission tomography/computed tomography imaging for adrenal masses in patients with lung cancer: review and diagnostic algorithm. *J Endourol*. 2014 Jan; 28(1): 104–11. doi: 10.1089/end.2013.0380.
10. Gomez D.R., Blumenschein G.R.Jr., Lee J.J., Hernandez M., Ye R., Camidge D.R., Doebele R.C., Skoulidis F., Gaspar L.E., Gibbons D.L., Karam J.A., Kavanagh B.D., Tang C., Komaki R., Louie A.V., Palma D.A., Tsao A.S., Sepesi B., William W.N., Zhang J., Shi Q., Wang X.S., Swisher S.G., Heymach J.V. Local consolidative therapy versus maintenance therapy or observation for patients with oligometastatic non-small-cell lung cancer without progression after first-line systemic therapy: a multicentre, randomised, controlled, phase 2 study. *Lancet Oncol*. 2016 Dec; 17(12): 1672–1682. doi: 10.1016/S1470-2045(16)30532-0.
11. Thomsen B., Fairchild A. Adrenal oligometastases secondary to non-small cell lung cancer—What is the optimal treatment approach? *Oncol Hematol Rev*. 2017; 13(2): 117–29. doi: 10.17925/OHR.2017.13.02.117.
12. Raz D.J., Lanuti M., Gaissert H.C., Wright C.D., Mathisen D.J., Wain J.C. Outcomes of patients with isolated adrenal metastasis from non-small cell lung carcinoma. *Ann Thorac Surg*. 2011; 92(5): 1788–92. doi: 10.1016/j.athoracsur.2011.05.116.
13. Li S., Zhu R., Li D., Li N., Zhu X. Prognostic factors of oligometastatic non-small cell lung cancer: a meta-analysis. *J Thorac Dis*. 2018 Jun; 10(6): 3701–3713. doi: 10.21037/jtd.2018.05.105.
14. Ashworth A.B., Senan S., Palma D.A., Riquet M., Ahn Y.C., Ricardi U., Congedo M.T., Gomez D.R., Wright G.M., Melloni G., Milano M.T., Sole C.V., De Pas T.M., Carter D.L., Warner A.J., Rodrigues G.B. An individual patient data metaanalysis of outcomes and prognostic factors after treatment of oligometastatic non-small-cell lung cancer. *Clin Lung Cancer*. 2014 Sep; 15(5): 346–55. doi: 10.1016/j.clcc.2014.04.003.
15. Пикин О.В., Картовецкий А.С., Болотина Л.В., Тепляков В.В., Королева Л.А., Зайцев А.М., Колбанов К.И., Глушко В.А., Вурсол Д.А. Хирургическое лечение больных немелкоклеточным раком легкого с резектабельными отдаленными метастазами. *Онкология. Журнал им. П.А. Герцена*. 2013; 6(1): 48–50. [Pikin O.V., Kartoveshchenko A.S., Bolotina L.V., Teplakov V.V., Koroleva L.A., Zaitsev A.M., Kolbanov K.I., Glushko V.A., Vursol D.A. Treatment for Stage IV non-small cell lung cancer metastatic to the brain and humerus. *P.A. Herzen Journal of Oncology*. 2013; 6(1): 48–50. (in Russian)].

Поступила/Received 29.11.2019
Принята в печать/Accepted 15.01.2020

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Мурадян Аветик Гагикович, клинический аспирант кафедры урологии и оперативной нефрологии с курсом онкоурологии, Медицинский институт, ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», врач-онколог поликлиники МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 9456-2422. AuthorID (РИНЦ): 731843. ORCID: 0000-0002-6601-6289.

Костин Андрей Александрович, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, первый заместитель генерального директора ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России (г. Москва, Россия). ORCID: 0000-0002-0792-6012.

Толкачев Александр Олегович, младший научный сотрудник отделения онкоурологии, МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России (г. Москва, Россия).

Воробьев Николай Владимирович, кандидат медицинских наук, доцент, руководитель отделения онкоурологии, МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России (г. Москва, Россия).

ВКЛАД АВТОРОВ

Мурадян Аветик Гагикович: дизайн исследования, обзор публикаций по теме, анализ полученных данных, написание текста рукописи.

Костин Андрей Александрович: дизайн исследования, обзор публикаций по теме.

Толкачев Александр Олегович: обзор публикаций по теме, анализ полученных данных.

Воробьев Николай Владимирович: обзор публикаций по теме.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы объявляют, что у них нет конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Avetik G. Muradyan, MD, Postgraduate, Department of Urology and Nephrology With a Course of Urological Oncology, Peoples' Friendship University of Russia, Moscow; Oncologist, P.A. Gertsen Moscow Oncology Research Center (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0002-6601-6289.

Andrey A. Kostin, MD, Professor, Deputy Director, National Medical Research Radiological Center (Obninsk, Russia). ORCID: 0000-0002-0792-6012.

Alexandr O. Tolkachev, MD, Researcher, Department of Urological Oncology, P.A. Gertsen Moscow Oncology Research Center (Moscow, Russia).

Nikolai V. Vorobjev, MD, PhD, Head of Department of Urological Oncology, P.A. Gertsen Moscow Oncology Research Center – branch of the National Medical Research Radiological Center of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia).

ATHOR CONTRIBUTION

Avetik G. Muradyan: study design, literature review, data analysis, writing of the manuscript.

Andrey A. Kostin: study design, literature review.

Alexandr O. Tolkachev: literature review, data analysis.

Nikolai V. Vorobjev: literature review.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

DOI: 10.21294/1814-4861-2020-19-4-112-122
УДК: 616.24-006.6-07

Для цитирования: Родионов Е.О., Тузиков С.А., Миллер С.В., Кульбакин Д.Е., Чернов В.И. Методы ранней диагностики рака легкого (обзор литературы). Сибирский онкологический журнал. 2020; 19(4): 112–122. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-4-112-122.

For citation: Rodionov E.O., Tuzikov S.A., Miller S.V., Kulbakin D.E., Chernov V.I. Methods for early detection of lung cancer (review). Siberian Journal of Oncology. 2020; 19(4): 112–122. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-4-112-122.

МЕТОДЫ РАННЕЙ ДИАГНОСТИКИ РАКА ЛЕГКОГО (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Е.О. Родионов^{1,2}, С.А. Тузиков^{1,2}, С.В. Миллер¹, Д.Е. Кульбакин¹,
В.И. Чернов^{1,3}

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

Россия, 634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5. E-mail: rodionov_eo@oncology.tomsk.ru¹

ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Томск, Россия²

Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2²

Национальный исследовательский Томский политехнический университет, г. Томск, Россия³

Россия, 634050, г. Томск, пр. Ленина, 30³

Аннотация

Цель исследования – обобщение мирового опыта скрининга рака легкого с использованием современных методов диагностики. **Материал и методы.** Поиск литературы производился в системах Medline, Cochrane Library, Elibrary и PubMed, включались публикации, характеризующие современные возможности лабораторных, инструментальных и молекулярно-генетических методов ранней диагностики рака легкого, 58 из которых были использованы для написания данного обзора. **Результаты.** В обзоре освещены результаты международных рандомизированных исследований скрининга рака легкого с использованием цитологического анализа мокроты и низкодозной компьютерной томографии. Особое внимание уделено описанию современных молекулярно-генетических биомаркеров рака легкого, таких как эпигенетические маркеры, микроРНК, использование технологии протеомики, метаболомики, исследование микробиома, биомаркеров из жидкостной биопсии. Проведен анализ мировой литературы, подтверждающий перспективность методов неинвазивной диагностики опухолевых процессов, основанных на анализе выдыхаемого воздуха. **Заключение.** Использование современных методов скрининга позволит добиться значительного улучшения эффективности ранней диагностики и, как следствие, лечения рака. Начало лечения на ранних стадиях позволяет существенно увеличить шансы пациента на выздоровление и быстрее социальную и трудовую адаптацию. В качестве неинвазивного метода диагностики рака может выступать электронный нос – совокупность газовых датчиков и определенного метода обработки информации. Электронный нос на основе относительно дешевых газовых сенсоров обладает соизмеримой точностью, легкостью сбора данных, мобильностью и другими преимуществами по сравнению с вышеуказанными устройствами.

Ключевые слова: рак легкого, скрининг, низкодозная компьютерная томография, летучие органические соединения, анализ выдыхаемого воздуха, электронный нос.

METHODS FOR EARLY DETECTION OF LUNG CANCER (REVIEW)

E.O. Rodionov^{1,2}, S.A. Tuzikov^{1,2}, S.V. Miller¹, D.E. Kulbakin¹, V.I. Chernov^{1,3}

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

5, Kooperativny Street, 634050-Tomsk, Russia. E-mail: rodionov_eo@oncology.tomsk.ru¹

Siberian State Medical University, Tomsk, Russia²

2, Moskovsky Trakt, 634050-Tomsk, Russia²

National Research Tomsk Polytechnic University, Tomsk, Russia³

30, Lenin Ave, 634050-Tomsk, Russia³

Abstract

Objective: to generalize the world experience of lung cancer screening using modern diagnostic methods. **Material and Methods.** Literature search was performed in Medline, Cochrane Library, Elibrary, PubMed systems, including publications describing the current capabilities of laboratory, instrumental and molecular genetic methods for early diagnosis of lung cancer, 58 of which were used to write this review. **Results.** The review highlighted the results of international randomized trials of lung cancer screening using sputum Cytology and low-dose computed tomography. Special attention was paid to the description of modern molecular and genetic biomarkers of lung cancer, such as epigenetic markers, microRNAs, the use of proteomics technology, metabolomics, microbiome research, and biomarkers from liquid biopsy. The analysis of the world literature confirming the prospects of methods of non-invasive diagnostics of tumor processes based on the analysis of exhaled air was carried out. **Conclusion.** The use of modern screening methods will significantly improve the effectiveness of early diagnosis and, as a result, cancer treatment. Starting treatment at an early stage can significantly increase the patient's chances of recovery and faster social and labor adaptation. As a non-invasive method of cancer diagnosis, an electronic nose can act as a set of gas sensors and a certain method of information processing. An electronic nose based on relatively cheap gas sensors has comparable accuracy, ease of data collection, mobility, and other advantages compared to the above mentioned devices.

Key words: lung cancer, screening, low-dose computed tomography, volatile organic compounds, exhaled air analysis, electronic nose.

Введение

Рак легкого (РЛ) является ведущей причиной заболеваемости и смертности от рака во всем мире на протяжении нескольких десятилетий. В 2018 г. было зарегистрировано более 2 млн новых случаев и 1,7 млн смертей, что составляет 14 % от общего числа новых случаев и 20 % смертей от злокачественных новообразований [1]. Прогноз рака легкого остается плохим: даже в условиях высоких ресурсов здравоохранения пятилетняя выживаемость находится в пределах от 32,9 % в Японии до 13,3 % в Великобритании в 2010–14 гг. [2]. Российская Федерация не входит в десятку стран лидеров по выживаемости, летальность при РЛ составляет в среднем 60 %.

Разработка методов раннего и своевременного выявления опухолей имеет высокую практическую значимость для успешной терапии больных раком легкого. Начало лечения на ранних стадиях позволяет существенно увеличить шансы пациента на выздоровление и быстрее социальную и трудовую адаптацию. При этом пятилетняя выживаемость после лечения I стадии составляет 70 %, а IV стадии – менее 5 % [3, 4].

Более глубокое понимание клеточных и субклеточных изменений, приводящих к развитию рака легкого, в сочетании с достижениями в области

биологических и компьютерных технологий привело к значительному расширению методов скрининга. Скрининг является важным процессом в медицине, используемым для выявления заболевания в определенной популяции с целью улучшения результатов лечения. Основные методы скрининга рака легкого представлены в таблице.

Рентгенография грудной клетки и цитологическое исследование мокроты

В США были проведены рандомизированные исследования при поддержке Национального института онкологии с использованием рентгенологического исследования органов грудной клетки с цитологическим исследованием мокроты в качестве скрининга. Исследования Мемориального онкологического центра им. Слоуна-Кеттеринга, университета Джона Хопкинса и проект Lung клиники Мауо показали возможность выявления раннего рака с помощью этих методов, хотя и не показали снижения смертности от рака легкого [5–7]. Кроме того, эти исследования были относительно маленькими и включали только мужчин-курильщиков без контрольной группы.

В более крупном исследовании Prostate, Lung, Colorectal and Ovarian (PLCO) Cancer Screening Trial использовали рентгенографию грудной

Методы скрининга рака легкого Methods of lung cancer screening

Лучевые/ X-ray	Рентгенография органов грудной клетки/Chest X-ray	
	Низкодозная компьютерная томография/Low-dose computed tomography	
Нелучевые/ Non-X-ray	Инвазивные/ Invasive	Бронхоскопия/Bronchoscopy
	Неинвазивные/ Non-invasive	Цитологическое исследование мокроты/Cytological examination of sputum
		Исследование молекулярных биомаркеров/Molecular biomarkers Изучение состава выдыхаемого воздуха/Exhaled breath analysis

клетки у мужчин и женщин в возрасте от 55 до 74 лет, включая как курильщиков, так и некурящих, ежегодно в течение 3 лет (против контрольной группы без скрининга). В результате среди 150 000 человек было выявлено 126 случаев рака легкого, 44 % из них – на ранних стадиях. Тем не менее результаты этого исследования были согласованы с отсутствием снижения смертности от рака легкого с помощью рентгеновского скрининга грудной клетки [8].

Низкодозная компьютерная томография (НДКТ)

С внедрением в медицинскую практику компьютерной томографии в 1990-х гг. в нескольких исследованиях убедительно доказано превосходство НДКТ по отношению к рентгенографии грудной клетки, позволяющее обнаруживать больше новообразований и ранних стадий рака легкого. Однако особенности организации исследований и отсутствие контрольной группы не позволили проверить влияние скрининга на смертность от рака легкого [9]. Национальный институт онкологии США провел в период с 2002 по 2011 г. исследование National Lung Screening Trial (NLST). Это было единственное исследование, в котором сообщалось об относительном снижении смертности на 20 % при использовании НДКТ по сравнению с рентгенографией органов грудной клетки среди субъектов высокого риска. В обеих группах скрининговый тест считался положительным, если был виден некальцинированный легочный узел размером не менее 4 мм или если имелись другие подозрительные признаки рака, такие как лимфаденопатия или плевральный выпот. НДКТ показал более высокую частоту положительных результатов, чем рентгенография грудной клетки, с преобладанием аденокарциномы IA стадии [10].

Результаты крупного голландского исследования NELSON, второго после NLST, показали, что НДКТ снижает риск смерти от рака легкого у мужчин на 26 % и у женщин на 39 % в популяции с высоким риском. При этом 69 % обнаруженных опухолей были IA и IB стадий, у 10–12 % обнаружили метастатический процесс. За 10 лет наблюдения отношение рисков смерти между группами

скрининга и контроля составило 0,74 ($p=0,003$) у мужчин, у женщин – 0,61 ($p=0,0543$) [11].

Экономическая эффективность и относительный вред НДКТ в качестве скрининга

Проведенный в 2013 г. Кокрановский систематический обзор подтвердил, что НДКТ для скрининга связана со снижением смертности от РЛ у курильщиков в группе высокого риска. Однако в литературе отсутствуют выводы о его экономической эффективности и относительном вреде [12]. Расчеты показали, что НДКТ обеспечивает высокие и широко варьируемые коэффициенты добавочной эффективности затрат в размере 52 000 долларов США за год жизни и 81 000 долларов США за каждый полученный QALY (quality-adjusted life-year – количество лет жизни с поправкой на ее качество) [13]. НДКТ имеет низкую специфичность с высокими ложноположительными показателями, приводящими к ненужной тревоге и затратам, связанным с последующим наблюдением и лечением рака легкого [10]. Следует отметить, что отсутствие хирургического вмешательства у пациентов с образованием в легком размером менее 6 мм способствует стрессу [14]. Помимо высокой частоты ложноположительных результатов, избыточная диагностика и доза облучения, связанные с исследованием, представляют собой и другие потенциальные вредные последствия скрининга. Согласно оценкам, у курильщиков в возрасте от 50 до 75 лет ежегодный скрининг может привести к увеличению риска развития РЛ у мужчин на 1,5 % и на 5 % у женщин из-за воздействия облучения [15].

Бронхоскопия

В результате скрининга рака легкого с помощью рентгенографии грудной клетки и низкодозной компьютерной томографии увеличилась доля инвазивных процедур. Бронхоскопическое исследование, основной диагностический инструмент для пациентов с подозрением на рак легкого, привело к стратегии использования нескольких одновременных исследований (например, brush-биопсия, бронхоальвеолярный лаваж и эндобронхиальная ультразвуковая биопсия) для повышения вероятности получения диагноза. Несмотря на это,

диагностическая точность бронхоскопических исследований является субоптимальной, с чувствительностью в пределах 34–88 % [16] в зависимости от размера первичной опухоли и количества исследований, выполняемых во время одной процедуры бронхоскопии.

Биомаркеры и рак легкого

Биомаркер – это объективно измеряемая характеристика, которая оценивается как индикатор биологических и патогенных процессов или фармакологических реакций на терапевтическое вмешательство [17]. Достижения в области молекулярной биологии и биоинформатики привели к выявлению ряда потенциальных биомаркеров, которые могут быть использованы в качестве диагностики пациентов с раком легкого. На сегодняшний день все клинически одобренные биомаркеры для диагностики рака легкого являются либо белками, либо пептидами, которые не обладают достаточной чувствительностью, специфичностью и воспроизводимостью даже для диагностики на поздней стадии [18].

Эпигенетические маркеры

В настоящее время наиболее изученным эпигенетическим событием в геноме млекопитающих является метилирование ДНК, представляющее собой химическую ковалентную модификацию цитозина.

T. Huang et al. провели метаанализ, направленный на создание списка дифференцированно метилированных генов между различными гистотипами НМРЛ. В результате из 151 исследования по 108 генам было показано наличие двух гипометилированных генов (CDKN2A и MGMT) и трех гиперметилированных генов (CDH13, RUNX3, APC) в аденокарциномах по сравнению с плоскоклеточными карциномами с более высокой чувствительностью и специфичностью для генов CDH13 и APC [19].

F. Liu et al. изучалась комбинация последовательностей целевых промоторов для диагностики НМРЛ с помощью метилирования ПЦР с анализом кривой плавления высокого разрешения. Были отобраны 54 пары опухолей и окружающих тканей для определения статуса метилирования промоторов возможных генов, ассоциированных с НМРЛ (PCDHGB6, HOXA9, MGMT, miR-126, SOCS3, NORE1A). Комбинация PCDHGB6, HOXA9, MGMT и miR-126 показала чувствительность 85,2 % и специфичность 81,5 %, что указывает на возможность ранней диагностики путем мониторинга метилирования промотора с использованием эффективной комбинации родственных генов [20].

В Европе в настоящее время разработаны и внедрены в практику коммерческие наборы для ранней диагностики злокачественных новообразований. Epi proLung® BL (Epigenomics AG, Германия) – инновационный тест на рак легкого, основанный на количественном определении ме-

тилированных генов ДНК SHOX2 с помощью ПЦР в режиме реального времени. Данная тест-система может быть полезна для повышения точности диагностики (чувствительность – 69 %, специфичность – 98 %) [21].

МикроРНК

МикроРНК – малые некодирующие молекулы РНК длиной 18–25 нуклеотидов (в среднем 22), принимающие участие в транскрипционной и посттранскрипционной регуляции экспрессии генов путём РНК-интерференции. МикроРНК присутствуют в клеточной среде и жидкостях организма и экспрессируются тканеспецифическим образом. Более высокая чувствительность и устойчивость к деградации РНКазой может способствовать их использованию в качестве перспективных биомаркеров рака легкого. В ряде исследований показано, что микроРНК нарушают регуляцию роста, рецидива и метастазирования карцином [22]. Было сообщено, что все большее число микроРНК дисрегулируют на ранней стадии рака, иногда до появления каких-либо клинических симптомов и рентгенологических находок [23].

В одну из первых панелей микроРНК были включены miR-21, miR-143, miR-155, miR-210, miR-372, которые определялись в мокроте больных немелкоклеточным раком легкого, показывая диагностическую чувствительность – 85,7 % и специфичность – 100 % [24]. В последующих исследованиях также была показана роль различных микроРНК в качестве ранней диагностики РЛ. В одном из недавних исследований авторы построили логистическую регрессионную модель на основе miR-7, miR-126 и miR145, показавшую чувствительность и специфичность, равные 90 % [25].

Протеомика

Протеомика – исследование белковых молекул, их аминокислотной последовательности, пространственной структуры, посттрансляционных модификаций. Для оценки протеомного статуса рака легкого проведено несколько работ на образцах мокроты и биопсийного материала [18]. В недавних исследованиях осуществлен протеомный анализ с LC-MS (метод жидкостной хроматографии и тандемной масс-спектрометрии), валидация с PMR-MS (масс-спектрометрия параллельного контроля реакции) и иммуногистохимия в микрочипе опухоли для сравнения образцов аденокарциномы и доброкачественных новообразований. При этом 7 белков (ALOX5, ALOX5AP, ITGAX, SLC2A3, CEACAM6, CRABP2, LAD1) были определены в качестве возможных ключевых дискриминантных биомаркеров [26]. В 2017 г. Y. Nan et al. выделили 10 белков, специфичных для плоскоклеточной метаплазии и атипичной аденоматозной гиперплазии. Выявлено, что избыточная экспрессия двух тирозин-протеинкиназ FAK (focal adhesion kinase) и C-src потенциально обнаруживается при ранней диагностике рака легкого [27].

Метабомика

Метабомика – технология, которая включает в себя набор аналитических и биоинформационных методов для количественного определения и идентификации низкомолекулярных метаболитов (метаболома), присутствующих в клетке, ткани или организме. Для анализа метаболитов при РЛ, как правило, используются два основных метода: масс-спектрометрия и ядерно-магнитный резонанс. T. Li et al. разработали метод метаболомики *in situ*, основанный на масс-спектрометрии с использованием десорбционной электроспрейной ионизации с помощью воздушного потока. Было показано, что холин и карнитин являются эндогенными метаболитами, дифференцированно экспрессируемыми между опухолевой и здоровой легочной тканью [28]. P. Moreno et al. также провели исследования метаболитических различий между неопластической и нормальной тканью. Некоторые биохимические пути и метаболиты, такие как нуклеотиды, показали значительные изменения с высокими прогностическими значениями, касающимися не только различий между опухолью и нормальной тканью, но и внутренних изменений в подтипах рака легкого [29].

Микробиом

Микробиом – сообщество микроорганизмов, населяющих конкретную среду обитания, или совокупность генов микроорганизмов такого сообщества. Достижения в области секвенирования генома и метагеномного анализа позволили исследователям изучить микробиом и его связь с окружающей средой человека. Установлено, что микробиом участвует в канцерогенезе, взаимодействуя с метаболитами, воспалительными или иммунными путями. Многочисленные данные подтверждают роль микробиома в развитии рака легкого, предполагая его возможное использование в качестве биомаркера в тканевых или цитологических образцах для раннего выявления РЛ [18]. G. Yu et al. в 2016 г. охарактеризовали таксономические профили микробиома легких в образцах неизменной легочной ткани и в опухоли больных раком легкого [30]. Исследователями было установлено, что при аденокарциноме наблюдалось обилие *Thermus* и снижение уровня *Ralstonia* в отличие от плоскоклеточного рака, а уровень *Legionella* был высок в метастатических случаях. S.J.S. Cameron et al. провели метагеномное секвенирование микробиома мокроты и выявили более высокие уровни *Streptococcus viridans* и еще 16 видов бактерий в образцах рака легкого [31].

Потенциальные биомаркеры из жидкостной биопсии

Жидкостная биопсия является новым потенциальным неинвазивным инструментом для выявления диагностических биомаркеров у пациентов с ранней стадией рака легкого или у пациентов с высоким риском. Ряд исследований показали, что обнаружение циркулирующих опухолевых клеток

[32 с соавт. 34], циркулирующих микроРНК [35, 36], экзосом [37], циркулирующей свободной ДНК [38], тромбоцитов и/или белков в плазме [39] может быть полезным в выявлении ранней стадии рака легкого. Во-первых, они могут иметь дополнительную ценность в диагностике рака легкого, особенно когда один или несколько новообразований неопределенной злокачественности выявляются на компьютерной томографии органов грудной клетки. Следовательно, данное исследование может помочь в решении вопроса об инвазивной диагностике с целью верификации. Кроме того, жидкостная биопсия может помочь в прогнозировании возникновения рака легкого у лиц высокого риска, таких как заядлые курильщики, пациенты с хронической обструктивной болезнью легких, возраст старше 55 лет.

Таким образом, в последние годы были предприняты значительные усилия по выявлению различных биомаркеров для ранней диагностики НМРЛ. Однако некоторые подводные камни, касающиеся дизайна и общей валидации биомаркеров, безусловно, задерживают их трансляцию в клинические условия, поэтому для правильного подбора биомаркеров необходимы более глубокие знания и стандартизация новых технологий на больших сериях случаев.

Летучие органические соединения и рак легкого

В последние несколько десятилетий значительные усилия были сосредоточены на поиске биомаркеров ранней диагностики рака легкого на основе анализа летучих органических соединений (ЛОС) из выдыхаемого воздуха пациентов. Наиболее часто используемые методы анализа ЛОС включают масс-спектрометрию и сенсорные технологии. Исследования, основанные на масс-спектрометрии, обычно дают список молекул, которые могут быть использованы в качестве биомаркеров, в то время как исследования с использованием сенсорных матриц дают только образец без идентификации отдельных соединений. Обнаружение рака легкого с помощью различных сенсорных технологий дало значимые и многообещающие результаты [40].

Первое исследование ЛОС в выдыхаемом воздухе у больных раком легкого было проведено S.M. Gordon et al. в 1985 г. с помощью газовой хроматографии с масс-спектрометрией (GC-MS) [41]. С тех пор интерес к клинко-диагностическому потенциалу анализа дыхания в диагностике рака легкого возрос, о чем свидетельствует быстро растущее число публикаций за последние 30 лет. В большинстве исследований применялся подход случай-контроль. Профиль ЛОС в выдыхаемом воздухе был сопоставлен между пациентами с раком легкого и здоровыми лицами. Идентифицированное ЛОС считалось биомаркером, если его концентрация статистически отличалась между этими двумя группами. Почти все исследования

использовали GC-MS в качестве аналитической платформы, за исключением двух, которые использовали масс-спектрометрию с реакцией переноса протонов (PTR-MS) [42] и масс-спектрометрию подвижности ионов (IMS) [43]. Наиболее часто встречаемые биомаркеры включали пропанол, изопрен, ацетон, пентан, гексанал, толуол, бензол и этилбензол. В 2003 г. было установлено, что основными биомаркерами рака легкого в выдыхаемом воздухе были производные алканов. При этом относительное обилие большинства ЛОС уменьшалось у больных раком легкого по сравнению со здоровыми людьми; это различие авторы объясняют повышенным катаболизмом продуктов перекисного окисления липидов из-за активированных генотипов CYP450 при раке легкого [44]. В то же время С. Wang et al. и А. Peralbo-Molina et al. провели исследования, в которых не было обнаружено связи алканов с раком легкого [45, 46]. Ни в одном из этих исследований происхождение обнаруженных ЛОС не оценивалось.

В литературе не существует последовательного и валидированного списка биомаркеров ЛОС для рака легкого [47]. Причины этих несоответствий многообразны. Существует большая вариативность в различных исследованиях с точки зрения процедур отбора проб дыхания, дизайна исследования (выбор контрольной группы, выбор пациентов и т. д.) и протоколов анализа данных.

В выдыхаемом воздухе человека обнаружено более 1000 ЛОС, и большинство из них имеют экзогенное происхождение [48]. Влияние окружающей среды ЛОС на анализ дыхания впервые было изучено М. Phillips et al., которые ввели термин «альвеолярный градиент» [44]. Альвеолярный градиент определяется как концентрация ЛОС в выдыхаемом воздухе минус концентрация в воздухе помещения. Положительный альвеолярный градиент означает, что больше ЛОС было на выдохе, чем на вдохе, и наоборот. ЛОС с положительным альвеолярным градиентом в основном вырабатываются в организме, но могут возникать при приеме пищи [49], лекарственных препаратов [50], а также из-за жизнедеятельности бактерий в желудочно-кишечном тракте, дыхательных путях или полости рта [51]. Скорость и степень выведения ЛОС из организма зависят от концентрации, продолжительности воздействия [52], растворимости в крови и липидных тканях [53] и особенностей физиологии.

Коэффициент распределения ЛОС в легких, крови и тканях зависит от их физико-химических свойств и сильно варьирует [54]. J.K. Schubert et al. измеряли концентрации пентана, ацетона, изопрена и изофлурана в вдыхаемом, выдыхаемом воздухе и крови: когда вдыхаемая концентрация ЛОС была менее 5 % от выдыхаемой, скорость элиминации ЛОС из крови коррелировала со скоростью выдоха [55]. Показано, что установили, что существуют тесные линейные зависимости между выдыхаемы-

ми и вдыхаемыми концентрациями пентана, изопрена, ацетона, аммиака, метанола, формальдегида и дейтерированной воды, поэтому они частично удерживаются организмом. Исследователи также ввели полезный параметр, называемый коэффициентом удержания, который представляет собой отношение увеличения концентрации на выдохе к увеличению концентрации на вдохе. Коэффициенты удерживания, измеренные для этих семи ЛОС, варьируют от 0,06 для формальдегида до 0,76 для пентана [56].

С учетом этих первоначальных исследований стало очевидно, что не существует общего правила, которое можно было бы применять ко всем ЛОС при учете воздействия ЛОС окружающей среды. Решением проблемы, помимо применения концепции альвеолярного градиента, является использование инспираторного фильтра и нахождение пациентов в проветриваемом помещении в течение заданного времени до сбора образцов выдыхаемого воздуха. По данным литературы, инспираторный фильтр является лучшим решением. Однако время, необходимое для удаления ЛОС из организма, зависит от состава соединения. Поэтому требуется гораздо больше усилий, чтобы понять происхождение и динамику различных ЛОС выдыхаемого воздуха [40].

Важное значение в оценке ЛОС имеет фаза выдоха, которую можно разделить на три фазы в зависимости от давления CO_2 в дыхании. Фаза 1 и фаза 2 – это воздух из мертвого пространства в полости рта и верхних дыхательных путях. Фаза 3 – альвеолярный воздух из нижних дыхательных путей. С целью диагностики РЛ желательна оценка ЛОС в альвеолярной фазе, так как они являются результатом газообмена крови в альвеолах и, таким образом, более точно отражают метаболическое состояние. Концентрации некоторых ЛОС различаются во всем выдыхаемом воздухе по сравнению с воздухом в конце выдоха. Было показано, что концентрации угольной кислоты, диметилового эфира и метилформиата были значительно выше в воздухе в конце выдоха, в то время как уровни метилхлорида и 3-этилпентана были ниже, чем во всем выдыхаемом воздухе [57].

Воздух в конце выдоха собирался либо путем отбрасывания начальной порции дыхания [58], либо путем заполнения воздуха из мертвого пространства в отдельные мешки [59]. В исследовании S. Kischkel et al. забирался воздух альвеолярной фазы дыхания, основываясь на быстродействующем CO_2 -датчике [60], т.к. уровень CO_2 является надежным индикатором альвеолярной фазы, при этом датчики углекислого газа легко доступны. T. Birken et al. интегрировали установку капнографии в процедуру сбора выдыхаемого воздуха, чтобы визуально контролировать фазу дыхания и вручную втягивать альвеолярный воздух с помощью шприца [61]. Позже эта же группа разработала автоматическое устройство для отбора проб

с контролем CO_2 и продемонстрировала, что производительность автоматического пробоотборника сопоставима с ручным отбором проб.

Скорость выдоха и гипервентиляция влияют на уровни различных ЛОС. Получены противоречивые результаты о влиянии скорости потока на концентрацию ЛОС в общем выдыхаемом воздухе. При более высокой скорости потока наблюдались более низкие уровни ацетона и фенолов [57]. Однако, по данным A. Vikov et al., уровень ацетона не зависел от скорости выдоха [62], а в исследовании P.R. Boshier et al. сообщалось о более высоких уровнях ацетона при более высокой скорости потока [63]. Сообщения об уровне изопрена при различных скоростях выдоха также противоречивы [40].

Результаты исследований по оценке влияния задержки дыхания на концентрацию ЛОС в выдыхаемом воздухе в целом согласуются. Установлено, что уровни пентана и изопрена значительно увеличивались после 20 сек дыхания [64], а концентрации ацетона, метанола и диметилсульфида значительно увеличились после 30 сек задержки дыхания [63]. Одновременное увеличение различных ЛОС при задержке дыхания может быть объяснено длительным временем их диффузии из альвеол в дыхательные пути.

Гипервентиляция оказывает отрицательное влияние на уровни метанола, диметилсульфида, ацетальдегида и этанола [63], а также изопрена [65]. С другой стороны, гипервентиляция не оказывала заметного влияния на уровень ацетона [65]. Это объясняется тем, что ацетон имеет гораздо более низкую растворимость в крови, чем остальные ЛОС, и, следовательно, может быстро выделяться из крови.

Диаметр мундштука, используемого во время отбора проб, влияет на сопротивление дыхательных путей и на уровни некоторых ЛОС. Меньший диаметр мундштука вызывает увеличение уровня изопрена на 19 %, а также сероводорода фурана [66]. В результате для дальнейших исследований был рекомендован мундштук диаметром более 1 см.

Температура и влажность окружающего воздуха имеют решающее значение для многоцентровых клинических исследований, когда сбор проводится в разных регионах мира со значительно отличающимися климатическими условиями. В. Thekedar et al. оценивали изменения концентраций выдыхаемых ЛОС, отобранных после 5-минутного пребывания при температуре 3 °C и относительной влажности 47 %, и 27 °C с относительной влажностью 19 % с использованием PTR-MS. Ацетонитрил, этанол, метанол и пропанол показали более высокие концентрации в образцах, собранных в теплом воздухе. ЛОС с продуктом реакции переноса ионов протонов m/z 85, 86, 99 и 169 показали более высокие концентрации в образцах, собранных на холодном воздухе. Тот факт, что исследования биомаркеров РЛ проводились при

совершенно разных температурных и влажностных условиях, является еще одной существенной причиной противоречивых результатов [67].

Влияние диеты на содержание в выдыхаемом воздухе ЛОС также является сложным. Некоторые виды пищи, такие как йогурт и морепродукты, содержат ряд ЛОС, которые быстро обнаруживаются после приема внутрь. Пища также влияет на метаболизм, воспаление или окислительно-восстановительный статус, а также путем взаимодействия с кишечной флорой. Некоторые исследования требовали, чтобы испытуемые голодали в течение 12 ч или в течение ночи перед сбором проб дыхания [68], в то время как другие исследования не имели ограничений. Вопрос о том, помогает ли ночное голодание устранить эти эффекты, нуждается в дальнейшем изучении. С другой стороны, диетический стиль может иметь длительный эффект, который не может быть устранен голоданием.

Курение является одним из ключевых факторов риска развития рака легкого, в то же время сигаретный дым содержит много ЛОС. Курильщики имеют более высокие уровни бензола и ацетонитрила в выдыхаемом воздухе, но уровень бензола у курильщика быстро снижается до аналогичного уровня у некурящего в течение часа, уровень ацетонитрила снижается в течение недели [69]. Курение может влиять на другие метаболические пути, которые не связаны непосредственно с ЛОС от сигарет. Курение сигарет, как известно, увеличивает окислительный стресс. Уровни изопрена, пентана, 2,5-диметилфурана и 1,3-бутадиена увеличиваются после курения [70]. Стоит отметить, что ЛОС, связанные с курением, необходимо четко отличать от эндогенных соединений, которые связаны с различными заболеваниями.

Проведенные исследования позволили подтвердить факт курения в анамнезе набранных испытуемых, но использовали совершенно разные стратегии анализа данных. В некоторых исследованиях не обсуждалось возможное влияние курения на их результаты, хотя опытная и контрольная группы имели очень неравномерную историю курения [71]. М. Cogradi et al. заключили, что значение «пачка-лет» имеет достаточную диагностическую ценность [72]. Сочетание этого значения с маркерами ЛОС может помочь в разработке более надежной панели биомаркеров для обнаружения РЛ.

В настоящее время существует два способа минимизировать влияние курения. Один из них — тщательно спланировать исследование, чтобы опытная и контрольные группы соответствовали по истории курения. В двух исследованиях, в которых истории курения пациентов в группах были тесно сопоставимы, не было обнаружено влияния табачного дыма на диагностическую способность идентифицированной панели биомаркеров [44]. Другая стратегия заключается в исключении ЛОС,

связанных с курением, из биомаркеров для выявления рака легкого.

Анализ выдыхаемого воздуха для скрининга рака легкого является быстро развивающейся областью. Разработка стандартизированных и гибких протоколов отбора проб дыхания, многоцентровые клинические исследования и глубокое понимание биохимических путей, участвующих в развитии и прогрессировании рака легкого, позволят ускорить темпы разработки надежной панели маркеров ранней диагностики РЛ. В 2017 г. Европейское респираторное общество опубликовало технический стандарт на выдыхаемые биомаркеры при заболеваниях легкого [73] и выделило несколько ключевых областей для будущих исследований. Это важные первые шаги на пути к стандартизированным протоколам анализа дыхания. Для очень сложных и гетерогенных заболеваний, таких как рак легкого, внедрение стандартизированной практики особенно важно при разработке биомаркеров, имеющих клиническую ценность.

Эти открытия, в конечном счете, будут способствовать развитию анализа выдыхаемого воздуха как метода раннего выявления рака легкого, позволяющего этому методу реализовать свой потенциал и стать важнейшим инструментом в персонализированной медицине.

Заключение

Ранняя диагностика может привести к более качественному и своевременному лечению, меньшей потере функциональности, значительному продлению жизни раковых больных, снизить уровень смертности. Традиционные средства диагностики рака не поддерживают скрининга широкого спектра населения по таким причинам, как недостаточная доступность оборудования; отсутствие соответствующих компетенций у персонала, осуществляющего диагностику; нежелание

населения тратить большое количество времени и денег на скрининг.

Развитие и широкое внедрение современных молекулярно-генетических экспресс-тестов позволит добиться значительного улучшения эффективности ранней диагностики и, как следствие, лечения рака. Перспективность методов неинвазивной диагностики опухолевых процессов, основанных на анализе выдыхаемого воздуха, подтверждается анализом мировой литературы. Газовая хроматография и масс-спектрометрия образцов дыхания являются наиболее эффективными методами в диагностике рака легкого, но обладают рядом недостатков: требуется высококвалифицированный персонал и относительно большое количество времени на интерпретацию анализа, оборудование не обладает достаточной мобильностью при высокой стоимости. По этим же причинам не подходит система газоанализаторов, основанная на флуорометрических датчиках, которые тоже успешно применяются для диагностики онкологических заболеваний на основе выдыхаемого воздуха [74].

В качестве неинвазивного метода диагностики рака может выступать «электронный нос» – совокупность газовых датчиков и определенного метода обработки информации [75]. Данный метод не обладает недостатками вышеперечисленных: не-обходимое оборудование относительно недорогое; обладает высокой мобильностью (из-за небольших размеров); не требует высококвалифицированного персонала, поскольку вероятность определяется автоматически нейронной сетью; является быстрым, поскольку нейронная сеть обрабатывает информацию с высокой скоростью. «Электронный нос» на основе относительно дешевых газовых сенсоров обладает соизмеримой точностью, легкостью сбора данных, мобильностью и другими преимуществами по сравнению с вышеуказанными устройствами.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. *Globocan 2018* [Internet]. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. Internet: <http://globocan.iarc.fr> (cited 13.03.2020).
2. Allemani C., Matsuda T., Di Carlo V., Harewood R., Matz M., Nikšić M., Bonaventure A., Valkov M., Johnson C.J., Estève J., Ogundimu O.J., Azevedo E., Silva G., Chen W.Q., Eser S., Engholm G., Stiller C.A., Monnereau A., Woods R.R., Visser O., Lim G.H., Aitken J., Weir H.K., Coleman M.P.; CONCORD Working Group. Global surveillance of trends in cancer survival 2000–14 (CONCORD-3): analysis of individual records for 37 513 025 patients diagnosed with one of 18 cancers from 322 population-based registries in 71 countries. *Lancet*. 2018; 391(10125): 1023–75. doi: 10.1016/S0140-6736(17)33326-3.
3. Gervas P., Ivanova A., Vasiliev N., Ananina O., Cheremisina O., Popova N., Goldberg V., Choyntzonov E., Cherdynseva N., Zharkova O., Rogovieva O., Verzhbitskaya N., Diduchuk I., Cherdynsev E. Frequency of EGFR mutations in non-small cell lung cancer patients: screening data from West Siberia. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2015; 16(2): 689–692. doi: 10.7314/APJCP.2015.16.2.689
4. Юмов Е.Л., Миллер С.В., Литвяков Н.В., Полищук Т.В., Тузиков С.А., Черемисина О.В., Гольдберг В.Е., Родионов Е.О. Химиотерапия в комбинированном лечении местнораспространенного немелкоклеточного рака легкого. *Сибирский онкологический журнал*. 2014; 2: 9–13. [Yumov E.L., Miller S.V., Litvyakov N.V., Polischuk T.V., Tuzikov S.A., Cheremisina O.V., Goldberg V.E., Rodionov E.O. Chemotherapy in combined modality treatment for locally advanced non-small cell lung cancer. *Siberian Journal of Oncology*. 2014; 2: 9–13. (in Russian)].
5. Doria-Rose V.P., Marcus P.M., Szabo E., Tockman M.S., Melamed M.R., Prorok P.C. Randomized controlled trials of the efficacy of lung cancer screening by sputum cytology revisited: a combined mortality analysis from the Johns Hopkins Lung Project and the Memorial Sloan-Kettering Lung Study. *Cancer*. 2009; 115(21): 5007–5017. doi: 10.1002/cncr.24545.
6. Fontana R.S., Sanderson D.R., Woolner L.B., Taylor W.F., Miller W.E., Muhm J.R. Lung cancer screening: the Mayo program. *J Occup Med*. 1986; 28(8): 746–750.
7. Melamed M.R., Flehinger B.J., Zaman M.B., Heelan R.T., Perchick W.A., Martini N. Screening for early lung cancer. Results of the Memorial Sloan-Kettering study in New York. *Chest*. 1984; 86: 44–53.
8. Oken M.M., Marcus P.M., Hu P., Beck T.M., Hocking W., Kvale P.A., Cordes J., Riley T.L., Winslow S.D., Peace S., Levin D.L., Prorok P.C., Gohagan J.K. Baseline chest radiograph for lung cancer detection in the randomized Prostate, Lung, Colorectal and Ovarian Cancer Screening Trial. *J Natl Cancer Inst*. 2005; 97(24): 1832–1839. doi: 10.1093/jnci/dji430.
9. Gouvêas C., De Mello R.A., Oliveira D. Lung cancer: a brief review of epidemiology and screening. *Future Oncol*. 2018 Mar; 14(6): 567–575. doi: 10.2217/fon-2017-0486
10. National Lung Screening Trial Research Team, Aberle D.R., Adams A.M., Berg C.D., Black W.C., Clapp J.D., Fagerstrom R.M., Gareen I.F., Gatsonis C., Marcus P.M., Sicks J.D. Reduced lung-cancer mortality with low-dose computed tomographic screening. *N Engl J Med*. 2011 Aug 4; 365(5): 395–409. doi: 10.1056/NEJMoa1102873.
11. De Koning H., Van Der Aalst C., Ten Haaf K., Oudkerk M. PL02.05 Effects of volume ct lung cancer screening: mortality results of

the nelson randomised-controlled population based trial. *J Thorac Oncol*. 2018; 13(10): S185.

12. Manser R., Lethaby A., Irving L.B., Stone C., Byrnes G., Abramson M.J., Campbell D. Screening for lung cancer. *Cochrane Database Syst Rev*. 2013 Jun 21; 2013(6): CD001991. doi: 10.1002/14651858.CD001991.pub3.

13. Black W.C., Gareen I.F., Soneji S.S., Sicks J.D., Keeler E.B., Aberle D.R., Naeim A., Church T.R., Silvestri G.A., Gorelick J., Gatsonis C.; National Lung Screening Trial Research Team. Cost-effectiveness of CT screening in the National Lung Screening Trial. *N Engl J Med*. 2014 Nov 6; 371(19): 1793–802. doi: 10.1056/NEJMoa1312547.

14. International Early Lung Cancer Action Program Investigators, Henschke C.I., Yankelevitz D.F., Libby D.M., Pasmantier M.W., Smith J.P., Miettinen O.S. Survival of patients with stage I lung cancer detected on CT screening. *N Engl J Med*. 2006 Oct 26; 355(17): 1763–71. doi: 10.1056/NEJMoa060476.

15. Brenner D.J. Radiation risks potentially associated with low-dose CT screening of adult smokers for lung cancer. *Radiology*. 2004 May; 231(2): 440–5. doi: 10.1148/radiol.2312030880.

16. Wang Memoli J.S., Nietert P.J., Silvestri G.A. Meta-analysis of guided bronchoscopy for the evaluation of the pulmonary nodule. *Chest*. 2012 Aug; 142(2): 385–393. doi: 10.1378/chest.11-1764.

17. Biomarkers Definitions Working Group. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther*. 2001 Mar; 69(3): 89–95. doi: 10.1067/mcp.2001.113989.

18. Calabrese F., Lunardi F., Pezzuto F., Fortarezza F., Vuljan S.E., Marquette C., Hofman P. Are There New Biomarkers in Tissue and Liquid Biopsies for the Early Detection of Non-Small Cell Lung Cancer? *J Clin Med*. 2019 Mar 26; 8(3): 414. doi: 10.3390/jcm8030414.

19. Huang T., Li J., Zhang C., Hong Q., Jiang D., Ye M., Duan S. Distinguishing Lung Adenocarcinoma from Lung Squamous Cell Carcinoma by Two Hypomethylated and Three Hypermethylated Genes: A Meta-Analysis. *PLoS One*. 2016 Feb 10; 11(2): e0149088. doi: 10.1371/journal.pone.0149088.

20. Liu F., Zhang H., Lu S., Wu Z., Zhou L., Cheng Z., Bai Y., Zhao J., Zhang Q., Mao H. Quantitative assessment of gene promoter methylation in non-small cell lung cancer using methylation-sensitive high-resolution melting. *Oncol Lett*. 2018 May; 15(5): 7639–7648. doi: 10.3892/ol.2018.8321.

21. Ilse P., Biesterfeld S., Pomjanski N., Wrobel C., Schramm M. Analysis of SHOX2 methylation as an aid to cytology in lung cancer diagnosis. *Cancer Genomics Proteomics*. 2014 Sep-Oct; 11(5): 251–8.

22. Inamura K., Ishikawa Y. MicroRNA In Lung Cancer: Novel Biomarkers and Potential Tools for Treatment. *J Clin Med*. 2016; 5(3): 36. doi: 10.3390/jcm5030036.

23. Lu A., Zhang L. Tumor-Dependent and -Independent Serum/Plasma Biomarkers for Early Diagnosis of Lung Cancer. *Transl Med*. 2016; 6(1): 160. doi: 10.4172/2161-1025.1000160.

24. Kim J.O., Gazala S., Razzak R., Guo L., Ghosh S., Roa W.H., Bédard E.L. Non-small cell lung cancer detection using microRNA expression profiling of bronchoalveolar lavage fluid and sputum. *Anticancer Res*. 2015 Apr; 35(4): 1873–80.

25. Bagheri A., Khorshid H.R.K., Tavallaie M., Mowla S.J., Sherafatian M., Rashidi M., Zargari M., Boroujeni M.E., Hosseini S.M. A panel of noncoding RNAs in non-small-cell lung cancer. *J Cell Biochem*. 2018 Nov 28; doi: 10.1002/jcb.28111.

26. Codreanu S.G., Hoeksema M.D., Slebos R.J.C., Zimmerman L.J., Rahman S.M.J., Li M., Chen S.C., Chen H., Eisenberg R., Liebler D.C., Massion P.P. Identification of Proteomic Features To Distinguish Benign Pulmonary Nodules from Lung Adenocarcinoma. *J Proteome Res*. 2017 Sep 1; 16(9): 3266–3276. doi: 10.1021/acs.jproteome.7b00245.

27. Nan Y., Du J., Ma L., Jiang H., Jin F., Yang S. Early Candidate Biomarkers of Non-Small Cell Lung Cancer Are Screened and Identified in Premalignant Lung Lesions. *Technol Cancer Res Treat*. 2017 Feb; 16(1): 66–74. doi: 10.1177/1533034615627391.

28. Li T., He J., Mao X., Bi Y., Luo Z., Guo C., Tang F., Xu X., Wang X., Wang M., Chen J., Abliz Z. In situ biomarker discovery and label-free molecular histopathological diagnosis of lung cancer by ambient mass spectrometry imaging. *Sci Rep*. 2015 Sep 25; 5: 14089. doi: 10.1038/srep14089.

29. Moreno P., Jiménez-Jiménez C., Garrido-Rodríguez M., Calderón-Santiago M., Molina S., Lara-Chica M., Priego-Capote F., Salvatierra A., Muñoz E., Calzado M.A. Metabolomic profiling of human lung tumor tissues nucleotide metabolism as a candidate for therapeutic interventions and biomarkers. *Mol Oncol*. 2018 Oct; 12(10): 1778–1796. doi: 10.1002/1878-0261.12369.

30. Yu G., Gail M.H., Consonni D., Carugno M., Humphrys M., Pesatori A.C., Caporaso N.E., Goedert J.J., Ravel J., Landi M.T. Characterizing human lung tissue microbiota and its relationship to epidemiological and clinical features. *Genome Biol*. 2016 Jul 28; 17(1): 163. doi: 10.1186/s13059-016-1021-1.

31. Cameron S.J.S., Lewis K.E., Huws S.A., Hegarty M.J., Lewis P.D., Pachebat J.A., Mur L.A.J. A pilot study using metagenomic sequencing of the sputum microbiome suggests potential bacterial biomarkers for lung cancer. *PLoS One*. 2017 May 25; 12(5): e0177062. doi: 10.1371/journal.pone.0177062.

32. Hofman V., Ilie M.I., Long E., Selva E., Bonnetaud C., Molina T., Vénissac N., Mouroux J., Vielh P., Hofman P. Detection of circulating tumor cells as a prognostic factor in patients undergoing radical surgery for non-small-cell lung carcinoma: comparison of the efficacy of the CellSearch Assay™ and the isolation by size of epithelial tumor cell method. *Int J Cancer*. 2011 Oct 1; 129(7): 1651–60. doi: 10.1002/ijc.25819.

33. Xue Y., Cong W., Xie S., Shu J., Feng G., Gao H. Folate-receptor-positive circulating tumor cells as an efficacious biomarker for the diagnosis of small pulmonary nodules. *J Cancer Res Ther*. 2018; 14(7): 1620–1626. doi: 10.4103/jcrt.JCRT_905_17.

34. Ilie M., Hofman V., Long-Mira E., Selva E., Vignaud J.M., Padovani B., Mouroux J., Marquette C.H., Hofman P. «Sentinel» circulating tumor cells allow early diagnosis of lung cancer in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *PLoS One*. 2014 Oct 31; 9(10): e111597. doi: 10.1371/journal.pone.0111597.

35. Shen J., Liu Z., Todd N.W., Zhang H., Liao J., Yu L., Guarnera M.A., Li R., Cai L., Zhan M., Jiang F. Diagnosis of lung cancer in individuals with solitary pulmonary nodules by plasma microRNA biomarkers. *BMC Cancer*. 2011 Aug 24; 11: 374. doi: 10.1186/1471-2407-11-374.

36. Yu H., Guan Z., Cuk K., Brenner H., Zhang Y. Circulating microRNA biomarkers for lung cancer detection in Western populations. *Cancer Med*. 2018 Oct; 7(10): 4849–4862. doi: 10.1002/cam4.1782.

37. Jin X., Chen Y., Chen H., Fei S., Chen D., Cai X., Liu L., Lin B., Su H., Zhao L., Su M., Pan H., Shen L., Xie D., Xie C. Evaluation of Tumor-Derived Exosomal miRNA as Potential Diagnostic Biomarkers for Early-Stage Non-Small Cell Lung Cancer Using Next-Generation Sequencing. *Clin Cancer Res*. 2017 Sep 1; 23(17): 5311–5319. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-17-0577.

38. Hulbert A., Jusue-Torres I., Stark A., Chen C., Rodgers K., Lee B., Griffin C., Yang A., Huang P., Wrangle J., Belinsky S.A., Wang T.H., Yang S.C., Baylin S.B., Brock M.V., Herman J.G. Early Detection of Lung Cancer Using DNA Promoter Hypermethylation in Plasma and Sputum. *Clin Cancer Res*. 2017 Apr 15; 23(8): 1998–2005. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-16-1371.

39. Vykoukal J., Sun N., Aguilar-Bonavides C., Katayama H., Tanaka I., Fahrman J.F., Capello M., Fujimoto J., Aguilar M., Wistuba I.I., Taguchi A., Ostrin E.J., Hanash S.M. Plasma-derived extracellular vesicle proteins as a source of biomarkers for lung adenocarcinoma. *Oncotarget*. 2017 Sep 8; 8(56): 95466–95480. doi: 10.18632/oncotarget.20748.

40. Jia Z., Patra A., Kutty V.K., Venkatesan T. Critical Review of Volatile Organic Compound Analysis in Breath and In Vitro Cell Culture for Detection of Lung Cancer. *Metabolites*. 2019 Mar 18; 9(3): 52. doi: 10.3390/metabo9030052.

41. Gordon S.M., Szidon J.P., Krotoszyński B.K., Gibbons R.D., O'Neill H.J. Volatile organic compounds in exhaled air from patients with lung cancer. *Clin Chem*. 1985 Aug; 31(8): 1278–82.

42. Feinberg T., Alkoby-Meshulam L., Herbig J., Cancilla J.C., Torrecilla J.S., Gai Mor N., Bar J., Ilouze M., Haick H., Peled N. Cancerous glucose metabolism in lung cancer-evidence from exhaled breath analysis. *J Breath Res*. 2016 Jun 7; 10(2): 026012. doi: 10.1088/1752-7155/10/2/026012.

43. Handa H., Usuba A., Maddala S., Baumbach J.I., Mineshita M., Miyazawa T. Exhaled breath analysis for lung cancer detection using ion mobility spectrometry. *PLoS One*. 2014 Dec 9; 9(12): e114555. doi: 10.1371/journal.pone.0114555.

44. Phillips M., Cataneo R.N., Cummin A.R., Gagliardi A.J., Gleeson K., Greenberg J., Maxfield R.A., Rom W.N. Detection of lung cancer with volatile markers in the breath. *Chest*. 2003; 123(6): 2115–23. doi: 10.1378/chest.123.6.2115.

45. Wang C., Dong R., Wang X., Lian A., Chi C., Ke C., Guo L., Liu S., Zhao W., Xu G., Li E. Exhaled volatile organic compounds as lung cancer biomarkers during one-lung ventilation. *Sci Rep*. 2014 Dec 8; 4: 7312. doi: 10.1038/srep07312.

46. Peralbo-Molina A., Calderón-Santiago M., Priego-Capote F., Jurado-Gómez B., Luque de Castro M.D. Identification of metabolomics panels for potential lung cancer screening by analysis of exhaled breath condensate. *J Breath Res*. 2016 Mar 23; 10(2): 026002. doi: 10.1088/1752-7155/10/2/026002.

47. Hakim M., Broza Y.Y., Barash O., Peled N., Phillips M., Amann A., Haick H. Volatile organic compounds of lung cancer and possible biochemical pathways. *Chem Rev*. 2012 Nov 14; 112(11): 5949–66. doi: 10.1021/cr300174a.

48. de Lacy Costello B., Amann A., Al-Kateb H., Flynn C., Filipiak W., Khalid T., Osborne D., Ratcliffe N.M. A review of the volatiles from the healthy human body. *J Breath Res*. 2014 Mar; 8(1): 014001. doi: 10.1088/1752-7155/8/1/014001.

49. Ajibola O.A., Smith D., Spaněl P., Ferns G.A. Effects of dietary nutrients on volatile breath metabolites. *J Nutr Sci.* 2013 Oct 31; 2: e34. doi: 10.1017/jns.2013.26.
50. Trefz P., Kamyssek S., Fuchs P., Sukul P., Schubert J.K., Miekisch W. Drug detection in breath: non-invasive assessment of illicit or pharmaceutical drugs. *J Breath Res.* 2017 Mar 20; 11(2): 024001. doi: 10.1088/1752-7163/aa61bf.
51. Schulz S., Dickschat J.S. Bacterial volatiles: the smell of small organisms. *Nat Prod Rep.* 2007 Aug; 24(4): 814–42. doi: 10.1039/b507392h.
52. Beauchamp J. Inhaled today, not gone tomorrow: pharmacokinetics and environmental exposure of volatiles in exhaled breath. *J Breath Res.* 2011; 5(3): 037103. doi: 10.1088/1752-7155/5/3/037103.
53. Haick H., Broza Y.Y., Mochalski P., Ruzsanyi V., Amann A. Assessment, origin, and implementation of breath volatile cancer markers. *Chem Soc Rev.* 2014 Mar 7; 43(5): 1423–49. doi: 10.1039/c3cs60329f.
54. Buist H.E., Wit-Bos L.D., Bouwman T., Vaes W.H. Predicting blood: air partition coefficients using basic physicochemical properties. *Regul Toxicol Pharmacol.* 2012 Feb; 62(1): 23–8. doi: 10.1016/j.yrtph.2011.11.019.
55. Schubert J.K., Miekisch W., Birken T., Geiger K., Nöldge-Schomburg G.F. Impact of inspired substance concentrations on the results of breath analysis in mechanically ventilated patients. *Biomarkers.* 2005 Mar-Jun; 10(2–3): 138–52. doi: 10.1080/13547500500050259.
56. Spaněl P., Dryahina K., Smith D. A quantitative study of the influence of inhaled compounds on their concentrations in exhaled breath. *J Breath Res.* 2013 Mar; 7(1): 017106. doi: 10.1088/1752-7155/7/1/017106.
57. Doran S.L.F., Romano A., Hanna G.B. Optimisation of sampling parameters for standardised exhaled breath sampling. *J Breath Res.* 2017 Dec 6; 12(1): 016007. doi: 10.1088/1752-7163/aa8a46.
58. Poli D., Carbognani P., Corradi M., Goldoni M., Acampa O., Balbi B., Bianchi L., Rusca M., Mutti A. Exhaled volatile organic compounds in patients with non-small cell lung cancer: cross sectional and nested short-term follow-up study. *Respir Res.* 2005 Jul 14; 6(1): 71. doi: 10.1186/1465-9921-6-71.
59. Peng G., Hakim M., Broza Y.Y., Billan S., Abdah-Bortnyak R., Kuten A., Tisch U., Haick H. Detection of lung, breast, colorectal, and prostate cancers from exhaled breath using a single array of nanosensors. *Br J Cancer.* 2010 Aug 10; 103(4): 542–51. doi: 10.1038/sj.bjc.6605810.
60. Kischkel S., Miekisch W., Sawacki A., Straker E.M., Trefz P., Amann A., Schubert J.K. Breath biomarkers for lung cancer detection and assessment of smoking related effects—confounding variables, influence of normalization and statistical algorithms. *Clin Chim Acta.* 2010 Nov 11; 411(21–22): 1637–44. doi: 10.1016/j.cca.2010.06.005.
61. Birken T., Schubert J., Miekisch W., Nöldge-Schomburg G. A novel visually CO₂ controlled alveolar breath sampling technique. *Technol Health Care.* 2006; 14(6): 499–506.
62. Bikov A., Paschalaki K., Logan-Sinclair R., Horváth I., Kharitonov S.A., Barnes P.J., Usmani O.S., Paredi P. Standardised exhaled breath collection for the measurement of exhaled volatile organic compounds by proton transfer reaction mass spectrometry. *BMC Pulm Med.* 2013 Jul 9; 13: 43. doi: 10.1186/1471-2466-13-43.
63. Boshier P.R., Priest O.H., Hanna G.B., Marczin N. Influence of respiratory variables on the on-line detection of exhaled trace gases by PTR-MS. *Thorax.* 2011 Oct; 66(10): 919–20. doi: 10.1136/thx.2011.161208.
64. Lärstad M.A., Torén K., Bake B., Olin A.C. Determination of ethane, pentane and isoprene in exhaled air—effects of breath-holding, flow rate and purified air. *Acta Physiol (Oxf).* 2007; 189(1): 87–98. doi: 10.1111/j.1748-1716.2006.01624.x.
65. Herbig J., Titzmann T., Beauchamp J., Kohl I., Hansel A. Buffered end-tidal (BET) sampling—a novel method for real-time breath-gas analysis. *J Breath Res.* 2008 Sep; 2(3): 037008. doi: 10.1088/1752-7155/2/3/037008.
66. Sukul P., Schubert J.K., Kamyssek S., Trefz P., Miekisch W. Applied upper-airway resistance instantly affects breath components: a unique insight into pulmonary medicine. *J Breath Res.* 2017 Nov 1; 11(4): 047108. doi: 10.1088/1752-7163/aa8d86.
67. Thekedar B., Oeh U., Szymczak W., Hoeschen C., Paretzke H.G. Influences of mixed expiratory sampling parameters on exhaled volatile organic compound concentrations. *J Breath Res.* 2011 Mar; 5(1): 016001. doi: 10.1088/1752-7155/5/1/016001.
68. Wang Y., Hu Y., Wang D., Yu K., Wang L., Zou Y., Zhao C., Zhang X., Wang P., Ying K. The analysis of volatile organic compounds biomarkers for lung cancer in exhaled breath, tissues and cell lines. *Cancer Biomark.* 2012; 11(4): 129–37. doi: 10.3233/CBM-2012-00270.
69. Jordan A., Hansel A., Lindinger W., Holzinger R. Acetonitrile and benzene in the breath of smokers and non-smokers investigated by proton transfer reaction mass spectrometry (PTR-MS). *Int. J. Mass Spectrom. Ion Process.* 1995; 148: 68–70. doi: 10.1016/0168-1176(95)04236-E.
70. Euler D.E., Davé S.J., Guo H. Effect of cigarette smoking on pentane excretion in alveolar breath. *Clin Chem.* 1996 Feb; 42(2): 303–8.
71. Zou Y., Zhang X., Chen X., Hu Y., Ying K., Wang P. Optimization of volatile markers of lung cancer to exclude interferences of non-malignant disease. *Cancer Biomark.* 2014; 14(5): 371–9. doi: 10.3233/CBM-140418.
72. Corradi M., Poli D., Banda I., Bonini S., Mozzoni P., Pinelli S., Alinovi R., Andreoli R., Ampollini L., Casalini A., Carbognani P., Goldoni M., Mutti A. Exhaled breath analysis in suspected cases of non-small-cell lung cancer: a cross-sectional study. *J Breath Res.* 2015 Jan 29; 9(2): 027101. doi: 10.1088/1752-7155/9/2/027101.
73. Horváth I., Barnes P.J., Loukides S., Sterk P.J., Högman M., Olin A.C., Amann A., Antus B., Baraldi E., Bikov A., Boots A.W., Bos L.D., Brinkman P., Bucca C., Carpagnano G.E., Corradi M., Cristescu S., de Jongste J.C., Dinh-Xuan A.T., Dompeling E., Fens N., Fowler S., Hohlfeld J.M., Holz O., Jöbbsis Q., Van De Kant K., Knobel H.H., Kostikas K., Lehtimäki L., Lundberg J., Montuschi P., Van Muylen A., Pennazza G., Reinhold P., Ricciardolo F.L.M., Rosias P., Santonico M., van der Schee M.P., van Schooten F.J., Spanevello A., Tonia T., Vink T.J. A European Respiratory Society technical standard: exhaled biomarkers in lung disease. *Eur Respir J.* 2017 Apr 26; 49(4): 1600965. doi: 10.1183/13993003.00965-2016.
74. Li Z., Askim J.R., Suslick K.S. The Optoelectronic Nose: Colorimetric and Fluorometric Sensor Arrays. *Chem Rev.* 2019 Jan 9; 119(1): 231–292. doi: 10.1021/acs.chemrev.8b00226.
75. Behera B., Joshi R., Anil Vishnu G.K., Bhalerao S., Pandya H.J. Electronic nose: A non-invasive technology for breath analysis of diabetes and lung cancer patients. *J Breath Res.* 2019 Mar 6; 13(2): 024001. doi: 10.1088/1752-7163/aafc77.

Поступила/Received 25.03.2020
Принята в печать/Accepted 18.06.2020

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Родионов Евгений Олегович, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник торакального отделения, 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). E-mail: rodionov_eo@oncology.tomsk.ru. SPIN-код: 7650-2129. AuthorID (РИНЦ): 805452. Researcher ID (WOS): B-7280-2017. ORCID: 0000-0003-4980-8986. Author ID (Scopus): 57189622130.

Тузиков Сергей Александрович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий торакальным отделением, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия); 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.

Миллер Сергей Викторович, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник торакального отделения, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 6510-9849. AuthorID (РИНЦ): 558789. Researcher ID (WOS): C-8970-2012. ORCID: 0000-0002-5365-9840. Author ID (Scopus): 56525429400.

Кульбакин Денис Евгеньевич, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отделения опухолей головы и шеи, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской

академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 3898-9456. AuthorID (РИНЦ): 557916. Researcher ID (WOS): D-1151-2012. ORCID: 0000-0003-3089-5047. Author ID (Scopus): 55534205500.

Чернов Владимир Иванович, доктор медицинских наук, профессор, руководитель отделения радионуклидной диагностики, заместитель директора по научной и инновационной работе, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия); ведущий научный сотрудник, НИЦ «Онкотераностика», ИШХБМТ, Томский политехнический университет (г. Томск, Россия). SPIN-код: 6301-3612. AuthorID (РИНЦ): 108949. Researcher ID (WOS): B-6789-2016. ORCID: 0000-0001-8753-7916. Author ID (Scopus): 7201429550

ВКЛАД АВТОРОВ

Родионов Евгений Олегович: разработка концепции и дизайна, сбор и обработка материала, анализ и интерпретация полученных данных, обзор публикаций по теме статьи, написание текста, критический пересмотр статьи на предмет важного интеллектуального содержания.

Тузиков Сергей Александрович: разработка концепции и дизайна, проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение рукописи для публикации.

Миллер Сергей Викторович: разработка концепции и дизайна, анализ научной работы.

Кульбакин Денис Евгеньевич: сбор и обработка материала, анализ и интерпретация данных.

Чернов Владимир Иванович: разработка концепции и дизайна, редактирование окончательного варианта статьи, проверка критически важного интеллектуального содержания статьи.

Финансирование

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки России, номер гранта в форме субсидии: 05.604.21.0221, уникальный идентификатор проекта – RFMEFI60419X0221.

Конфликт интересов

Авторы объявляют, что у них нет конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

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

Sergey A. Tuzikov, MD, DSc, Professor, Head of Thoracic Department, 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.

Sergey V. Miller, MD, DSc, Leading Researcher, Thoracic Department, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): C-8970-2012. ORCID: 0000-0002-5365-9840. Author ID (Scopus): 56525429400.

Denis E. Kulbakin, MD, PhD, Senior Researcher, Department of Head and Neck Tumors, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): D-1151-2012. ORCID: 0000-0003-3089-5047. Author ID (Scopus): 55534205500.

Vladimir I. Chernov, MD, Professor, Head of the Department of Nuclear Medicine, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center Russian Academy of Sciences, Leading Researcher of Research Centrum for Oncotheranostics National Research Tomsk Polytechnic University (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): B-6789-2016. ORCID: 0000-0001-8753-7916. Author ID (Scopus): 7201429550.

AUTHOR CONTRIBUTION

Evgenii O. Rodionov: concept design, data collection and processing, data analysis and interpretation, review of publications, writing of the manuscript, critical review of the article for important intellectual content.

Sergey A. Tuzikov: contribution to the concept, design, verification of the critically important intellectual content, final approval of the version of the manuscript for publication.

Sergey V. Miller: study design, drafting of the manuscript.

Denis E. Kulbakin: data collection and processing, data interpretation.

Vladimir I. Chernov: concept design, edition of the final version of the manuscript, verification of the critically important intellectual content of the manuscript.

Funding

This study was supported by the Russian Ministry of Education and Science, № 05.604.21.0221, unique project identifier – RFMEFI60419X0221.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

Для цитирования: Янус Г.А., Иевлева А.Г., Суспицын Е.Н., Тюрин В.И., Бизин И.В., Горустович О.А., Ни В.И., Холматов М.М., Лайдус Т.А., Чуйнышена С.А., Алексахина С.Н., Имянитов Е.Н. Препредиктивные маркеры ответа на блокаторы контрольных точек иммунного ответа. Сибирский онкологический журнал. 2020; 19(4): 123–131. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-4-123-131.

For citation: Janus G.A., Ievleva A.G., Suspitsyn E.N., Tyurin V.I., Bizin I.V., Gorustovich O.A., Ni V.I., Kholmato M.M., Laidus T.A., Chuynyshena S.A., Aleksakhina S.N., Imyaninov E.N. Predictive response markers for immune response blocks. Siberian Journal of Oncology. 2020; 19(4): 123–131. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-4-123-131.

ПРЕДИКТИВНЫЕ МАРКЕРЫ ОТВЕТА НА БЛОКАТОРЫ КОНТРОЛЬНЫХ ТОЧЕК ИММУННОГО ОТВЕТА

**Г.А. Янус^{1,2}, А.Г. Иевлева^{1,2}, Е.Н. Суспицын^{1,2}, В.И. Тюрин², И.В. Бизин²,
О.А. Горустович², В.И. Ни², М.М. Холматов², Т.А. Лайдус², С.А. Чуйнышена¹,
С.Н. Алексахина², Е.Н. Имянитов^{1,2,3}**

Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет,

г. Санкт-Петербург, Россия¹

Россия, 194100, г. Санкт-Петербург, ул. Литовская, 2. E-mail: evgeny@imyanitov.spb.ru¹

НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова, г. Санкт-Петербург, Россия²

Россия, 197758, г. Санкт-Петербург, п. Песочный, ул. Ленинградская, 68²

Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова,

г. Санкт-Петербург, Россия³

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

Аннотация

Несмотря на беспрецедентный успех применения ингибиторов контрольных точек иммунного ответа в терапии рака легкого, меланомы, гипермутабельных новообразований различной локализации и проч., существенная доля пациентов, получающих препараты этой группы, не демонстрирует ответа на лечение. Препредиктивные маркеры, рутинно используемые при отборе больных для прохождения иммунотерапии, в частности уровень экспрессии PD-L1 и наличие микросателлитной нестабильности, имеют определённые ограничения. За последнее десятилетие было предложено множество иных биомаркеров, призванных предсказать эффект на назначение иммунотерапии: внутриопухолевая мутационная нагрузка, состав лимфоцитарного инфильтрата; аллельная композиция главного комплекса гистосовместимости; соотношения между количеством различных форменных элементов крови и ее биохимическими показателями; особенности микрофлоры ЖКТ и т. д. Эти маркеры могут прямо или косвенно отражать иммуногенность самой опухоли, а также состояние системного и внутриопухолевого иммунитета. Препредиктивная сила, достоверность и степень их близости к практическому применению чрезвычайно различны. При подготовке данного обзора был проведен поиск литературы последних лет, касающейся изучения предикторов эффективности ингибиторов контрольных точек иммунного ответа, в журналах, входящих в базы данных Pubmed, Web of Science, Scopus.

Ключевые слова: аденокарцинома, препредиктивные маркеры, ингибиторы контрольных точек иммунного ответа, PD-L1, PD1, CTLA4.

PREDICTIVE RESPONSE MARKERS FOR IMMUNE RESPONSE BLOCKS

G.A. Janus^{1,2}, A.G. Ievleva^{1,2}, E.N. Suspitsyn^{1,2}, V.I. Tyurin², I.V. Bizin²,
O.A. Gorustovich², V.I. Ni², M.M. Kholmatov², T.A. Laidus², S.A. Chuynyshena¹,
S.N. Aleksakhina², E.N. Imyanitov^{1,2,3}

St. Petersburg State Pediatric Medical University, St. Petersburg, Russia¹

2, Litovskaya Street, 194100, St. Petersburg, Russia.

E-mail: evgeny@imyanitov.spb.ru¹

N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology, St. Petersburg, Russia²

68, Leningradskaya Street, Pesochny, St. Petersburg, Russia²

I.I. Mechnikov North-Western State Medical University, St. Petersburg, Russia³

41, Kirochnaya Street, 191015, St. Petersburg, Russia³

Abstract

Despite the unprecedented success in using immune checkpoint inhibitors in the treatment of lung cancer, melanoma, hypermutable tumors of various localization, etc., a significant proportion of patients receiving these drugs do not respond to treatment. Predictive markers routinely used in the selection of patients for immunotherapy, in particular, the level of expression of PD-L1 and the presence of microsatellite instability, have certain limitations. Over the past decade, many other biomarkers designed to predict response to immunotherapy have been proposed, namely: tumor mutation burden, composition of lymphocytic infiltrate; allelic composition of the major histocompatibility complex; relationship between the numbers of different formed elements of blood as well as between its biochemical parameters; microflora of the digestive tract, etc. These markers can directly or indirectly reflect the immunogenicity of the tumor itself, as well as the state of systemic and intratumoral immune response. The predictive power and reliability of these markers are extremely different. When preparing this review, we conducted a literature search for recent studies regarding predictors of efficacy for immune checkpoint inhibitors published in the journals included in the databases, such as Pubmed, Web of Science, and Scopus.

Key words: adenocarcinoma, predictive markers, immune response checkpoint inhibitors, PD-L1, PD1, CTLA4.

Введение

Внедрение ингибиторов контрольных точек иммунного ответа (CTLA4 и PD1/PD-L1) стало крупным достижением в терапии меланомы, рака легкого и некоторых других разновидностей опухолей. На данный момент к этой группе лекарственных средств относится семь препаратов, одобренных FDA (Food and Drug Administration, <https://www.fda.gov>). Механизм действия данных препаратов основывается на реактивации собственного противоопухолевого иммунного ответа пациента за счет блокировки иммуносупрессорных молекул CTLA4, PD1 или PD-L1. Так как ингибиторы контрольных точек иммунного ответа демонстрируют высокую эффективность лишь у ограниченной доли пациентов, обладают широким спектром тяжелых побочных эффектов и отличаются высокой стоимостью, крайне актуальной становится разработка предиктивных маркеров ответа на иммунотерапию. В настоящее время в рутинной клинической практике используются два подобных биомаркера: уровень белковой экспрессии PD-L1 и статус микросателлитной нестабильности/нарушения функции системы репарации неспаренных оснований ДНК (MSI-H/dMMR).

Экспрессия белков-мишеней

Иммуногистохимический анализ экспрессии PD-L1 был впервые применен для оценки статуса потенциального предиктивного биомаркера в одном из ранних клинических испытаний пембролизумаба [1]. Стратификация пациентов по уровню экспрессии PD-L1 позволила выделить группу PD-L1-негативных опухолей (<5 % опухолевых клеток, демонстрирующих мембранное окрашивание), в которой не наблюдалось ответа на лечение, и PD-L1-позитивных новообразований (≥5 % опухолевых клеток, демонстрирующих мембранное окрашивание), в которой частота объективных ответов составила 36 %. Следует отметить, что уровень PD-L1 может варьировать в широком диапазоне и при более высоких значениях экспрессии возрастает частота ответа на лечение. Так, в ходе клинического испытания пембролизумаба у больных немелкоклеточным раком легкого, KEYNOTE-001, все случаи были разделены на группы по уровню экспрессии PD-L1. Больные с отсутствием экспрессии PD-L1 (<1 %) продемонстрировали 8 % объективных ответов, а при наличии экспрессии и делении опухолей на квартили по уровню PD-L1 ответ на лечение наблюдался у 13,

19, 30 и 45 % больных соответственно [2]. Таким образом, даже самый высокий уровень PD-L1 не гарантирует ответа на PD1/PD-L1 ингибиторы, а отсутствие экспрессии в некоторых случаях может сопровождаться выраженным клиническим эффектом.

Дополнительный уровень сложности в определении этого биомаркера возникает в связи с высокой пространственно-временной изменчивостью экспрессии PD-L1 в пределах одного и того же опухолевого очага, между биопсиями и послеоперационным материалом, между первичным очагом и метастазами, до и после терапевтических вмешательств [3, 4]. Наконец, на данный момент существует множество антител, с помощью которых оценивается уровень экспрессии PD-L1. Известно, что три из наиболее широко применяемых разновидностей антител (22C3, 28-8 и SP263) относительно схожи по своим техническим характеристикам, а SP142 систематически демонстрирует более низкую чувствительность в отношении экспрессии PD-L1 на опухолевых клетках. В некоторых опухолях основная доля экспрессии PD-L1 приходится на опухолевые клетки, в то время как в других новообразованиях PD-L1 в значительных количествах представлен на иммунных клетках и клетках стромы. В связи с этим для опухолей различных локализаций используются разные системы оценки экспрессии. Следует отметить, что оценка окрашивания иммунных клеток технически затруднительна и демонстрирует значительную вариабельность у различных специалистов. Применение разных антител и разных подходов к оценке уровня экспрессии имеет существенное влияние на определение статуса опухолей, демонстрирующих пограничные значения PD-L1 [4].

Благодаря применению *in situ* РНК-гибридизации и секвенированию транскриптома удалось показать, что экспрессии PD-L1 на уровне мРНК и белка хорошо коррелируют между собой [5], однако до настоящего времени попытки перейти к анализу экспрессии мРНК PD-L1 с помощью количественной ПЦР или иных методов генетического анализа были предприняты лишь немногочисленными исследовательскими группами. В целом оценки уровня PD-L1, определяемого при помощи ОТ-ПЦР и ИГХ-анализа, согласуются между собой и демонстрируют сходные клинико-морфологические ассоциации [6].

Так как экспрессия PD-L1 неспособна надежно предсказать результат применения ингибиторов PD1/PD-L1, ведется поиск иных предиктивных маркеров, специфичных для данной группы иммунопрепаратов. Прежде всего, к ним относится уровень экспрессии других молекул, имеющих непосредственное отношение к функционированию PD-L1: PD-L2 и PD1. В недавнем крупном ретроспективном исследовании было показано, что уровень экспрессии мРНК PD1 лучше коррелирует с

ответом на PD1-ингибиторы, чем мРНК и белковая экспрессия PD-L1 [7]. Высокая экспрессия PD-L2 независимо от PD-L1 ассоциирована с ответом на лечение PD1/PD-L1 ингибиторами [8]. Если взаимодействие PD-L1 и PD1 происходит в пределах микроокружения опухоли, то связывание CTLA4 с B7, препятствующее «праймингу» наивных лимфоцитов, происходит в лимфоидных органах. Кроме того, патофизиологически значимая экспрессия CTLA4 на антиген-презентирующих клетках низка и непостоянна, а экспрессия B7, напротив, практически убиквитарна. Это крайне затрудняет изучение CTLA4 и B7 в качестве специфических маркеров ответа на ипилимумаб [9].

Показатели иммуногенности опухоли: мутационная нагрузка и количество неоантигенов

Несинонимичные соматические мутации служат потенциальным источником мутантных белков – неоантигенов, которые могут распознаваться Т-клетками как чужеродные и активировать иммунный противоопухолевый ответ. Именно с этим фактом связана высокая чувствительность к терапии ингибиторами контрольных точек иммунного ответа меланомы, рака легкого, MSI-позитивного рака толстой кишки, а также карцином с наследственными и соматическими дефектами в генах POLE/POLD1 – разновидностей опухолей с максимальным количеством соматических мутаций [10, 11]. Предиктивная значимость мутационной нагрузки была впервые продемонстрирована для анти-CTLA4 терапии при меланоме в работах A. Snyder et al. и E.M. Van Allen et al. и для анти-PD1 антител при раке легкого в исследовании N.A. Rizvi et al. [12–14]. В первом исследовании в когорте из 64 больных, чьи опухоли были подвергнуты полноэкзомному секвенированию, мутационная нагрузка свыше 100 несинонимичных мутаций ассоциировалась с продолжительным (более 6 мес) ответом на лечение ингибиторами CTLA4 с увеличенной общей продолжительностью жизни. В похожей работе E.M. Van Allen et al. также была выявлена зависимость между количеством соматических мутаций и предсказанных неоантигенов (более 100) и ответом на ипилимумаб в группе из 110 случаев меланомы. Количество антигенных неоэпитопов, повторяющихся у хотя бы двух больных, ответивших на лечение, и при этом не присутствующих у больных без эффекта от терапии, составило всего 0,04 % от всех обнаруженных неоантигенов. На примере анализа данных полноэкзомного секвенирования у больных раком легкого и меланомой была показана значимость ещё одного параметра – степени внутриопухолевой гетерогенности неоантигенов – для формирования ответа на ингибиторы контрольных точек иммунного ответа [15]. Оказалось, что в случаях хорошего ответа на терапию преобладают клональные

(т.е. присутствующие во всех клетках опухоли) неоантигены, а доля «гетерогенных» антигенов не превышает 1–5 %.

В настоящее время оценка мутационной нагрузки опухоли совершенствуется в двух основных направлениях. Очевидно, что проведение полноэкзомного секвенирования каждой опухоли в ближайшее время останется недостижимым по экономическим причинам. Поэтому ведутся активные работы над созданием панелей для таргетного секвенирования, захватывающих сравнительно небольшие, но репрезентативные в отношении мутационной нагрузки участки генома (обычно порядка 1,5–3 млн п.н.) [16].

Очень важное направление исследований, пусть и остающихся пока еще с трудом транслируемыми в рутинную клиническую практику, – попытки более точно предсказать значимость потенциальных неоантигенов на основе способности мутантных белков связываться с молекулами ГКГС I типа [17]. Помимо получения информации об имеющихся в опухолевом экземе повреждениях, необходимым условием для такого анализа является предварительное установление генотипа HLA I пациента. Любопытно, что гомозиготность по локусам HLA уменьшает потенциальное число неоэпитопов, которые могла бы презентовать иммунной системе опухолевая клетка. Действительно, пациенты с гомозиготными генотипами HLA I в целом хуже отвечают на ингибиторы контрольных точек иммунного ответа. Кроме того, некоторые гаплотипы HLA ассоциированы с благоприятным или плохим ответом на иммунотерапию [18].

Моногенные предикторы ответа

Помимо общей мутационной нагрузки, маркерами чувствительности или резистентности к иммунотерапии могут служить соматические мутации в определённых генах. Например, в работе N. Riaz et al. удалось установить связь между соматическими мутациями в генах SERPINB3 и SERPINB4 и высокой вероятностью длительного ответа меланомы на ипилимумаб [19]. Еще один недавно обнаруженный маркер благоприятного ответа на иммунотерапию – мутации в деметилазе TET1 [20]. Напротив, соматические мутации в генах STK11, PTEN и генах каскада гамма-интерферона ассоциированы с плохим ответом на лечение [21–23]. Фактическая значимость всех этих находок остаётся пока неясной, так как они нуждаются в независимом подтверждении. Очень интересно исследование S.J. Patel et al. (2017), в котором была сделана попытка идентифицировать новые гены, соматические дефекты которых нарушают противоопухолевый иммунный ответ вне связи с какими-либо предварительными гипотезами за счет применения систематической инактивации белок-кодирующих генов на основе технологии CRISPR-CAS [24]. Таким образом,

удалось подтвердить значимость уже известных генов, связанных с презентацией антигенов, подтвердить несколько более «сомнительных» маркеров, ассоциированных с сигнальным каскадом гамма-интерферона, и обнаружить несколько совершенно неожиданных «кандидатов».

В ряде работ удалось показать, что соматическая инактивация компонентов системы процессирования и презентации антигенов ассоциирована с отсутствием эффекта от ингибиторов контрольных точек иммунного ответа. Хотя эти мутации редко становятся причиной первичной устойчивости меланом к иммунотерапии, они часто ассоциированы с возникновением вторичной резистентности [13, 24]. Напротив, в случае немелкоклеточного рака легкого потери гетерозиготности аллелей HLA – частое явление, затрагивающее преимущественно новообразования с высокой мутационной нагрузкой, выраженной экспрессией PD-L1 и инфильтрацией цитотоксическими Т-клетками [25]. Возможно, этот феномен лежит в основе первичной резистентности подобных опухолей к ингибиторам PD1/PD-L1, но техническая сложность оценки статуса локусов ГКГС до сих пор препятствует проверке данной гипотезы.

Системный иммунный статус

Для оценки системного иммунного статуса предпринимались попытки проанализировать параметры стандартного клинического анализа крови (абсолютное количество нейтрофилов, лимфоцитов и их соотношение, количество эозинофилов и др.), иммунологические маркеры крови (преобладание определённых субпопуляций лимфоцитов, наличие антител к NY-ESO1 и др.), а также генетические особенности индивида (генотипы HLA и других вовлечённых в иммунный ответ генов).

Во многих работах были выявлены ассоциации между повышенной общей продолжительностью жизни, удлинением времени до прогрессирования на фоне лечения ингибиторами контрольных точек иммунного ответа и такими характеристиками клинического анализа крови, как низкое абсолютное количество нейтрофилов, отношение количества нейтрофилов к лимфоцитам менее 3, низкое количество моноцитов, высокая доля лимфоцитов, высокая концентрация эозинофилов и т. д. [26, 27]. Зачастую подобные показатели объединяют в комплексные индексы, обладающие предиктивным/прогностическим значением [27]. Изменение некоторых из этих параметров в ходе лечения ингибиторами контрольных точек иммунного ответа также коррелировало с эффектом терапии [28].

К иммунологическим параметрам периферической крови, связанным с эффективностью ингибиторов контрольных точек иммунного ответа, относятся количество CD8+ и CD4+ Т-лимфоцитов [26, 29]; количество миелоидных супрессорных клеток и регуляторных FOXP3+ Т-клеток [30]; уро-

вень CD45RO+CD8+ Т-клеток памяти [31]; уровень CTLA4 в сыворотке крови [32]; уровень IL-2 рецептора альфа (IL-2R α , sCD25) [33] и другие факторы. Для многих из этих показателей предиктивное значение имеет не столько их базовый уровень, сколько динамика в ходе терапии [26, 29].

Внутриопухолевый иммунный статус

В последние годы предпринимается множество попыток комплексной и всесторонней классификации внутриопухолевого иммунного ландшафта. В наиболее масштабной из подобных работ, проведенной в рамках The Cancer Genome Atlas, все новообразования удалось подразделить на 6 различных иммунофенотипов [34]. Безусловно, подобные исследования имеют глубокое фундаментальное значение, однако пока наиболее простым для оценки и вместе с тем наиболее значимым параметром внутриопухолевого иммунного статуса является инфильтрация опухоли CD8+ позитивными Т-лимфоцитами.

Большую популярность приобрела упрощенная практическая классификация, согласно которой опухоли делятся на 4 группы по наличию Т-лимфоцитарной инфильтрации (tumor infiltrating lymphocytes, TILs) и экспрессии PD-L1 [35]. TILs+/PD-L1+ опухоли – высокоиммуногенны и с высокой вероятностью ответят на иммунотерапию; TILs-/PD-L1+ опухоли окажутся резистентными к иммунотерапии, если иммунное микроокружение не будет трансформировано каким-то иным терапевтическим вмешательством; TILs+/PD-L1- опухоли могут служить кандидатами для лечения ингибиторами контрольных точек иммунного ответа, не затрагивающими систему PD1/PD-L1. Наконец, TILs-/PD-L- опухоли представляют собой «иммунологическую пустыню», неспособную ответить на какую-либо иммунотерапию.

Действительно, Т-лимфоцитарная инфильтрация, отражающая, как предполагается, распознавание опухолевых клеток иммунной системой, является признаком хорошего прогноза при раке лёгкого, толстой кишки и меланоме [36]. Количество Т-лимфоцитов в меланомах до лечения не коррелировало с клинической активностью ипилиумаба, однако более чем у половины пациентов, ответивших на терапию, наблюдалось увеличение плотности лимфоцитов в биопсиях, сделанных спустя три недели после начала лечения [37]. Эффект ингибитора PD1 пембролизумаба в исследовании P.C. Tumeh et al. (2014) был ассоциирован как с инфильтрацией меланомы CD8+ клетками до начала лечения, так и с приростом их количества в результате терапии [38]. В недавнем исследовании показано, что хороший ответ немелкоклеточных опухолей легкого на блокаду контрольных точек иммунного ответа ассоциирован с большим количеством неактивных Т-клеток в опухоли (с низкой экспрессией гранзима В и Ki67) [39]. Безусловно,

уточнение состава лимфоцитарного инфильтрата, а также изучение свойств иммунных клеток позволяет улучшить предиктивную значимость оценки внутриопухолевого иммунитета. Например, недавно было продемонстрировано наличие двух фенотипов CD8+ Т-киллеров, инфильтрирующих меланомы и различающихся по наличию экспрессии фактора транскрипции TCF7. В противоопухолевом иммунном ответе могла участвовать лишь TCF7+ категория данных клеток [40].

Хотя традиционно состав иммунного инфильтрата опухоли изучается при помощи иммуногистохимии, было предпринято множество попыток заменить морфологический анализ исследованием транскрипции. Изучение экспрессии РНК обладает рядом преимуществ перед ИГХ: оно допускает большую стандартизацию, объективность и оценку статуса большего разнообразия молекул. Действительно, для ряда значимых для иммунофенотипирования белков пока не существует достаточно надежных антител [40]. В нескольких исследованиях было продемонстрировано влияние экспрессии различных транскриптов, характеризующих иммунный статус опухолевого микроокружения, на эффективность терапии ингибиторами CTLA4 [13, 37]. Большое значение имеет недавняя работа, в которой удалось установить экспрессионный профиль из 18 генов, функционально связанных с активацией гамма-интерферона, ассоциированный с хорошим ответом на иммунотерапию [41]. В другом исследовании, основанном на секвенировании транскриптома отдельных клеток меланомы, был установлен экспрессионный паттерн, связанный с устойчивостью к анти-PD-1 терапии [42]. Вполне закономерной представляется недавно выявленная взаимосвязь ответа на ингибиторы контрольных точек иммунного ответа с повышенной экспрессией компонентов иммунопротеасомы (PSMB8, PSMB9) [43].

Еще одним ожидаемым маркером эффективности иммунотерапии оказалось повышенное разнообразие репертуара Т-клеточных рецепторов лимфоцитов, инфильтрирующих опухоль [44].

Новые направления

Неожиданным открытием последних лет явилось установление модулирующего влияния микрофлоры ЖКТ на эффективность блокаторов контрольных точек иммунного ответа. Так, в недавней работе выяснилось, что присутствие микроорганизмов *S. parasanguinis* и *B. massiliensis* ассоциировано с ответом на ингибиторы контрольных точек, а наличие представителей семейства *Peptostreptococcaceae*, напротив, является предиктором резистентности [45]. Хотя подобные сведения явно носят предварительный характер, косвенное подтверждение значимости микрофлоры дают эпидемиологические исследования, согласно которым применение антибиотиков в

период получения иммунотерапии или незадолго до/после лечения ассоциировано со снижением противоопухолевого эффекта [46]. Крайне интересно недавнее наблюдение, согласно которому онкологические пациенты, проходящие иммунотерапию и получившие прививки против гриппа, а также перенесшие эпизод заболевания гриппом или гриппоподобным синдромом, продемонстрировали увеличение общей выживаемости [47]. Возможно, что противовирусные вакцины (вакцины против гриппа) способны радикально менять внутриопухолевый иммунный статус опухоли, конвертируя «иммунологические пустыни» в высокоиммуногенное микроокружение: в эксперименте наиболее эффективным оказалось внутриопухолевое введение вакцины [48].

Закключение

Таким образом, ни один из известных предиктивных маркеров не позволяет с абсолютной

уверенностью предсказать чувствительность к терапии ингибиторами контрольных точек иммунного ответа, а многие из предложенных тестов (полноэкзомный анализ, определение субпопуляций иммунных клеток) достаточно сложны и могут быть выполнены только в специализированных лабораториях. Интересна тенденция к замене с трудом стандартизируемых ИГХ-методик молекулярно-генетическими тестами. Очевидно, что на практике имеет смысл применение определенных комбинаций предиктивных маркеров, информативных и не слишком сложных в определении, для отбора больных для прохождения иммунотерапевтического лечения. Однако подбор оптимального состава таких комбинаций, уточнение подходов и систем оценки статуса биомаркеров, введение пороговых значений соответствующих показателей пока еще только начинаются.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Topalian S.L., Hodi F.S., Brahmer J.R., Gettinger S.N., Smith D.C., McDermott D.F., Powderly J.D., Carvajal R.D., Sosman J.A., Atkins M.B., Leming P.D., Spigel D.R., Antonia S.J., Horn L., Drake C.G., Pardoll D.M., Chen L., Sharfman W.H., Anders R.A., Taube J.M., McMiller T.L., Xu H., Korman A.J., Jure-Kunkel M., Agrawal S., McDonald D., Kollia G.D., Gupta A., Wigginton J.M., Sznol M. Safety, activity, and immune correlates of anti-PD-1 antibody in cancer. *N Engl J Med.* 2012; 366(26): 2443–54. doi: 10.1056/NEJMoa1200690.
2. Garon E.B., Rizvi N.A., Hui R., Leighl N., Balmanoukian A.S., Eder J.P., Patnaik A., Aggarwal C., Gubens M., Horn L., Carcereny E., Ahn M.J., Felip E., Lee J.S., Hellmann M.D., Hamid O., Goldman J.W., Soria J.C., Dolled-Filhart M., Rutledge R.Z., Zhang J., Luncsford J.K., Rangwala R., Lubiniecki G.M., Roach C., Emancipator K., Gandhi L.; KEYNOTE-001 Investigators. Pembrolizumab for the treatment of non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med.* 2015 May 21; 372(21): 2018–28. doi: 10.1056/NEJMoa1501824.
3. Fournel L., Wu Z., Stadler N., Damotte D., Lococo F., Boule G., Ségal-Bendirdjian E., Bobbio A., Icard P., Trédaniel J., Alifano M., Forgez P. Cisplatin increases PD-L1 expression and optimizes immune check-point blockade in non-small cell lung cancer. *Cancer Lett.* 2019 Nov 1; 464: 5–14. doi: 10.1016/j.canlet.2019.08.005.
4. Lantuejoul S., Sound-Tsao M., Cooper W.A., Girard N., Hirsch F.R., Roden A.C., Lopez-Rios F., Jain D., Chou T.Y., Motoi N., Kerr K.M., Yatae Y., Brambilla E., Longshore J., Papotti M., Sholl L.M., Thunnissen E., Rekhtman N., Borczuk A., Bubendorf L., Minami Y., Beasley M.B., Botling J., Chen G., Chung J.H., Dacic S., Hwang D., Lin D., Moreira A., Nicholson A.G., Noguchi M., Pelosi G., Poleri C., Travis W., Yoshida A., Daigneault J.B., Wistuba I.I., Mino-Kenudson M. PD-L1 Testing for Lung Cancer in 2019: Perspective From the IASLC Pathology Committee. *J Thorac Oncol.* 2020 Apr; 15(4): 499–519. doi: 10.1016/j.jtho.2019.12.107.
5. Conroy J.M., Pabla S., Nesline M.K., Glenn S.T., Papanicolaou-Sengos A., Burgher B., Andreas J., Giamo V., Wang Y., Lenzo F.L., Bshara W., Khalil M., Dy G.K., Madden K.G., Shirai K., Dragnev K., Tafe L.J., Zhu J., Labriola M., Marin D., McCall S.J., Clarke J., George D.J., Hang T., Zibelman M., Ghatalia P., Araujo-Fernandez I., de la Cruz-Merino L., Singavi A., George B., MacKinnon A.C., Thompson J., Singh R., Jacob R., Kasuganti D., Shah N., Day R., Galluzzi L., Gardner M., Morrison C. Next generation sequencing of PD-L1 for predicting response to immune checkpoint inhibitors. *J Immunother Cancer.* 2019 Jan 24; 7(1): 18. doi: 10.1186/s40425-018-0489-5.
6. Le Goux C., Damotte D., Vacher S., Sibony M., Delongchamps N.B., Schnitzler A., Terris B., Zerbib M., Bieche I., Pignot G. Correlation between messenger RNA expression and protein expression of immune checkpoint-associated molecules in bladder urothelial carcinoma: A retrospective study. *Urol Oncol.* 2017 May; 35(5): 257–263. doi: 10.1016/j.urolonc.2017.01.014.
7. Paré L., Pascual T., Seguí E., Teixidó C., Gonzalez-Cao M., Galván P., Rodríguez A., González B., Cuatrecasas M., Pineda E., Torné A., Crespo G., Martín-Algarra S., Pérez-Ruiz E., Reig O., Viladot M., Font C., Adamo B., Vidal M., Gaba L., Muñoz M., Victoria I., Ruiz G., Viñolas N., Mellado B., Maurel J., García-Corbacho J., Molina-Vila M.A., Juan M., Llovet J.M., Reguart N., Arance A., Prat A. Association between PD1 mRNA and response to anti-PD1 monotherapy across multiple cancer types. *Ann Oncol.* 2018 Oct 1; 29(10): 2121–2128. doi: 10.1093/annonc/mdy335.
8. Yearley J.H., Gibson C., Yu N., Moon C., Murphy E., Juco J., Luncsford J., Cheng J., Chow L.Q.M., Seiwert T.Y., Handa M., Tomassini J.E., McClanahan T. PD-L2 Expression in Human Tumors: Relevance to Anti-PD-1 Therapy in Cancer. *Clin Cancer Res.* 2017; 23(12): 3158–67. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-16-1761.
9. Buchbinder E.I., Desai A. CTLA-4 and PD-1 Pathways: Similarities, Differences, and Implications of Their Inhibition. *Am J Clin Oncol.* 2016 Feb; 39(1): 98–106. doi: 10.1097/COC.0000000000000239.
10. Yarchoan M., Johnson B.A. 3rd, Lutz E.R., Laheru D.A., Jaffee E.M. Targeting neoantigens to augment antitumour immunity. *Nat Rev Cancer.* 2017 Apr; 17(4): 209–222. doi: 10.1038/nrc.2016.154.
11. Wang F., Zhao Q., Wang Y.N., Jin Y., He M.M., Liu Z.X., Xu R.H. Evaluation of POLE and POLD1 Mutations as Biomarkers for Immunotherapy Outcomes Across Multiple Cancer Types. *JAMA Oncol.* 2019. doi: 10.1001/jamaoncol.2019.2963.
12. Snyder A., Makarov V., Merghoub T., Yuan J., Zaretsky J.M., Desrichard A., Walsh L.A., Postow M.A., Wong P., Ho T.S., Hollmann T.J., Bruggeman C., Kannan K., Li Y., Elipenahli C., Liu C., Harbison C.T., Wang L., Ribas A., Wolchok J.D., Chan T.A. Genetic basis for clinical response to CTLA-4 blockade in melanoma. *N Engl J Med.* 2014 Dec 4; 371(23): 2189–2199. doi: 10.1056/NEJMoa1406498.
13. Van Allen E.M., Miao D., Schilling B., Shukla S.A., Blank C., Zimmer L., Sucker A., Hillen U., Foppen M.H.G., Goldinger S.M., Utikal J., Hassel J.C., Weide B., Kaehler K.C., Loquai C., Mohr P., Gutzmer R., Dummer R., Gabriel S., Wu C.J., Schadendorf D., Garraway L.A. Genomic correlates of response to CTLA-4 blockade in metastatic melanoma. *Science.* 2015 Oct 9; 350(6257): 207–211. doi: 10.1126/science.aad0095.
14. Rizvi N.A., Hellmann M.D., Snyder A., Kvistborg P., Makarov V., Havel J.J., Lee W., Yuan J., Wong P., Ho T.S., Miller M.L., Rekhtman N., Moreira A.L., Ibrahim F., Bruggeman C., Gasmí B., Zappasodi R., Maeda Y., Sander C., Garon E.B., Merghoub T., Wolchok J.D., Schumacher T.N., Chan T.A. Cancer immunology. Mutational landscape determines sensitivity to PD-1 blockade in non-small cell lung cancer. *Science.* 2015 Apr 3; 348(6230): 124–8. doi: 10.1126/science.aaa1348.
15. McGranahan N., Furness A.J., Rosenthal R., Ramskov S., Lyngaa R., Saini S.K., Jamal-Hanjani M., Wilson G.A., Birkbak N.J., Hiley C.T., Watkins T.B., Shafi S., Murugaesu N., Mitter R., Akarca A.U., Linares J., Marafioti T., Henry J.Y., Van Allen E.M., Miao D., Schilling B., Schadendorf D., Garraway L.A., Makarov V., Rizvi N.A., Snyder A., Hellmann M.D., Merghoub T., Wolchok J.D., Shukla S.A., Wu C.J., Peggs K.S., Chan T.A., Hadrup S.R., Quezada S.A., Swanton C. Clonal neoantigens elicit T cell immunoreactivity and sensitivity to immune checkpoint blockade. *Science.* 2016 Mar 25; 351(6280): 1463–9. doi: 10.1126/science.aaf1490.
16. Buchhalter I., Rempel E., Endris V., Allgäuer M., Neumann O., Volckmar A.L., Kirchner M., Leichenring J., Lier A., von Winterfeld M., Penzel R., Christopoulos P., Thomas M., Fröhling S., Schirmacher P., Budczies J., Stenzinger A. Size matters: Dissecting key parameters for panel-based tumor mutational burden analysis. *Int J Cancer.* 2019; 144(4): 848–58. doi: 10.1002/ijc.31878.

17. Zhang J., Caruso F.P., Sa J.K., Justesen S., Nam D.H., Sims P., Ceccarelli M., Lasorella A., Iavarone A. The combination of neoantigen quality and T lymphocyte infiltrates identifies glioblastomas with the longest survival. *Commun Biol.* 2019 Apr 23; 2: 135. doi: 10.1038/s42003-019-0369-7.
18. Chowell D., Krishna C., Pierini F., Makarov V., Rizvi N.A., Kuo F., Morris L.G.T., Riaz N., Lenz T.L., Chan T.A. Evolutionary divergence of HLA class I genotype impacts efficacy of cancer immunotherapy. *Nat Med.* 2019 Nov; 25(11): 1715–1720. doi: 10.1038/s41591-019-0639-4.
19. Riaz N., Havel J.J., Kendall S.M., Makarov V., Walsh L.A., Desrichard A., Weinhold N., Chan T.A. Recurrent SERPINB3 and SERPINB4 mutations in patients who respond to anti-CTLA4 immunotherapy. *Nat Genet.* 2016 Nov; 48(11): 1327–1329. doi: 10.1038/ng.3677.
20. Wu H.X., Chen Y.X., Wang Z.X., Zhao Q., He M.M., Wang Y.N., Wang F., Xu R.H. Alteration in TET1 as potential biomarker for immune checkpoint blockade in multiple cancers. *J Immunother Cancer.* 2019 Oct 17; 7(1): 264. doi: 10.1186/s40425-019-0737-3.
21. Gao J., Shi L.Z., Zhao H., Chen J., Xiong L., He Q., Chen T., Roszik J., Bernatchez C., Woodman S.E., Chen P.L., Hwu P., Allison J.P., Futreal A., Wargo J.A., Sharma P. Loss of IFN- γ Pathway Genes in Tumor Cells as a Mechanism of Resistance to Anti-CTLA-4 Therapy. *Cell.* 2016 Oct 6; 167(2): 397–404.e9. doi: 10.1016/j.cell.2016.08.069.
22. Peng W., Chen J.Q., Liu C., Malu S., Creasy C., Tetzlaff M.T., Xu C., McKenzie J.A., Zhang C., Liang X., Williams L.J., Deng W., Chen G., Mbofung R., Lazar A.J., Torres-Cabala C.A., Cooper Z.A., Chen P.L., Tieu T.N., Spranger S., Yu X., Bernatchez C., Forget M.A., Haymaker C., Amaria R., McQuade J.L., Glitza I.C., Cascone T., Li H.S., Kwong L.N., Heffernan T.P., Hu J., Bassett R.L.Jr., Bosenberg M.W., Woodman S.E., Overwijk W.W., Lizée G., Roszik J., Gajewski T.F., Wargo J.A., Gershenwald J.E., Radvanyi L., Davies M.A., Hwu P. Loss of PTEN Promotes Resistance to T Cell-Mediated Immunotherapy. *Cancer Discov.* 2016 Feb; 6(2): 202–16. doi: 10.1158/2159-8290.CD-15-0283.
23. Skoulidis F., Goldberg M.E., Greenawald D.M., Hellmann M.D., Awad M.M., Gainor J.F., Schrock A.B., Hartmaier R.J., Trabucco S.E., Gay L., Ali S.M., Elvin J.A., Singal G., Ross J.S., Fabrizio D., Szabo P.M., Chang H., Sasson A., Srinivasan S., Kirov S., Szustakowski J., Vitazka P., Edwards R., Bufill J.A., Sharma N., Ou S.I., Peled N., Spigel D.R., Rizvi H., Aguilar E.J., Carter B.W., Erasmus J., Halpenny D.F., Plodkowski A.J., Long N.M., Nishino M., Denning W.L., Galan-Cobo A., Hamdi H., Hirz T., Tong P., Wang J., Rodriguez-Canales J., Villalobos P.A., Parra E.R., Kalhor N., Sholl L.M., Sauter J.L., Jungbluth A.A., Mino-Kenudson M., Azimi R., Elamin Y.Y., Zhang J., Leonardi G.C., Jiang F., Wong K.K., Lee J.J., Papadimitrakopoulou V.A., Wistuba I.I., Miller V.A., Frampton G.M., Wolchok J.D., Shaw A.T., Jänne P.A., Stephens P.J., Rudin C.M., Geese W.J., Albacker L.A., Heymach J.V. STK11/LKB1 Mutations and PD-1 Inhibitor Resistance in KRAS-Mutant Lung Adenocarcinoma. *Cancer Discov.* 2018 Jul; 8(7): 822–835. doi: 10.1158/2159-8290.CD-18-0099.
24. Patel S.J., Sanjana N.E., Kishon R.J., Eidzadeh A., Vodnala S.K., Cam M., Gartner J.J., Jia L., Steinberg S.M., Yamamoto T.N., Merchant A.S., Mehta G.U., Chichura A., Shalem O., Tran E., Eil R., Sukumar M., Guijarro E.P., Day C.P., Robbins P., Feldman S., Merlino G., Zhang F., Restifo N.P. Identification of essential genes for cancer immunotherapy. *Nature.* 2017 Aug 31; 548(7669): 537–542. doi: 10.1038/nature23477.
25. McGranahan N., Rosenthal R., Hiley C.T., Rowan A.J., Watkins T.B.K., Wilson G.A., Birkbak N.J., Veeriah S., Van Loo P., Herrero J., Swanton C.; TRACERx Consortium. Allele-Specific HLA Loss and Immune Escape in Lung Cancer Evolution. *Cell.* 2017; 171(6): 1259–1271.e11. doi: 10.1016/j.cell.2017.10.001.
26. Martens A., Wistuba-Hamprecht K., Geukes Foppen M., Yuan J., Postow M.A., Wong P., Romano E., Khammari A., Dreno B., Capone M., Ascierto P.A., Di Giacomo A.M., Maio M., Schilling B., Sucker A., Schadendorf D., Hassel J.C., Eigentler T.K., Martus P., Wolchok J.D., Blank C., Pawelec G., Garbe C., Weide B. Baseline Peripheral Blood Biomarkers Associated with Clinical Outcome of Advanced Melanoma Patients Treated with Ipilimumab. *Clin Cancer Res.* 2016; 22(12): 2908–18. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-15-2412.
27. Meyers D.E., Shukalini I., Vallerand I.A., Lewinson R.T., Suo A., Dean M., North S., Pabani A., Cheng T., Heng D.Y.C., Bebb D.G., Morris D.G. The Lung Immune Prognostic Index Discriminates Survival Outcomes in Patients with Solid Tumors Treated with Immune Checkpoint Inhibitors. *Cancers (Basel).* 2019 Nov 2; 11(11): 1713. doi: 10.3390/cancers11111713.
28. Ameratunga M., Chénard-Poirier M., Moreno Candilejo I., Pedregal M., Lui A., Dolling D., Aversa C., Ingles Garces A., Ang J.E., Banerji U., Kaye S., Gan H., Doger B., Moreno V., de Bono J., Lopez J. Neutrophil-lymphocyte ratio kinetics in patients with advanced solid tumours on phase I trials of PD-1/PD-L1 inhibitors. *Eur J Cancer.* 2018; 89: 56–63. doi: 10.1016/j.ejca.2017.11.012.
29. Yuan J., Page D.B., Ku G.Y., Li Y., Mu Z., Ariyan C., Gallardo H.F., Roman R.A., Heine A.I., Terzulli S.L., Ritter E., Gnjatich S., Ritter G., Jungbluth A.A., Allison J.P., Old L.J., Wolchok J.D. Correlation of clinical and immunological data in a metastatic melanoma patient with heterogeneous tumor responses to ipilimumab therapy. *Cancer Immun.* 2010 Jan 7; 10: 1.
30. Sade-Feldman M., Kanterman J., Klieger Y., Ish-Shalom E., Olga M., Saragovi A., Shaitenberg H., Lotem M., Baniyash M. Clinical Significance of Circulating CD33+CD11b+HLA-DR- Myeloid Cells in Patients with Stage IV Melanoma Treated with Ipilimumab. *Clin Cancer Res.* 2016 Dec 1; 22(23): 5661–5672. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-15-3104.
31. Tietze J.K., Angelova D., Heppt M.V., Reinholz M., Murphy W.J., Spannagl M., Ruzicka T., Berking C. The proportion of circulating CD45RO+CD8+ memory T cells is correlated with clinical response in melanoma patients treated with ipilimumab. *Eur J Cancer.* 2017; 75: 268–279. doi: 10.1016/j.ejca.2016.12.031.
32. Leung A.M., Lee A.F., Ozao-Choy J., Ramos R.I., Hamid O., O'Day S.J., Shin-Sim M., Morton D.L., Faries M.B., Sieling P.A., Lee D.J. Clinical Benefit from Ipilimumab Therapy in Melanoma Patients may be Associated with Serum CTLA4 Levels. *Front Oncol.* 2014; 4: 110. doi: 10.3389/fonc.2014.00110.
33. Hannani D., Vétizou M., Enot D., Rusakiewicz S., Chaput N., Klatzmann D., Desbois M., Jacquelinot N., Vimond N., Chouaib S., Mateus C., Allison J.P., Ribas A., Wolchok J.D., Yuan J., Wong P., Postow M., Mackiewicz A., Mackiewicz J., Schadendorf D., Jaeger D., Zörnig I., Hassel J., Korman A.J., Bahjat K., Maio M., Calabro L., Teng M.W., Smyth M.J., Eggermont A., Robert C., Kroemer G., Zitvogel L. Anticancer immunotherapy by CTLA-4 blockade: obligatory contribution of IL-2 receptors and negative prognostic impact of soluble CD25. *Cell Res.* 2015 Feb; 25(2): 208–24. doi: 10.1038/cr.2015.3.
34. Thorsson V., Gibbs D.L., Brown S.D., Wolf D., Bortone D.S., Ou Yang T.H., Porta-Pardo E., Gao G.F., Plaisier C.L., Eddy J.A., Ziv E., Culhane A.C., Paull E.O., Sivakumar I.K.A., Gentles A.J., Malhotra R., Farshidfar F., Colaprico A., Parker J.S., Mose L.E., Vo N.S., Liu J., Liu Y., Rader J., Dhankani V., Reynolds S.M., Bowlby R., Califano A., Cherniack A.D., Anastassiou D., Bedognetti D., Mokrab Y., Newman A.M., Rao A., Chen K., Krasnitz A., Hu H., Malta T.M., Noushmehr H., Pedamallu C.S., Bullman S., Ojesina A.I., Lamb A., Zhou W., Shen H., Choueiri T.K., Weinstein J.N., Guinney J., Saltz J., Holt R.A., Rabkin C.S.; Cancer Genome Atlas Research Network, Lazar A.J., Serody J.S., Demicco E.G., Disis M.L., Vincent B.G., Shmulevich I. The Immune Landscape of Cancer. *Immunity.* 2018; 48(4): 812–30. doi: 10.1016/j.immuni.2018.03.023.
35. Teng M.W., Ngiew S.F., Ribas A., Smyth M.J. Classifying Cancers Based on T-cell Infiltration and PD-L1. *Cancer Res.* 2015 Jun 1; 75(11): 2139–45. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-15-0255.
36. Barnes T.A., Amir E. HYPE or HOPE: the prognostic value of infiltrating immune cells in cancer. *Br J Cancer.* 2017 Aug 8; 117(4): 451–460. doi: 10.1038/bjc.2017.220.
37. Hamid O., Schmidt H., Nissán A., Ridolfi L., Aamdal S., Hansson J., Guida M., Hyams D.M., Gómez H., Bastholt L., Chasalow S.D., Berman D. A prospective phase II trial exploring the association between tumor microenvironment biomarkers and clinical activity of ipilimumab in advanced melanoma. *J Transl Med.* 2011 Nov 28; 9: 204. doi: 10.1186/1479-5876-9-204.
38. Tume H., Chmielowski B., Spasic M., Henry G., Ciobanu V., West A.N., Carmona M., Kivork C., Seja E., Cherry G., Gutierrez A.J., Grogan T.R., Mateus C., Tomasic G., Glaspy J.A., Emerson R.O., Robins H., Pierce R.H., Elashoff D.A., Robert C., Ribas A. PD-1 blockade induces responses by inhibiting adaptive immune resistance. *Nature.* 2014 Nov; 515(7528): 568–71. doi: 10.1038/nature13954.
39. Gettinger S.N., Choi J., Mani N., Sanmamed M.F., Datar I., Sowell R., Du Y.Y., Kaftan E., Goldberg S., Dong W., Zelterman D., Politi K., Kavathas P., Kaech S., Yu X., Zhao H., Schlessinger J., Lifton R., Rimm D.L., Chen L., Herbst R.S., Schalper K.A. A dormant TIL phenotype defines non-small cell lung carcinomas sensitive to immune checkpoint blockers. *Nat Commun.* 2018 Aug 10; 9(1): 3196. doi: 10.1038/s41467-018-05032-8.
40. Sade-Feldman M., Yizhak K., Bjorgaard S.L., Ray J.P., de Boer C.G., Jenkins R.W., Lieb D.J., Chen J.H., Frederick D.T., Barzilay-Rokni M., Freeman S.S., Reuben A., Hoover P.J., Villani A.C., Ivanova E., Portelli A., Lizotte P.H., Aref A.R., Eliane J.P., Hammond M.R., Vitzthum H., Blackmon S.M., Li B., Gopalakrishnan V., Reddy S.M., Cooper Z.A., Pawelec C.P., Barbie D.A., Stemmer-Rachamimov A., Flaherty K.T., Wargo J.A., Boland G.M., Sullivan R.J., Getz G., Hacohen N. Defining T Cell States Associated with Response to Checkpoint Immunotherapy in Melanoma. *Cell.* 2018 Nov 1; 175(4): 998–1013.e20. doi: 10.1016/j.cell.2018.10.038.
41. Ayers M., Lunceford J., Nebozhyn M., Murphy E., Loboda A., Kaufman D.R., Albright A., Cheng J.D., Kang S.P., Shankaran V., Piha-Paul S.A., Yearley J., Seiwert T.Y., Ribas A., McClanahan T.K. IFN- γ -related mRNA profile predicts clinical response to PD-1 blockade. *J Clin Invest.* 2017 Aug; 127(8): 2930–40. doi: 10.1172/JCI91190.
42. Jerby-Aron L., Shah P., Cuoco M.S., Rodman C., Su M.J., Melms J.C., Leeson R., Kanodia A., Mei S., Lin J.R., Wang S., Rabasha B., Liu D., Zhang G., Margolis C., Ashenberg O., Ott P.A., Buchbinder E.I., Haq R.,

Hodi F.S., Boland G.M., Sullivan R.J., Frederick D.T., Miao B., Moll T., Flaherty K.T., Herlyn M., Jenkins R.W., Thummalapalli R., Kowalczyk M.S., Cañadas I., Schilling B., Cartwright A.N.R., Luoma A.M., Malu S., Hwu P., Bernatchez C., Forget M.A., Barbie D.A., Shalek A.K., Tirosh I., Sorger P.K., Wucherpfennig K., Van Allen E.M., Schadendorf D., Johnson B.E., Rotem A., Rozenblatt-Rosen O., Garraway L.A., Yoon C.H., Izar B., Regev A. A Cancer Cell Program Promotes T Cell Exclusion and Resistance to Checkpoint Blockade. *Cell*. 2018 Nov 1; 175(4): 984–997.e24. doi: 10.1016/j.cell.2018.09.006.

43. Kalaora S., Lee J.S., Barnea E., Levy R., Greenberg P., Alon M., Yagel G., Bar Eli G., Oren R., Peri A., Patkar S., Bitton L., Rosenberg S.A., Lotem M., Levin Y., Admon A., Rupp E., Samuels Y. Immunoproteasome expression is associated with better prognosis and response to checkpoint therapies in melanoma. *Nat Commun*. 2020; 11(1): 896. doi: 10.1038/s41467-020-14639-9.

44. Spassova I., Ugurel S., Terheyden P., Sucker A., Hassel J.C., Ritter C., Kubat L., Habermann D., Farahpour F., Saeedghalati M., Peiffer L., Kumar R., Schrama D., Hoffmann D., Schadendorf D., Becker J.C. Prevalence of Central Memory T Cells with High T-Cell Receptor Repertoire Diversity is Associated with Response to PD-1/PD-L1 Inhibition in Merkel Cell Carcinoma. *Clin Cancer Res*. 2020; 26(9): 2257–67. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-19-2244.

45. Wind T.T., Gacesa R., Vich Vila A., de Haan J.J., Jalving M., Weersma R.K., Hospers G.A.P. Gut microbial species and metabolic pathways associated with response to treatment with immune checkpoint inhibitors in metastatic melanoma. *Melanoma Res*. 2020 Jun; 30(3): 235–246. doi: 10.1097/CMR.0000000000000656.

46. Tinsley N., Zhou C., Tan G., Rack S., Lorigan P., Blackhall F., Krebs M., Carter L., Thistlethwaite F., Graham D., Cook N. Cumulative Antibiotic Use Significantly Decreases Efficacy of Checkpoint Inhibitors in Patients with Advanced Cancer. *Oncologist*. 2020 Jan; 25(1): 55–63. doi: 10.1634/theoncologist.2019-0160.

47. Bersanelli M., Buti S., Banna G.L., De Giorgi U., Cortellini A., Rebuzzi S.E., Tiseo M., Fornarini G., Mazzoni F., Panni S., Tursi M., Marino P.D., Rossetti S., Rossi E., Tomao S., Luca E., Sorarù M., Mucciarini C., Atzori F., Torre L., Vitale M.G., Martelli V., Sepe P., Mollica V., Vaccaro V., Schinzari G., Ficorella C., Massari F., Maestri A., Sabbatini R., Sava T., Maio M.D., Verzoni E., Procopio G., Giannarelli D. Impact of influenza syndrome and flu vaccine on survival of cancer patients during immunotherapy in the INVIDIA study. *Immunotherapy*. 2020 Feb; 12(2): 151–159. doi: 10.2217/imt-2019-0180.

48. Newman J.H., Chesson C.B., Herzog N.L., Bommarreddy P.K., Aspromonte S.M., Pepe R., Estupinian R., Aboelatta M.M., Buddhadev S., Tarabichi S., Lee M., Li S., Medina D.J., Giurini E.F., Gupta K.H., Guevara-Aleman G., Rossi M., Nowicki C., Abed A., Goldufsky J.W., Broucek J.R., Redondo R.E., Rotter D., Jhawar S.R., Wang S.J., Kohlhapp F.J., Kaufman H.L., Thomas P.G., Gupta V., Kuzel T.M., Reiser J., Paras J., Kane M.P., Singer E.A., Malhotra J., Denzin L.K., Sant'Angelo D.B., Rabson A.B., Lee L.Y., Lasfar A., Langenfeld J., Schenkel J.M., Fidler M.J., Ruiz E.S., Marzo A.L., Rudra J.S., Silk A.W., Zloza A. Intratumoral injection of the seasonal flu shot converts immunologically cold tumors to hot and serves as an immunotherapy for cancer. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2020; 117(2): 1119–1128. doi: 10.1073/pnas.1904022116.

Поступила/Received 24.04.2020
Принята в печать/Accepted 23.06.2020

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Янус Григорий Аркадьевич, кандидат медицинских наук, младший научный сотрудник, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). SPIN-код: 7502-5907. Researcher ID (WOS): E-4260-2018. Author ID (Scopus): 36011349100. ORCID: 0000-0002-9844-4536.

Ивлева Аглия Геннадьевна, кандидат медицинских наук, научный сотрудник, НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). Researcher ID (WOS): P-8305-2016. Author ID (Scopus): 6506417697. ORCID: 0000-0001-5454-5186.

Суспицын Евгений Николаевич, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник, НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). SPIN-код: 2362-6304. Researcher ID (WOS): P-9775-2016. Author ID (Scopus): 6603370186. ORCID: 0000-0001-9764-2090.

Тюрин Владислав Ильич, врач-лабораторный генетик, НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). Researcher ID (WOS): AAN-4623-2020. Author ID (Scopus): 56501760600. ORCID: 0000-0002-0157-5952.

Бизин Илья Валерьевич, кандидат технических наук, научный сотрудник, НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). SPIN-код: 5471-6185. Researcher ID (WOS): Q-7135-2017. Author ID (Scopus): 56938631000. ORCID: 0000-0002-2216-4845.

Горустович Ольга Анатольевна, кандидат медицинских наук, НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). SPIN-код: 7423-5368.

Ни Валерия Игоревна, лаборант-исследователь, НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). Author ID (Scopus): 57208783909.

Холматов Максим Михайлович, лаборант-исследователь, НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). Author ID (Scopus): 57203189429. ORCID: 0000-0002-4201-8124.

Лайдус Татьяна Александровна, лаборант-исследователь, НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). ORCID: 0000-0003-4988-1796.

Чуйнышева Светлана Андреевна, лаборант, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия).

Алексахина Светлана Николаевна, кандидат медицинских наук, научный сотрудник, НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). SPIN-код: 6898-4687. Researcher ID (WOS): B-2136-2013. Author ID (Scopus): 56003023200. ORCID: 0000-0002-2149-7728.

Имянитов Евгений Наумович, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, заведующий научным отделом биологии опухолевого роста, НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). SPIN-код: 1909-7323. Author ID (Scopus): 7003644486. ORCID: 0000-0003-4529-7891.

ВКЛАД АВТОРОВ

Янус Григорий Аркадьевич: разработка концепции научной работы, составление черновика статьи, поиск и анализ данных литературы.

Ивлева Аглия Геннадьевна: разработка концепции научной работы, составление черновика статьи, критический анализ работы и редактирование текста с внесением ценного интеллектуального содержания.

Суспицын Евгений Николаевич: поиск и анализ данных литературы.

Тюрин Владислав Ильич: поиск и анализ данных литературы.

Бизин Илья Валерьевич: поиск и анализ данных литературы.

Горустович Ольга Анатольевна: подходы к оценке иммунологического статуса организма и опухоли.

Ни Валерия Игоревна: подходы к оценке иммунологического статуса организма и опухоли

Холматов Максим Михайлович: поиск и анализ данных литературы.

Лайдус Татьяна Александровна: подходы к оценке иммунологического статуса организма и опухоли.

Чуйнышева Светлана Андреевна: подходы к оценке иммунологического статуса организма и опухоли.

Алексахина Светлана Николаевна: поиск и анализ данных литературы.

Имянитов Евгений Наумович: критический анализ работы и редактирование текста с внесением ценного интеллектуального содержания.

Финансирование

Данная работа поддержана грантом РНФ 17-75-30027. В.И. Тюрин внес вклад в работу при поддержке грантом РФФИ № 18-315-00437.

Конфликт интересов

Авторы объявляют, что у них нет конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Grigory A. Yanus, MD, PhD, St. Petersburg State Pediatric Medical University (St. Petersburg, Russia). Researcher ID (WOS): E-4260-2018. Author ID (Scopus): 36011349100. ORCID: 0000-0002-9844-4536.

Aglaya G. Ievleva, MD, PhD, Researcher, N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology (St. Petersburg, Russia). Researcher ID (WOS): P-8305-2016. Author ID (Scopus): 6506417697. ORCID: 0000-0001-5454-5186.

Evgeny N. Suspitsin, MD, PhD, Senior Researcher, N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology (St. Petersburg, Russia). Researcher ID (WOS): P-9775-2016. Author ID (Scopus): 6603370186. ORCID: 0000-0001-9764-2090.

Vladislav I. Tyurin, MD, Physician-Laboratory Geneticist, N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology (St. Petersburg, Russia). Researcher ID (WOS): AAH-4623-2020. Author ID (Scopus): 56501760600. ORCID: 0000-0002-0157-5952.

Ilya V. Bizin, PhD, Researcher, N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology (St. Petersburg, Russia). Researcher ID (WOS): Q-7135-2017. Author ID (Scopus): 56938631000. ORCID: 0000-0002-2216-4845.

Olga A. Gorustovich, MD, PhD, N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology (St. Petersburg, Russia).

Valeria I. Ni, Laboratory Assistant, N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology (St. Petersburg, Russia). Author ID (Scopus): 57208783909.

Maxim M. Kholmato, Laboratory Assistant, N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology (St. Petersburg, Russia). Author ID (Scopus): 57203189429. ORCID: 0000-0002-4201-8124.

Tatiana A. Laidus, Laboratory Assistant, N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology (St. Petersburg, Russia). ORCID: 0000-0003-4988-1796.

Svetlana A. Chuynysheva, Laboratory Assistant, St. Petersburg State Pediatric Medical University (St. Petersburg, Russia).

Svetlana N. Aleksakhina, MD, PhD, N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology (St. Petersburg, Russia). Researcher ID (WOS): B-2136-2013. Author ID (Scopus): 56003023200. ORCID: 0000-0002-2149-7728.

Evgeny N. Imyanitov, MD, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Head of the Department of Tumor Growth Biology, N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology (St. Petersburg, Russia). Author ID (Scopus): 7003644486. ORCID: 0000-0003-4529-7891.

AUTHOR CONTRIBUTION

Grigory A. Yanus: literature search and data analysis.

Aglaya G. Ievleva: text editing, critical revision for the important intellectual content.

Evgeny N. Suspitsin: literature search and data analysis.

Vladislav I. Tyurin: literature search and data analysis, search and analysis of literature data.

Ilya V. Bizin: search and analysis of literature data.

Olga A. Gorustovich: search and analysis of literature data.

Valeria I. Ni: search and analysis of literature data.

Maxim M. Kholmato: search and analysis of literature data.

Svetlana A. Chuynysheva: search and analysis of literature data.

Tatiana A. Laidus: search and analysis of literature data.

Svetlana N. Aleksakhina: search and analysis of literature data.

Evgeny N. Imyanitov: text editing, critical revision for the important intellectual content.

Funding

This study was supported by a grant from the Russian Science Foundation 17-75-30027. IN AND. V. Tyurin contributed to the study with the support of the RFBR grant No. 18-315-00437.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

Для цитирования: Митюшкина Н.В., Степанов И.А., Юрлов Д.О., Филиппова Е.А., Одинцова С.В., Ложкина А.М., Орлов С.В., Иевлева А.Г. Клиническая эффективность таргетной терапии в отношении метастатического рака лёгкого с различными типами транслокаций гена ALK. Сибирский онкологический журнал. 2020; 19(4): 132–137. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-4-132-137.

For citation: Mitiushkina N.V., Stepanov I.A., Yurlov D.O., Filippova E.A., Odintsova S.V., Lozhkina A.M., Orlov S.V., Iyevleva A.G. Clinical efficacy of targeted therapy towards metastatic lung cancer carrying distinct types of ALK rearrangements. Siberian Journal of Oncology. 2020; 19(4): 132–137. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-4-132-137.

КЛИНИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ТАРГЕТНОЙ ТЕРАПИИ В ОТНОШЕНИИ МЕТАСТАТИЧЕСКОГО РАКА ЛЁГКОГО С РАЗЛИЧНЫМИ ТИПАМИ ТРАНСЛОКАЦИЙ ГЕНА ALK

Н.В. Митюшкина¹, И.А. Степанов^{1,2}, Д.О. Юрлов¹, Е.А. Филиппова³,
С.В. Одинцова³, А.М. Ложкина³, С.В. Орлов^{3,4}, А.Г. Иевлева^{1,2}

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

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет»
Минздрава России, г. Санкт-Петербург, Россия²

Россия, 194100, г. Санкт-Петербург, ул. Литовская, 2²

ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет
им. академика И.П. Павлова» Минздрава России, г. Санкт-Петербург, Россия³

Россия, 197022, г. Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 6–8³

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицинской приматологии», г. Сочи, Россия⁴
Россия, 354376, г. Сочи, Адлерский район, с. Весёлое, ул. Мира, 177⁴

Аннотация

Актуальность. Транслокации рецепторной тирозинкиназы ALK встречаются примерно в 5–9 % аденокарцином лёгкого. Применение ингибиторов данной киназы, как правило, сопровождается выраженным ответом опухоли на лечение. Тем не менее глубина и длительность эффекта таргетной терапии варьируют от пациента к пациенту. **Цель исследования** – обобщить имеющиеся сведения о причастности различных типов транслокаций ALK к формированию ответа на лечение ингибиторами ALK. **Материал и методы.** В обзоре представлены результаты опубликованных в базе данных PubMed лабораторных и клинических работ, посвященных указанной проблеме, а также собственных исследований. **Результаты.** Эксперименты на клеточных культурах продемонстрировали, что структура транслокации ALK влияет на свойства химерного белкового продукта, в частности на его стабильность и чувствительность к воздействию кризотинибом. Немногочисленные выполненные до сих пор клинические исследования, оценивающие эффект ингибиторов ALK в зависимости от типа перестройки, имели разнородные результаты. Если в части работ были обнаружены ассоциации между «короткими» вариантами транслокаций EML4-ALK и худшими показателями выживаемости при использовании кризотиниба в сравнении с вариантом EML4-ALK 1 типа, то другие авторы не наблюдали таких закономерностей. Анализ итогов лечения ингибиторами ALK 64 российских пациентов также не обнаружил влияния типа транслокации на длительность периода до прогрессирования заболевания или частоту объективных ответов. **Заключение.** В изученных выборках пациентов отмечались различные по своему характеру ассоциации, ни одна из которых не отличалась воспроизводимостью. Таким образом, варианты перестроек ALK нельзя рассматривать в качестве предиктивного фактора ответа на ALK-специфическую терапию.

Ключевые слова: рак легкого, транслокации ALK, кризотиниб, церитиниб, алектиниб.

CLINICAL EFFICACY OF TARGETED THERAPY TOWARDS METASTATIC LUNG CANCER CARRYING DISTINCT TYPES OF ALK REARRANGEMENTS

N.V. Mitiushkina¹, I.A. Stepanov^{1,2}, D.O. Yurlov¹, E.A. Filippova³,
S.V. Odintsova³, A.M. Lozhkina³, S.V. Orlov^{3,4}, A.G. Iyevleva^{1,2}

N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology, Saint-Petersburg, Russia¹
68, Leningradskaya Street, Pesochny, 197758-Saint-Petersburg, Russia.

E-mail: aglayai@inbox.ru¹

Saint-Petersburg State Pediatric Medical University, Saint-Petersburg, Russia²
2, Litovskaya Street, 194100-Saint-Petersburg, Russia²

I.P. Pavlov First Saint-Petersburg State Medical University, Saint-Petersburg, Russia³

6-8, Lva Tolstogo Street, 197022-Saint-Petersburg, Russia³

Research Institute of Medical Primatology, Sochi, Russia⁴

177, Mira Street, Adlersky District, Veseloe, 354376-Sochi, Russia⁴

Abstract

Introduction. Translocations of ALK receptor tyrosine kinase occur in approximately 5–9 % of lung adenocarcinomas. The use of ALK inhibitors usually results in the reduction of tumor size. Nevertheless, the extent and duration of response can vary significantly. **The aim of the study** is to summarize the available information on the predictive role of various types of ALK translocations in response to ALK inhibitors. **Material and methods.** The review presents the data from relevant laboratory and clinical studies published in PubMed database, as well as the authors' own results. **Results.** A number of experiments on cell cultures have demonstrated that the structure of ALK fusion affects the properties of the resulting chimeric protein, in particular its stability and sensitivity to crizotinib action. The few available clinical trials, evaluating the effect of ALK inhibitors depending on the type of translocation, showed heterogeneous results. While some of them detected associations between the so-called «short» variants of EML4-ALK rearrangements and worse survival when using crizotinib in comparison with the EML4-ALK type 1 variant, the others failed to confirm these observations. The study of 64 Russian patients receiving ALK inhibitors also did not support the effect of different ALK translocation variants on progression-free survival or objective response rate. **Conclusions.** There is a diversity of reported associations, with none of them characterized by sufficient reproducibility. Current evidences do not support the predictive role of ALK variants.

Key words: lung cancer, ALK translocation, crizotinib, ceritinib, alectinib.

Введение

Современные принципы лечения рака легкого (РЛ) включают обязательное тестирование аденокарцином на наличие молекулярных мишеней для таргетной терапии – мутаций EGFR и перестроек ALK и ROS1. Активирующие транслокации ALK были идентифицированы в 2007 г. в ходе поиска новых ключевых для патогенеза рака легкого генов [1, 2]. Оказалось, что они обнаруживаются в 5–9 % аденокарцином легкого, при этом чаще встречаются у молодых, некурящих пациентов и, как правило, не сочетаются с другими «драйверными» генетическими событиями, такими как мутации EGFR или KRAS [3–6]. Первым препаратом, одобренным для терапии ALK-позитивного РЛ, стал кризотиниб, который разрабатывался как ингибитор тирозинкиназы MET, однако продемонстрировал выраженную активность и в отношении ALK, что стало основанием для включения пациентов с транслокациями ALK в проходящие в то время клинические испытания [7–10]. Дальнейшие исследования подтвердили высокую эффективность кризотиниба при ALK-

зависимых опухолях и установили преимущество его использования как в первой, так и в последующих линиях лечения [11, 12]. Следующие поколения ингибиторов ALK (церитиниб, алектиниб, лорлатиниб, бригатииниб) разрабатывались уже прицельно для блокировки именно этой молекулы и проявляют эффективность даже в отношении резистентных к кризотинибу РЛ [13].

Разнообразие и возможная предиктивная роль вариантов перестроек ALK

Наличие транслокации ALK в опухоли является необходимым условием для назначения ALK-ингибиторов. Вскоре после открытия данной транслокации было установлено, что существует не менее 20 возможных вариантов активирующих перестроек ALK с участием разных генов-партнёров, наиболее часто – с участием гена EML4. До 90 % всех химерных белков составляют три типа транслокаций EML4-ALK: варианты 1 и 3, на долю каждого из которых приходится по

30–40 % перестроек, и вариант 2 (около 10 %) [14, 15]. Детекция транслокаций возможна при помощи ПЦР-амплификации отдельных типов химерных транскриптов, флуоресцентной гибридизации *in situ* (Fluorescence in Situ Hybridization – FISH), а также при помощи иммуногистохимической оценки гиперэкспрессии белка ALK. В большинстве посвящённых ALK исследований использовался метод FISH [16, 17]. Применяемая разновидность методики («break-apart FISH») позволяет зафиксировать пространственное разделение сигналов, соответствующих в норме рядом расположенным 5'- и 3'-фрагментам гена ALK, то есть обнаружить сам факт присутствия перестройки, однако не определяет конкретный тип транслокации. Вместе с тем отдельные наблюдения свидетельствуют о возможных отличиях в чувствительности клеток с разными типами перестроек к воздействию ингибиторов ALK. При изучении транслокаций EML4-ALK M.W. Richards et al. [18, 19] обнаружили, что присутствие домена TAPE (tandem typical beta-propeller in EML protein) в химерном продукте влияет на стабильность белка и на чувствительность к ингибиторам Hsp90. По данным ряда исследований на клеточных линиях, короткие варианты транслокаций без TAPE-домена (V.3a/b и 5a/b) демонстрируют сниженную чувствительность к кризотинибу по сравнению с более длинными TAPE-содержащими типами EML4-ALK (V.1, 2 и др.) [18–23]. В работе J.M. Neuckmann et al. [24] кризотиниб был наиболее эффективен в отношении клеток, экспрессирующих EML4-ALK V.2, наименее эффективен для варианта 3a, в то время как V.1 и V.3b характеризовались промежуточной чувствительностью к воздействию препарата. Количество клинических исследований, анализирующих связь между типом транслокации и ответом на ингибиторы ALK, невелико, что связано с преимущественным использованием методик, не позволяющих дифференцировать варианты перестроек – FISH и/или иммуногистохимии – для тестирования статуса ALK. В некоторых работах тем не менее оценивалась связь между типом химерного белка и эффектом анти-ALK терапии. Большинство из них выполнялось в странах Восточной Азии, так как в этом регионе рекомендации по тестированию ALK допускают использование ПЦР-методик [25]. В 2016 г. T. Yoshida et al. [26] было показано, что в 19 случаях РЛ с 1 типом EML4-ALK при лечении кризотинибом безрецидивная выживаемость была значительно выше (медиана 11.0 мес), чем у 16 больных с другими вариантами перестроек (4,2 мес.). В работе C.G. Woo et al. [22] среди 54 обследованных пациентов двухлетняя выживаемость составила 76 % у больных с TAPE-содержащими вариантами (V.1, 2 и др.) и 26,4 % – при наличии вариантов 3a/b в опухоли. Y. Li et al. [27] обнаружили, что в группе из 60 больных ALK-позитивным РЛ, получавших кризотиниб, при EML4-ALK V.2

наблюдался наиболее продолжительный, а при варианте 3 – наименьший безрецидивный период. Напротив, в исследованиях Y.Y. Lei et al. [28] (61 ALK-позитивных РЛ) и Y.J. Cha et al. [29] (52 ALK-позитивных РЛ) авторы не выявили различий в объективном ответе на ингибиторы ALK и/или длительности времени до прогрессирования в зависимости от типа транслокации ALK.

До настоящего момента было опубликовано всего несколько работ, анализирующих отличия в чувствительности разных типов перестроек ALK к таргетной терапии у пациентов европейского происхождения. A. McLeer-Florin et al. [30] зафиксировали более длительный безрецидивный период у 6 больных с EML4-ALK вариантами 1/2/иными по сравнению с 8 случаями с третьим типом перестроек. В исследовании J.J. Lin et al. [31] не было обнаружено существенных отличий в результатах лечения кризотинибом пациентов с EML4-ALK V.1 (n=51) и V.3 (n=48). Одновременно с этим безрецидивный период оказался продолжительнее в случаях с третьим вариантом транслокации при терапии лорлатинибом. По данным ещё одного недавнего исследования, включившего 67 ALK-позитивных РЛ, EML4-ALK V.3 ассоциировался с более агрессивным течением заболевания, меньшим безрецидивным периодом при применении ингибиторов ALK и меньшей общей выживаемостью [32]. Дальнейшее уточнение предиктивной значимости отдельных типов транслокаций ALK – актуальная задача, решение которой может повлиять на выбор методов молекулярного тестирования данной перестройки при РЛ.

Краткое изложение результатов исследования российских пациентов

В диагностическую практику некоторых российских лабораторий входит рутинное определение вариантов транслокаций ALK [33, 34]. Это сделало возможным выполнение российского исследования, посвящённого предиктивной роли особенностей реаранжировок данной тирозинкиназы [35]. Из 64 включённых в исследование пациентов 53 проходили лечение в Первом Санкт-Петербургском государственном медицинском университете им. академика И.П. Павлова, 5 больных – в Клиническом научно-практическом онкологическом центре (г. Санкт-Петербург), 6 – в Городском клиническом онкологическом диспансере (г. Санкт-Петербург). В исследование вошли только пациенты, ранее не подвергавшиеся терапии тирозинкиназными ингибиторами. Тридцать семь больных получали ингибиторы ALK в I линии лечения, 20 больных – во II, 7 – в III линии. В 23 случаях пациенты принимали кризотиниб, в 39 – церитиниб, в 2 – алектиниб.

Специфический вариант перестройки ALK удалось определить при помощи ПЦР в 61 из 64 случаев. В трех образцах присутствие транслокаций было продемонстрировано методами оценки несбалансированной экспрессии 5'/3' – транскриптов

ALK и FISH, однако конкретный тип перестройки не мог быть идентифицирован набором наиболее частых вариант-специфичных ПЦР-тестов [34]. Более чем в половине случаев, у 33 из 64 больных (51,6 %), был обнаружен вариант 1 EML4-ALK, на втором месте по частоте оказался вариант 3 EML4-ALK (16/64, 25 %), остальные типы транслокаций наблюдались в единичных случаях. Вариант EML4ex13/ALKex20 (V.1), продемонстрировавший в ранее опубликованных исследованиях наилучший ответ на терапию, был выявлен у 33 больных. Частота объективных ответов при данной транслокации составляла 76 %, медиана времени без прогрессирования – 19 мес. Пациенты с другими вариантами транслокаций демонстрировали ответ на лечение в 81 % случаев, а длительность времени без прогрессирования составляла 21 мес. Помимо анализа результатов лечения у пациентов с EML4ex13/ALKex20 (V.1), анализировалась эффективность терапии в зависимости от присутствия в химерном гене TAPE-домена [18]. Выделение в отдельные группы «длинных» и «коротких» вариантов транслокаций также не выявило различий в ответе опухолей на ингибиторы ALK. Церитиниб демонстрировал большую частоту ответов по сравнению с кризотинибом вне зависимости от варианта транслокации ALK [35]. Примечательно, что длительность периода без прогрессирования не зависела от того, получали ли пациенты до ALK-ингибиторов лечение цитостатиками, или таргетные препараты назначались уже в первой линии терапии. Общая продолжительность жизни также не зависела от типа транслокации ALK [35].

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Soda M., Choi Y.L., Enomoto M., Takada S., Yamashita Y., Ishikawa S., Fujiwara S., Watanabe H., Kurashina K., Hatanaka H., Bando M., Ohno S., Ishikawa Y., Aburatani H., Niki T., Sohara Y., Sugiyama Y., Mano H. Identification of the transforming EML4-ALK fusion gene in non-small-cell lung cancer. *Nature*. 2007 Aug 2; 448(7153): 561–6. doi: 10.1038/nature05945.
2. Rikova K., Guo A., Zeng Q., Possemato A., Yu J., Haack H., Nardone J., Lee K., Reeves C., Li Y., Hu Y., Tan Z., Stokes M., Sullivan L., Mitchell J., Wetzel R., Macneill J., Ren J.M., Yuan J., Bakalarski C.E., Villen J., Kornhauser J.M., Smith B., Li D., Zhou X., Gygi S.P., Gu T.L., Polakiewicz R.D., Rush J., Comb M.J. Global survey of phosphotyrosine signaling identifies oncogenic kinases in lung cancer. *Cell*. 2007 Dec 14; 131(6): 1190–203. doi: 10.1016/j.cell.2007.11.025.
3. Hsu K.H., Ho C.C., Hsia T.C., Tseng J.S., Su K.Y., Wu M.F., Chiu K.L., Yang T.Y., Chen K.C., Ooi H., Wu T.C., Chen H.J., Chen H.Y., Chang C.S., Hsu C.P., Hsia J.Y., Chuang C.Y., Lin C.H., Chen J.J., Chen K.Y., Liao W.Y., Shih J.Y., Yu S.L., Yu C.J., Yang P.C., Chang G.C. Identification of five driver gene mutations in patients with treatment-naïve lung adenocarcinoma in Taiwan. *PLoS One*. 2015 Mar 19; 10(3): e0120852. doi: 10.1371/journal.pone.0120852.
4. Kris M.G., Johnson B.E., Berry L.D., Kwiatkowski D.J., Iafrate A.J., Wistuba I.I., Varella-Garcia M., Franklin W.A., Aronson S.L., Su P.F., Shyr Y., Camidge D.R., Sequist L.V., Glisson B.S., Khuri F.R., Garon E.B., Pao W., Rudin C., Schiller J., Haura E.B., Socinski M., Shirai K., Chen H., Giaccone G., Ladanyi M., Kugler K., Minna J.D., Bunn P.A. Using multiplexed assays of oncogenic drivers in lung cancers to select targeted drugs. *JAMA*. 2014 May 21; 311(19): 1998–2006. doi: 10.1001/jama.2014.3741.
5. Barlesi F., Mazieres J., Merlio J.P., Debievre D., Mosser J., Lena H., Ouafik L., Besse B., Rouquette I., Westeel V., Escande F., Monnet I., Lemoine A., Veillon R., Blons H., Audigier-Valette C., Bringuier P.P., Lamy R., Beau-Faller M., Pujol J.L., Sabourin J.C., Penault-Llorca F., Denis M.G., Lantuejoul S., Morin F., Tran Q., Missy P., Langlais A., Milleron B., Cadranel J., Soria J.C., Zalcman G.; Biomarkers France contributors. Routine molecular profiling of patients with advanced non-small-cell lung cancer: results of a 1-year nationwide programme of the French Cooperative Thoracic Intergroup (IFCT). *Lancet*. 2016 Apr 2; 387(10026): 1415–1426. doi: 10.1016/S0140-6736(16)00004-0.
6. Gervas P., Ivanova A., Vasiliev N., Ananina O., Cheremisina O., Popova N., Goldberg V., Choyznzonov E., Cherdynseva N., Zharkova O., Rogovieva O., Verzhbitskaya N., Didichuk I., Cherdynseva E. Frequency of EGFR mutations in non-small cell lung cancer patients: screening data from West Siberia. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2015; 16(2): 689–692. doi: 10.7314/APJCP.2015.16.2.689.
7. Christensen J.G., Zou H.Y., Arango M.E., Li Q., Lee J.H., McDonnell S.R., Yamazaki S., Alton G.R., Mroczkowski B., Los G. Cytoreductive antitumor activity of PF-2341066, a novel inhibitor of anaplastic lymphoma kinase and c-Met, in experimental models of anaplastic large-cell lymphoma. *Mol Cancer Ther*. 2007 Dec; 6(12 Pt 1): 3314–22. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-07-0365.
8. Zou H.Y., Li Q., Lee J.H., Arango M.E., McDonnell S.R., Yamazaki S., Koudriakova T.B., Alton G., Cui J.J., Kung P.P., Nambu M.D., Los G., Bender S.L., Mroczkowski B., Christensen J.G. An orally available small-molecule inhibitor of c-Met, PF-2341066, exhibits cytoreductive antitumor efficacy through antiproliferative and antiangiogenic mechanisms. *Cancer Res*. 2007 May 1; 67(9): 4408–17. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-06-4443.
9. Camidge D.R., Bang Y.J., Kwak E.L., Iafrate A.J., Varella-Garcia M., Fox S.B., Riely G.J., Solomon B., Ou S.H., Kim D.W., Salgia R., Fidias P., Engelman J.A., Gandhi L., Jänne P.A., Costa D.B., Shapiro G.I., Lorusso P.

Перспективы исследований предиктивной роли вариантов транслокаций ALK

В противоположность мутациям EGFR встречаемость перестроек ALK примерно одинакова среди европейских и азиатских популяций, в соответствии с чем роль этнических отличий в изучаемых закономерностях, вероятно, несущественна. Тем не менее следует отметить, что распределение вариантов транслокаций ALK по частоте не полностью совпадает в разных выборках [22, 23, 27, 32, 35]. Маловероятно, что эти отличия связаны с методическими погрешностями, так как для идентификации отдельных вариантов в приведенных работах применялись такие надежные методы, как аллель-специфическая ПЦР или секвенирование нового поколения.

Совокупный анализ результатов опубликованных работ достаточно убедительно свидетельствует об отсутствии значительных отличий в чувствительности опухолей с разными типами перестроек ALK к таргетной терапии. Тем не менее представляется важным продолжить анализ с использованием большего числа тщательно отобранных подгрупп РЛ. Ожидаемая эффективность применения ALK-ингибиторов может иметь решающее значение для установления оптимальной последовательности таргетной и цитотоксической терапии. Например, из двух основных типов мутаций в гене EGFR – ex19del и L858R – первая отличается значительно более выраженной реакцией на ингибиторы EGFR. Как следствие, у пациентов с EGFRex19del отмечается явное улучшение показателей общей выживаемости в случае первоначального назначения таргетных препаратов, в то время как больные с EGFR L858R могут начинать лечение с химиотерапии [36]. Установление подобных закономерностей может оказаться полезным и для терапии пациентов с ALK-позитивным РЛ.

1. Soda M., Choi Y.L., Enomoto M., Takada S., Yamashita Y., Ishikawa S., Fujiwara S., Watanabe H., Kurashina K., Hatanaka H., Bando M., Ohno S., Ishikawa Y., Aburatani H., Niki T., Sohara Y., Sugiyama Y., Mano H. Identification of the transforming EML4-ALK fusion gene in non-small-cell lung cancer. *Nature*. 2007 Aug 2; 448(7153): 561–6. doi: 10.1038/nature05945.
2. Rikova K., Guo A., Zeng Q., Possemato A., Yu J., Haack H., Nardone J., Lee K., Reeves C., Li Y., Hu Y., Tan Z., Stokes M., Sullivan L., Mitchell J., Wetzel R., Macneill J., Ren J.M., Yuan J., Bakalarski C.E., Villen J., Kornhauser J.M., Smith B., Li D., Zhou X., Gygi S.P., Gu T.L., Polakiewicz R.D., Rush J., Comb M.J. Global survey of phosphotyrosine signaling identifies oncogenic kinases in lung cancer. *Cell*. 2007 Dec 14; 131(6): 1190–203. doi: 10.1016/j.cell.2007.11.025.
3. Hsu K.H., Ho C.C., Hsia T.C., Tseng J.S., Su K.Y., Wu M.F., Chiu K.L., Yang T.Y., Chen K.C., Ooi H., Wu T.C., Chen H.J., Chen H.Y., Chang C.S., Hsu C.P., Hsia J.Y., Chuang C.Y., Lin C.H., Chen J.J., Chen K.Y., Liao W.Y., Shih J.Y., Yu S.L., Yu C.J., Yang P.C., Chang G.C. Identification of five driver gene mutations in patients with treatment-naïve lung adenocarcinoma in Taiwan. *PLoS One*. 2015 Mar 19; 10(3): e0120852. doi: 10.1371/journal.pone.0120852.
4. Kris M.G., Johnson B.E., Berry L.D., Kwiatkowski D.J., Iafrate A.J., Wistuba I.I., Varella-Garcia M., Franklin W.A., Aronson S.L., Su P.F., Shyr Y., Camidge D.R., Sequist L.V., Glisson B.S., Khuri F.R., Garon E.B., Pao W., Rudin C., Schiller J., Haura E.B., Socinski M., Shirai K., Chen H., Giaccone G., Ladanyi M., Kugler K., Minna J.D., Bunn P.A. Using multiplexed assays of oncogenic drivers in lung cancers to select targeted drugs. *JAMA*. 2014 May 21; 311(19): 1998–2006. doi: 10.1001/jama.2014.3741.
5. Barlesi F., Mazieres J., Merlio J.P., Debievre D., Mosser J., Lena H., Ouafik L., Besse B., Rouquette I., Westeel V., Escande F., Monnet I., Lemoine A., Veillon R., Blons H., Audigier-Valette C., Bringuier P.P., Lamy R., Beau-Faller M., Pujol J.L., Sabourin J.C., Penault-Llorca F., Denis M.G., Lantuejoul S., Morin F., Tran Q., Missy P., Langlais A., Milleron B., Cadranel J., Soria J.C., Zalcman G.; Biomarkers France contributors. Routine molecular profiling of patients with advanced non-small-cell lung cancer: results of a 1-year nationwide programme of the French Cooperative Thoracic Intergroup (IFCT). *Lancet*. 2016 Apr 2; 387(10026): 1415–1426. doi: 10.1016/S0140-6736(16)00004-0.
6. Gervas P., Ivanova A., Vasiliev N., Ananina O., Cheremisina O., Popova N., Goldberg V., Choyznzonov E., Cherdynseva N., Zharkova O., Rogovieva O., Verzhbitskaya N., Didichuk I., Cherdynseva E. Frequency of EGFR mutations in non-small cell lung cancer patients: screening data from West Siberia. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2015; 16(2): 689–692. doi: 10.7314/APJCP.2015.16.2.689.
7. Christensen J.G., Zou H.Y., Arango M.E., Li Q., Lee J.H., McDonnell S.R., Yamazaki S., Alton G.R., Mroczkowski B., Los G. Cytoreductive antitumor activity of PF-2341066, a novel inhibitor of anaplastic lymphoma kinase and c-Met, in experimental models of anaplastic large-cell lymphoma. *Mol Cancer Ther*. 2007 Dec; 6(12 Pt 1): 3314–22. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-07-0365.
8. Zou H.Y., Li Q., Lee J.H., Arango M.E., McDonnell S.R., Yamazaki S., Koudriakova T.B., Alton G., Cui J.J., Kung P.P., Nambu M.D., Los G., Bender S.L., Mroczkowski B., Christensen J.G. An orally available small-molecule inhibitor of c-Met, PF-2341066, exhibits cytoreductive antitumor efficacy through antiproliferative and antiangiogenic mechanisms. *Cancer Res*. 2007 May 1; 67(9): 4408–17. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-06-4443.
9. Camidge D.R., Bang Y.J., Kwak E.L., Iafrate A.J., Varella-Garcia M., Fox S.B., Riely G.J., Solomon B., Ou S.H., Kim D.W., Salgia R., Fidias P., Engelman J.A., Gandhi L., Jänne P.A., Costa D.B., Shapiro G.I., Lorusso P.

- Ruffner K., Stephenson P., Tang Y., Wilner K., Clark J.W., Shaw A.T. Activity and safety of crizotinib in patients with ALK-positive non-small-cell lung cancer: updated results from a phase 1 study. *Lancet Oncol.* 2012 Oct; 13(10): 1011–9. doi: 10.1016/S1470-2045(12)70344-3.
10. Sahu A., Prabhaskar K., Noronha V., Joshi A., Desai S. Crizotinib: A comprehensive review. *South Asian J Cancer.* 2013 Apr; 2(2): 91–7. doi: 10.4103/2278-330X.110506.
11. Shaw A.T., Kim D.W., Nakagawa K., Seto T., Crinó L., Ahn M.J., De Pas T., Besse B., Solomon B.J., Blackhall F., Wu Y.L., Thomas M., O'Byrne K.J., Moro-Sibilot D., Camidge D.R., Mok T., Hirsh V., Riey G.J., Iyer S., Tassell V., Polli A., Wilner K.D., Jänne P.A. Crizotinib versus chemotherapy in advanced ALK-positive lung cancer. *N Engl J Med.* 2013; 368(25): 2385–94. doi: 10.1056/NEJMoa1214886.
12. Solomon B.J., Mok T., Kim D.W., Wu Y.L., Nakagawa K., Mekhail T., Felip E., Cappuzzo F., Paolini J., Usari T., Iyer S., Reisman A., Wilner K.D., Tursi J., Blackhall F.; PROFILE 1014 Investigators. First-line crizotinib versus chemotherapy in ALK-positive lung cancer. *N Engl J Med.* 2014; 371(23): 2167–77. doi: 10.1056/NEJMoa1408440.
13. Arbour K.C., Riey G.J. Diagnosis and Treatment of Anaplastic Lymphoma Kinase-Positive Non-Small Cell Lung Cancer. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2017; 31(1): 101–11. doi: 10.1016/j.hoc.2016.08.012.
14. Sasaki T., Rodig S.J., Chirieac L.R., Jänne P.A. The biology and treatment of EML4-ALK non-small cell lung cancer. *Eur J Cancer.* 2010 Jul; 46(10): 1773–80. doi: 10.1016/j.ejca.2010.04.002.
15. Morán T., Quiroga V., Gil Mde L., Vilà L., Pardo N., Carcereny E., Capdevila L., Muñoz-Mármol A.M., Rosell R. Targeting EML4-ALK driven non-small cell lung cancer (NSCLC). *Transl Lung Cancer Res.* 2013; 2(2): 128–41. doi: 10.3978/j.issn.2218-6751.2013.03.04.
16. Lindeman N.I., Cagle P.T., Beasley M.B., Chitale D.A., Dacic S., Giaccone G., Jenkins R.B., Kwiatkowski D.J., Saldivar J.S., Squire J., Thunnissen E., Ladanyi M. Molecular testing guideline for selection of lung cancer patients for EGFR and ALK tyrosine kinase inhibitors: guideline from the College of American Pathologists, International Association for the Study of Lung Cancer, and Association for Molecular Pathology. *J Thorac Oncol.* 2013 Jul; 8(7): 823–59. doi: 10.1097/JTO.0b013e318290868f.
17. Conde E., Taniere P., Lopez-Rios F. The anaplastic lymphoma kinase testing conundrum. *Expert Rev Mol Diagn.* 2015 Feb; 15(2): 161–3. doi: 10.1586/14737159.2015.997713.
18. Richards M.W., Law E.W., Rennalls L.P., Busacca S., O'Regan L., Fry A.M., Fennell D.A., Bayliss R. Crystal structure of EML1 reveals the basis for Hsp90 dependence of oncogenic EML4-ALK by disruption of an atypical β -propeller domain. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2014; 111(14): 5195–200. doi: 10.1073/pnas.1322892111.
19. Richards M.W., O'Regan L., Roth D., Montgomery J.M., Straube A., Fry A.M., Bayliss R. Microtubule association of EML proteins and the EML4-ALK variant 3 oncoprotein require an N-terminal trimerization domain. *Biochem J.* 2015; 467(3): 529–36. doi: 10.1042/BJ20150039.
20. Bayliss R., Choi J., Fennell D.A., Fry A.M., Richards M.W. Molecular mechanisms that underpin EML4-ALK driven cancers and their response to targeted drugs. *Cell Mol Life Sci.* 2016; 73(6): 1209–24. doi: 10.1007/s00018-015-2117-6.
21. Sabir S.R., Yeoh S., Jackson G., Bayliss R. EML4-ALK variants: biological and molecular properties, and the implications for patients. *Cancers (Basel).* 2017; 9(9): E118. doi: 10.3390/cancers9090118.
22. Woo C.G., Seo S., Kim S.W., Jang S.J., Park K.S., Song J.Y., Lee B., Richards M.W., Bayliss R., Lee D.H., Choi J. Differential protein stability and clinical responses of EML4-ALK fusion variants to various ALK inhibitors in advanced ALK-rearranged non-small cell lung cancer. *Ann Oncol.* 2017; 28(4): 791–7. doi: 10.1093/annonc/mdw693.
23. Noh K.W., Lee M.S., Lee S.E., Song J.Y., Shin H.T., Kim Y.J., Oh D.Y., Jung K., Sung M., Kim M., An S., Han J., Shim Y.M., Zo J.I., Kim J., Park W.Y., Lee S.H., Choi Y.L. Molecular breakdown: a comprehensive view of anaplastic lymphoma kinase (ALK)-rearranged non-small cell lung cancer. *J Pathol.* 2017; 243(3): 307–19. doi: 10.1002/path.4950.
24. Heuckmann J.M., Balke-Want H., Malchers F., Peifer M., Sos M.L., Koker M., Meder L., Lovly C.M., Heukamp L.C., Pao W., Küppers R., Thomas R.K. Differential protein stability and ALK inhibitor sensitivity of EML4-ALK fusion variants. *Clin Cancer Res.* 2012; 18(17): 4682–90. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-11-3260.
25. Murakami Y., Mitsudomi T., Yatabe Y. A Screening Method for the ALK Fusion Gene in NSCLC. *Front Oncol.* 2012 Mar 16; 2: 24. doi: 10.3389/fonc.2012.00024.
26. Yoshida T., Oya Y., Tanaka K., Shimizu J., Horio Y., Kuroda H., Sakao Y., Hida T., Yatabe Y. Differential Crizotinib Response Duration Among ALK Fusion Variants in ALK-Positive Non-Small-Cell Lung Cancer. *J Clin Oncol.* 2016 Oct; 34(28): 3383–9. doi: 10.1200/JCO.2015.65.8732.
27. Li Y., Zhang T., Zhang J., Li W., Yuan P., Xing P., Zhang Z., Chuai S., Li J., Ying J. Response to crizotinib in advanced ALK-rearranged non-small cell lung cancers with different ALK-fusion variants. *Lung Cancer.* 2018; 118: 128–133. doi: 10.1016/j.lungcan.2018.01.026.
28. Lei Y.Y., Yang J.J., Zhang X.C., Zhong W.Z., Zhou Q., Tu H.Y., Tian H.X., Guo W.B., Yang L.L., Yan H.H., Chen H.J., Xie Z., Su J., Han J.F., Wu Y.L. Anaplastic Lymphoma Kinase Variants and the Percentage of ALK-Positive Tumor Cells and the Efficacy of Crizotinib in Advanced NSCLC. *Clin Lung Cancer.* 2016 May; 17(3): 223–31. doi: 10.1016/j.clcc.2015.09.002.
29. Cha Y.J., Kim H.R., Shim H.S. Clinical outcomes in ALK-rearranged lung adenocarcinomas according to ALK fusion variants. *J Transl Med.* 2016; 14(1): 296. doi: 10.1186/s12967-016-1061-z.
30. McLeer-Florin A., Duruisseaux M., Pinsolle J., Dubourd S., Mondet J., Phillips Houlbracq M., Magnat N., Fauré J., Chatagnon A., de Fraipont F., Gaj Levra M., Toffart A.C., Ferretti G., Hainaut P., Brambilla E., Moro-Sibilot D., Lantuejoul S. ALK fusion variants detection by targeted RNA-next generation sequencing and clinical responses to crizotinib in ALK-positive non-small cell lung cancer. *Lung Cancer.* 2018; 116: 15–24. doi: 10.1016/j.lungcan.2017.12.004.
31. Lin J.J., Zhu V.W., Yoda S., Yeap B.Y., Schrock A.B., Dagogo-Jack I., Jessop N.A., Jiang G.Y., Le L.P., Gowen K., Stephens P.J., Ross J.S., Ali S.M., Miller V.A., Johnson M.L., Lovly C.M., Hata A.N., Gainor J.F., Iafrate A.J., Shaw A.T., Ou S.I. Impact of EML4-ALK Variant on Resistance Mechanisms and Clinical Outcomes in ALK-Positive Lung Cancer. *J Clin Oncol.* 2018; 36(12): 1199–1206. doi: 10.1200/JCO.2017.76.2294.
32. Christopoulos P., Endris V., Bozorgmehr F., Elsayed M., Kirchner M., Ristau J., Buchhalter J., Penzel R., Herth F.J., Hessel C.P., Eichhorn M., Muley T., Meister M., Fischer J.R., Rieken S., Warth A., Bischoff H., Schirmacher P., Stenzinger A., Thomas M. EML4-ALK fusion variant V3 is a high-risk feature conferring accelerated metastatic spread, early treatment failure and worse overall survival in ALK+ non-small cell lung cancer. *Int J Cancer.* 2018; 142(12): 2589–2598. doi: 10.1002/ijc.31275.
33. Mitushkina N.V., Iyevleva A.G., Poltoratskiy A.N., Ivantsov A.O., Togo A.V., Polyakov I.S., Orlov S.V., Matsko D.E., Novik V.I., Imyaninov E.N. Detection of EGFR mutations and EML4-ALK rearrangements in lung adenocarcinomas using archived cytological slides. *Cancer Cytopathol.* 2013; 121(7): 370–6. doi: 10.1002/cncy.21281.
34. Iyevleva A.G., Raskin G.A., Tiurin V.I., Sokolenko A.P., Mitushkina N.V., Aleksakhina S.N., Garifullina A.R., Strelkova T.N., Merkulov V.O., Ivantsov A.O., Kuligina E.Sh., Pozharitskiy K.M., Togo A.V., Imyaninov E.N. Novel ALK fusion partners in lung cancer. *Cancer Lett.* 2015; 362(1): 116–21. doi: 10.1016/j.canlet.2015.03.028.
35. Mitushkina N.V., Tiurin V.I., Iyevleva A.G., Kholmatov M.M., Filippova E.A., Moiseyenko F.V., Levchenko N.E., Sardaryan I.S., Odintsova S.V., Lozhkina A.M., Volkov N.M., Karaseva N.A., Moiseyenko V.M., Orlov S.V., Imyaninov E.N. Variability in lung cancer response to ALK inhibitors cannot be explained by the diversity of ALK fusion variants. *Biochimie.* 2018 Nov; 154: 19–24. doi: 10.1016/j.biochi.2018.07.018.
36. Reguart N., Remon J. Common EGFR-mutated subgroups (Del19/L858R) in advanced non-small-cell lung cancer: chasing better outcomes with tyrosine kinase inhibitors. *Future Oncol.* 2015; 11(8): 1245–57. doi: 10.2217/fon.15.15.

Поступила/Received 19.07.2019
Принята в печать/Accepted 30.08.2019

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Митюшкина Наталья Владимировна, кандидат биологических наук, научный сотрудник научной лаборатории молекулярной онкологии, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). ORCID: 0000-0002-0179-3191. Researcher ID (WOS): N-4855-2016. Author ID (Scopus): 8639200300.

Степанов Илья Александрович, лаборант-исследователь научной лаборатории молекулярной онкологии, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). ORCID: 0000-0001-6074-9775.

Юрлов Дмитрий Олегович, клинический ординатор отделения химиотерапии и инновационных технологий, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). ORCID: 0000-0001-8564-9199.

Филиппова Елена Александровна, кандидат медицинских наук, врач-онколог ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия).

Одинцова Светлана Валентиновна, кандидат медицинских наук, врач-онколог ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия).
Ложкина Александра Михайловна, кандидат медицинских наук, врач-онколог ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия).
Орлов Сергей Владимирович, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, директор ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицинской приматологии» (г. Сочи, Россия).
Иевлева Аглия Геннадьевна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник научной лаборатории молекулярной онкологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). ORCID: 0000-0001-5454-5186. Researcher ID (WOS): P-8305-2016. Author ID (Scopus): 6506417697.

ВКЛАД АВТОРОВ

Митюшкина Наталья Владимировна: концепция научной работы, составление черновика рукописи.
Степанов Илья Александрович: отбор и анализ научной литературы, критический пересмотр рукописи.
Юрлов Дмитрий Олегович: отбор и анализ научной литературы, критический пересмотр рукописи.
Филиппова Елена Александровна: сбор и обработка клинических данных, статистическая обработка, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.
Одинцова Светлана Валентиновна: сбор и обработка клинических данных, статистическая обработка, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.
Ложкина Александра Михайловна: сбор и обработка клинических данных, статистическая обработка, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.
Орлов Сергей Владимирович: концепция научной работы, составление черновика рукописи.
Иевлева Аглия Геннадьевна: концепция научной работы, составление черновика рукописи.

Финансирование

Работа поддержана грантом Российского научного фонда № 19-15-00312.

Конфликт интересов

Авторы объявляют, что у них нет конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Natalia V. Mitiushkina, PhD, Research Fellow, Laboratory of Molecular Oncology, N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology (Saint-Petersburg, Russia). ORCID: 0000-0002-0179-3191. Researcher ID (WOS): N-4855-2016. Author ID (Scopus): 8639200300.
Ilya A. Stepanov, Laboratory Assistant, Laboratory of Molecular Oncology, N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology (Saint-Petersburg, Russia). ORCID: 0000-0001-6074-9775.
Dmitriy O. Yurlov, MD, Chemotherapy and Innovative Technologies Department, N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology (Saint-Petersburg, Russia), ORCID: 0000-0001-8564-9199.
Elena A. Filippova, MD, PhD, Oncologist, I.P. Pavlov First Saint-Petersburg State Medical University (Saint-Petersburg, Russia).
Svetlana V. Odintsova, MD, PhD, Oncologist, I.P. Pavlov First Saint-Petersburg State Medical University (Saint-Petersburg, Russia).
Alexandra M. Lozhkina, MD, PhD, Oncologist, I.P. Pavlov First Saint-Petersburg State Medical University (Saint-Petersburg, Russia).
Sergei V. Orlov, MD, PhD, Corresponding member of the Russian Academy of Sciences, Director of Research Institute of Medical Primatology (Sochi, Russia).
Aglaya G. Iyevleva, MD, PhD, Research Fellow, Laboratory of Molecular Oncology, N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology (Saint-Petersburg, Russia). ORCID: 0000-0001-5454-5186. Researcher ID (WOS): P-8305-2016. Author ID (Scopus): 6506417697.

AUTHOR CONTRIBUTION

Natalia V. Mitiushkina: study conception, drafting of the manuscript.
Ilya A. Stepanov: literature review, critical revision for the important intellectual content.
Dmitriy O. Yurlov: literature review, critical revision for the important intellectual content.
Elena A. Filippova: collection and data analysis, statistical data analysis, critical revision for the important intellectual content.
Svetlana V. Odintsova: collection and data analysis, statistical data analysis, critical revision for the important intellectual content.
Alexandra M. Lozhkina: collection and data analysis, statistical data analysis, critical revision for the important intellectual content.
Sergei V. Orlov: study conception, drafting of the manuscript.
Aglaya G. Iyevleva: study conception, drafting of the manuscript.

Funding

This work was supported by the grant of the Russian Science Foundation № 19-15-00312.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflicts of interest.

Для цитирования: Эрдынеева Д.Б., Бабышкина Н.Н., Дронова Т.А., Вторушин С.В., Слонимская Е.М., Стегний В.Н., Чердынцева Н.В. Роль циклина D1 в механизмах резистентности к гормональной терапии тамоксифеном. Сибирский онкологический журнал. 2020; 19(4): 138–145. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-4-138-145.

For citation: Erdynееva D.B., Babysheva N.N., Dronova T.A., Vtorushin S.V., Slonimskaya E.M., Stegny V.N., Cherdynseva N.V. Role of cyclin D1 in the mechanisms of tamoxifen resistance. Siberian Journal of Oncology. 2020; 19(4): 138–145. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-4-138-145.

РОЛЬ ЦИКЛИНА D1 В МЕХАНИЗМАХ РЕЗИСТЕНТНОСТИ К ГОРМОНАЛЬНОЙ ТЕРАПИИ ТАМОКСИФЕНОМ

Д.Б. Эрдынеева¹, Н.Н. Бабышкина^{2,3}, Т.А. Дронова^{2,3}, С.В. Вторушин^{1,2},
Е.М. Слонимская⁴, В.Н. Стегний³, Н.В. Чердынцева^{1,2,3}

Сибирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения
Российской Федерации, г. Томск, Россия¹

Россия, г. Томск, 634050, Московский тракт, 22. E-mail: daya-na@mail.ru¹

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

Россия, г. Томск, 634009, пер. Кооперативный, 5²

Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск, Россия³

Россия, г. Томск, 634050, пр. Ленина, 36³

Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург, Россия⁴

Россия, г. Санкт-Петербург, 199034, Университетская наб., 13Б⁴

Аннотация

Рецептор-позитивные опухоли составляют 65–70 % от всех случаев рака молочной железы (РМЖ). Наличие экспрессии эстрогеновых и прогестероновых рецепторов в качестве молекулярных мишеней опухоли обуславливает назначение гормональной терапии больным с рецептор-позитивным РМЖ. При проведении гормонотерапии препаратом выбора на протяжении последних десятилетий остается тамоксифен, являющийся селективным модулятором эстрогеновых рецепторов. Однако развитие резистентности является одной из основных причин, ограничивающих эффективность данного препарата. В связи с этим активно изучаются механизмы лекарственной устойчивости и ведется поиск прогностических маркеров клинического течения РМЖ и эффективности тамоксифена. Одним из таких молекулярных маркеров является представитель семейства регуляторных белков – циклин D1, которому отводится центральная роль в регуляции клеточного цикла. В обзоре представлены данные о вовлечении циклина D1 в эстроген-зависимый сигнальный каскад, охарактеризован ген *CCND1* и его наиболее изученные полиморфные локусы, показана прогностическая значимость циклина D1 при рецептор-позитивном РМЖ. Проанализированы результаты экспериментальных и клинических исследований о взаимосвязи уровня экспрессии циклина D1 с эффективностью тамоксифена, рассмотрены современные подходы к преодолению гормонорезистентности на основе исследований циклина D1.

Ключевые слова: рецептор-позитивный рак молочной железы, циклин D1, тамоксифен, механизмы резистентности.

ROLE OF CYCLIN D1 IN THE MECHANISMS OF TAMOXIFEN RESISTANCE

D.B. Erdyneeva¹, N.N. Babyshkina^{2,3}, T.A. Dronova^{2,3}, S.V. Vtorushin^{1,2},
E.M. Slonimskaya⁴, V.N. Stegny³, N.V. Cherdyntseva^{1,2,3}

Siberian State Medical University, Tomsk, Russia¹

2. Moskovsky tract, 634050-Tomsk, Russia. E-mail: daya-na@mail.ru¹

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

5, Kooperativny Street, 634009-Tomsk, Russia²

National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia³

36, Lenina Avenue, 634050-Tomsk, Russia³

St. Petersburg University, St Petersburg, Russia⁴

13B, Universitetskaya Embankment, 199034-St Petersburg, Russia⁴

Abstract

Hormone-receptor positive breast cancer is the most common molecular subtype and represents 60–75 % of all breast cancers (BC). The presence of specific molecular targets such as the estrogen/progesterone receptor determines the use of hormone therapy for patients with this subtype. Tamoxifen, a selective estrogen receptor modulator, remains the first adjuvant treatment choice for the hormone-receptor positive BC patients. However, tamoxifen resistance is the major limitation of its efficacy. In this regard, the study of drug resistance mechanisms as well as search for biological prognostic markers of tamoxifen efficacy is very important. Cyclin D1 is a representative of the regulatory protein family, which plays a central role in the cell cycle regulation. The data on the association between cyclin D1 and estrogen-dependent signaling as well as the characteristics of *CCND1* gene and its most studied polymorphic loci, were presented. The prognostic significance of cyclin D1 in hormone-receptor positive BC receptor-positive breast cancer was described. The experimental and clinical studies data on the association between the cyclin D1 expression level and tamoxifen efficacy are analyzed. Current approaches to overcoming hormone resistance based on cyclin D1 studies were considered.

Key words: hormone-receptor positive breast cancer, cyclin D1, tamoxifen, resistance mechanisms.

В структуре заболеваемости и смертности женского населения рак молочной железы (РМЖ) остается ведущей онкологической патологией, как в России, так и в мире. По данным ВОЗ, в 2018 г. было зарегистрировано 2,09 млн новых случаев заболевания РМЖ [1]. В Российской Федерации РМЖ является самым распространенным злокачественным новообразованием у женщин, составляя 21,1 % [2].

Многообразие молекулярных нарушений в опухолевых клетках молочной железы определяет высокую клиническую и биологическую гетерогенность заболевания. Для наиболее эффективного подбора терапии принято классифицировать РМЖ на основе экспрессии маркеров: эстрогеновых рецепторов (ER), прогестероновых рецепторов (PR), рецепторной тирозинкиназы семейства эпидермального фактора роста (HER2), белка клеточной пролиферации Ki67, и выделять гормон-позитивные опухоли (люминальный А, люминальный В рак молочной железы, люминальный HER2-позитивный) и гормон-негативные (с гиперэкспрессией HER2 и тройной негативный РМЖ) (таблица).

Для рецептор-позитивного РМЖ применение тамоксифена (препарата класса селективных

модуляторов эстрогеновых рецепторов) остается «золотым» стандартом противоопухолевой гормонотерапии. Однако, несмотря на высокую чувствительность такого типа опухолей к гормонотерапии, использование данного терапевтического подхода не всегда демонстрирует ожидаемую эффективность. В этой связи все большее значение приобретает выявление дополнительных прогностических маркеров, которые определяют различное биологическое поведение опухолей молочной железы и ответ на проводимую терапию. Одним из таких молекулярных маркеров являются регуляторы циклин-зависимых киназ (Cdk) – белки-циклины, которые координируют различные внутриклеточные сигнальные каскады посредством контроля клеточного цикла.

Общие представления о циклине D1

Семейство циклинов (циклин А – циклин J) включает 14 белков с коротким временем полужизни, которые, как правило, отличаются друг от друга по аминокислотной последовательности. Общей структурной особенностью всех циклинов является наличие гомологичной последовательности из 150 аминокислотных остатков, называемой

Биологические подтипы РМЖ [3, 4]
Biological subtypes of breast cancer [3, 4]

Молекулярный подтип/Molecular subtype	Параметры/Parameters
Тройной негативный/ Triple negative	Негативные ER, PR и HER2/ Negative ER, PR и HER2
Гормон-рецептор-негативный HER2-позитивный/ Hormone-receptor negative HER2-positive	Негативные ER, PR/Negative ER, PR Позитивные HER2/Positive HER2 (ER-/HER2+)
Гормон-рецептор-позитивный HER2-позитивный (люминальный HER2-позитивный)/ Hormone-receptor positive HER2-positive (luminal HER2-positive)	Позитивные ER, PR/Positive ER, PR Позитивные HER2/Positive HER2 (ER+/HER2+)
Гормон-рецептор-позитивный HER2-негативный/ Hormone-receptor positive HER2-negative	Высокая экспрессия ER/PR/High ER/PR expression Низкий уровень Ki67/Low Ki67 Низкая степень злокачественности/Low-grade cancer <i>Прогностически благоприятные мультипараметрические молекулярные маркеры/ Favorable multiparameter molecular markers</i>
Люминальный-А подобный/ Luminal A-like	Низкая экспрессия ER/PR/Low ER/PR expression Высокий уровень Ki67/High Ki67 Высокая степень злокачественности/ High-grade cancer <i>Неблагоприятные мультипараметрические молекулярные маркеры/ Unfavorable multiparameter molecular markers</i>
Люминальный-В подобный/ Luminal B-like	

циклиновым боксом, который отвечает за связывание с Cdk. N-концевой участок циклинов (бокс деструкции) определяет внутриклеточный распад белков [5]. В зависимости от времени действия в клеточном цикле циклины подразделяются на два подсемейства: G1-циклины (C, D, E) и митотические циклины (циклины A и B). Циклины группы D (D1, D2, D3) являются основными белками, регулирующими фазовый переход G1/S в клеточном цикле, из всех циклинов этой группы наиболее изученными являются белки D1 [6]. Циклин D1 необходим для формирования долек и альвеол в процессе нормального развития молочной железы [7]. Показано, что aberrantная экспрессия циклина D1 стимулирует пролиферацию эпителиальных клеток молочной железы и способствует развитию опухоли в линиях трансгенных мышей [8]. Высокий уровень экспрессии циклина D1 обнаружен при доброкачественных пролиферативных заболеваниях молочной железы, что свидетельствует о его вовлечении в наиболее ранние молекулярные нарушения, ведущие к развитию злокачественной трансформации [9].

В ответ на разнообразные митогенные стимулы внутриклеточное содержание циклина D1 резко возрастает, что ведет к образованию комплекса циклин D1-Cdk4/6, который транспортируется из цитоплазмы в клеточное ядро белками p21waf1, p27Kip1 и p57Kip2. В середине G1-фазы циклин D1-Cdk4/6 и активированный комплекс циклин E-Cdk2 фосфорилируют белок pRb, что приводит к высвобождению транскрипционных факторов E2F-DP, регулирующих активность генов, продук-

ты которых необходимы для начала и прохождения S-фазы [10, 11].

Помимо важнейшей регуляторной роли в клеточном цикле, циклин D1 вовлечен в механизмы активации ERα, опосредуя взаимодействие ERα и SRC, что позволяет формировать транскрипционно активный тройной комплекс в отсутствие лиганда [12]. С другой стороны, ERα регулирует экспрессию гена циклина D1, формируя, таким образом, петлю положительной обратной связи – активация циклина D1 приводит к экспрессии ERα, что, в свою очередь, индуцирует увеличение продукции циклина D1 [13].

Ген циклина D1 и его полиморфные варианты

Циклин D1 кодируется геном *CCND1*, локализованным на хромосоме 11q13.3. Амплификация *CCND1* достигает 10–15 % случаев первичного рака молочной железы, причем наиболее характерна для рецептор-позитивных опухолей, в частности люминального В подтипа [14–16]. Однако гиперэкспрессия циклина D1 наблюдается в 50–70 % опухолей молочной железы, что свидетельствует о наличии регуляторных механизмов белковой экспрессии циклина D1, отличных от генной амплификации [17].

Согласно данным базы Gene Cards, известно около 4385 полиморфных вариантов гена *CCND1*. Наиболее хорошо охарактеризованным является полиморфизм в четвертом экзоне *CCND1* rs9344 G>A. В результате альтернативного сплайсинга

гена *CCND1* замена глицина на аланин в 870-м положении приводит к образованию двух транскриптов – изоформ а и b. Транскрипт b кодируется вариантным аллелем А, тогда как дикий тип *CCND1* кодирует транскрипт а; оба транскрипта имеют высокую степень гомологии. Вариант транскрипта b характеризуется коротким С-концевым доменом, который ответствен за процессы внутриклеточной протеосомной деградации, что определяет длительный период полураспада вариантного белка и высокий уровень экспрессии *CCND1* [18]. Представленные результаты данных проведенных метаанализов свидетельствуют о связи *CCND1* rs9344 G>A с риском развития РМЖ в различных популяционных выборках [19–23].

Помимо *CCND1* rs9344 G>A перспективным объектом исследования является полиморфный локус rs67865 в 3'-нетранслируемом участке (3'-UTR) гена *CCND1*, характеризующийся заменой С на G в 1722-м положении. Хотя роль данного полиморфизма в регуляции экспрессии гена *CCND1* остается неизвестной, показано, что мутации в 3'-UTR гена *CCND1* связаны с высокой стабильностью мРНК и гиперэкспрессией белка [24]. Метаанализ, представленный в 2016 г., не подтвердил ассоциативную связь полиморфизма rs67865 с риском развития злокачественных новообразований [25]. Однако более ранние данные, полученные в 2009 г. N. Mavaddat et al., свидетельствуют о том, что этот полиморфный локус гена *CCND1* ассоциирован с чувствительностью к рецептор-негативному раку молочной железы [26]. Интегративный геномный подход, включающий данные полногеномных исследований (GWAS) и экспрессионный анализ, показал, что экспрессия генов, ассоциированных с риском развития РМЖ, различна в рецептор-позитивных и рецептор-негативных опухолях. Используя такой подход, обнаружено 13 SNP (включая *CCND1* rs9344), связанных с дифференциальной экспрессией соответствующих им генов в рецептор-позитивном РМЖ [27]. Стоит отметить, что в современных литературных источниках не представлены исследования SNPs rs9344 и rs678653 во взаимосвязи с эффективностью терапии тамоксифеном у больных РМЖ.

Прогностическая значимость циклина D1 при рецептор-позитивном раке молочной железы

Несмотря на достаточно широкий интерес исследователей к циклину D1, данные о его прогностической значимости при рецептор-позитивном РМЖ довольно противоречивы. Наибольшее количество работ посвящено иммуногистохимической оценке экспрессии белка, достаточно часто анализируются число копий гена *CCND1* и уровень его транскрипционной активности в аспекте факторов прогноза РМЖ [28]. Показана корреляция числа копий гена *CCND1* и/или гиперэкспрессии циклина D1 с высоким риском развития рецидива и неблагоприятным

исходом заболевания [29–35]. В ряде исследований связь циклина D1 с прогнозом у больных с эстроген-позитивным РМЖ не была подтверждена [36–38]. Согласно результатам TransATAC проекта, амплификация гена *CCND1* ассоциирована с низкими показателями безрецидивной выживаемости, в то время как ядерная экспрессия *CCND1*, напротив, – с высокими показателями для данной группы пациентов [39]. По данным A.B. Ortiz et al. [14], гиперэкспрессия циклина D1 ассоциирована с благоприятными прогностическими маркерами (экспрессией ER, PR, низким grade). Вместе с тем авторами показано, что число копий гена *CCND1* связано с коротким периодом выживаемости без прогрессирования у больных РМЖ. По-видимому, прогностическое значение амплификации гена *CCND1* и уровня его белковой продукции может иметь противоположную направленность, которая обусловлена различной функциональной активностью циклина D1 в разные фазы клеточного цикла и многообразными регуляторными механизмами, опосредованными различными сигнальными каскадами [14]. По данным Z. Li et al. [40], большинство опухолей с амплификацией *CCND1*/высоким уровнем экспрессии циклина D1 имеет люминальный В подтип РМЖ, тогда как опухоли базально-подобного типа характеризуются потерей экспрессии белка, что свидетельствует о важном вкладе экспрессионного статуса циклина D1 в развитие опухолей данного молекулярного варианта.

Взаимосвязь циклина D1 с эффективностью тамоксифена

Антиэстрогенные эффекты тамоксифена реализуются за счет конкурирующего с эстрадиолом связывания с цитоплазматическими ER α и/или ER β . В противоположность комплексу эстроген-рецептор комплекс рецептор-тамоксифен не стимулирует синтез ДНК в ядре, что приводит к аресту клеточного цикла [41]. Поскольку тамоксифен опосредованно вовлечен в регуляцию клеточного цикла, есть основания полагать, что гиперэкспрессия циклина D1 может определять рост рецептор-позитивных опухолей молочной железы, устойчивых к антиэстрогенам. Результаты экспериментальных исследований свидетельствуют о том, что индукция гиперэкспрессии циклина D1 в культурах эстроген-позитивных опухолевых клеток отменяет антионкогенный эффект антиэстрогенов, что является потенциальным механизмом резистентности [42, 43]. Для выявления потенциальных генов, ассоциированных с резистентностью к тамоксифену K.J. Huber-Keener et al. сравнили транскриптом тамоксифен-резистентных и тамоксифен-чувствительных клеточных линий РМЖ. Авторы показали, что тамоксифен-резистентные клетки характеризуются высоким уровнем экспрессии гена *CCND1* [44].

Проведенные клинические исследования показали, что высокий уровень экспрессии циклина

D1 является маркером резистентности к тамоксифену [45, 46], что согласуется с данными экспериментальных работ. Ранее нами также был изучен уровень экспрессии циклина D1 у больных с рецептор-позитивным РМЖ, получавших терапию тамоксифеном, однако существенных корреляций с эффективностью лечения выявлено не было [47]. Вместе с тем было показано, что высокий уровень экспрессии циклина D1 ассоциирован с гетерогенным характером распределения ERα в опухолях [48].

Пути преодоления резистентности к тамоксифену на основе исследований циклина D1

В настоящее время активно ведется поиск новых подходов, направленных на преодоление резистентности к гормонотерапии, которые связаны с изучением циклинов и циклин-зависимых киназ как молекулярных мишеней противоопухолевого лечения. Так, в исследовании J. Xing et al. изучена роль митохондриального белка класса гистоновых деацетилаз сиртуина 4 (SIRT4) в MCF7 и T47D клеточных линиях РМЖ, леченных тамоксифеном. Авторы показали, что SIRT4 блокирует транскрипцию и трансляцию *MYC* и *CCND1* в опухолевых клетках посредством STAT3 сигнального пути. Полученные данные свидетельствуют о важной роли SIRT4 в механизмах чувствительности ER-позитивных опухолей к тамоксифену и необходимости его дальнейшего исследования [49].

Экспериментальные исследования последних лет показали, что тамоксифен в комбинации с нестероидными противовоспалительными препаратами (аспирин) ингибируют экспрессию регуляторных белков c-myc, рецептора прогестерона и циклина D1 и подавляют рост тамоксифен-резистентных MCF-7 клеточных линий РМЖ [50]. Полученные данные свидетельствуют о том, что аспирин обладает противоопухолевым эффектом, который реализуется посредством ингибирования активности циклинов и циклин-зависимых киназ. Авторы отмечают, что раскрытие возможных механизмов действия аспирина, определяющих чувствительность к тамоксифену, является одним из перспективных направлений исследования.

Интерес представляют данные о роли серинтреонин киназы Aurora-A (Aur-A) в механизмах чувствительности к тамоксифену. Показано, что истощение данного белка, который вовлечен в процессы регуляции митоза и клеточного цикла, повышает чувствительность эстроген-позитивных клеточных линий РМЖ к тамоксифену [51]. В работе продемонстрировано, что селективный ингибитор Aur-A MLN8237, который в настоящее время проходит клинические испытания, синергично взаимодействует с тамоксифеном и ингибирует рост тамоксифен-резистентных клеточных линий. Кроме того, Aur-A индуцирует активность ERα и *CCND1* посредством фосфорилирования эстроге-

нового рецептора по аминокислотным остаткам Ser167 и Ser305, что рассматривается в качестве Aur-A-опосредованного механизма развития резистентности к тамоксифену.

Наиболее перспективным подходом к преодолению гормональной резистентности является использование ингибиторов циклин-зависимых киназ, механизм действия которых обусловлен селективным подавлением комплекса циклин D1-Cdk4/6 [52, 53]. Палбоциклиб (palbociclib) представляет собой пероральный высокоселективный низкомолекулярный ингибитор циклин-зависимых киназ, один из первых Cdk4/6, для которого была доказана противоопухолевая активность *in vitro*. R.S. Finn et al. продемонстрировали синергичный механизм действия палбоциклиба и тамоксифена в эстроген-позитивных линиях клеток РМЖ [54]. Результаты рандомизированного, мультицентрового исследования III фазы PALOMA-3, представленного в 2016 г., показали, что применение фулвестранта в комбинации с палбоциклибом у больных с рецептор-позитивным HER2-негативным метастатическим РМЖ позволяет значительно увеличить показатели выживаемости без прогрессирования по сравнению со схемой фулвестрант плюс плацебо, причем независимо от степени гормональной резистентности, уровня экспрессии ER/PR и статуса мутаций *PIK3CA* [55]. По итогам успешных клинических исследований MONALEESA-2 и MONARCH-1 еще два ингибитора Cdk4/6 – рибоциклиб (ribociclib) и абемакиклиб (abemaciclib) – получили одобрение FDA в качестве препаратов первой линии для лечения пациенток с рецептор-позитивным HER2-негативным метастатическим РМЖ в комбинации с антиэстрогенной терапией [53]. Стоит отметить, что персонализированное назначение палбоциклиба и рибоциклиба и абемакиклиба для такой категории больных стало возможным при наличии амплификации *CCND1* в опухоли по результатам комплексного теста геномного профилирования FoundationOne CDx, одобренного FDA в 2017 г. [56]. В Российской Федерации стандарты лечения больных с рецептор-позитивным HER2-негативным метастатическим РМЖ включают палбоциклиб и рибоциклиб.

Новым витком этих исследований является поиск маркеров чувствительности и прогноза эффективности ингибиторов Cdk4/6 в сочетании с антиэстрогенными препаратами. Разрабатываются подходы, которые позволят одновременно блокировать Cdk2 и Cdk4/6 для повышения эффективности терапии ингибиторами циклин-зависимых киназ.

Заключение

Нарушение контроля над клеточным циклом является неотъемлемой частью развития опухолевого процесса. Поэтому факторы, вовлеченные в регуляцию контроля фазового перехода клетки – циклины и циклин-зависимые киназы, – рассматриваются в качестве перспективных терапевтических мише-

ней. Накопленные к настоящему времени данные экспериментальных и клинических исследований циклина D1, а также результаты собственных наблюдений диктуют необходимость дальнейшего

изучения этого молекулярного параметра на генетическом и фенотипическом уровне как маркера прогноза эффективности гормонотерапии.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. *Рак*. ВОЗ [Интернет]. URL: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/cancer>. (дата обращения: 28.01.2019). [*Cancer*. WHO [Internet]. URL: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/cancer>. (cited: 28.01.2019). (in Russian)].
2. 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)].
3. Curigliano G., Burstein H.J., Winer E.P., Gnant M., Dubsy P., Loibl S., Colleoni M., Regan M.M., Piccart-Gebhart M., Senn H.-J., Thürlimann B. De-escalating and escalating treatments for early-stage breast cancer: the St. Gallen International Expert Consensus Conference on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2017. *Ann Oncol*. 2017 Jun; 28(8): 1700–12. doi: 10.1093/annonc/mdx308.
4. Burstein H.J., Curigliano G., Loibl S., Dubsy P., Gnant M., Poortmans P., Colleoni M., Carsten D., Piccart-Gebhart M., Regan M., Senn H.-J., Winer E.P., Thürlimann B. Estimating the Benefits of Therapy for Early Stage Breast Cancer The St Gallen International Consensus Guidelines for the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2019. *Ann Oncol*. 2019 Oct; 30(10): 1541–57. doi: 10.1093/annonc/mdz235.
5. Hunt T. Cell biology. Cell cycle gets more cyclins. *Nature*. 1991 Apr 11; 350(6318): 462–3. doi: 10.1038/350462a0.
6. Sherr C.J., Roberts J.M. Inhibitors of mammalian G1 cyclin-dependent kinases. *Genes Dev*. 1995 May 15; 9(10): 114963. doi: 10.1101/gad.9.10.1149.
7. Sicinski P., Donaher J.L., Parker S.B., Li T., Fazeli A., Gardner H., Haslam S.Z., Bronson R.T., Elledge S.J., Weinberg R.A. Cyclin D1 provides a link between development and oncogenesis in the retina and breast. *Cell*. 1995 Aug 25; 82(4): 621–30. doi: 10.1016/0092-8674(95)90034-9.
8. Wang T.C., Cardiff R.D., Zukerberg L., Lees E., Arnold A., Schmidt E.V. Mammary hyperplasia and carcinoma in MMTV-cyclin D1 transgenic mice. *Nature*. 1994 Jun 23; 369(6482): 669–71. doi: 10.1038/369669a0.
9. Alle K.M., Henshall S.M., Field A.S., Sutherland R.L. Cyclin D1 protein is overexpressed in hyperplasia and intraductal carcinoma of the breast. *Clin Cancer Res*. 1998 Apr; 4(4): 847–54.
10. Kato J., Matsushima H., Hiebert S.W., Ewen M.E., Sherr C.J. Direct binding of cyclin D to the retinoblastoma gene product (pRb) and pRb phosphorylation by the cyclin D-dependent kinase CDK4. *Genes Dev*. 1993 Mar; 7(3): 331–42. doi: 10.1101/gad.7.3.331.
11. O'Leary B., Finn R.S., Turner N.C. Treating cancer with selective CDK4/6 inhibitors. *Nat Rev Clin Oncol*. 2016; 13(7): 41730. doi: 10.1038/nrclinonc.2016.26.
12. Zwijsen R.M., Buckle R.S., Hijmans E.M., Loomans C.J., Bernards R. Ligand-independent recruitment of steroid receptor coactivators to estrogen receptor by cyclin D1. *Genes Dev*. 1998; 12(22): 3488–98. doi: 10.1101/gad.12.22.3488.
13. Griekspoor A., Margarido T.C., Zwart W., Michalides R. Review of: BRCA1 and cyclin D1: gate keepers in hormone responsive tissues? *Breast Cancer Online*. 2006 Mar 22; 9(4): 1–3. doi: 10.1017/S1470903106005098.
14. Ortiz A.B., Garcia D., Vicente Y., Palka M., Bellas C., Martin P. Prognostic significance of cyclin D1 protein expression and gene amplification in invasive breast carcinoma. *PLoS One*. 2017 Nov 15; 12(11): e0188068. doi: 10.1371/journal.pone.0188068.
15. Holm K., Staaf J., Jönsson G., Vallon-Christersson J., Gunnarsson H., Arason A., Magnusson L., Barkardottir R.B., Hegardt C., Ringnér M., Borg A. Characterisation of amplification patterns and target genes at chromosome 11q13 in CCND1-amplified sporadic and familial breast tumours. *Breast Cancer Res Treat*. 2012 Jun; 133(2): 583–94. doi: 10.1007/s10549-011-1817-3.
16. Roy P.G., Pratt N., Purdie C.A., Baker L., Ashfield A., Quinlan P., Thompson A.M. High CCND1 amplification identifies a group of poor prognosis women with estrogen receptor positive breast cancer. *Int J Cancer*. 2010 Jul; 127(2): 355–60. doi: 10.1002/ijc.25034.
17. Bartkova J., Lukas J., Muller H., Luthjohann D., Strauss M., Bartek J. Cyclin D1 protein expression and function in human breast cancer. *Int J Cancer*. 1994 May; 57: 353–361. doi: 10.1002/ijc.2910570311.
18. Solomon D.A., Wang Y., Fox S.R., Lambeck T.C., Giesting S., Lan Z., Senderowicz A.M., Conti C.J., Knudsen E.S. Cyclin D1 splice variants. Differential effects on localization, RB phosphorylation, and cellular transformation. *J Biol Chem*. 2003; 278(32): 30339–47. doi: 10.1074/jbc.M303969200.
19. Thakur N., Kumari S., Mehrotra R. Association between Cyclin D1 G870A (rs9344) polymorphism and cancer risk in Indian population: meta-analysis and trial sequential analysis. *Biosci Rep*. 2018 Nov 30; 38(6): BSR20180694. doi: 10.1042/BSR20180694.
20. Sergeantanis T.N., Economopoulos K.P. Cyclin D1 G870A polymorphism and breast cancer risk: a meta-analysis comprising 9,911 cases and 11,171 controls. *Mol Biol Rep*. 2010 Dec; 38(8): 4955–63. doi: 10.1007/s11033-010-0639-4.
21. Lu C., Dong J., Ma H., Jin G., Hu Z., Peng Y., Guo X., Wang X., Shen H. CCND1 G870A polymorphism contributes to breast cancer susceptibility: a meta-analysis. *Breast Cancer Res Treat*. 2008 Sep 26; 116(3): 571–575. doi: 10.1007/s10549-008-0195-y 60.
22. Cui J., Shen L., Wang Y. Specific CCND1 G870A Alleles associated with breast cancer susceptibility: a meta-analysis of 5,528 cases and 5,353 controls. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2012; 13(10): 5023–25. doi: 10.7314/APJCP.2012.13.10.5023.
23. Soleimani Z., Kheirkhah D., Sharif M.R., Sharif A., Karimian M., Aftabi Y. Association of CCND1 gene c.870G>A polymorphism with breast cancer risk: a case-control study and a meta-analysis. *Pathol Oncol Res*. 2016 Dec 21; 23(3): 621–631. doi: 10.1007/s12253-016-0165-3.
24. Hosokawa Y., Suzuki R., Joh T., Maeda Y., Nakamura S., Kodera Y., Arnold A., Seto M. A small deletion in the 3'-untranslated region of the cyclin D1/PRAD1/bcl-1 oncogene in a patient with chronic lymphocytic leukemia. *Int J Cancer*. 1998; 76(6): 791–796. doi: 10.1002/(sici)1097-0215(19980610)76:6<791::aid-ijc4>3.0.co;2-t.
25. Dai X., Zhang X., Wang B., Wang C., Jiang J., Wu C. Association between polymorphism rs678653 in human Cyclin D1 gene (CCND1) and susceptibility to cancer: a meta-analysis. *Medical Science Monitor*. 2016 Mar 16; 22: 863–874. doi: 10.12659/msm.895237.
26. Mavaddat N., Dunning A.M., Ponder B.A.J., Easton D.F., Pharoah P.D. Common genetic variation in candidate genes and susceptibility to subtypes of breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2009 Jan; 18(1): 255–259. doi: 10.1158/1055-9965.epi-08-0704.
27. Hicks C., Asfour R., Pannuti A., Miele L. An Integrative genomics approach to biomarker discovery in breast cancer. *Cancer Inform*. 2011 Jul; 10: 185–204. doi: 10.4137/CIN.S6837.
28. Ahlin C., Lundgren C., Embretsén-Varro E., Jirstrom K., Blomqvist C., Fjallskog M. High expression of cyclin D1 is associated to high proliferation rate and increased risk of mortality in women with ER-positive but not in ER-negative breast cancers. *Breast Cancer Res Treat*. 2017 Aug; 164(3): 667–678. doi: 10.1007/s10549-017-4294-5.
29. Kenny F.S., Hui R., Musgrove E.A., Gee J.M., Blamey R.W., Nicholson R.L., Sutherland R.L., Robertson J.F. Overexpression of cyclin D1 messenger RNA predicts for poor prognosis in estrogen receptor-positive breast cancer. *Clin Cancer Res*. 1999 Aug; 5(8): 2069–2076.
30. He Q., Wu J., Liu X.L., Ma Y.H., Wu X.T., Wang W.Y., An H.X. Clinicopathological and prognostic significance of cyclin D1 amplification in patients with breast cancer: a meta-analysis. *J BUON*. 2017; 22(5): 1209–16.
31. Beca F., Pereira M., Cameselle-Teijeiro J.F., Martins D., Schmitt F. Altered PPP2R2A and Cyclin D1 expression defines a subgroup of aggressive luminal-like breast cancer. *BMC Cancer*. 2015; 15: 285. doi: 10.1186/s12885-015-1266-1.
32. Sun X., Zhangyuan G., Shi L., Wang Y., Sun B., Ding Q. Prognostic and clinicopathological significance of cyclin B expression in patients with breast cancer: a meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2017 May; 96(19): e6860. doi: 10.1097/MD.00000000000006860.
33. Tobin N.P., Lundgren K.L., Conway C., Anagnostaki L., Costello S., Landberg G. Automated image analysis of cyclin D1 protein expression in invasive lobular breast carcinoma provides independent prognostic information. *Hum Pathol*. 2012 Nov; 43(11): 2053–61. doi: 10.1016/j.humpath.2012.02.015.
34. Elsheikh S., Green A.R., Aleskandarany M.A., Grainge M., Paish C.E., Lambros M.B., Reis-Filho J.S., Ellis I.O. CCND1 amplification and cyclin D1 expression in breast cancer and their relation with proteomic subgroups and patient outcome. *Breast Cancer Res Treat*. 2007 Jul 26; 109(2): 325–335. doi: 10.1007/s10549-007-9659-8.
35. Rudas M., Lehnert M., Huynh A., Jakesz R., Singer C., Lax S., Schipfinger W., Dietze O., Greil R., Stiglbauer W., Kwasny W., Grill R., Stierer M., Gnant M.F., Filipits M., Austrian Breast and Colorectal Cancer Study G. Cyclin D1 expression in breast cancer patients receiving adjuvant tamoxifen-based therapy. *Clin Cancer Res*. 2008 Mar 15; 14(6): 1767–74. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-07-4122.
36. Aaltonen K., Amini R.M., Landberg G., Eerola H., Aittomäki K., Heikkilä P., Nevanlinna H., Blomqvist C. Cyclin D1 expression is associ-

ated with poor prognostic features in estrogen receptor positive breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2009; 113(1): 75–82. doi: 10.1007/s10549-008-9908-5.

37. Choschick M., Heilenkotter U., Lebeau A., Jaenicke F., Terraciano L., Bokemeyer C., Sauter G., Simon R. MDM2 amplification is an independent prognostic feature of node-negative, estrogen receptor-positive early-stage breast cancer. *Cancer Biomark.* 2010; 8(2): 53–60. doi: 10.3233/DMA-2011-0806.

38. Umekita Y., Ohi Y., Sagara Y., Yoshida H. Overexpression of cyclin D1 predicts for poor prognosis in estrogen receptor negative breast cancer patients. *Int J Cancer.* 2002; 98(3): 415–418. doi: 10.1002/ijc.10151.

39. Lundgren K., Brown M., Pineda S., Cuzick J., Salter J., Zabaglo L., Howell A., Dowsett M., Landberg G. Effects of cyclin D1 gene amplification and protein expression on time to recurrence in postmenopausal breast cancer patients treated with anastrozole or tamoxifen: a TransATAC study. *Breast Cancer Res.* 2012; 14(2): R57. doi: 10.1186/bcr3161.

40. Li Z., Cui J., Yu Q., Wu X., Pan A., Li L. Evaluation of CCND1 amplification and CyclinD1 expression: diffuse and strong staining of CyclinD1 could have same predictive roles as CCND1 amplification in ER positive breast cancers. *Am J Transl Res.* 2016 Jan 15; 8(1): 142–153.

41. Doisneau-Sixou S.F., Sergio C.M., Carroll J.S., Hui R., Musgrove E.A., Sutherland R.L. Estrogen and antiestrogen regulation of cell cycle progression in breast cancer cells. *Endocr Relat Cancer.* 2003 Jun; 10(2): 179–186. doi: 10.1677/erc.0.0100179.

42. Hui R., Finney G.L., Carroll J.S., Lee C.S., Musgrove E.A., Sutherland R.L. Constitutive overexpression of cyclin D1 but not cyclin E confers acute resistance to antiestrogens in T-47D breast cancer cells. *Cancer Res.* 2002; 62: 6916–23.

43. Wilcken N.R., Prall O.W., Musgrove E.A., Sutherland R.L. Inducible overexpression of cyclin D1 in breast cancer cells reverses the growth-inhibitory effects of antiestrogens. *Clin Cancer Res.* 1997; 3: 849–854.

44. Huber-Keener K.J., Liu X., Wang Z., Wang Y., Freeman W., Wu S., Planas-Silva M.D., Ren X., Cheng Y., Zhang Y., Vrana K., Liu C.G., Yang J.M., Wu R. Differential gene expression in tamoxifen-resistant breast cancer cells revealed by a new analytical model of RNA-Seq Data. *PLoS ONE.* 2012; 7(7): e41333. doi: 10.1371/journal.pone.0041333.

45. Ahnstrom M., Nordenskjöld B., Rutqvist L.E., Skoog L., Stal O. Role of cyclin D1 in ErbB2-positive breast cancer and tamoxifen resistance. *Breast Cancer Res Treat.* 2005; 91(2): 145–151. doi: 10.1007/s10549-004-6457-4.

46. Stendahl M., Kronblad A., Ryden L., Emdin S., Bengtsson N.O., Landberg G. Cyclin D1 overexpression is a negative predictive factor for tamoxifen response in postmenopausal breast cancer patients. *Br J Cancer.* 2004; 90(10): 1942–1948. doi: 10.1038/sj.bjc.6601831.

47. Babyshkina N., Vtorushin S., Zavyalova M., Patalyak S., Dronova T., Litviakov N., Slonimskaya E., Kzhyskowska J., Cherdynseva N., Choyznov E. The distribution pattern of ERα expression, ESR1 genetic variation and expression of growth factor receptors: association with breast cancer prognosis in Russian patients treated with adjuvant tamoxifen. *Clin Exp Med.* 2017 Aug; 17(3): 383–393. doi: 10.1007/s10238-016-0428-z.

48. Слонимская Е.М., Вторушин С.В., Бабышкина Н.Н., Паталяк С.В. Роль морфологических и генетических особенностей

строения рецепторов эстрогенов альфа в развитии резистентности к эндокринотерапии тамоксифеном у пациенток с люминальным раком молочной железы. *Сибирский онкологический журнал.* 2014; 3: 39–44. [Slonimskaya E.M., Vtorushin S.V., Babyshkina N.N., Patalyak S.V. Role of morphological and genetic structural characteristics of estrogen receptor alpha in the development of resistance to endocrine therapy with tamoxifen in patients with luminal breast cancer. *Siberian Journal of Oncology.* 2014; 3: 39–44. (in Russian)].

49. Xing J., Li J., Fu L., Gai J., Guan J., Li Q. SIRT4 enhances the sensitivity of ER-positive breast cancer to tamoxifen by inhibiting the IL-6/STAT3 signal pathway. *Cancer Med.* 2019 Nov; 8(16):7086–7097. doi: 10.1002/cam4.2557.

50. Cheng R., Liu Y.J., Cui J.W., Yang M., Liu X.L., Li P., Wang Z., Zhu L.Z., Lu S.Y., Zou L., Wu X.Q., Li Y.X., Zhou Y., Fang Z.Y., Wei W. Aspirin regulation of c-myc and cyclinD1 proteins to overcome tamoxifen resistance in estrogen receptor-positive breast cancer cells. *Oncotarget.* 2017 May 2; 8(18): 30252–30264. doi: 10.18632/oncotarget.16325.

51. Zheng X.Q., Guo J.P., Yang H., Kanai M., He L.L., Li Y.Y., Koomen J.M., Minton S., Gao M., Ren X.B., Coppola D., Cheng J.Q. Aurora-A is a determinant of tamoxifen sensitivity through phosphorylation of ERα in breast cancer. *Oncogene.* 2014 Oct; 33(42): 4985–96. doi: 10.1038/onc.2013.444.

52. Кононенко И.Б., Снеговой А.В., Сельчук В.Ю. Ингибиторы циклин-зависимых киназ: эффективность и безопасность. *Медицинский Совет.* 2019; 10: 42–55. [Kononenko I.B., Snegovoi A.V., Selchuk V.Yu. Cyclin-dependent kinase inhibitors: efficacy and safety. *Medical Council.* 2019; (10): 42–55. (in Russian)]. doi: 10.21518/2079-701X-2019-10-42-55.

53. Sobhani N., D'Angelo A., Pittacolo M., Roviello G., Miccoli A., Corona S.P., Bernocchi O., Generali D., Otto T. Updates on the CDK4/6 inhibitory strategy and combinations in breast cancer. *Cells.* 2019 Apr 6; 8(4): pii: E321. doi: 10.3390/cells8040321.

54. Finn R.S., Dering J., Conklin D., Kalous O., Cohen D.J., Desai A.J., Ginther C., Atefi M., Chen I., Fowst C., Los G., Slamon D.J. PD 0332991, a selective cyclin D kinase 4/6 inhibitor, preferentially inhibits proliferation of luminal estrogen receptor-positive human breast cancer cell lines in vitro. *Breast Cancer Res.* 2009; 11(5): R77. doi: 10.1186/bcr2419.

55. Cristofanilli M., Turner N.C., Bondarenko I., Ro J., Im S.A., Masuda N., Colleoni M., DeMichele A., Loi S., Verma S., Iwata H., Harbeck N., Zhang K., Theall K.P., Jiang Y., Bartlett C.H., Koehler M., Slamon D. Fulvestrant plus palbociclib versus fulvestrant plus placebo for treatment of hormone-receptor-positive, HER2-negative metastatic breast cancer that progressed on previous endocrine therapy (PALOMA-3): final analysis of the multicentre, double-blind, phase 3 randomised controlled trial. *Lancet Oncol.* 2016 Apr; 17(4): 425–439. doi: 10.1016/S1470-2045(15)00613-0.

56. *FoundationOne CDx-P170019* FDA [Internet]. URL: <https://www.fda.gov/medical-devices/recently-approved-devices/foundationone-cdx-p170019>. (cited: 21.01.2020).

Поступила/Received 07.02.2020
Принята в печать/Accepted 25.05.2020

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Эрдынеева Даяна Батоевна, студент 5 курса медико-биологического факультета, Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России (г. Томск, Россия). E-mail: daya-na@mail.ru.

Бабышкина Наталия Николаевна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной онкологии и иммунологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). E-mail: nbabyshkina@mail.ru. SPIN-код: 2738-9275. Author ID (Scopus): 26641099700. Researcher ID (WOS): A-7526-2012. ORCID: 0000-0002-0562-3878.

Дронова Татьяна Анатольевна, аспирант института биологии, Национальный исследовательский Томский государственный университет; младший научный сотрудник лаборатории биологии опухолевой прогрессии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 3516-2517. Author ID (Scopus): 6602971247. Researcher ID (WOS): R-5952-2016. ORCID: 0000-0003-3009-2404.

Вторушин Сергей Владимирович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделением общей и молекулярной патологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 2442-4720. Author ID (Scopus): 26654562300. Researcher ID (WOS): S-3789-2016. ORCID: 0000-0002-1195-4008.

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

Стегний Владимир Николаевич, доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией экологии генетики и охраны окружающей среды, Национальный исследовательский Томский государственный университет (г. Томск, Россия). SPIN-код: 5588-5450. Author ID (Scopus): 57207471480. Researcher ID (WOS): N-7656-2014.

Чердынцева Надежда Викторовна, доктор биологических наук, профессор, член-корреспондент РАН, заведующая лабораторией молекулярной онкологии и иммунологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 5344-0990. Author ID (Scopus): 6603911744. Researcher ID (WOS): C-7943-2012. ORCID: 0000-0003-1526-9013.

ВКЛАД АВТОРОВ

Эрдынеева Даяна Батовна: составление черновика рукописи, поиск и анализ публикаций по теме обзора.

Бабышкина Наталия Николаевна: разработка концепции обзора, написание текста рукописи, окончательное утверждение рукописи.

Дронова Татьяна Анатольевна: поиск и анализ публикаций по теме обзора, проверка критически важного интеллектуального содержания рукописи.

Вторушин Сергей Владимирович: разработка концепции обзора, проверка критически важного интеллектуального содержания рукописи.

Слонимская Елена Михайловна: разработка концепции обзора.

Стегний Владимир Николаевич: разработка концепции обзора.

Чердынцева Надежда Викторовна: разработка концепции обзора.

Финансирование

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 17-29-06037 офи_м «Геномные механизмы регуляции опухолевой прогрессии рака молочной железы в условиях лекарственной терапии».

Конфликт интересов

Авторы объявляют, что у них нет конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Daiana B. Erdyneeva, Student, Medical Biology Faculty, Siberian State Medical University (Tomsk, Russia). E-mail: daya-na@mail.ru.

Nataliya N. Babyshkina, PhD, Senior Researcher, Laboratory of Molecular Oncology and Immunology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). E-mail: nbabyshkina@mail.ru. Author ID (Scopus): 26641099700. Researcher ID (WOS): A-7526-2012. ORCID: 0000-0002-0562-3878.

Tatyana A. Dronova, MD, Postgraduate, Institute of Biology, National Research Tomsk State University; Junior Researcher, Laboratory of Tumor Biology Progression, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). Author ID (Scopus): 6602971247. Researcher ID (WOS): R-5952-2016. ORCID: 0000-0003-3009-2404

Sergey V. Vtorushin, MD, DSc, Professor, Head of the Department of General and Molecular Pathology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). Author ID (Scopus): 26654562300. Researcher ID (WOS): S-3789-2016. ORCID: 0000-0002-1195-4008.

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

Vladimir N. Stegnyy, DSc, Professor, Head of the Department of Ecology, Genetics and Environmental Protection National Research Tomsk State University (Tomsk, Russia). Author ID (Scopus): 57207471480. Researcher ID (WOS): N-7656-2014

Nadejda V. Cherdyntseva, DSc, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Professor, Head of the Laboratory of Molecular Oncology and Immunology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). Author ID (Scopus): 6603911744. Researcher ID (WOS): C-7943-2012. ORCID: 0000-0003-1526-9013.

AUHOR CONTRIBUTION

Daiana B. Erdyneeva: drafting of the manuscript, literature rewiring.

Nataliya N. Babyshkina: study conception, writing of the manuscript, final approval of the version of the manuscript for publication.

Tatyana A. Dronova: literature rewiring, critical revision for the important intellectual content.

Sergey V. Vtorushin: study conception, verification of the critically important intellectual content of the manuscript.

Elena M. Slonimskaya: study conception.

Vladimir N. Stegnyy: study conception.

Nadejda V. Cherdyntseva: study conception.

Funding

The study was supported by the Russian Foundation for Basic Research (RFBR) grant № 17-29-06037 «Genomic regulation of the breast cancer progression during chemotherapy».

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

Для цитирования: Терещенко И.В., Григорьевская З.В., Петухова И.Н., Багирова Н.С., Винникова В.Д., Вершинская В.А., Дмитриева Н.В. Инфекционные осложнения, вызванные неспорообразующими анаэробными микроорганизмами, у онкологических больных. Актуальность проблемы. Сибирский онкологический журнал. 2020; 19(4): 146–151. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-4-146-151.

For citation: Tereshchenko I.V., Grigoryevskaya Z.V., Petukhova I.N., Bagirova N.S., Vinnikova V.D., Vershinskaya V.A., Dmitrieva N.V. Infectious complications caused by non-sporeforming anaerobic bacteria in cancer patients. Relevance of the problem. Siberian Journal of Oncology. 2020; 19(4): 146–151. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-4-146-151.

ИНФЕКЦИОННЫЕ ОСЛОЖНЕНИЯ, ВЫЗВАННЫЕ НЕСПОРООБРАЗУЮЩИМИ АНАЭРОБНЫМИ МИКРООРГАНИЗМАМИ, У ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ. АКТУАЛЬНОСТЬ ПРОБЛЕМЫ

И.В. Терещенко¹, З.В. Григорьевская¹, И.Н. Петухова¹, Н.С. Багирова¹,
В.Д. Винникова², В.А. Вершинская², Н.В. Дмитриева¹,

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина»
Минздрава России, г. Москва, Россия¹

Россия, 115478, г. Москва, Каширское шоссе, 24. E-mail: in.ter68@inbox.ru¹

ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет
им. А.И. Евдокимова» Минздрава России, г. Москва, Россия²

Россия, 127473, г. Москва, ул. Делегатская, 20/1²

Аннотация

Цель исследования – выявить значимость анаэробных микроорганизмов и проанализировать их роль в развитии инфекционных осложнений у онкологических больных. **Материал и методы.** В обзор включены данные клинических и *in vitro* исследований, опубликованные в отечественной и зарубежной печати за период с 1989 по 2018 г. **Результаты.** Анализ данных показал, что многие аспекты, касающиеся анаэробных неспорообразующих микроорганизмов, изучены недостаточно, хотя они могут вызывать тяжелые госпитальные инфекции. Особенно это актуально для пациентов, имеющих дефекты иммунной системы, к которым относятся онкологические больные. У этой категории больных анаэробные микроорганизмы могут вызывать инфекции челюстно-лицевой области, интра-абдоминальные инфекции, инфекции нижних дыхательных путей, мочевые инфекции, инфекции кровотока. У онкологических больных инфекционные осложнения имеют более тяжелое течение, а несвоевременное начало терапии может иметь неблагоприятные исходы течения инфекции. Длительный и трудоемкий процесс культивирования анаэробов диктует необходимость проведения эмпирической терапии инфекции в среднем в течение 6–7 дней. С середины прошлого столетия «золотым стандартом» терапии является метронидазол. Однако в настоящий момент ситуация кардинально изменилась. Более 80 % штаммов анаэробных микроорганизмов резистентны к метронидазолу. Проблема резистентности анаэробных микроорганизмов к другим антибактериальным препаратам изучена недостаточно. **Заключение.** Необходимы детальное изучение этой проблемы и разработка терапевтических подходов на основании современных данных о механизмах и показателях резистентности неспорообразующих анаэробных микроорганизмов.

Ключевые слова: неспорообразующие анаэробные микроорганизмы, онкологические больные, метронидазол, клиндамицин, защищенные пенициллины, резистентность, антианаэробные препараты.

INFECTIOUS COMPLICATIONS CAUSED BY NON-SPORE-FORMING ANAEROBIC BACTERIA IN CANCER PATIENTS. RELEVANCE OF THE PROBLEM

I.V. Tereshchenko¹, Z.V. Grigoryevskaya¹, I.N. Petukhova¹, N.S. Bagirova¹,
V.D. Vinnikova², V.A. Vershinskaya², N.V. Dmitrieva¹

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

24, Kashirskoye shosse, 115478-Moscow, Russia. E-mail: in.ter68@inbox.ru¹

A.I. Evdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow, Russia²

20/1, Delegatskaya Street, 127473-Moscow, Russia²

Abstract

The purpose of the study: to identify the significance of anaerobic bacteria and analyze their role in the development of infectious complications in cancer patients. **Material and Methods.** The review includes data from clinical and *in vitro* studies published in Russian and international press for the period from 1989 to 2018. **Results.** Data analysis has shown that many aspects related to anaerobic non-sporeforming bacteria are insufficiently studied, although they can cause severe hospital infections. This is especially true for patients with immune system defects, including cancer patients. In this category of patients, anaerobic bacteria can cause infections of the maxillofacial region, intra-abdominal infections, lower respiratory tract infections, urinary infections, and blood flow infections. In cancer patients, infectious complications are more severe, and may adversely affect treatment outcomes. A long process of anaerobic cultivation dictates the need for empirical treatment of infection for an average of 6 to 7 days. Since the middle of the last century, metronidazole was the «gold standard» of therapy. However, today the situation has changed dramatically. More than 80 % of anaerobic strains are resistant to metronidazole. The problem of resistance of anaerobic bacteria to other antibacterial drugs has not been sufficiently studied. **Conclusion.** It is necessary to develop therapeutic approaches based on current data on the resistance mechanisms of non-sporeforming anaerobic bacteria.

Key words: non-sporeforming anaerobic bacteria, cancer patients, metronidazole, clindamycin, protected penicillins, resistance, anti-anaerobic drugs.

Неспорообразующие (неклостридиальные) анаэробные микроорганизмы, представленные грамотрицательными (*Bacteroides spp.*, *Fusobacterium spp.*, *Veillonella spp.*) и грамположительными бактериями (*Actinomyces spp.*, *Peptococcus spp.*, *Peptostreptococcus spp.*), представляют значительную часть нормальной микрофлоры кожи человека, слизистых оболочек дыхательных путей, желудочно-кишечного тракта, мочевыводящих путей. Значимость анаэробных микроорганизмов в составе нормальной микрофлоры человека так велика, что без неё невозможно сохранять и поддерживать здоровое физиологическое состояние всего организма. Анаэробные микроорганизмы участвуют в формировании иммунной защиты организма и регуляции жизнедеятельности клеток, обладают антимуtagenной активностью и различной степенью ферментативной активности [1, 2]. Антигенные свойства анаэробных неспорообразующих бактерий изучены недостаточно. Тем не менее в настоящий момент известно, что они могут вызывать тяжелые госпитальные инфекции.

Особенно эта проблема актуальна для пациентов, имеющих дефекты иммунной системы, к которым относятся все онкологические больные. У этой категории больных анаэробные микроорганизмы

могут вызывать инфекции челюстно-лицевой области, интра-абдоминальные, нижних дыхательных путей, мочевые, инфекции кровотока и другие инфекционные осложнения [3–5]. Особенно опасны инфекции, вызванные ассоциациями анаэробных бактерий с аэробными. Определенные виды анаэробных бактерий имеют тропность к различным локалям организма человека и составляют его микробный пейзаж. Так, анаэробная микрофлора кожных покровов представлена в основном бактериями рода *Bacillus*, *Cutibacterium*, *Peptostreptococcus*, а слизистой оболочки полости рта – *Actinomyces spp.*, *Bacteroides spp.*, *Bifidobacterium spp.*, *Eubacterium spp.*, *Fusobacterium spp.*, *Lactobacillus spp.*, *Peptococcus spp.*, *Veillonella spp.* В желудочно-кишечном тракте концентрация анаэробных микроорганизмов составляет от 50 до 50 000 бактерий в одном мл содержимого [6, 7]. Из 500 видов анаэробных бактерий, населяющих организм человека, приблизительно 300–400 живут в кишечнике. Микробный пейзаж желудочно-кишечного тракта представлен следующими анаэробами: *Bacteroides spp.*, *Bifidobacterium spp.*, *Clostridium spp.*, *Eubacterium spp.*, *Lactobacillus spp.*, *Peptostreptococcus spp.* Бактероиды занимают лидирующую позицию в этом списке. Установле-

но, что на одну колонию кишечной палочки приходится тысяча клеток бактериоидов [7, 8]. Чаще всего анаэробные микроорганизмы погибают в присутствии кислорода. Тем не менее различные виды анаэробов могут иметь разную толерантность к кислороду. Обычно после 30-минутной экспозиции на воздухе количество жизнеспособных анаэробных бактерий снижается практически на 50 %. Однако анаэробы, входящие в состав нормальной микрофлоры человека, более толерантны к воздействию кислорода и могут выживать в его присутствии в течение нескольких часов и даже дней, особенно в анаэробно-аэробной среде. Кроме того, в полимикробной среде прогрессивно возрастает патогенность анаэробных микроорганизмов [8, 9]. Именно такой микробный пейзаж чаще всего встречается при инфекционных осложнениях у онкологических больных [2, 3]. При определенных условиях «безвредные» анаэробы, обитающие на кожных покровах и слизистых оболочках макроорганизма, могут вызывать инфекцию [10]. Их патологическая активность возрастает при ослаблении иммунной системы, нарушении защитных сил организма, естественных барьеров. Это возможно вследствие травматизации или инвазивных манипуляций; нарушения кровоснабжения, развития некроза тканей и т.д.

Онкологические больные – одна из наиболее уязвимых групп пациентов. Дефекты иммунной системы являются обязательным условием развития самой опухоли. Более глубокие дефекты иммунной системы развиваются вследствие длительных курсов химиотерапии, терапии кортикостероидами, лучевой терапии, антимикробного лечения, а также вследствие расширенных и комбинированных оперативных вмешательств [11]. В этих случаях анаэробные микроорганизмы могут явиться причиной тяжелых инфекционных осложнений и представлять угрозу для жизни пациента [11, 12] (таблица).

Анаэробные микроорганизмы способны вызывать любой инфекционный процесс различной локализации. Наиболее часто инфекции с вовлечением анаэробов возникают после операций в области головы и шеи и на толстой кишке, где

нормальная микрофлора слизистых оболочек состоит практически на 90 % из анаэробных микроорганизмов. Как было отмечено выше, в группу риска входят онкологические больные, у которых имеются дефекты иммунной системы и вследствие этого все предрасполагающие факторы для активной пролиферации анаэробов и развития инфекции [3, 5, 11]. Основными анаэробными возбудителями инфекционных осложнений у онкологических больных являются пигментированные виды бактерий из рода *Prevotella*, *Porphyromonas*, члены группы *Bacteroides fragilis*, грамположительные кокки, *Fusobacterium nucleatum*, *Clostridium spp.*, *Veillonella spp.* Эти бактерии также вызывают 70 % всех анаэробных инфекций у онкологических больных [10, 13, 14].

Кроме того, недостаточно изучена проблема устойчивости неспорообразующих анаэробных микроорганизмов к антибактериальным препаратам. Лечение анаэробной инфекции обычно начинается эмпирически до идентификации возбудителя и определения показателей чувствительности. Это связано с тем, что процесс культивирования анаэробных микроорганизмов трудоемкий, требует специального оборудования и занимает в среднем 6–7 дней. Необходимы подготовленные микробиологи, поскольку процесс культивирования анаэробов значительно отличается от работы микробиолога с аэробными микроорганизмами. Кроме того, следует правильно собирать материал для микробиологического исследования и уделять внимание правильной транспортировке его в лабораторию. Во время транспортировки необходима защита анаэробов от воздействия кислорода. Выживаемость анаэробных бактерий в присутствии кислорода строго зависит от способности индуцировать супероксиддисмутазу (SOD) и супероксидредуктазу (SOR), каталазу и пероксидазу. Многие анаэробы не имеют этих ферментов. Кроме того, у них отсутствует система регуляции окислительно-восстановительного потенциала (редокс-потенциала), что также уменьшает их способность к выживанию [4, 15]. Исходя из этого, существуют определенные условия их культивирования. Культивируют анаэробные микроор-

Таблица/Table

Частота выделения анаэробов при различных видах инфекций
Frequency of isolation of anaerobes in various types of infections

Вид инфекции/ Type of infection	Частота выделения/ Frequency of isolation
Инфекции ЛОР органов/Infections of ENT organs	70–94 %
Инфекции нижних дыхательных путей/Lower respiratory tract infections	80–87 %
Эмпиема плевры/Pleural empyema	62–79 %
Интра-абдоминальные инфекции/Intraabdominal infections	52–80 %
Перитониты/Peritonitis	81–94 %
Раневые инфекции/Wound infections	85–95 %
Инфекции кровотока/Bloodstream infections	50–78 %
Сепсис/Sepsis	12–17 %

ганизмы в анаэробных камерах, анаэроостатах с использованием специальных пакетов системы GasPak. Сроки роста колоний на первичных средах колеблются от 24 ч до 4–6 сут. Сложной задачей является определение родовой и видовой принадлежности анаэробных микроорганизмов. Наиболее надежным методом их идентификации является молекулярно-генетический или масс-спектрометрический анализ [16–19]. Исходя из всего описанного, при подозрении на анаэробную инфекцию терапия должна быть начата эмпирически на основании клинической картины заболевания. Следует помнить, что начало лечения должно быть незамедлительным. Поскольку задержка в назначении антимикробного лечения ведет к увеличению показателей атрибутивной летальности, длительности госпитализации, увеличению финансовых затрат [20, 21]. Клинически анаэробная инфекция характеризуется наличием неприятного запаха раневого отделяемого из полости абсцесса, воспалительного экссудата брюшной и плевральных полостей; формированием некрозов и образованием газов в тканях. При эмпирическом назначении терапии следует учитывать проблему нарастающей резистентности анаэробных микроорганизмов [22–24].

В настоящий момент в литературе большое внимание уделяется изучению показателей резистентности анаэробов к антибактериальным препаратам, поскольку исторически было известно, что анаэробные бактерии чувствительны ко всем антибактериальным препаратам с антианаэробной активностью. Так, с середины прошлого столетия для лечения анаэробных инфекций применяется метронидазол. Этот препарат был «золотым стандартом» среди антианаэробных препаратов на протяжении последних 50 лет. Однако в настоящий момент ситуация кардинально изменилась. Сейчас отмечается активная селекция штаммов анаэробных микроорганизмов, резистентных к метронидазолу [14, 23, 24]. Кроме того, следует помнить, что ряд бактерий (грамположительные аспорогенные палочки анаэробных бактерий рода *Actinomyces*, *Cutibacterium*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*) имеют природную устойчивость к этому антибиотику [25]. Активностью в отношении анаэробов также обладают защищенные пенициллины, линкозамины, фторхинолоны, макролиды, цефалоспорины с ингибиторами бета-лактамаз и карбапенемы [26]. Однако, по данным ряда авторов, антибиотики группы линкозамидов, фторхинолоны и макролиды избирательно действуют на возбудителей анаэ-

робной инфекции и не рекомендованы в качестве препаратов выбора [26, 27].

В последние годы возросла способность многих анаэробов синтезировать бета-лактамазы. Так, исследования, проводимые в Аддлстоне (Великобритания), показали, что в переносе гена устойчивости к β -лактамам антибиотикам у анаэробных микроорганизмов участвуют *cfxA*, *cepA* и *cblA* [28, 29]. Практически 90 % штаммов группы *Bacteroides spp.* синтезируют бета-лактамазы. В 60 % случаев это характерно для *Prevotella spp.* и в 10 % для *Fusobacterium spp.* В клиниках Америки и Индии анализ резистентности штаммов *Bacteroides spp.* к антибактериальным препаратам выявил высокие показатели устойчивости к пенициллину G – 76,9 % и амоксициллину/клавуланату – 46,1 %. Среди бактерий рода *Prevotella* резистентность к пенициллину G составила 69,2 %. А среди *Fusobacterium spp.* – 63,6 % [24, 30, 31]. В одном из исследований, проведенном в Канаде, было изучено 400 штаммов *Actinomyces spp.* Исследованы показатели резистентности к ряду антибиотиков: пенициллину, пиперациллин-тазобактаму, меропенему, цефокситину, клиндамицину и метронидазолу [32, 33]. К метронидазолу были резистентны более 80 % штаммов, к клиндамицину – 18 %. Все штаммы были чувствительны к остальным тестируемым антибиотикам [13, 28]. Также по данным ряда исследований, в Европе и США резистентность грамотрицательных анаэробных микроорганизмов к метронидазолу и клиндамицину составляет 80–85 % [22, 26].

Таким образом, проблема инфекционных осложнений, вызванных анаэробными микроорганизмами у онкологических больных, в мире и в России практически не изучена. Длительный и трудоемкий процесс культивирования анаэробов диктует необходимость проведения эмпирической терапии инфекции в среднем в течение 6–7 дней. Клиницистам следует учитывать нарастание показателей резистентности анаэробов к метронидазолу, клиндамицину и защищенным пенициллинам. Особого внимания требуют онкологические больные, инфекционные осложнения у которых имеют более тяжелое течение, а несвоевременное начало терапии может иметь неблагоприятные исходы течения инфекции [34]. Таким образом, основополагающей задачей на сегодняшний день является разработка терапевтических подходов на основании современных данных о механизмах и показателях резистентности неспорообразующих анаэробных микроорганизмов [11, 20, 35].

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Зубков М.Н. Современная таксономия и номенклатура облигатно-анаэробных бактерий, выделенных от человека. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2005; 7(4): 312–314. [Zubkov M.N. Modern taxonomy and nomenclature of obligate-anaerobic bacteria isolated from humans. Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy. Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy 2005; 7(4): 312–314. (in Russian)].

2. Finegold S.M., George W.L. Anaerobic infections in humans. New York: Academic Press. 1989. 851 p.

3. Давыдов М.И., Дмитриева Н.В. Инфекции в онкологии. М., 2009. 472 с. [Davydov M.I., Dmitrieva N.V. Infections in oncology. Moscow, 2009. 472 p. (in Russian)].

4. Brook I. Contemporary Diagnosis and Management of Anaerobic infections. Pennsylvania. Newtown: HHC. 2004. 268 p.

5. Григорьевская З.В. Актуальность проблемы госпитальных инфекций в онкологической клинике. Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН. 2013; 24(3-4): 46-49. [Grigorievskaya Z.V. Urgency of the problem of hospital infections in cancer patients. Journal of N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center RAMS. 2013; 24 (3-4): 46-49. (in Russian)].
6. Dewhirst F.E., Chen T., Izard J., Paster B.J., Tanner A.C., Yu W.H., Lakshmanan A., Wade W.G. The human oral microbiome. J Bacteriol. 2010 Oct; 192(19): 5002-17. doi: 10.1128/JB.00542-10.
7. Finegold S.M., Jousimies-Somer H. Recently described clinically important anaerobic bacteria: medical aspects. Clin Infect Dis. 1997 Sep; 25 Suppl 2: S88-93. doi: 10.1086/516237.
8. Jousimies-Somer H., Summanen P., Citron D., Baron E., Wexler H., Finegold S. Anaerobic Bacteriology Manual. Belmont, California: Star Publishing Company. 2002. 287 p.
9. Byung K., Geoffrey M. Bacterial Physiology and Metabolism. Cambridge: Cambridge University Press. 2008. 496-529 p.
10. Bowler P.G., Duerden B.I., Armstrong D.G. Wound microbiology and associated approaches to wound management. Clin Microbiol Rev. 2001 Apr; 14(2): 244-69. doi: 10.1128/CMR.14.2.244-269.2001.
11. Гельфонд В.М. Инфекционные осложнения у онкологических больных. Практическая онкология. 2009; 10(3): 141-146. [Gelfond V.M. Infectious complications in cancer patients. Practical Oncology. 2009; 10(3): 141-146. (in Russian)].
12. Greene J. Infections in cancer Patients. New York: Marcel Dekker. 2004. 534 p.
13. Shilnikova I.I., Dmitrieva N.V. Evaluation of antibiotic susceptibility of Bacteroides, Prevotella and Fusobacterium species isolated from cancer patients of the N.N. Blokhin Cancer Research Center, Moscow, Russia. Anaerobe. 2014; 31: 1-4. doi: 10.1016/j.anaerobe.2014.08.003.
14. Терещенко И.В., Григорьевская З.В., Петухова И.И., Шильникова И.И., Григорьевский Е.Д., Терещенко О.В., Агинова В.В., Дмитриева Н.В. Место анаэробных микроорганизмов рода Veillonella в инфекционных осложнениях у онкологических больных. Сибирский онкологический журнал. 2018; 17(1): 11-18. [Tereshchenko I.V., Grigorievskaya Z.V., Petukhova I.N., Shilnikova I.I., Grigorievsky E.D., Tereshchenko O.V., Aginova V.V., Dmitrieva N.V. Role of gram-negative anaerobic cocci belonging to the genus Veillonella in infectious complications in cancer patients. Siberian Journal of Oncology. 2018; 17(1): 11-18. (in Russian)]. doi: 10.21294/1814-4861-2018-17-1-11-18.
15. Shah H.N., Olsen I., Bernard K., Finegold S.M., Gharbia S., Gupta R.S. Approaches to the study of the systematics of anaerobic, gram-negative, non-sporeforming rods: current status and perspectives. Anaerobe. 2009 Oct; 15(5): 179-94. doi: 10.1016/j.anaerobe.2009.08.003.
16. Barreau M., Pagnier I., La Scola B. Improving the identification of anaerobes in the clinical microbiology laboratory through MALDI-TOF mass spectrometry. Anaerobe. 2013; 22: 123-5. doi: 10.1016/j.anaerobe.2013.04.011.
17. Fedorko D.P., Drake S.K., Stock F., Murray P.R. Identification of clinical isolates of anaerobic bacteria using matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2012 Sep; 31(9): 2257-62. doi: 10.1007/s10096-012-1563-4.
18. Fournier R., Wallet F., Grandbastien B., Dubreuil L., Courcol R., Neut C., Dessein R. Chemical extraction versus direct smear for MALDI-TOF mass spectrometry identification of anaerobic bacteria. Anaerobe. 2012 Jun; 18(3): 294-7. doi: 10.1016/j.anaerobe.2012.03.008.
19. Kostorzewa M., Schubert S. MALDI-TOF mass spectrometry in microbiology. Bremen: Caister Academic Press. 2016. 170 p.
20. Дмитриева Н.В., Петухова И.И. Антимикробная терапия внутрибольничных инфекций. М., 2014. 326 с. [Dmitrieva N.V., Petukhova I.N. Antimicrobial therapy for nosocomial infections. Moscow, 2014. 326 p. (in Russian)].
21. Галкин Д.В., Кречикова О.И., Сухорукова М.В., Дехнич А.В. Современные возможности терапии анаэробных инфекций. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2006; 8(4): 298-313. [Galkin D.V., Krechikova O.I., Suhorukova M.V., Dehnich A.V. Current state of anty-anaerobic therapy. Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy. 2006; 8(4): 298-313. (in Russian)].
22. Brook I. Antibiotic Resistance of Anaerobic Bacteria. Antimicrobial drug resistance. Humana press. 2009. 873-899 p.
23. Dubreuil L., Odou M.F. Anaerobic bacteria and antibiotics: What kind of unexpected resistance could I find in my laboratory tomorrow? Anaerobe. 2010 Dec; 16(6): 555-9. doi: 10.1016/j.anaerobe.2010.10.002.
24. Alauzet C., Mory F., Teyssier C., Hallage H., Carlier J.P., Grol-lier G., Lozniewski A. Metronidazole resistance in Prevotella spp. and description of a new nim gene in Prevotella baroniae. Antimicrob Agents Chemother. 2010 Jan; 54(1): 60-4. doi: 10.1128/AAC.01003-09.
25. Achermann Y., Goldstein E.J., Coenye T., Shirliff M.E. Propionibacterium acnes: from commensal to opportunistic biofilm-associated implant pathogen. Clin Microbiol Rev. 2014 Jul; 27(3): 419-40. doi: 10.1128/CMR.00092-13.
26. Viswanath B.G., Lakshmi G.J., Nagamani K., Reddy N.V.N., Rao G.P., Srinivas S.S.S., Dashetwar A.M. Emergence of Antimicrobial Resistance among Anaerobic Bacteria. Am J Infect Dis Microbiol. 2017; 5(2): 87-93. doi: 10.12691/ajidm-5-2-3.
27. Экспертные правила EUCAST [Интернет]. URL: <http://www.antibiotic.ru/iaacmac/ru/docs/eucast/eucast-expert-rules-intrinsic-resistance-and-exceptional-phenotypes-3.1-rus.pdf> (cited 20.04.2020). [EUCAST Expert Rules [Internet]. URL: <http://www.antibiotic.ru/iaacmac/ru/docs/eucast/eucast-expert-rules-intrinsic-resistance-and-exceptional-phenotypes-3.1-rus.pdf> (cited 20.04.2020). (in Russian)].
28. Hecht D.W. Prevalence of antibiotic resistance in anaerobic bacteria: worrisome developments. Clin Infect Dis. 2004 Jul 1; 39(1): 92-7. doi: 10.1086/421558.
29. Kirchner M., Mafura M., Hunt T., Card R., Anjum M.F. Antibiotic resistance gene profiling of faecal and oral anaerobes collected during an antibiotic challenge trial. Anaerobe. 2013; 23: 20-2. doi: 10.1016/j.anaerobe.2013.07.011.
30. Treviño M., Areses P., Peñalver M.D., Cortizo S., Pardo F., del Molino M.L., García-Riestra C., Hernández M., Llovo J., Regueiro B.J. Susceptibility trends of Bacteroides fragilis group and characterisation of carbapenemase-producing strains by automated REP-PCR and MALDI TOF. Anaerobe. 2012 Feb; 18(1): 37-43. doi: 10.1016/j.anaerobe.2011.12.022.
31. Aldridge K.E., Ashcraft D., O'Brien M., Sanders C.V. Bacteremia due to Bacteroides fragilis group: distribution of species, beta-lactamase production, and antimicrobial susceptibility patterns. Antimicrob Agents Chemother. 2003 Jan; 47(1): 148-53. doi: 10.1128/aac.47.1.148-153.2003.
32. Kōnönen E., Wade W.G. Actinomyces and related organisms in human infections. Clin Microbiol Rev. 2015 Apr; 28(2): 419-42. doi: 10.1128/CMR.00100-14.
33. Marchand-Austin A., Rawte P., Toye B., Jamieson F.B., Farrell D.J., Patel S.N. Antimicrobial susceptibility of clinical isolates of anaerobic bacteria in Ontario, 2010-2011. Anaerobe. 2014; 28: 120-5. doi: 10.1016/j.anaerobe.2014.05.015.
34. Григорьевская З.В., Петухова И.И., Багирова Н.С., Шильникова И.И., Терещенко И.В., Григорьевский Е.Д., Дмитриева Н.В. Нозокомиальные инфекции у онкологических больных: проблема нарастающей резистентности грамотрицательных микроорганизмов. Сибирский онкологический журнал. 2017; 16(1): 91-97. [Grigorievskaya Z.V., Petukhova I.N., Bagirova N.S., Shilnikova I.I., Tereshchenko I.V., Grigorievsky E.D., Dmitrieva N.V. Nosocomial infections in cancer patients: problem of gram-negative bacterial resistance. Siberian Journal of Oncology. 2017; 16(1): 91-97. (in Russian)]. doi: 10.21294/1814-4861-2017-16-1-91-97.
35. Goldstein E., Citron D. Resistance Trends in Antimicrobial susceptibility of Anaerobic Bacteria, Part II. Clin Microbiol. Newsletter. 2011; 33(1): 1-8. doi: 10.1016/j.clinmicnews.2010.12.001.

Поступила/Received 07.02.2020
Принята в печать/Accepted 20.04.2020

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Терещенко Инна Васильевна, научный сотрудник микробиологической лаборатории, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 3185-9586. Author ID (РИНЦ): 929834. Author ID (Scopus): 57193277015.

Григорьевская Злата Валерьевна, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник микробиологической лаборатории, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 4416-5191. Author ID (РИНЦ): 710236. Author ID (Scopus): 57200538935. ORCID: 0000-0003-4294-1995.

Петухова Ирина Николаевна, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник микробиологической лаборатории, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 1265-2875. Author ID (РИНЦ): 710090. Author ID (Scopus): 6701329760. ORCID: 0000-0003-3077-0447.

Багирова Наталия Сергеевна, доктор медицинских наук, старший научный сотрудник микробиологической лаборатории, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 3189-8188. AuthorID (РИНЦ): 266234. Author ID (Scopus): 6603332319. ORCID: 0000-0003-1405-3536.

Винникова Валерия Дмитриевна, студент лечебного факультета, ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Минздрава России (г. Москва, Россия).

Вершинская Валентина Алексеевна, студент лечебного факультета, ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Минздрава России (г. Москва, Россия).

Дмитриева Наталья Владимировна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая микробиологической лабораторией, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 4727-2018. AuthorID (РИНЦ): 243733. Author ID (Scopus): 56338598600.

ВКЛАД АВТОРОВ

Терещенко Инна Васильевна: разработка концепции научной работы, подбор и анализ научной литературы, составление черновика рукописи.

Григорьевская Злата Валерьевна: разработка концепции научной работы, анализ и интерпретация научных данных, составление и редактирование черновика рукописи, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Петухова Ирина Николаевна: экспертный анализ научной работы, оформление и редактирование окончательного варианта статьи.

Багирова Наталия Сергеевна: анализ научной работы, сопоставление отечественных и зарубежных данных.

Винникова Валерия Дмитриевна: подбор отечественных статей и анализ научной литературы.

Вершинская Валентина Алексеевна: подбор зарубежных статей и анализ научной литературы.

Дмитриева Наталья Владимировна: анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания, окончательное утверждение рукописи для публикации.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы объявляют, что у них нет конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Inna V. Tereshchenko, Researcher, Microbiologic Laboratory, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology (Moscow, Russia). Author ID (Scopus): 57193277015.

Zlata V. Grigoryevskaya, MD, DSc, Principal Investigator, Microbiologic Laboratory, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology (Moscow, Russia). Author ID (Scopus): 57200538935. ORCID: 0000-0003-4294-1995.

Irina N. Petukhova, MD, DSc, Principal Investigator, Microbiologic Laboratory, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology (Moscow, Russia). Author ID (Scopus): 6701329760. ORCID: 0000-0003-3077-0447.

Natalia S. Bagirova, MD, DSc, Senior Researcher, Microbiologic Laboratory, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology (Moscow, Russia). Author ID (Scopus): 6603332319. ORCID: 0000-0003-1405-3536.

Valeria D. Vinnikova, Student, A.I. Evdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry (Moscow, Russia).

Valentina A. Vershinskaya, Student, A.I. Evdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry (Moscow, Russia).

Natalya V. Dmitrieva, DSc, Professor, Head of Microbiologic Laboratory, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology (Moscow, Russia). Author ID (Scopus): 56338598600.

AUTHOR CONTRIBUTION

Inna V. Tereshchenko: concept design, selection and analysis of scientific literature, drafting of the manuscript.

Zlata V. Grigoryevskaya: contribution to the concept, analysis and interpretation of scientific data, writing and editing of the draft of the manuscript, verification of the critically important intellectual content of the manuscript.

Irina N. Petukhova: expert analysis of research work, preparation and editing of the final version of the article.

Natalia S. Bagirova: analysis of research work, comparison of national and international data.

Valeria D. Vinnikova: selection of national articles and analysis of scientific literature.

Valentina A. Vershinskaya: selection of international articles and analysis of scientific literature.

Natalya V. Dmitrieva: analysis of scientific work, verification of critical intellectual content, final approval of the manuscript for publication.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

DOI: 10.21294/1814-4861-2020-19-4-152-159

УДК: 616.381-006.363-092.18

Для цитирования: Бугаёв В.Е., Никулин М.П., Головина Д.А., Сафронова В.М., Неред С.Н., Любченко Л.Н., Стилиди И.С. Спектр соматических мутаций при забрюшинной неорганный лейомиосаркоме: клинический случай и обзор литературы. Сибирский онкологический журнал. 2020; 19(4): 152–159. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-4-152-159.
For citation: Bugaev V.E., Nikulin M.P., Golovina D.A., Safronova V.M., Nered S.N., Lyubchenko L.N., Stilidi I.S. Spectrum of somatic mutations in retroperitoneal leiomyosarcoma: clinical case and literature review. Siberian Journal of Oncology. 2020; 19(4): 152–159. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-4-152-159.

СПЕКТР СОМАТИЧЕСКИХ МУТАЦИЙ ПРИ ЗАБРЮШИННОЙ НЕОРГАННОЙ ЛЕЙОМИОСАРКОМЕ: КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ И ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

**В.Е. Бугаёв¹, М.П. Никулин¹, Д.А. Головина¹, В.М. Сафронова¹, С.Н. Неред¹,
Л.Н. Любченко^{1,2}, И.С. Стилиди¹**

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина»

Минздрава России, г. Москва, Россия¹

Россия, 115478, г. Москва, Каширское шоссе, 24. E-mail: vladbugaev@mail.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

Забрюшинные неорганные лейомиосаркомы являются высокоагрессивными опухолями и характеризуются неблагоприятным прогнозом, обусловленным низкой чувствительностью к химиотерапии. В настоящее время проводится поиск новых мишеней для лекарственного воздействия. В данной статье мы приводим клинический случай забрюшинной неорганный лейомиосаркомы с агрессивным течением, при которой был выявлен ряд ранее не описанных в литературе активирующих мутаций в генах, играющих важную роль в регуляции клеточной пролиферации. Больной в возрасте 61 года обратился в нашу клинику с жалобами на эпизодические боли в животе, повышение температуры тела. При обследовании был выявлен забрюшинно расположенный многоузловой опухолевый конгломерат, размерами 12×10 см. Пациенту было выполнено радикальное (R0) оперативное вмешательство в объёме удаления забрюшинной опухоли, левосторонней гемиколэктомии, нефрэктомии и адреналэктомии слева, дистальной субтотальной резекции поджелудочной железы. По данным патоморфологического исследования операционного материала опухоль соответствовала лейомиосаркоме III степени злокачественности (по системе FNCLCC). В послеоперационном периоде адъювантная химиотерапия не проводилась. В ранние сроки после операции (безрецидивный период – 3 мес) отмечено прогрессирование заболевания в виде локального рецидива опухоли и появления метастазов в лёгких, проводилась симптоматическая терапия. Спустя 6 мес после операции пациент скончался от прогрессирования заболевания. При иммуногистохимическом исследовании было выявлено, что в опухоли определяется экспрессия PD-L1, уровень которой составил 30 %. Молекулярно-генетическое профилирование позволило выявить ряд соматических мутаций в генах PIK3CA, EGFR, ERBB2, PDGFRA, а также подтвердить стабильную систему репарации (MSS). Изучение мутационного профиля лейомиосарком представляет большой интерес, поскольку это может позволить определить новые механизмы лекарственного воздействия и улучшить результаты лечения.

Ключевые слова: лейомиосаркома, мутационный профиль, таргетная терапия.

SPECTRUM OF SOMATIC MUTATIONS IN RETROPERITONEAL LEIOMYOSARCOMA: CLINICAL CASE AND LITERATURE REVIEW

V.E. Bugaev¹, M.P. Nikulin¹, D.A. Golovina¹, 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: vladbugaev@mail.ru¹

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

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

Abstract

Retroperitoneal leiomyosarcomas (RpLMS) are highly aggressive tumors, which are characterized by poor prognosis and resistance to chemotherapy. Targeting tumor-specific molecular pathways have become a rapidly expanding field in drug development to increase efficacy of treatment of LMS. Here we present a case report of rapidly progressive RpLMS with gene mutations of key molecular pathways, which have not previously described in the literature. A 61-year-old man was admitted to our hospital with complaints of abdominal pain and fever. Radiological examination revealed retroperitoneal leiomyosarcoma, which was histologically confirmed by core-biopsy. The patient underwent radical (R0) en-bloc resection of tumor with left hemicolectomy, left total nephrectomy, left total adrenalectomy and distal subtotal pancreatectomy. Pathological assessment of the tumor revealed G3 leiomyosarcoma. The patient did not receive adjuvant therapy. Disease progression (local recurrence and pulmonary metastases) occurred 3 months after surgery, and the patient died 6 months after surgery. Immunohistochemical study revealed positive PD-L1 expression in tumor cells. The percentage of PD-L1- expressing cells was 30 %. Molecular-genetic testing allowed identification of somatic mutations in genes, such as PIK3CA, ALK, EGFR, ERBB, ESR1 and PDGFR and confirmation of microsatellite stable status (MSS) of the tumor. Further studies to investigate spectrum of mutations in RpLMS are of great interest, since they can allow identification of potential targets for more effective antitumor therapy and to improve treatment results.

Key words: leiomyosarcoma; mutations; targeted therapy.

Введение

Лейомиосаркомы (ЛМС) характеризуются значительной молекулярно-генетической гетерогенностью [1–3]. Результаты лечения забрюшинных неорганных лейомиосарком остаются неудовлетворительными: частота отдалённых метастазов через 5 лет после лечения составляет 50–60 % [4], 5-летняя безрецидивная выживаемость – 20–69 % [5], что диктует необходимость поиска новых методов лекарственного воздействия, в т.ч. применения таргетной терапии. Сигнальный путь PI3K/АКТ/mTOR играет важную роль в развитии лейомиосарком [6]. Инактивация данного пути может рассматриваться как потенциальное звено противоопухолевой терапии при забрюшинных ЛМС. Ранее было показано, что комбинированное использование ингибиторов EGFR с химиотерапевтическими препаратами обладает выраженной противоопухолевой активностью как *in vitro*, так и *in vivo* [7]. В преклинических исследованиях [8], в которых на клеточных линиях лейомиосарком исследовалась эффективность комбинированных ингибиторов PI3K/mTOR, было показано, что использование комбинации ингибиторов PI3K/mTOR с ингибиторами MEK позволяет усилить

противоопухолевый эффект и снизить лекарственную резистентность лейомиосарком. В данной статье мы приводим клинический случай пациента с забрюшинной неорганной лейомиосаркомой, у которого были выявлены соматические мутации, ранее не описанные при лейомиосаркомах, и представляем обзорную информацию о функциональном значении данных мутаций при опухолях других локализаций.

Описание случая

Больной А., 61 год, обратился в НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина в декабре 2017 г. с жалобами на эпизодические боли в животе, повышение температуры тела до 38,5 °С. При обследовании выявлен забрюшинно опухолевый конгломерат размером до 12×10 см, располагающийся слева от аорты в проекции нижнего края левого надпочечника, между хвостом поджелудочной железы, нисходящей ободочной кишкой, воротами левой почки и поясничной мышцей (рис. 1).

На предоперационном этапе пациенту выполнена core-биопсия образования, по данным которой диагностирована дедифференцированная липосаркома высокой степени злокачественности.

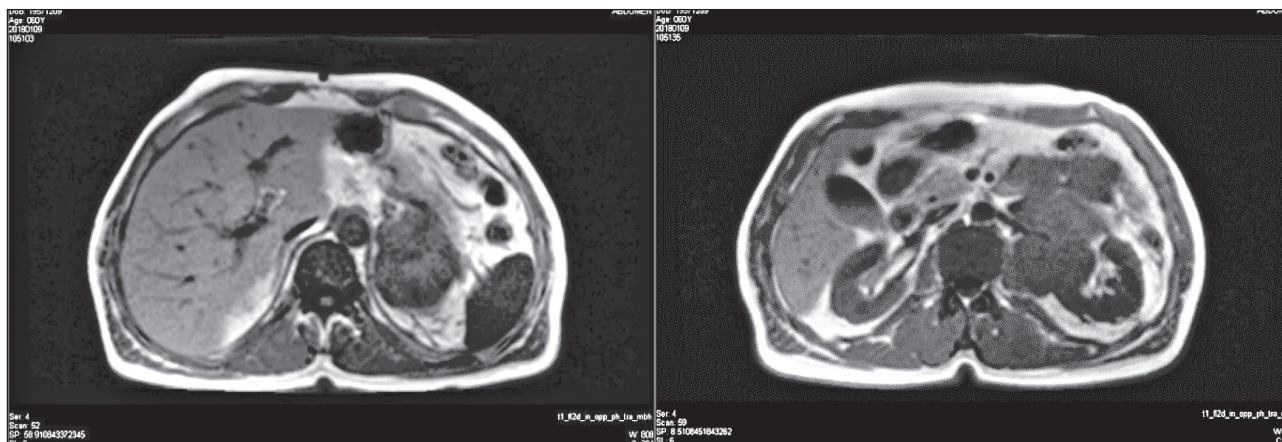


Рис. 1. Данные предоперационной компьютерной томографии.
Забрюшинная многоузловая опухоль, размерами 12×10 см
Fig. 1. Pre-surgical CT shows retroperitoneal tumor measuring 12×10 cm

23.01.18 выполнено радикальное оперативное вмешательство (R0) в объёме удаления забрюшинной опухоли, левосторонней гемиколэктомии, нефрэктомии и адреналэктомии слева, дистальной субтотальной резекции поджелудочной железы. Послеоперационный период осложнился развитием наружного панкреатического свища (grade B по классификации ISGPF). По данным патоморфологического исследования операционного материала опухоль соответствовала лейомиосаркоме III степени злокачественности (по системе FNCLCC).

Адьювантная химиотерапия не проводилась. В ранние сроки после операции (безрецидивный период – 3 мес) отмечено прогрессирование заболевания в виде локального рецидива опухоли и появления метастазов в лёгких, проводилась симптоматическая терапия. Спустя 6 мес после операции пациент скончался от прогрессирования заболевания.

На образцах опухолевой ткани, фиксированной в формалине и заключённой в парафине (FFPE), проведено иммуногистохимическое исследование уровня экспрессии PD-L1 и полимеразно-цепная реакция для определения микросателлитной неста-

бильности. Уровень экспрессии PD-L1 составил 30 % (рис. 2). Опухолевая ткань характеризовалась стабильной системой репарации неспаренных оснований (microsatellite stable, MSS).

Молекулярно-генетическое тестирование 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). При молекулярном профилировании был выявлен ряд мутаций в генах PIK3CA, ALK, EGFR, ERBB, ESR1, PDGFRA, играющих важную роль в регуляции клеточной пролиферации, апоптоза и трансформации (таблица).

Обсуждение

Интересной, на наш взгляд, является находка соматической мутации с.3104C>T в гене PIK3CA, которая зарегистрирована в международной базе данных COSMIC как клинически значимый вариант, ассоциированный с чувствительностью к таргетной терапии ингибиторами mTOR [9]. Миссенс-мутация p.A1035V в гене PIK3CA встре-

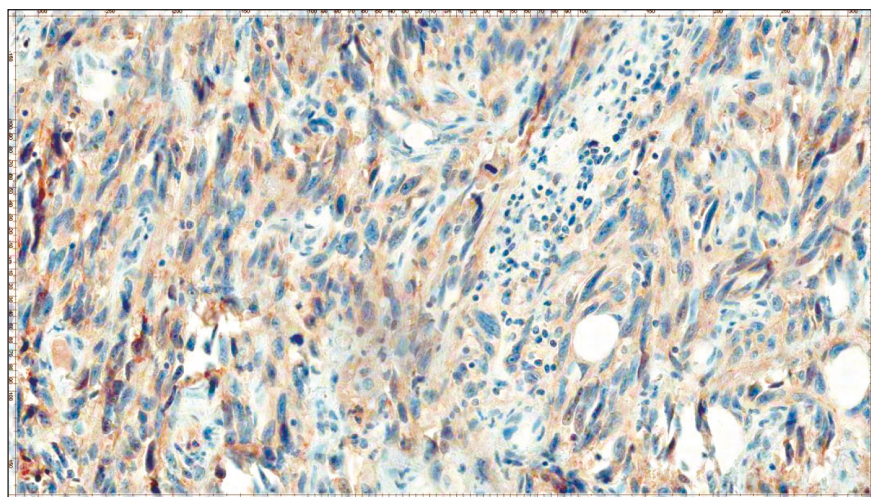


Рис. 2. Микрофото. Лейомиосаркома высокой степени злокачественности (G3), определяется экспрессия PD-L1 в 30 % окрашенных клеток. Интенсивность окраски 1+. Внутренний контроль положительный. Экспрессия PD-L1 в иммунных клетках – 0 %. ×200

Fig. 2. Microphoto. High-grade leiomyosarcoma (G3), PD-L1 expression in 30 % of stained cells. Staining intensity 1+. The internal control is positive. PD-L1 expression on immune cells is 0 %. ×200

Таблица/Table

Характеристики выявленных мутаций Characteristics of identified mutations

Ген/ Gene	Вид мутации/ Type of mutation	Экзон/ Exon	Положение (по dbSNP)/ Position (by dbSNP)	Нуклеотид- ная замена/ Nucleotide substitution	Номенклатура/Nomenclature		
					Амино- кислотная замена/ Amino acid re- placement		
ERBB2 (HER2)	Миссенс/ Missens	17	chr17:39723335 (GRCh38. p12)	c.1963A>G	p.L655V	rs1136201	NM_004448.3:c.1963A>G:
	Миссенс/ Missens	27	chr17:39727784 (GRCh38. p12)	c.3508C>G	p.P1170A	rs1058808	NM_004448.3:c.3508C>G
	Миссенс/ Missens	13	chr7:55161562 (GRCh38.p12)	c.1562G>A	p.R521K	rs2227983	NM_005228.4:c.1562G>A
EGFR	Синонимичный вариант/ Synonymous variant	25	chr7:55201223 (GRCh38.p12)	c.2982C>T	p.D994D	rs2293347	NM_001346898.1:c.2982C>T
PIK3CA	Миссенс/ Missens	21	chr3:179234261 (GRCh38. p12)	c.3104C>T	p.A1035V	rs28942107	NM_006218.3:c.3104C>T (p.Ala1035Val)
PIK3CA	n/a	n/a	n/a	c.76-23509A>G	n/a	n/a	n/a
PIK3CA	n/a	n/a	n/a	c.77+8483C>T	n/a	n/a	n/a
ESR1	Синонимичный вариант/ Synonymous variant	n/a	chr6:152098960 (GRCh38. p12)	c.1782G>A	p.T594T	rs2228480	NC_000006.11:g.152420095G>A
ALK	Синонимичный вариант/ Synonymous variant	n/a	chr2:29232401 (GRCh38. p12)	c.2535T>C	p.G845G	rs2256740	NM_004304.4(ALK):c.2535T>C (p.Gly845=)
PDGFRA	Синонимичный вариант/ Synonymous variant	12	chr4:54274888 (GRCh38. p12)	c.1701A>G	p.P567P	rs1873778	NM_006206.5(PDGFRA):c.1701A>G (p.Pro567=)

чается у 29 % больных колоректальным раком [10]. Данная мутация также была описана при раке эндометрия [11], раке молочной железы [12]. Наличие мутации в гене PIK3CA у больных колоректальным раком ассоциировано с высоким уровнем микросателлитной нестабильности [13].

Выявленная нами мутация p.R521K (rs2227983) в гене EGFR была описана у больных колоректальным раком (KPP), немелкоклеточным раком лёгкого и глиобластомой [14] и считается фактором благоприятного прогноза. Частота её встречаемости – 29–50 % [15]. У больных с колоректальным раком такой вариант полиморфизма гена связан с более высокими показателями выживаемости при KPP II–III стадии после радикальной операции и более высокой частотой ответа на химиотерапию оксалиплатином [16], а также более низкой частотой локальных рецидивов у больных раком прямой кишки, получивших химиолучевую терапию [17]. Также было показано, что у больных с KPP наличие мутации R521K гена EGFR коррелирует с более высокой частотой ответа на таргетную терапию цетуксимабом и более высокими показателями выживаемости без прогрессирования ($p=0,001$) и общей выживаемости ($p=0,001$) [18]. У больных раком молочной железы с наличием мутантного аллеля R521K отмечены низкая частота лимфо-

генного метастазирования и тенденция к более благоприятной гистологической дифференцировке опухоли [19].

Мутация p.D994D (rs2293347) в гене EGFR была описана у больных немелкоклеточным раком лёгкого, гепатоцеллюлярным раком, раком мочевого пузыря и раком молочной железы. Частота её встречаемости варьирует в пределах 14–32 % [20]. Наличие мутации p.D994D (rs2293347 GG) в гене EGFR у больных немелкоклеточным раком лёгкого ассоциировано с более высокой частотой ответа на терапию ингибитором EGFR gefitinibом (71,2 % vs 37,5 %, $p=0,0043$), а также более высокой медианой выживаемости без прогрессирования (11 vs 3 мес, $p=0,0018$). В других исследованиях было показано, что больные с генотипом rs2293347AA или rs2293347GA, получающие gefitinib, имели гораздо меньшую медиану общей выживаемости по сравнению с генотипом rs2293347GG (AA vs GG: 2,0 vs 21,0 мес; $p=0,036$; GA vs GG: 15,0 vs 21,0 мес, $p=0,025$) [21]. У больных гепатоцеллюлярным раком в исследовании W. Wang et al. [22] не выявлено значимой корреляции между наличием мутации p.D994D (rs2293347) и показателями общей выживаемости и выживаемости без прогрессирования. У больных HER2-положительным раком молочной железы, получающих терапию трастузумабом,

было выявлено, что мутация D994D в гене EGFR ассоциирована с более высокими показателями общей выживаемости, что было подтверждено при многофакторном анализе (ОР=3,46, 95 % ДИ=1,10–10,90; $p=0,02$) [23]. В литературе мы не встретили исследований, в которых у больных с лейомиосаркомой были бы описаны варианты мутаций p.D994D и p.R521K в гене EGFR, тогда как в работе P.J. Lee et al. [24] у больных с лейомиосаркомой были описаны мутации гена EGFR – p.A501T, p.E257K и p.L675V. Влияние данных мутаций на выживаемость или чувствительность к таргетной терапии не оценивалось.

Мутация p.I655V (rs1136201) в гене ERBB2 влияет на функцию трансмембранного домена рецептора HER2/neu [25] и внутриклеточную передачу сигнала [26] путём стабилизации димеризации рецептора, что в итоге приводит к его активации и онкогенной трансформации клетки [27]. Частота её встречаемости – 4,9–32 % [28] – не различается между азиатской и европейской популяциями [23]. Описаны случаи выявления данной мутации у больных раком молочной железы [29], колоректальным раком [30], рабдомиосаркомой [31], гемангиобластомой [32]. У больных раком молочной железы, получающих терапию трастузумабом, наличие мутации I655V с гомозиготным генотипом GG было связано со статистически значимым ухудшением безрецидивной выживаемости (ОР=1,79, 95 % ДИ=1,00–3,19; $p=0,78$) и общей выживаемости (ОР=0,87, 95 % ДИ=0,29–2,57; $p=0,95$) [23]. Также было выявлено, что мутация I655V в гене ERBB2 является фактором риска развития кардиотоксичности при терапии трастузумабом [29].

Миссенс-мутация p.P1170A (rs1058808) в гене ERBB2 встречается у больных раком молочной железы [29]. В популяции белых женщин в Великобритании у больных раком молочной железы мутация p.P1170A выявлялась в 33 % случаев, что не отличалось от частоты мутации в общей популяции [29]. Помимо этого в базе данных COSMIC зарегистрированы единичные случаи выявления данной мутации у больных колоректальным раком, раком пищевода и холангиокарциномой [33]. Наличие полиморфизма rs1058808 в китайской популяции связано с двукратным увеличением риска развития остеосаркомы ($p=0,02$) [34]. У больных раком молочной железы наличие данной мутации приводит к статистически значимому повышению риска развития кардиотоксичности от трастузумаба в 2,6 раза ($p=0,04$) [28], однако молекулярные причины данной склонности не ясны. Аминокислота, кодируемая кодоном 1170, располагается в цитоплазматическом домене рецептора HER2-neu, не имеющего отношения к домену связывания с ли-

гандом, т.е. с трастузумабом [35], и считается, что такая мутация не приводит к изменению варианта кодируемого белка [36]. У больных раком молочной железы, получающих трастузумаб, наличие мутации P1170A не влияло статистически значительно на показатели безрецидивной выживаемости (ОР=0,68, 95 % ДИ=0,23–1,95; $p=0,78$) и общей выживаемости (ОР=0,87, 95 % ДИ=0,29–2,57; $p=0,95$) [23]. Случаи выявления мутаций P1170A и I655V в гене ERBB2 среди больных с лейомиосаркомой не были зарегистрированы.

Мутация p.P567P (rs1873778) в гене PDGFRA была описана у больных аденосквамозным [37] и плоскоклеточным раком шейки матки [38], колоректальным раком [39], острым миелобластным лейкозом [40], нейроэндокринной опухолью поджелудочной железы [41], глиобластомой [42]. В последнем исследовании не было выявлено связи между наличием мутации и экспрессией PDGFR α . Частота встречаемости мутации p.P567P (rs1873778) – 4–19 % [43]. В большинстве исследований она встречалась в гомозиготном варианте [39]. Такая мутация является сайлент-мутацией, не изменяющей кодируемой аминокислоты. Данная мутация не была ранее описана у больных с лейомиосаркомой.

Соматическая мутация p.G845G в гене ALK (rs2256740) была описана у больных с остеосаркомой (PUBMED:25496518), гемангиобластомой (PUBMED:25589003), раком желудка и молочной железы. Мутация p.G845G в гене ALK является синонимичным вариантом мутации, не приводящим к изменению структуры кодируемого белка. Функциональная и прогностическая значимость данной мутации остаётся неизученной, в т.ч. у больных с лейомиосаркомой.

Таким образом, выявленная мутация p.A1035V в гене PIK3CA является клинически значимой мутацией у больных с лейомиосаркомами. Мутации в гене EGFR при опухолях других локализаций являются фактором чувствительности к проведению таргетной терапии. Мутация в гене PDGFRA и мутация p.P1170A в гене ERBB2 не влияют значительно на прогноз заболевания, а мутация p.I655V в гене ERBB2 является фактором негативного прогноза у больных раком молочной железы. Молекулярно-генетические основы раннего прогрессирования заболевания в данном случае, помимо низкой дифференцировки опухоли, могут быть связаны с наличием положительной экспрессии PD-L1, а также наличием мутации p.I655V в гене ERBB2, при этом выявление мутаций, являющихся предикторами чувствительности к таргетной терапии, повышает актуальность комплексного исследования мутационного профиля ЛМС.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Yang J., Du X., Chen K., Ylipää A., Lazar A.J., Trent J., Lev D., Pollock R., Hao X., Hunt K., Zhang W. Genetic aberrations in soft tissue leiomyosarcoma. *Cancer Lett.* 2009 Mar 8; 275(1): 1–8. doi: 10.1016/j.canlet.2008.06.013.
2. Larramendy M.L., Kaur S., Svarvar C., Böhling T., Knuutila S. Gene copy number profiling of soft-tissue leiomyosarcomas by array-comparative genomic hybridization. *Cancer Genet Cytogenet.* 2006 Sep; 169(2): 94–101. doi: 10.1016/j.cancergencyto.2006.01.008.
3. Guillou L., Aurias A. Soft tissue sarcomas with complex genomic profiles. *Virchows Arch.* 2010 Feb; 456(2): 201–17. doi: 10.1007/s00428-009-0853-4.
4. Gronchi A., Strauss D.C., Miceli R., Bonvalot S., Swallow C.J., Hohenberger P., Van Coevorden F., Rutkowski P., Callegaro D., Hayes A.J., Honoré C., Fairweather M., Cannell A., Jakob J., Haas R.L., Szacht M., Fiore M., Casali P.G., Pollock R.E., Raut C.P. Variability in Patterns of Recurrence After Resection of Primary Retroperitoneal Sarcoma (RPS): A Report on 1007 Patients From the Multi-institutional Collaborative RPS Working Group. *Ann Surg.* 2016 May; 263(5): 1002–9. doi: 10.1097/SLA.0000000000001447.
5. Toulmonde M., Bonvalot S., Méus P., Stoeckle E., Riou O., Isambert N., Bompas E., Jafari M., Delcambre-Lair C., Saada E., Le Cesne A., Le Péchoux C., Blay J.Y., Piperno-Neumann S., Chevreau C., Bay J.O., Brouste V., Terrier P., Ranchère-Vince D., Neuville A., Italiano A.; French Sarcoma Group. Retroperitoneal sarcomas: patterns of care at diagnosis, prognostic factors and focus on main histological subtypes: a multicenter analysis of the French Sarcoma Group. *Ann Oncol.* 2014; 25(3): 735–742. doi: 10.1093/annonc/mdt577.
6. Hernando E., Charytonowicz E., Dudas M.E., Menendez S., Matushansky I., Mills J., Succi N.D., Behrendt N., Ma L., Maki R.G., Pandolfi P.P., Cordon-Cardo C. The AKT-mTOR pathway plays a critical role in the development of leiomyosarcomas. *Nat Med.* 2007 Jun; 13(6): 748–53. doi: 10.1038/nm1560.
7. Ren W., Korchin B., Zhu Q.S., Wei C., Dicker A., Heymach J., Lazar A., Pollock R.E., Lev D. Epidermal growth factor receptor blockade in combination with conventional chemotherapy inhibits soft tissue sarcoma cell growth in vitro and in vivo. *Clin Cancer Res.* 2008 May 1; 14(9): 2785–95. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-07-4471.
8. Fourneau B., Chaire V., Lucchesi C., Karanian M., Pineau R., Laroche-Clary A., Italiano A. Dual inhibition of the PI3K/AKT/mTOR pathway suppresses the growth of leiomyosarcomas but leads to ERK activation through mTORC2: biological and clinical implications. *Oncotarget.* 2017; 8(5): 7878–90. doi: 10.18632/oncotarget.13987.
9. Mohseni M., Park B.H. PIK3CA and KRAS mutations predict for response to everolimus therapy: now that's RAD001. *J Clin Invest.* 2010 Aug; 120(8): 2655–8. doi: 10.1172/JCI44026.
10. Alvarez K., Orellana P., Villarroel C., Contreras L., Kawachi H., Kobayashi M., Wieland A.M., De la Fuente M., Triviño J.C., Kronberg U., Carvallo P., López-Köstner F. EGFR pathway subgroups in Chilean colorectal cancer patients, detected by mutational and expression profiles, associated to different clinicopathological features. *Tumour Biol.* 2017 Sep; 39(9): 1010428317724517. doi: 10.1177/1010428317724517.
11. Peterson L.M., Kipp B.R., Halling K.C., Kerr S.E., Smith D.I., Distad T.J., Clayton A.C., Medeiros F. Molecular characterization of endometrial cancer: a correlative study assessing microsatellite instability, MLH1 hypermethylation, DNA mismatch repair protein expression, and PTEN, PIK3CA, KRAS, and BRAF mutation analysis. *Int J Gynecol Pathol.* 2012 May; 31(3): 195–205. doi: 10.1097/PGP.0b013e318231fc51.
12. Hohensee I., Lamszus K., Riethdorf S., Meyer-Staeckling S., Glatzel M., Matschke J., Witzel L., Westphal M., Brandt B., Müller V., Pantel K., Wikman H. Frequent genetic alterations in EGFR- and HER2-driven pathways in breast cancer brain metastases. *Am J Pathol.* 2013 Jul; 183(1): 83–95. doi: 10.1016/j.ajpath.2013.03.023.
13. Abubaker J., Bavi P., Al-Harbi S., Ibrahim M., Siraj A.K., Al-Sanea N., Abduljabbar A., Ashari L.H., Alhomoud S., Al-Dayel F., Uddin S., Al-Kuraya K.S. Clinicopathological analysis of colorectal cancers with PIK3CA mutations in Middle Eastern population. *Oncogene.* 2008 Jun 5; 27(25): 3539–45. doi: 10.1038/sj.onc.1211013.
14. Lassman A.B., Rossi M.R., Raizer J.J., Abrey L.E., Lieberman F.S., Greife C.N., Lamborn K., Pao W., Shih A.H., Kuhn J.G., Wilson R., Nowak N.J., Cowell J.K., DeAngelis L.M., Wen P., Gilbert M.R., Chang S., Yung W.A., Prados M., Holland E.C. Molecular study of malignant gliomas treated with epidermal growth factor receptor inhibitors: tissue analysis from North American Brain Tumor Consortium Trials 01-03 and 00-01. *Clin Cancer Res.* 2005 Nov 1; 11(21): 7841–50. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-05-0421.
15. rs2227983 (SNP) - Explore this variant - Homo sapiens - Ensembl genome browser 96 [Internet]. URL: https://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Explore?r=7:55161062-55162062;v=rs2227983;vdb=variation;vf=415993233 (cited 23.04.2019).
16. 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.
17. Zhang W., Park D.J., Lu B., Yang D.Y., Gordon M., Groshen S., Yun J., Press O.A., Vallböhmer D., Rhodes K., Lenz H.J. Epidermal growth factor receptor gene polymorphisms predict pelvic recurrence in patients with rectal cancer treated with chemoradiation. *Clin Cancer Res.* 2005 Jan 15; 11(2 Pt 1): 600–5.
18. Hsieh Y.Y., Tzeng C.H., Chen M.H., Chen P.M., Wang W.S. Epidermal growth factor receptor R521K polymorphism shows favorable outcomes in KRAS wild-type colorectal cancer patients treated with cetuximab-based chemotherapy. *Cancer Sci.* 2012 Apr; 103(4): 791–6. doi: 10.1111/j.1349-7006.2012.02225.x.
19. Kallel I., Rebai M., Khabir A., Farid N.R., Rebai A. Genetic polymorphisms in the EGFR (R521K) and estrogen receptor (T594T) genes, EGFR and ErbB-2 protein expression, and breast cancer risk in Tunisia. *J Biomed Biotechnol.* 2009; 2009: 753683. doi: 10.1155/2009/753683.
20. rs2293347 (SNP) - Explore this variant - Homo sapiens - Ensembl genome browser 96 [Internet]. URL: https://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Explore?r=7:55200723-55201723;v=rs2293347;vdb=variation;vf=415996799 (cited 23.04.2019).
21. Zhang L., Yuan X., Chen Y., Du X.J., Yu S., Yang M. Role of EGFR SNPs in survival of advanced lung adenocarcinoma patients treated with Gefitinib. *Gene.* 2013 Mar 15; 517(1): 60–4. doi: 10.1016/j.gene.2012.12.087.
22. Wang W., Ma X.P., Shi Z., Zhang P., Ding D.L., Huang H.X., Saiyin H.G., Chen T.Y., Lu P.X., Wang N.J., Yu H., Sun J., Zheng S.L., Yu L., Xu J., Jiang D.K. Epidermal growth factor receptor pathway polymorphisms and the prognosis of hepatocellular carcinoma. *Am J Cancer Res.* 2014 Dec 15; 5(1): 396–410.
23. 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; 7(46): 75518–525. doi: 10.18632/oncotarget.12782.
24. Lee P.J., Yoo N.S., Hagemann I.S., Pfeifer J.D., Cottrell C.E., Abel H.J., Duncavage E.J. Spectrum of mutations in leiomyosarcomas identified by clinical targeted next-generation sequencing. *Exp Mol Pathol.* 2017 Feb; 102(1): 156–161. doi: 10.1016/j.yexmp.2017.01.012.
25. Bocharov E.V., Mineev K.S., Volynsky P.E., Ermolyuk Y.S., Tkach E.N., Sobol A.G., Chupin V.V., Kirpichnikov M.P., Efremov R.G., Arseniev A.S. Spatial structure of the dimeric transmembrane domain of the growth factor receptor ErbB2 presumably corresponding to the receptor active state. *J Biol Chem.* 2008 Mar 14; 283(11): 6950–6. doi: 10.1074/jbc.M709202200.
26. Moasser M.M. The oncogene HER2: its signaling and transforming functions and its role in human cancer pathogenesis. *Oncogene.* 2007 Oct 4; 26(45): 6469–87. doi: 10.1038/sj.onc.1210477.
27. Fleishman S.J., Schlessinger J., Ben-Tal N. A putative molecular-activation switch in the transmembrane domain of erbB2. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002 Dec 10; 99(25): 15937–40. doi: 10.1073/pnas.252640799.
28. Stanton S.E., Ward M.M., Christos P., Sanford R., Lam C., Cobham M.V., Donovan D., Scheff R.J., Cigler T., Moore A., Vahdat L.T., Lane M.E., Chuang E. Pro1170 Ala polymorphism in HER2-neu is associated with risk of trastuzumab cardiotoxicity. *BMC Cancer.* 2015; 15: 267. doi: 10.1186/s12885-015-1298-6.
29. Benusiglio P.R., Lesueur F., Luccarini C., Conroy D.M., Shah M., Easton D.F., Day N.E., Dunning A.M., Pharoah P.D., Ponder B.A. Common ERBB2 polymorphisms and risk of breast cancer in a white British population: a case-control study. *Breast Cancer Res.* 2005; 7(2): R204–9. doi: 10.1186/bcr982.
30. Kong S.L., Liu X., Suhaimi N.M., Koh K.J.H., Hu M., Lee D.Y.S., Cima I., Phyo W.M., Lee E.X.W., Tai J.A., Foong Y.M., Vo J.H., Koh P.K., Zhang T., Ying J.Y., Lim B., Tan M.H., Hillmer A.M. Molecular characterization of circulating colorectal tumor cells defines genetic signatures for individualized cancer care. *Oncotarget.* 2017 Jul; 8(40): 68026–037. doi: 10.18632/oncotarget.19138.
31. Kohsaka S., Shukla N., Amour N., Ito T., Ng C.K., Wang L., Lim D., Marchetti A., Viale A., Pirun M., Succi N.D., Qin L.X., Sciort R., Bridge J., Singer S., Meyers P., Wexler L.H., Barr F.G., Dogan S., Fletcher J.A., Reis-Filho J.S., Ladanyi M. A recurrent neomorphic mutation in MYO1D defines a clinically aggressive subset of embryonal rhabdomyosarcoma associated with PI3K-AKT pathway mutations. *Nat Genet.* 2014; 46(6): 595–600. doi: 10.1038/ng.2969.
32. Shankar G.M., Taylor-Weiner A., Lelic N., Jones R.T., Kim J.C., Francis J.M., Abedalthagafi M., Borges L.F., Coumans J.V., Curry W.T.,

Nahed B.V., Shin J.H., Paek S.H., Park S.H., Stewart C., Lawrence M.S., Cibulskis K., Thorner A.R., Van Hummelen P., Stemmer-Rachamimov A.O., Batchelor T.T., Carter S.L., Hoang M.P., Santagata S., Louis D.N., Barker F.G., Meyerson M., Getz G., Brastianos P.K., Cahill D.P. Sporadic hemangioblastomas are characterized by cryptic VHL inactivation. *Acta Neuropathol Commun.* 2014 Dec 24; 2: 167. doi: 10.1186/s40478-014-0167-x.

33. Forbes S.A., Beare D., Boutselakis H., Bamford S., Bindal N., Tate J., Cole C.G., Ward S., Dawson E., Ponting L., Stefancsik R., Harsha B., Kok C.Y., Jia M., Jubb H., Sondka Z., Thompson S., De T., Campbell P.J. COSMIC: somatic cancer genetics at high-resolution. *Nucleic Acids Res.* 2017 Jan 4; 45(D1): D777-D783. doi: 10.1093/nar/gkw1121.

34. 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.

35. Wang V., Chuang T.C., Kao M.C., Shan D.E., Soong B.W., Shieh T.M. Polymorphic Ala-allele carriers at residue 1170 of HER2 associated with Parkinson's disease. *J Neurol Sci.* 2013 Feb; 325(1-2): 115-9. doi: 10.1016/j.jns.2012.12.017.

36. Ng P.K., Li J., Jeong K.J., Shao S., Chen H., Tsang Y.H., Sengupta S., Wang Z., Bhavana V.H., Tran R., Soewito S., Minussi D.C., Moreno D., Kong K., Dogruluk T., Lu H., Gao J., Tokheim C., Zhou D.C., Johnson A.M., Zeng J., Ip C.K.M., Ju Z., Wester M., Yu S., Li Y., Vellano C.P., Schultz N., Karchin R., Ding L., Lu Y., Cheung L.W.T., Chen K., Shaw K.R., Meric-Bernstam F., Scott K.L., Yi S., Sahni N., Liang H., Mills G.B. Systematic Functional Annotation of Somatic Mutations in Cancer. *Cancer Cell.* 2018 Mar 12; 33(3): 450-462.e10. doi: 10.1016/j.ccell.2018.01.021.

27. Longatto-Filho A., Pinheiro C., Martinho O., Moreira M.A., Ribeiro L.F., Queiroz G.S., Schmitt F.C., Baltazar F., Reis R.M. Molecular characterization of EGFR, PDGFRA and VEGFR2 in cervical adenocarcinoma. *BMC Cancer.* 2009 Jun 29; 9: 212. doi: 10.1186/1471-2407-9-212.

38. Taja-Chayeb L., Chavez-Blanco A., Martínez-Tlahuel J., González-Fierro A., Candelaria M., Chanona-Vilchis J., Robles E., Dueñas-Gonzalez A.

Expression of platelet derived growth factor family members and the potential role of imatinib mesylate for cervical cancer. *Cancer Cell Int.* 2006 Oct 2; 6: 22. doi: 10.1186/1475-2867-6-22.

39. Estevez-Garcia P., Castaño A., Martín A.C., Lopez-Rios F., Iglesias J., Muñoz-Galván S., Lopez-Calderero I., Molina-Pinelo S., Pastor M.D., Carnero A., Paz-Ares L., Garcia-Carbonero R. PDGFRA/β and VEGFR2 polymorphisms in colorectal cancer: incidence and implications in clinical outcome. *BMC Cancer.* 2012 Nov 12; 12: 514. doi: 10.1186/1471-2407-12-514.

40. Trojani A., Ripamonti C.B., Penco S., Beghini A., Nadali G., Di Bona E., Viola A., Castagnola C., Colapietro P., Grillo G., Pezzetti L., Ravelli E., Patrosso M.C., Marocchi A., Cuneo A., Ferrara F., Lazzarino M., Pizzolo G., Cairoli R., Morra E. Molecular analysis of PDGFRA and PDGFRB genes by rapid single-strand conformation polymorphism (SSCP) in patients with core-binding factor leukaemias with KIT or FLT3 mutation. *Anticancer Res.* 2008; 28(5A): 2745-51.

41. Gilbert J.A., Adhikari L.J., Lloyd R.V., Halfdanarson T.R., Munders M.H., Ames M.M. Molecular markers for novel therapeutic strategies in pancreatic endocrine tumors. *Pancreas.* 2013; 42(3): 411-21. doi: 10.1097/MPA.0b013e31826cb243.

42. Martinho O., Longatto-Filho A., Lambros M.B., Martins A., Pinheiro C., Silva A., Pardal F., Amorim J., Mackay A., Milanezi F., Tamber N., Fenwick K., Ashworth A., Reis-Filho J.S., Lopes J.M., Reis R.M. Expression, mutation and copy number analysis of platelet-derived growth factor receptor A (PDGFRA) and its ligand PDGFA in gliomas. *Br J Cancer.* 2009 Sep 15; 101(6): 973-82. doi: 10.1038/sj.bjc.6605225.

43. rs1873778 (SNP) - Explore this variant - Homo sapiens - Ensembl genome browser 96 [Internet]. URL: https://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Explore?r=4:54274388-54275388;v=rs1873778;vdb=variation;vf=250182332 (cited: 23.04.2019).

Поступила/Received 24.06.2019
Принята в печать/Accepted 21.10.2019

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Бугаёв Владислав Евгеньевич, аспирант хирургического отделения № 6 абдоминальной онкологии торакоабдоминального отдела, НИИ клинической онкологии им. Н.Н. Трапезникова, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). E-mail: vladbugaev@mail.ru. SPIN-код: 7913-4919. ORCID: 0000-0002-2410-7801.

Никулин Максим Петрович, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник хирургического отделения № 6 абдоминальной онкологии торакоабдоминального отдела НИИ клинической онкологии им. Н.Н. Трапезникова, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 9455-5566. ORCID: 0000-0002-9608-4696.

Головина Дарья Андреевна, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории клинической онкогенетики отдела морфологической и молекулярно-генетической диагностики опухолей, НИИ клинической онкологии им. Н.Н. Трапезникова, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия).

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

Неред Сергей Николаевич, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник хирургического отделения № 6 (абдоминальной онкологии) торако-абдоминального отдела, НИИ клинической онкологии 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 клинической онкологии им. Н.Н. Трапезникова, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 9589-9057.

Стилиди Иван Сократович, доктор медицинских наук, академик РАН, профессор, директор ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения России, заведующий отделением абдоминальной онкологии, НИИ клинической онкологии им. Н.Н. Трапезникова ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 9622-7106. ORCID: 0000-0002-5229-8203.

ВКЛАД АВТОРОВ

Бугаёв Владислав Евгеньевич: получение и анализ данных, написание текста рукописи.

Никулин Максим Петрович: разработка дизайна исследования, анализ полученных данных.

Головина Дарья Андреевна: получение и анализ данных.

Сафронова Вера Михайловна: получение данных для анализа.

Неред Сергей Николаевич: анализ полученных данных.

Любченко Людмила Николаевна: разработка дизайна исследования, анализ полученных данных, написание текста рукописи.

Стилиди Иван Сократович: разработка дизайна исследования, анализ полученных данных.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы объявляют, что у них нет конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Vladislav E. Bugaev, MD, Postgraduate, Surgery Department № 6, N.N. Blokhin National Medical Research Centre of Oncology of the Health Ministry of Russia (Moscow, Russia). E-mail: vladbugaev@mail.ru. ORCID: 0000-0002-2410-7801.

Maxim P. Nikulin, MD, PhD, Senior Researcher, Surgery Department, N.N. Blokhin National Medical Research Centre of Oncology of the Health Ministry of Russia (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0002-9608-4696.

Daria A. Golovina, PhD, Research Fellow, Oncogenetics Laboratory, N. N. Blokhin National Medical Research Centre of Oncology of the Health Ministry of Russia (Moscow, Russia).

Vera M. Safronova, Junior Research Fellow, Oncogenetics Laboratory, 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).

Ludmila N. Lyubchenko, MD, DSc, Associate Professor, Oncology Institute of Clinical Medicine, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University; Head of 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).

Ivan S. Stilidi, MD, DSc, Professor, Member of the Russian Academy of Sciences, Director of N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Head of Surgical Department № 6 (Moscow, Russia).

AUHOR CONTRIBUTION

Vladislav E. Bugaev: data collection and analysis, writing of the manuscript.

Maxim P. Nikulin: study design, data analysis.

Daria A. Golovina: data collection and analysis.

Vera M. Safronova: data collection

Sergei N. Nered: data analysis.

Ludmila N. Lyubchenko: study design and conception, data analysis, writing of the manuscript.

Ivan S. Stilidi: study design, data analysis.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.