

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 28.10.2020 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. 20,8.

Тираж 1000 экз. Заказ .

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

При перепечатке ссылка на
«Сибирский онкологический журнал» обязательна

© Томский национальный исследовательский
медицинский центр Российской академии наук

СИБИРСКИЙ ОНКОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

SIBERIAN JOURNAL OF ONCOLOGY

SIBIRSKIY ONCOLOGICHESKIY ZHURNAL

Двухмесячный научно-практический журнал

Том 19, № 6 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, № 6 2020

Editor-in-Chief :

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

Associate Editors:

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

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

Executive Editors:

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

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

Editorial Board:

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

S. Iyer, Professor (India)

M. Dzhugashvili, MD, PhD (Spain)

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

Yu. Kzhyshkovska, Professor (Germany)

T. Kondo, Professor (Japan)

G. Margolin, Professor (Sweden)

L. Ungar, Professor (Hungary)

M. Freidin, PhD (United Kingdom)

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

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

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

A. Yu, Professor (Taiwan)

СОДЕРЖАНИЕ

Новогоднее поздравление от главного редактора	5
ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ	
<i>Калинкин Д.Е., Карпов А.Б., Максимов Д.Е., Кириакиди Е.Н., Тахауов Р.М.</i> Оценка риска заболеваемости злокачественными новообразованиями лимфоидной ткани у лиц, подвергавшихся долговременному профессиональному облучению	7
<i>Минкина Л.М., Цветкова М.М., Тихонова Я.С., Постойкина М.А.</i> Эпидемиология онкологической заболеваемости детей и подростков Приморского края за 2008–2018 гг.	19
КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ	
<i>Сергеева Н.С., Кармакова Т.А., Алентов И.И., Зикирходжаев А.Д., Ортабаева Д.Р., Каприн А.Д.</i> Клиническая значимость простатического специфического антигена у больных раком молочной железы	28
<i>Анищенко В.В., Титов С.Е., Полоз Т.Л., Верякина Ю.А., Архипова А.А., Бубнов И.В.</i> Динамический скрининг предраковых состояний пищевода с помощью молекулярно-генетического анализа	38
<i>Павлов М.В., Рыхтик П.И., Ильинская О.Е., Субочев П.В., Крейнина Ю.М., Масленникова А.В.</i> Изучение динамики опухолевого кровотока для оценки раннего ответа рака молочной железы на неоадъювантную химиотерапию	46
ЛАБОРАТОРНЫЕ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ	
<i>Кайгородова Е.В., Тарабановская Н.А., Суркова П.В., Зельчан Р.В., Гарбуков Е.Ю.</i> Наличие в крови различных популяций циркулирующих опухолевых клеток у больных раком молочной железы до лечения: связь с пятилетней безметастатической выживаемостью (на англ. языке)	57
<i>Черткова А.И., Славина Е.Г., Заботина Т.Н., Кадагидзе З.Г., Шоуа Э.К., Гордеева О.О., Колядина И.В., Жукова Л.Г., Ганьшина И.П., Мещеряков А.А.</i> Взаимосвязь NKT-клеток и активированных CD25+ лимфоцитов периферической крови с продолжительностью безрецидивной и общей выживаемости больных трижды негативным раком молочной железы	66
<i>Лылова Е.С., Савинкова А.В., Жидкова Е.М., Кирсанов К.И., Якубовская М.Г., Будинова И.В., Лесовая Е.А.</i> Ингибирование экспрессии гена <i>REDD1</i> для снижения побочных эффектов глюкокортикоидов	73
<i>Круглов С.С., Гельфонд М.Л., Тындык М.Л., Майдин М.А., Гришачева Т.Г., Басина Р.М., Губарева Е.А., Плахов Е.А., Киреева Г.С., Панченко А.В.</i> Методические аспекты проведения фотодинамической терапии солидной карциномы Эрлиха у мышей линии BALB/C с различной локализацией опухоли	82
<i>Соловьева О.И., Завьялов Е.Л., Теплякова Т.В., Лебедев Л.Р., Разумов И.А.</i> Эффект экстракта мицелия <i>Duddingtonia Flagrans</i> на подкожные ксенографты клеток C33a карциномы шейки матки человека	93
ОПЫТ РАБОТЫ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ УЧРЕЖДЕНИЙ	
<i>Байкалова О.И., Беляев А.М., Прохоров Г.Г., Раджабова З.А.</i> Лечение плоскоклеточного рака кожи с применением криогенных технологий	99
ОБЗОРЫ	
<i>Даниленко А.А., Шахтарина С.В., Фалалеева Н.А.</i> Современные возможности лечения хронического лимфоцитарного лейкоза	106
<i>Коломейцева А.А., Феденко А.А.</i> Оптимальная последовательность применения ингибиторов рецептора эпидермального фактора роста у пациентов с распространенным немелкоклеточным раком легкого, имеющих в опухоли активирующие мутации гена <i>EGFR</i>	119
<i>Парфирьева Е.М., Изченко А.О., Изченко О.А., Августиневич А.В.</i> Эволюция методов остановки кровотечения из пресакрального венозного сплетения в хирургии таза: обзор литературы	126
<i>Кит О.И., Игнатов С.Н., Златник Е.Ю., Солдаткина Н.В., Росторгуев Э.Е., Сагакянц А.Б., Бондаренко Е.С., Ситковская А.О.</i> Онколитическая виротерапия в лечении глиобластомы: достижения и проблемы клинических исследований (обзор литературы)	133
<i>Сеньчукова М.А., Макарова Е.В., Калинин Е.А., Ткачев В.В., Зубарева Е.Ю.</i> Современные представления о роли гипоксии в развитии радиорезистентности злокачественных опухолей	141
СЛУЧАЙ ИЗ КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКИ	
<i>Абдуллаев А.Г., Курбанов А.А.</i> Ведение беременности при диссеминированной гастроинтестинальной стромальной опухоли. Случай из практики	148
<i>Костромицкий Д.Н., Добродеев А.Ю., Афанасьев С.Г., Ли Н.А., Васильев Н.В., Подъяблонский А.С.</i> Метастатическая первично-множественная меланома слизистой оболочки желудка и толстой кишки. Редкий клинический случай	155
НЕКРОЛОГ	
Памяти профессора Андрея Петровича Кошеля	161

CONTENTS

New year message from the editor-in-chief	6
---	---

EPIDEMIOLOGICAL STUDIES

Kalinkin D.E., Karpov A.B., Maksimov D.E., Kiriakidi E.N., Takhauov R.M. Assessment of lymphoid neoplasm risk factors in people occupationally exposed to prolonged ionizing radiation	7
Minkina L.M., Tsvetkova M.M., Tikhonova Ya.S., Postoykina M.A. Cancer incidence and mortality in children and adolescents in Primorsky Krai for the 2008–2018 period	19

CLINICAL STUDIES

Sergeeva N.S., Karmakova T.A., Alentov I.I., Zikiryahodzhaev A.D., Ortabaeva D.R., Kaprin A.D. Clinical significance of prostate-specific antigen in breast cancer patients	28
Anishchenko V.V., Titov S.E., Poloz T.L., Vetyaskina Yu.A., Arkhipova A.A., Bubnov I.V. Dynamic screening of precancerous esophagus using molecular genetic analysis	38
Pavlov M.V., Rykhtik P.I., Ilyinskaya O.E., Subochev P.V., Kreinina Yu.M., Maslennikova A.V. Study of changes in tumor blood flow for the assessment of early response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer patients	46

LABORATORY AND EXPERIMENTAL STUDIES

Kaigorodova E.V., Tarabanovskaya N.A., Surkova P.V., Zelchan R.V. The presence of various populations of circulating tumor cells in the blood of breast cancer patients before treatment: association with five-year metastasis-free survival	57
Chertkova A.I., Slavina E.G., Zabolina T.N., Kadagidze Z.G., Shoua E.K., Gordeeva O.O., Kolyadina I.V., Zhukova L.G., Ganshina I.P., Meshcheryakov A.A. Association of NKT- and activated CD25+ peripheral blood lymphocytes with disease free and overall survival of triple negative breast cancer patients	66
Lylova E.S., Savinkova A.V., Zhidkova E.M., Kirsanov K.I., Yakubovskaya M.G., Budunova I.V., Lesovaya E.A. Inhibition of <i>REDD1</i> expression for the reduction of glucocorticoid-induced side effects	73
Kruglov S.S., Gelfond M.L., Tyndyk M.L., Maydin M.A., Grishacheva T.G., Basina R.M., Gubareva E.A., Plakhov E.A., Kireeva G.S., Panchenko A.V. Methodological aspects of photodynamic therapy of Ehrlich solid carcinoma in balb/c mouse strain with various tumor localization	82
Solovieva O.I., Zavjalov E.L., Teplyakova T.V., Lebedev L.R., Razumov I.A. Effect of the mycelium extract from <i>duddingtonia flagrans</i> fungus on <i>Subcutaneous Xenograft</i> of human C33a cervical carcinoma cells	93

PRACTICE OF ONCOLOGY

Baykalova O.I., Belyaev A.M., Prokhorov G.G., Radzhabova Z.A. Treatment of squamous cell carcinoma of the skin with the use of cryogenic technologies	99
--	----

REVIEWS

Danilenko A.A., Shakhtarina S.V., Falaleeva N.A. Modern approaches to treatment of chronic lymphocytic leukemia	106
Kolomeytseva A.A., Fedenko A.A. Optimal sequence of application of epidermal growth factor receptor inhibitors in advanced non-small cell lung cancer patients with activating <i>EGFR</i> mutations	119
Parfireva E.M., Ivchenko A.O., Ivchenko O.A., Avgustinovich A.V. Evolution of methods of stopping bleeding from the presacral venous plexus in pelvic surgery: a review of the literature	126
Kit O.I., Ignatov S.N., Zlatnik E.Yu., Soldatkina N.V., Rostorguev E.E., Sagakyants A.B., Bondarenko E.S., Sitkovskaya A.O. Oncolytic virotherapy in glioblastoma treatment: progress and challenges in clinical research (Literature review)	133
Senchukova M.A., Makarova E.V., Kalinin E.A., Tkachev V.V., Zubareva E.Yu. Modern concepts on the role of hypoxia in the development of tumor radioresistance	141

CASE REPORTS

Abdullaev A.G., Kurbanov A.A. Disseminated gastrointestinal stromal tumor in pregnancy. A case report	148
Kostromitsky D.N., Dobrodeev A.Yu., Afanasyev S.G., Li N.A., Vasilyev N.V., Podyablonsky A.S. Metastatic multiple primary gastrointestinal melanoma: A case report	155

NECROLOGUE

In memory of professor Kochel A.P.	161
---	-----



Дорогие друзья!

Завершая 2020-й год шестым номером «Сибирского онкологического журнала», от имени членов редакционной коллегии и от себя лично хочу поблагодарить авторов, читателей, рецензентов за совместную работу. Оглядываясь назад, мы понимаем, что в это непростое время мы сумели адаптироваться к новым реалиям и проявили гибкость и слаженность в работе, равнодушие и интерес к общему делу. Несмотря на то, что уходящий год был весьма трудным, были и хорошие моменты.

Особенную гордость и радость вызывает то, что мы продолжили свою работу, подтверждая и укрепляя высокий научный статус журнала. Мы смогли не только удержать читательский интерес, но и упрочить вес Сибирского онкологического журнала в научном мире. Работа редакции и рецензентов показала свою эффективность – импакт-фактор журнала в БД Scopus был пересчитан и возрос в 2019 году, составив 0,2.

Пусть уходящий год запомнится как еще один пройденный этап жизни, который многому нас научил, открыл возможности для дальнейшего творческого развития. Хочется верить, что новый, 2021-й, год будет щедр на научные успехи и прорывы, принесет радость встреч и рукопожатий! Искренне желаю встретить его в атмосфере спокойствия, счастья и любви! Здоровья Вам и Вашим близким! Всех благ!

С наилучшими пожеланиями,
главный редактор,
академик РАН, профессор

A handwritten signature in blue ink, which appears to be 'Чойнзон' (Choinzon).

Е.Л. Чойнзонов



Dear friends,

Completing 2020 with the sixth issue of Siberian Journal of Oncology, on behalf of the whole Editorial Team, we would like to thank all our readers, authors, and reviewers for their contributions, service and interest. Looking back, we understand that in this difficult time we were able to adapt to new realities and showed flexibility and teamwork in work, indifference and interest in the common cause. Despite the fact that the outgoing year was quite difficult, there were still some good moments.

We are especially proud and happy that we have continued our work, confirming and strengthening the high scientific status of the journal. We were able not only to keep the readers' interest, but also to increase the interest in our Journal of the scientific world community. The work of the editorial board and reviewers has shown its effectiveness, and the impact factor of the journal in the Scopus database was recalculated and increased in 2019, amounting to 0.2.

May the outgoing year be remembered as a year which taught us a lot, opened up opportunities for further creative development. I would like to believe that the next year will be generous in scientific achievements and breakthroughs, will bring joy of meetings and handshakes!

I sincerely wish you to meet New Year in an atmosphere of calmness, happiness and love!

Happy New Year 2021 to you and your family!

Sincerely,
E.L. Choyazonov,
Editor-in-Chief

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'E.L. Choyazonov'.

DOI: 10.21294/1814-4861-2020-19-6-7-18

УДК: 616-006.44:613.648

Для цитирования: Калинин Д.Е., Карпов А.Б., Максимов Д.Е., Кириакиди Е.Н., Тахауов Р.М. Оценка риска заболеваемости злокачественными новообразованиями лимфоидной ткани у лиц, подвергавшихся долговременному профессиональному облучению. Сибирский онкологический журнал. 2020; 19(6): 7–18. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-6-7-18.

For citation: Kalinkin D.E., Karpov A.B., Maksimov D.E., Kiriakidi E.N., Takhauov R.M. Assessment of lymphoid neoplasm risk factors in people occupationally exposed to prolonged ionizing radiation. Siberian Journal of Oncology. 2020; 19(6): 7–18. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-6-7-18.

ОЦЕНКА РИСКА ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ НОВООБРАЗОВАНИЯМИ ЛИМФОИДНОЙ ТКАНИ У ЛИЦ, ПОДВЕРГАВШИХСЯ ДОЛГОВРЕМЕННОМУ ПРОФЕССИОНАЛЬНОМУ ОБЛУЧЕНИЮ

Д.Е. Калинин^{1,2}, А.Б. Карпов², Д.Е. Максимов¹,
Е.Н. Кириакиди², Р.М. Тахауов^{1,2}

Северский биофизический научный центр ФМБА России, г. Северск, Россия¹

Россия, 636039, г. Северск, пр. Коммунистический, 87. E-mail: mail@sbrsc.seversk.ru¹

Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Томск, Россия²

Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2²

Аннотация

Цель работы – оценка заболеваемости злокачественными новообразованиями лимфоидной ткани среди подвергавшегося долговременному радиационному воздействию персонала Сибирского химического комбината. **Материал и методы.** Объектом исследования являлся персонал Сибирского химического комбината (44 041 работник), из них 16 938 человек подвергались в процессе профессиональной деятельности долговременному ионизирующему излучению низкой интенсивности. Всего было выявлено 295 случаев злокачественных новообразований лимфоидной ткани, из них 89 – среди лиц, работавших в условиях воздействия ионизирующего излучения. Оценивались структура и уровень заболеваемости злокачественными новообразованиями лимфоидной ткани (на основании сведений о количестве человеко-лет наблюдения), а также стандартизованный относительный риск их развития и избыточный относительный риск на единицу дозы облучения (Гр). Расчёт стандартизованного относительного риска выполнялся для следующих интервалов суммарной дозы внешнего облучения: 0; >0–0,05; >0,05–0,10; >0,10–0,15; >0,15–0,20; >0,20–0,30; >0,30–0,50; >0,5–1,0; $\geq 1,0$ Гр. В качестве группы контроля выступал персонал комбината, работавший вне контакта с ионизирующим излучением. Расчёт стандартизованного относительного риска и избыточного относительного риска выполнялся с помощью пуассоновской регрессии с использованием модуля AMFIT программы EPICURE. **Результаты.** В структуре заболеваемости злокачественных новообразований лимфоидной ткани персонала Сибирского химического комбината среди мужчин наибольшие доли имеют неходжкинские лимфомы, хронический лимфолейкоз и хронические лейкозы без учёта хронических лимфолейкозов. Заболеваемость злокачественными новообразованиями лимфоидной ткани среди мужского персонала составила 17,1 случая на 100 000 человеко-лет наблюдения, при этом самые высокие уровни заболеваемости зарегистрированы для неходжкинских лимфом, хронических лимфолейкозов и хронических лейкозов без учёта хронических лимфолейкозов. Среди женщин заболеваемость злокачественными новообразованиями лимфоидной ткани составила 21,3 случая на 100 000 человеко-лет наблюдения. Ни в одном из интервалов суммарной дозы внешнего облучения не было выявлено статистически значимого превышения стандартизованного относительного риска в сравнении с группой контроля. Расчёт избыточного относительного риска на единицу дозы облучения также не выявил повышения риска развития злокачественных новообразований лимфоидной ткани среди лиц, работавших в

условиях воздействия ионизирующего излучения. **Заключение.** Профессиональное облучение в изученном диапазоне доз не вызывает повышения риска развития злокачественных новообразований лимфоидной ткани.

Ключевые слова: злокачественные новообразования лимфоидной ткани, риск, профессиональное облучение.

ASSESSMENT OF LYMPHOID NEOPLASM RISK FACTORS IN PEOPLE OCCUPATIONALLY EXPOSED TO PROLONGED IONIZING RADIATION

D.E. Kalinkin^{1,2}, A.B. Karpov², D.E. Maksimov¹, E.N. Kiriakidi², R.M. Takhauov^{1,2}

Seversk Biophysical Research Center of the Federal Medical Biological Agency of Russia,
Seversk, Russia¹

87, Kommunistichesky av., 636039, Seversk, Russia. E-mail: mail@sbrs.seversk.ru¹

Siberian State Medical University, Tomsk, Russia²

2, Moskovsky Trakt, 634050, Tomsk, Russia²

Abstract

Objective: To estimate the incidence of malignant neoplasms of lymphoid tissue (MNLT) among employees of the Siberian Chemical Combine (SCC) occupationally exposed to prolonged ionizing radiation. **Material and Methods.** The study included 44,041 employees of the SCC, of whom 16,938 were occupationally exposed to prolonged low-intensity ionizing radiation (IR). Of 295 cases with hemoblastoses, there were 89 with occupational exposure to IR. The structure and incidence of hemoblastoses (based on the number of person-years of observation, (PYO), as well as the standardized relative risk (SRR) of their development and excess relative risk (ERR) per unit dose of radiation (Gr) were evaluated. Calculation of SRR was carried out for the following intervals of the total dose of external exposure: 0; >0–0.05; >0.05–0.10; >0.10–0.15; >0.15–0.20; >0.20–0.30; >0.30–0.50; >0.5–1.0; ≥ 1.0 Gy. The control group consisted of occupationally non-exposed employees of the SCC. The calculation of SRR and ERR was performed using the Poisson regression using the AMFIT module of the EPICURE package. **Results.** The incidence of MNLT among males of SCC was 17.1 per 100,000 PYO, with the highest incidence rates for Non-Hodgkin's lymphoma (NHL), chronic lymphocytic leukemia (CLL) and chronic leukemia (CL) excluding CLL. Among females of the SCC, the incidence of MNLT was 21.3 per 100,000 PYO. It was found that in none of the intervals of the external exposure there was no statistically significant excess of the SRR compared with the control group. The results of ERR/Gy calculation also did not demonstrate the increased risk of hemoblastosis among people occupationally exposed to IR. **Conclusion.** Occupational exposure in the studied dose range does not increase the risk of developing MNLT.

Key words: malignant neoplasms of the lymphoid tissue, risk, occupational exposure.

Введение

К настоящему времени стало очевидно, что научные представления о закономерностях и механизмах действия ионизирующего излучения (ИИ) в «малых» дозах (суммарная доза внешнего облучения (СДВО) до 100 мЗв) весьма ограничены и неполны [1]. Неопределённость спектра эффектов, вызываемых данным физическим агентом (долговременное воздействие ИИ в указанном дозовом диапазоне), а также существующие сомнения относительно самой возможности реализации патологических изменений в результате данного воздействия свидетельствуют о целесообразности дальнейшего изучения обозначенной проблемы. При этом нельзя игнорировать тот факт, что в условиях современной жизни человек испытывает прессинг большого количества внешнесредовых

факторов риска (природных, антропогенных, техногенных и эндогенных) развития основных заболеваний. Действуя сочетанно, эти факторы могут нейтрализовать либо усиливать друг друга, вызывая проявления, не свойственные изолированному воздействию того или иного фактора, что в реальной жизни практически невоспроизводимо. Поэтому в последнее время центр тяжести фундаментальных радиобиологических исследований должен неизбежно перемещаться с хорошо изученных эффектов острого облучения на вероятные, отдалённые последствия, вызываемые «малыми» дозами облучения в сочетании с прочими факторами. При облучении человека традиционно рассматривается возможность проявления таких групп стохастических эффектов, как генетические нарушения и онкологические заболевания.

Радиационно-индуцированный рак возникает при мутации соматических клеток вследствие действия ИИ или сочетания промоцирующего действия ИИ с другой пусковой иницирующей причиной. В связи с высокими возможностями репаративных процессов высока вероятность развития опухоли в короткий латентный период (2–5 лет), типичный для острого лейкоза [2, 3]. Для солидных опухолей он, как правило, более продолжителен и составляет не менее 5–10 лет [4–6].

Наиболее распространена гипотеза, в соответствии с которой под влиянием ИИ повышается нестабильность ядерной ДНК. В процессе репарации её нелетальных повреждений возникают условия, способствующие включению онковируса в геном соматической клетки с последующей злокачественной трансформацией. Вследствие повреждения мембранных структур может измениться чувствительность клеток к регулирующим воздействиям со стороны гормонов, ингибиторов и т.п. [8–12].

Канцерогенные эффекты по-прежнему рассматриваются как основные отдалённые последствия действия «малых» доз ИИ. Принятие решений в отношении норм радиационной безопасности базируется в значительной мере на основании величин риска канцерогенных последствий. Основным эпидемиологическим исследованием, на основании которого оценены величины канцерогенного риска, являются долгосрочные исследования в когорте лиц, переживших атомную бомбардировку в г. Хиросима и г. Нагасаки. Величина относительного риска лейкемии, оценённая на основании смертности в этой когорте в период 1950–90 гг., составила 4,62 в расчёте на 1 Зв, а величина абсолютного риска – 2,61/10 000 человеко-лет на 1 Зв. Относительный риск злокачественных новообразований (ЗНО), за исключением лейкемии, составил 0,4 в расчёте на 1 Зв, а величина абсолютного риска – 0,6/10 000 человеко-лет на 1 Зв [13]. Облучение в японских городах носило острый, моментальный характер. Экспериментальные данные дают основания предполагать, что хроническое облучение может привести к иным величинам риска, меньшим по значению, по сравнению с острым. Вместе с тем в последние годы появились работы, показывающие, что даже сравнительно малые уровни хронического радиационного воздействия способны привести к повышенным уровням возникновения лейкемии. Так, в работе, объединяющей данные для трех стран – США, Великобритании и Канады, установлен повышенный уровень лейкемии, за исключением хронической лимфатической лейкемии, для работников радиационно опасных предприятий, подвергшихся облучению в диапазоне доз 0–400 мЗв. Относительный риск лейкемии оценён как 2,18 на 1 Зв, при этом повышенного риска развития солидных раков не установлено [5, 14].

Повышение риска заболевания и смерти вследствие злокачественных новообразований лимфоидной ткани (ЗНОЛТ) было выявлено среди представителей французской когорты работников, подвергавшихся профессиональному облучению [15]. Исследование смертности вследствие лейкемии, лимфомы и множественной миеломы среди когорты из 308 297 работников радиационно опасных производств Франции, США и Великобритании (8,22 млн человеко-лет наблюдения (ЧЛН)) выявило наличие взаимосвязи между накопленной дозой облучения и риском смерти вследствие хронического миелоидного лейкоза (избыточный относительный риск на единицу дозы облучения (ИОР/Гр) 10,45, 90 % ДИ 4,48–19,65) [16, 17].

Изучение роли низкодозового ИИ, используемого в диагностических целях, в частности в компьютерной томографии, показало, что риск миелоидного лейкоза и миелодисплазии статистически выше среди лиц, проходивших названное исследование, чем среди «необлучённых» пациентов (ИОР/Гр составил 2,14 [95% ДИ 1,86–2,46] и 2,48 [95% ДИ 1,77–3,47] соответственно) [18]. M.P. Little et al. доказали, что риск возникновения лейкемии статистически значимо повышен у лиц, подвергавшихся воздействию ИИ (СДВО менее 100 мЗв) в возрасте до 21 года [19]. Исследование J. Beye et al. (2019), посвящённое оценке заболеваемости ЗНО, в том числе лейкозами, среди 1 600 военнослужащих, принимавших участие в ликвидации плутониевого загрязнения местности в 1966 г., показало наличие повышенного риска возникновения лейкозов среди вышеназванной группы лиц [20]. Смертность вследствие лейкозов среди ветеранов, принимавших участие в испытательном атмосферном ядерном взрыве на полигоне в Неваде в 1957 г., была выше по сравнению с национальными показателями [21].

В то же время результаты исследования смертности вследствие ЗНО, в том числе лейкемии, работников радиационно опасных производств, расположенных в г. Озёрске, показали, что значения вышеназванного показателя среди упомянутой когорты лиц ниже, чем среди жителей города, не подвергавшихся воздействию ИИ, а также среди жителей России в целом [22]. С этих позиций проблема оценки эффектов долговременного радиационного воздействия низкой интенсивности приобретает значительную актуальность в медицинском и социальном аспекте, принимая во внимание перспективы развития атомной энергетики и вовлечение в контакт с техногенным облучением всё больших групп профессионалов (в том числе персонала радиационно опасных производств) и населения, проживающего в зоне их воздействия.

Целью исследования являлась оценка заболеваемости ЗНОЛТ среди подвергавшегося долговременному радиационному воздействию персонала Сибирского химического комбината (СХК).

Материал и методы

Объектом исследования являлся персонал СХК, в недавнем прошлом крупнейшего в мире комплекса производств атомной промышленности, расположенного на территории г. Северска. Данное предприятие функционирует с 1952 г.; 7 августа 1953 г. была получена первая партия обогащённого урана промежуточной концентрации, 20 ноября 1955 г. был введён в эксплуатацию первый атомный реактор И-1. Следует подчеркнуть, что на протяжении всего периода функционирования СХК на его предприятиях не было значимых радиационных аварий и инцидентов, следствием которых являлось бы переоблучение значительных групп персонала СХК.

В структуре СХК имеются предприятия основного производства (реакторный, радиохимический, химико-металлургический (плутониевый) заводы, а также завод разделения изотопов и сублиматный завод), персонал которых подвергается радиационному воздействию. Персонал вспомогательного производства не имеет профессионального контакта с источниками техногенного облучения. В 2000–02 гг. в Северском биофизическом научном центре ФМБА России был создан региональный медико-дозиметрический регистр персонала СХК и населения г. Северска. Данный регистр содержит персональные данные всех работников СХК за все годы деятельности предприятия.

Принципы формирования регистра, основные источники информации, методология дозиметрического контроля, а также подробная характеристика когорты персонала СХК были представлены в публикациях ранее [5]. Изучаемая когорта включала всех работников основного и вспомогательного производств СХК, нанятых в период с 01.01.1950 по 31.12.2000. Персонал вспомогательного производства имеет сопоставимый возрастно-половой состав и социальный статус с персоналом основного производства, что делает возможным выделение адекватных групп внутреннего контроля при эпидемиологическом анализе.

Количество человеко-лет, внесённых каждым индивидуумом, определялось как количество лет между датой включения индивидуума в когорту (год найма на соответствующее предприятие) и датой окончания наблюдения. Для лиц, потерянных из-под наблюдения, – дата последнего известия о регистранте (например, выезда из г. Северска, увольнения с предприятия, последнего посещения Северной клинической больницы). Для умерших – дата смерти, для живых – дата окончания наблюдения, т.е. 31.12.2014; для лиц, заболевших ЗНОЛТ, датой окончания наблюдения являлась дата установления диагноза. В случае профессионального облучения период наблюдения исчисляли с года первой зарегистрированной дозы внешнего облучения, т.е. с момента начала периода «нахождения под риском» [15, 23].

Работники основного производства СХК подвергались воздействию внешнего и внутреннего облучения. Диапазон доз внешнего облучения работников СХК, включённых в анализируемую когорту, составляет от 0,03 до 1 500 мЗв. Число работников, контролировавшихся по внешнему облучению, составило 20 005 человек. При этом у 87,18 % накопленная СДВО не превышала 200 мЗв. В настоящей работе риск заболевания ЗНОЛТ рассчитывался только для внешнего облучения.

Сравнение показателей заболеваемости, а также оценка риска производились в различных группах: персонал основного производства СХК (имеющий профессиональный контакт с источниками ИИ) и персонал вспомогательного производства СХК (не имеющий контакта с источниками ИИ). Источниками информации служили все доступные медицинские документы Северной клинической больницы и медицинских учреждений областного центра – г. Томска (амбулаторные карты, учётные карты онкологических больных, журналы клинической лаборатории, протоколы патологоанатомических вскрытий, журналы исследований биопсийного и операционного материала). Также проводилось изучение архивных лабораторных материалов для верификации диагнозов. В табл. 1 представлена характеристика изучаемой когорты персонала СХК.

В изучаемый период заболевание ЗНОЛТ было верифицировано у 295 работников СХК. При этом у 65 % больных СДВО была менее 100 мЗв, у 12,4 % – в интервале 100–200 мЗв и лишь у 4,5 % больных она превышала 500 мЗв. Основные эпидемиологические показатели (заболеваемость, возрастной и половой состав больных) рассчитывали на основании базы данных регионального медико-дозиметрического регистра с помощью общепринятых в медицинской статистике методов [24]. Стандартизацию проводили косвенным методом, описанным ранее [25–27].

В соответствии с частотным распределением ЗНОЛТ среди работников СХК проведён расчёт показателей стандартизованного относительного риска (СОР) развития ЗНОЛТ в изучаемых группах персонала [25]. Различия считались статистически значимыми, если нижняя граница доверительного интервала коэффициента СОР была больше 1 [27].

Для изучения зависимости «доза–эффект» выполнено дополнительное разделение персонала СХК на подгруппы в зависимости от уровня радиационного воздействия (СДВО, определённая по данным индивидуального дозиметрического контроля). Риск для каждого дозового интервала рассчитывался относительно «нулевой» группы, т.е. фонового показателя для лиц, не имевших контакта с источниками γ -излучения или имевших измеренную дозу по данным индивидуального дозиметрического контроля, равную 0 [25].

Таблица 1/Table 1

Характеристика изучаемой когорты
Characteristics of study cohort

Характеристика изучаемой когорты/ Characteristics of study cohort	Мужчины/ Men	Женщины/ Women	Оба пола/ Both Genders
Количество работников/Amount of workers	32 303	11 738	44 041
Случаи ЗНОЛТ/ Cases of malignant neoplasms of the lymphoid tissue	198	97	295
Случаи ЗНОЛТ, при которых работник подвергался внешнему облучению/ Cases of malignant neoplasms of the lymphoid tissue in which the worker was exposed to external radiation	73	16	89
Количество ЧЛН (заболеваемость ЗНОЛТ, наблюдение по 31.12.2014)/ The number of person-years of observation (31.12.2014)	1 157 919,98	455 645,8	1 613 565,78
Количество работников, имеющих дозу внешнего облучения/ The number of workers with a dose of external exposure	13 784	3 154	16 938
Средняя СДВО (среди работников СХК с дозами), Гр (медиана (25–75 % квантили))/ Average of total dose of external exposure (among the workers of the chemical plant with doses), Gy (median (25–75 % quartile))	0,03 (0,007–0,115)	0,0133 (0,0032–0,0409)	0,0254 (0,0059–0,0965)

Таблица 2/Table 2

Структура заболеваемости ЗНОЛТ персонала СХК (в % к итогу)
Structure of malignant neoplasms of the lymphoid tissue of the Siberian Chemical Combine personnel (% of the total)

Диагноз/Diagnosis	Всего/Total		0		>0	
	Муж/Men	Жен/ Women	Муж/Men	Жен/ Women	Муж/Men	Жен/ Women
НХЛ/non-Hodgkin lymphomas	41,1	25,5	40,0	24,7	43,1	31,3
ЛГМ/Lymphogranulomatosis	6,6	12,2	7,2	13,6	5,6	6,3
ММ/Multiple myeloma	9,1	15,3	7,2	13,6	12,5	25,0
ОЛ/Acute leukemia	9,6	13,3	10,4	13,6	8,3	12,5
ХЛ (без ХЛЛ)/ Chronic leukemia excluding Chronic lymphocytic leukemia	14,7	14,3	16,0	17,3	12,5	0,0
ХЛЛ/Chronic lymphocytic leukemia	15,2	12,2	16,0	12,3	13,9	12,5
Прочие ЗНОЛТ/Other	4,1	6,1	3,2	4,9	5,6	12,5

Таблица 3/Table 3

Заболеваемость ЗНОЛТ персонала СХК в зависимости от СДВО (на 100 000 ЧЛН)
Incidence of malignant neoplasms of the lymphoid tissue among the Siberian Chemical Combine personnel with respect to cumulative dose of external exposure (per 100,000 person-years)

Диагноз/Diagnosis	Всего		0		>0	
	Муж/Men	Жен/ Women	Муж/Men	Жен/ Women	Муж/Men	Жен/ Women
Все ЗНОЛТ/All MNLТ	17,1	21,3	19,7	24,4	14,0	13,0
НХЛ/non-Hodgkin lymphomas	7,0	5,5	7,9	6,0	5,9	4,1
ЛГМ/Lymphogranulomatosis	1,1	2,6	1,4	3,3	0,8	0,8
ММ/Multiple myeloma	1,6	3,3	1,4	3,3	1,7	3,2
ОЛ/Acute leukemia	1,6	2,9	2,0	3,3	1,1	1,6
ХЛ (без ХЛЛ)/ Chronic leukemia excluding Chronic lymphocytic leukemia	2,5	3,1	3,1	4,2	1,7	0,0
ХЛЛ/Chronic lymphocytic leukemia	2,6	2,6	3,1	3,0	1,9	1,6
Прочие ЗНОЛТ/Other	0,7	1,3	0,6	1,2	0,8	1,6

Таблица 4/Table 4

ОР общей заболеваемости ЗНОЛТ (у мужчин и у женщин) в зависимости от СДВО
Relative risk of malignant neoplasms of the lymphoid tissue (in men and women) with respect to cumulative dose of external exposure

СДВО (диапазон, Гр)/ Cumulative dose of external exposure, Gy	Средняя СДВО, Гр/ Average, Gy	Человеко-годы/ Person-years	Количество случаев/ Number of cases	ОР (95 % ДИ)/ Risk ratio (95 % CI))
0,0	0	967 802,6	206	1
>0,0–0,05	0,009	377 678,8	44	0,54 (0,39; 0,75)
>0,05–0,10	0,069	86 488,3	14	0,76 (0,44; 1,3)
>0,10–0,15	0,121	47 183,5	9	0,89 (0,45; 1,74)
>0,15–0,20	0,173	31 272,1	2	0,3 (0,07; 1,21)
>0,20–0,30	0,241	39 679,50	8	0,94 (0,46; 1,91)
>0,30–0,50	0,377	37 415,20	8	1,0 (0,49; 2,03)
>0,50–1,00	0,649	22 290,3	3	0,63 (0,20; 1,97)
>1,00	1,129	3 755,2	1	1,25 (0,17; 8,92)

Таблица 5/Table 5

ОР для оценки общей заболеваемости ЗНОЛТ у мужского персонала СХК в зависимости от СДВО
Relative risk of malignant neoplasms of the lymphoid tissue in Siberian Chemical Combine male personnel with respect to cumulative dose of external exposure

СДВО (диапазон, Гр)/ Dose of external exposure, Gy	Средняя СДВО, Гр/ Average, Gy	Человеко-годы/ Person-years	Количество случаев/ Number of cases	ОР (95 % ДИ)/ Risk ratio (95 % CI))
0,0	0	635 593,12	125	1
>0,0–0,05	0,009	285 284,99	33	0,58 (0,40; 0,86)
>0,05–0,10	0,069	71 996,46	11	0,77 (0,41; 1,43)
>0,10–0,15	0,122	39 622,13	7	0,89 (0,41; 1,92)
>0,15–0,20	0,173	27 227,52	1	0,18 (0,02; 1,33)
>0,20–0,30	0,242	36 171,72	8	1,12 (0,55; 2,29)
>0,30–0,50	0,377	36 148,31	8	1,12 (0,55; 2,30)
>0,50–1,00	0,649	22 120,49	3	0,68 (0,21; 2,16)
>1,00	1,129	3 755,2	1	1,35 (0,18; 9,68)

Таблица 6/Table 6

ОР для оценки общей заболеваемости ЗНОЛТ у женского персонала СХК в зависимости от СДВО
Relative risk of malignant neoplasms of the lymphoid tissue in Siberian Chemical Combine female personnel with respect to cumulative dose of external exposure

СДВО (диапазон, Гр)/ Dose of external exposure, Gy	Средняя СДВО, Гр/ Average, Gy	Человеко-годы/ Person-years	Количество случаев/ Number of cases	ОР (95 % ДИ)/ Risk ratio (95 % CI))
0,0	0	332 209,53	81	1
>0,0–0,05	0,007	92 393,87	11	0,48 (0,26; 0,91)
>0,05–0,10	0,069	14 491,89	3	0,84 (0,26; 2,68)
>0,10–0,15	0,120	7 561,42	2	1,08 (0,26; 4,41)
>0,15–0,20	0,169	4 044,58	1	1,01 (2,73; 0,14)

Примечание: случаи для диапазонов СДВО >0,20–0,30, >0,30–0,50, >0,50–1,00 отсутствуют.

Note: there are no cases for the cumulative dose of external exposure ranges >0.20–0.30, >0.30–0.50, >0.50–1.00.

Таблица 7/Table 7

Значения ИОР/Гр заболеваемости ЗНОЛТ для мужчин и женщин
Excess relative risk/Gy of malignant neoplasms of the lymphoid tissue in Siberian Chemical Combine male and female personnel

ИОР/Гр (95 % ДИ)/ Excess relative risk/Gy (95 % CI)	Мужчины/Men	Женщины/Woman	Оба пола/Both Genders
	-0,00005 (-0,001; 0,00113)	-0,0002 (-0,008; 0,0076)	-0,00015 (-0,001; 0,00078)

Статистический анализ проводили с использованием статистических пакетов SAS 9 и SPSS 13 по анонимной базе данных. Основной анализ радиационного риска включает расчет относительного риска для следующих категорий СДВО: 0; >0–0,05; >0,05–0,10; >0,10–0,15; >0,15–0,20; >0,20–0,30; >0,30–0,50; >0,5–1,0; $\geq 1,0$ Гр. Исследованы модели «доза–ответ» для оценки линейного тренда риска ЗНОЛТ в зависимости от СДВО. С помощью этих анализов получены оценки ИОР/Гр. Оценки относительного риска и ИОР/Гр рассчитывались с помощью пуассоновской регрессии с использованием модуля AMFIT программы EPICURE.

В данном исследовании и моделировании рисков в качестве исходных данных использовался списочный состав (когорты) работников СХК. Далее данные отобранной когорты были сгруппированы по дозовым категориям. В группах находилась информация, необходимая для расчетов случаев ЗНОЛТ, ЧЛН и СДВО. Далее с помощью пакета AMFIT к этим сгруппированным исходным данным применялись функции формализации категориальных переменных (СДВО) и рассчитывались оценки относительного риска в отдельных категориях с помощью подгонок модели «доза–ответ». На основе оценённых параметров были построены графики (общие данные, только мужчины, только женщины). Для получения ИОР/Гр использовалось моделирование ИОР, в котором относительный риск описан как линейная функция СДВО. В результате подгонки модели оценённый коэффициент модели показывает ИОР/Гр. Таким образом, были рассчитаны ИОР/Гр у 3 групп (общий, у мужчин, у женщин).

Результаты

В структуре заболеваемости ЗНОЛТ персонала СХК среди мужчин наибольшие доли имеют неходжкинские лимфомы (НХЛ), хронический лимфолейкоз (ХЛЛ) и хронические лейкозы (ХЛ) без учёта хронических лимфолейкозов. Среди женщин – работниц СХК наибольший удельный вес в структуре заболеваемости имели НХЛ, множественные миеломы (ММ) и ХЛ (без ХЛЛ).

Отдельно была исследована структура заболеваемости ЗНОЛТ среди работников СХК, подвергавшихся и отдельно не подвергавшихся в процессе своей профессиональной деятельности воздействию внешнего облучения. Так, среди мужского персонала СХК, не подвергавшегося внешнему облучению, наибольший удельный вес среди заболевших ЗНОЛТ имели лица, заболевшие НХЛ, ХЛЛ и ХЛ без учёта ХЛЛ (две последние нозологические формы – в равных долях), а также острым лейкозом (ОЛ). Среди женского персонала СХК, не подвергавшегося профессиональному облучению, наибольшую долю составили сотрудницы, заболевшие НХЛ, а также ХЛ (без ХЛЛ) и в равных долях лимфогранулематозом (ЛГМ), ММ и ОЛ.

Среди мужского персонала СХК, работавшего в условиях внешнего профессионального облучения, наибольший удельный вес составили работники, заболевшие НХЛ, ХЛЛ и в равных долях ММ и ХЛ (без учёта ХЛЛ). Среди женщин, подвергавшихся воздействию внешнего облучения, наибольшая доля принадлежит работницам, заболевшим НХЛ, ММ и (в равных долях) ОЛ, ХЛЛ и прочими ЗНОЛТ (табл. 2).

Заболеваемость мужского персонала СХК составила 17,1 случая на 100 000 ЧЛН, при этом наибольшие уровни заболеваемости зарегистрированы для НХЛ, ХЛЛ и ХЛ (без учёта ХЛЛ). Среди работниц СХК заболеваемость ЗНОЛТ составила 21,3 случая на 100 000 ЧЛН, при этом наибольшие уровни заболеваемости зарегистрированы для НХЛ, ММ и ХЛ (без ХЛЛ) (табл. 3).

Отдельно был исследован уровень заболеваемости ЗНОЛТ среди работников СХК, подвергавшихся и не подвергавшихся в процессе своей профессиональной деятельности воздействию ИИ. Так, среди мужского персонала СХК, не подвергавшегося радиационному воздействию, уровень заболеваемости ЗНОЛТ составил 19,7 случая на 100 000 ЧЛН, при этом наибольшие уровни заболеваемости зарегистрированы для НХЛ, ХЛЛ и ХЛ без учёта ХЛЛ (две последние нозологические формы – в равных долях), а также ОЛ. Среди женского персонала СХК, не подвергавшегося профессиональному облучению, заболеваемость ЗНОЛТ составила 24,4 случая на 100 000 ЧЛН. Наибольшие уровни были зарегистрированы для НХЛ, а также ХЛ (без ХЛЛ) и (в равных долях) ЛГМ, ММ и ОЛ.

Среди мужского персонала СХК, работавшего в условиях профессионального облучения, заболеваемость ЗНОЛТ составила 14,0 случаев на 100 000 ЧЛН (статистически значимо меньше, чем среди лиц, не подвергавшихся техногенному облучению; $p < 0,05$), при этом ее высокие показатели зарегистрированы среди работников, заболевших НХЛ, ХЛЛ и (в равных долях) ММ и ХЛ (без учёта ХЛЛ). Среди женщин, подвергавшихся радиационному воздействию на производстве, заболеваемость ЗНОЛТ составила 13,0 случаев на 100 000 ЧЛН (статистически значимо меньше, чем среди лиц, не подвергавшихся техногенному облучению; $p < 0,05$), при этом наиболее высокие показатели зарегистрированы для работниц, заболевших НХЛ, ММ и (в равных долях) ОЛ, ХЛЛ и прочими ЗНОЛТ.

В табл. 4 и на рис. 1 представлены результаты расчетов относительных рисков заболеваемости ЗНОЛТ (у мужчин и женщин) для каждой категории средней СДВО и модели «доза–ответ» для общей заболеваемости ЗНОЛТ среди мужского и женского персонала. При этом ни в одной дозовой категории статистически значимого превышения относительного риска не выявлено. На рис. 1 пред-

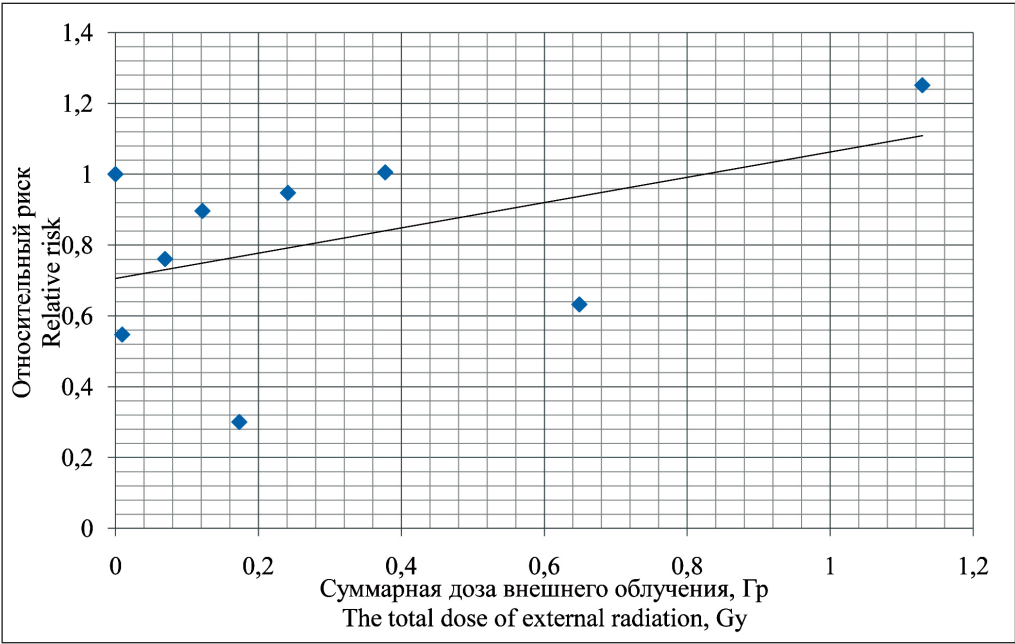


Рис. 1. Риск заболеваемости ЗНОЛТ в зависимости от СДВО (у мужчин и женщин)
Fig. 1. Relative risk of MNLT (in men and women) depending on cumulative dose of external exposure

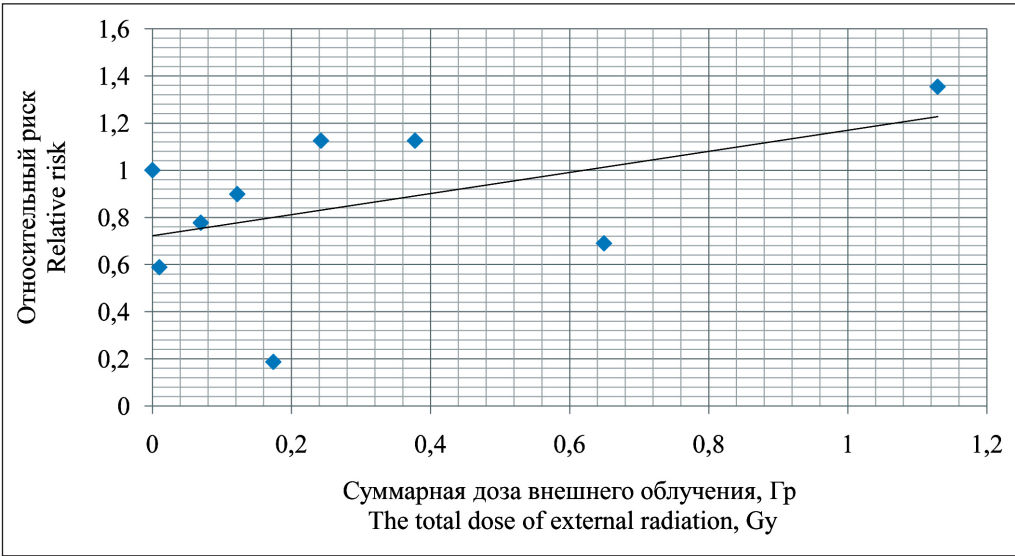


Рис. 2. Риск заболеваемости ЗНОЛТ в зависимости от СДВО у мужского персонала СХК
Fig. 2. Relative risk of MNLT in males of the SCC with respect to cumulative dose of external exposure

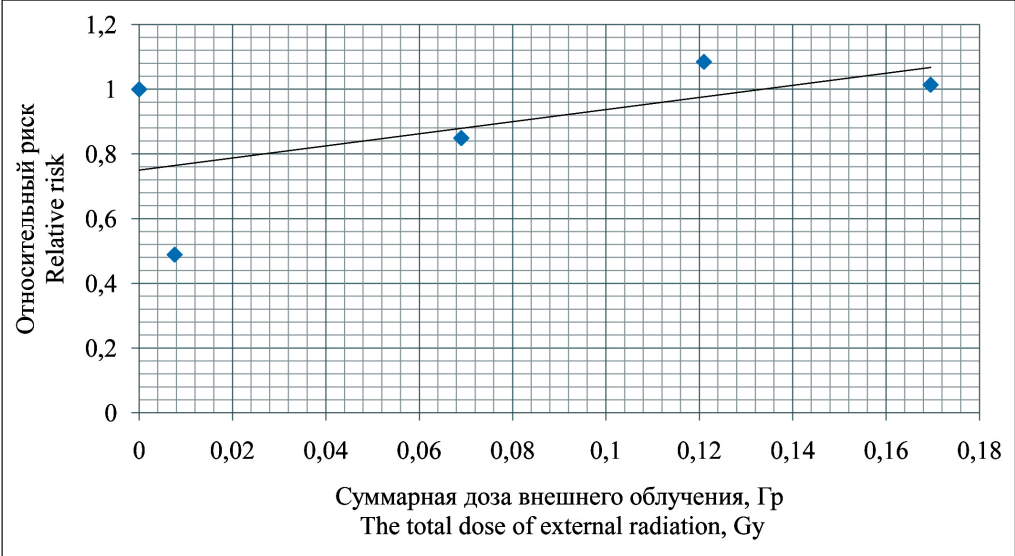


Рис. 3. Риск заболеваемости ЗНОЛТ в зависимости от СДВО (у женщин)
Fig. 3. Relative risk of MNLT in females of the SCC with respect to cumulative dose of external exposure

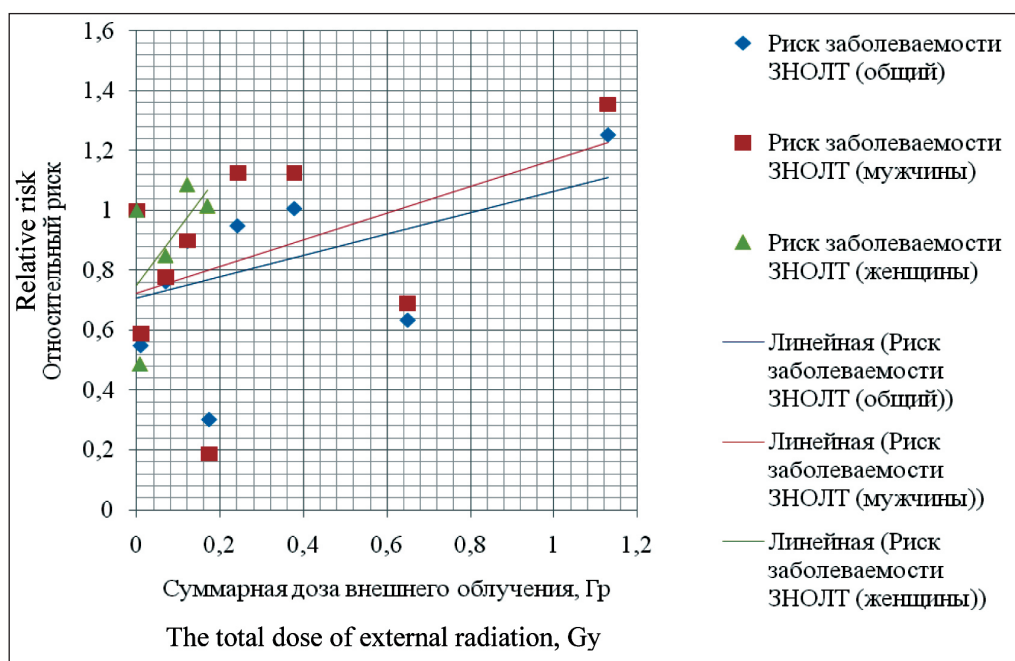


Рис. 4. Сравнение линий тренда рисков заболеваемости ЗНОЛТ в зависимости от СДВО
Fig. 4. Comparison of the trend lines of the risk of MNLT with respect to cumulative dose of external exposure

ставлено соотношение категорий СДВО и относительного риска, линией изображён тренд риска заболеваемости, свидетельствующий о повышении риска с возрастанием СДВО, однако в изученном диапазоне доз достоверного повышения риска заболеваемости ЗНОЛТ по объединённой группе мужчин и женщин не выявлено.

В табл. 5–6 и на рис. 2–3 представлены результаты расчётов относительного риска заболеваемости ЗНОЛТ для каждой категории СДВО облучения и модели «доза–ответ» для общей заболеваемости ЗНОЛТ отдельно среди мужского и женского персонала соответственно. На рис. 2 приведены результаты расчёта параметров для категоричной модели «доза–ответ»: относительный риск для каждой дозовой категории (заболеваемость ЗНОЛТ только у мужчин). При анализе полученных данных, как и в случае оценки относительного риска в объединённой группе (мужчины и женщины), было установлено, что ни у мужского, ни у женского персонала СХК статистически значимого повышения относительного риска заболевания ЗНОЛТ не выявлено ни для одного интервала СДВО в изучаемом диапазоне доз.

Наряду с оценкой относительного риска заболевания ЗНОЛТ был проведён анализ ИОР/Гр, результаты которого представлены в табл. 7 и на рис. 4. Для наглядности на данном графике представлены все полученные соотношения категорий СДВО и относительно риска, линиями изображены тренды риска заболеваемости.

Результаты ИОР/Гр для ЗНОЛТ в объединённой группе не имеют статистической значимости ($p > 0,5$).

Обсуждение

Результаты исследования показали, что у персонала СХК профессиональное облучение в изученном диапазоне доз не вызывает повышения риска развития ЗНОЛТ, что согласуется как с результатами наших исследований, опубликованными ранее [1], так и с результатами исследований других авторов [23, 28].

В то же время результаты ряда исследований, опубликованных в течение последних пяти лет и посвящённых изучаемой проблеме, свидетельствуют о наличии повышенного риска возникновения ЗНОЛТ среди лиц, находившихся в контакте с ИИ [16–20]. Однако, анализируя научные публикации, посвящённые проблеме «радиогенных» ЗНОЛТ, следует помнить, что корректным с научной точки зрения является сравнение результатов исследований, выполненных на сопоставимых когортах лиц, подвергавшихся действию изучаемого фактора.

Поэтому наибольший интерес представляет исследование, выполненное в объединённой когорте из 308 297 работников радиационно опасных производств, в результате которого были получены убедительные доказательства взаимосвязи длительного «низкодозового» облучения и ЗНОЛТ [16, 17]. Комментируя различие результатов сравниваемых исследований, следует указать, что вышеупомянутая когорта значительно превосходит когорту СХК (как в отношении количества работников, так и в отношении ЧЛН: когорта персонала СХК, служившая объектом настоящего исследования, составила 44 041 человека, а количество ЧЛН – 1 613 565,78). Кроме того, значительное влияние на заболеваемость и смертность вслед-

ствии ЗНОЛТ оказывает так называемый «эффект здорового работника», свойственный персоналу радиационно опасных производств, на роль эффекта в изучаемой проблеме указывают I. Deltour et al. [22]. Следовательно, продолжение исследований риска возникновения ЗНОЛТ среди персонала СХК может скорректировать полученные нами данные. Значительно повысить статистическую значимость полученных результатов и, возможно, выявить ранее скрытые закономерности может исследование, проведённое в объединённой когорте нескольких предприятий атомной промышленности.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Карпов А.Б., Тахауов Р.М., Королёва Н.В., Вострова Ж.О., Писарева Л.Ф. Оценка заболеваемости гемобластозами у персонала радиационно опасных производств (на примере Сибирского химического комбината). Сибирский онкологический журнал. 2007; 1: 38–43. [Karpov A.B., Takhaov R.M., Koroleva N.V., Vostrova Zh.O., Pisareva L.P. Evaluation of hemoblastosis morbidity among the personnel of radiation dangerous production (by the example of Siberian Group of Chemical Enterprises). Siberian Journal of Oncology. 2007; 1: 38–43. (in Russian)].
2. Гольдберг Е.Д. Радиационные лейкозы. Томск, 1969. 146 с. [Goldberg E.D. Radiation leukemias. Tomsk, 1969. 146 p. (in Russian)].
3. Preston D.L., Kusumi S., Tomonaga M., Izumi S., Ron E., Kuramoto A., Kamada N., Dohy H., Matsuo T., Matsui T. Cancer incidence in atomic bomb survivors. Part III. Leukemia, lymphoma and multiple myeloma, 19501987. Radiat Res. 1994 Feb; 137(2 Suppl): S68–97.
4. Окладникова Н.Д., Мороз Г.С., Кошурникова Н.А., Бикмурзин Р.К., Ерохин Р.А., Терновский И.А. Злокачественные новообразования у работников радиохимического предприятия, подвергшихся радиационному воздействию в дозах, превышающих допустимые (эпидемиологическое исследование). Бюллетень радиационной медицины. 1990; 1: 18–24. [Okladnikova N.D., Moroz G.S., Koshurnikova N.A., Bikmurzin R.K., Erokhin R.A., Ternovskiy I.A. Malignant neoplasms in workers of a radiochemical enterprise who were exposed to radiation in doses exceeding the permissible ones (epidemiological study). Radiation Medicine Bulletin. 1990; 1: 18–24. (in Russian)].
5. Тахауов Р.М., Карпов А.Б., Зеренков А.Г., Овчинников А.В., Измestьев К.М., Спасибенко П.В., Богданов И.М., Казанцева С.Б., Семенова Ю.В., Калинин Д.Е., Горина Г.В., Максимов Д.Е., Блинов А.П., Родионова В.И., Брендаков В.Н., Ермолаев Ю.Д., Миронова Е.Б., Борисова Е.Г., Брендаков Р.В., Плаксин М.Б., Некрасов Г.Б., Изосимов А.С., Гагарин А.А. Медико-дозиметрический регистр персонала Сибирского химического комбината – база для оценки эффектов хронического облучения. Радиационная биология. Радиоэкология. 2015; 55(5): 467–473. [Takhaov R.M., Karpov A.B., Zerenkov A.G., Ovchinnikov A.V., Izmestiev K.M., Spasibenko P.V., Bogdanov I.M., Kazantseva S.B., Semenova Yu.V., Kalinkin D.E., Gorina G.V., Maksimov D.E., Blinov A.P., Rodionova V.I., Brendakov V.N., Ermolaev Yu.D., Mironova E.B., Borisova E.G., Brendakov R.V., Plaksin M.B., Nekrasov G.B., Izosimov A.S., Gagarin A.A. Medical and Dosimetric Register of the Siberian Group of Chemical Enterprises Personnel – the Basis for the Evaluation of Chronic Radiation Exposure Effects. 2015; 55(5): 467–473. (in Russian)].
6. Brøgger A., Hagmar L., Hansteen I.L., Heim S., Høgstedt B., Knudsen L., Lambert B., Linnainmaa K., Mitelman F., Nordenson I. An inter-Nordic prospective study on cytogenetic endpoints and cancer risk. Nordic Study Group on the Health Risk of Chromosome Damage. Cancer Genet Cytogenet. 1990 Mar; 45(1): 85–92. doi: 10.1016/0165-4608(90)90071-h.
7. Daniels R.D., Schubauer-Berigan M.K. A meta-analysis of leukaemia risk from protracted exposure to low-dose gamma radiation. Occup Environ Med. 2011 Jun; 68(6): 457–64. doi: 10.1136/oem.2009.054684.
8. Бурлакова Е.Б., Михайлов В.Ф., Мазурик В.К. Система окислительно-восстановительного гомеостаза при радиационно-индуцируемой нестабильности генома. Радиационная биология. Радиоэкология. 2001; 41(5): 489–499. [Burlakova E.B., Mikhailov V.F., Mazurik V.K. The system of redox homeostasis in radiation-induced genome instability. Radiation Biology. Radioecology. 2001; 41(5): 489–499. (in Russian)].
9. Шибкова Д.З., Андреева О.Г., Ефимова Н.В., Акеев А.В. Взаимосвязь между компонентами систем кроветворения и иммуни-

Закключение

Обобщая результаты исследования, следует отметить, что в расчётах по ЗНОЛТ полученные значения не «стройные», есть отрицательные числа, и они практически не подчиняются трендам. Соответственно, как показал последующий анализ, ни один из коэффициентов не имеет статистической значимости. Можно предположить, что причинами таких результатов могли стать как «нестройные» исходные распределения (случаи не имеют общего тренда относительно дозовых категорий), так и небольшое количество случаев ЗНОЛТ в анализируемой выборке. Необходимо продолжение исследований в данном направлении.

тета при хроническом, сопоставимом с продолжительностью жизни, гамма-облучении мышей. Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2002; 47(5): 23–32. [Shibkova D.Z., Andreeva O.G., Efimova N.V., Akleev A.V. The relationship between the components of the hematopoietic and immune systems in chronic gamma irradiation comparable to the lifespan of mice. Medical Radiology and Radiation Safety. 2002; 47 (5): 23–32. (in Russian)].

10. Мазурик В.К., Михайлов В.Ф. Радиационно-индуцируемая нестабильность генома: феномен, молекулярные механизмы, патогенетическое значение. Радиационная биология. Радиоэкология. 2001; 41(3): 272–289. [Mazurik V.K., Mikhailov V.F. Radiation-induced genome instability: phenomenon, molecular mechanisms, pathogenetic significance. Radiation Biology. Radioecology. 2001; 41(3): 272–289. (in Russian)].
11. Пелевина И.И., Афанасьев Г.Г., Готлиб В.Я., Альферович А.А., Антошина М.М., Рябченко Н.И., Рябов И.Н. Экспозиция клеток в культуре ткани и животных (мышей) в 10-километровой зоне аварии на ЧАЭС. Влияние на чувствительность к последующему облучению. Радиационная биология. Радиоэкология. 1993; 33(4): 508–520. [Peleвина I.I., Afanasyev G.G., Gotlib V.Ya., Alferovich A.A., Antoschina M.M., Ryabchenko N.I., Ryabov I.N. Exposure of cells in tissue culture and animals (mice) in the 10-km zone of the Chernobyl accident. Effect on sensitivity to subsequent exposure. Radiation Biology. Radioecology. 1993; 33(4): 508–520. (in Russian)].
12. Awa A.A. Persistent chromosome aberrations in the somatic cells of A-bomb survivors, Hiroshima and Nagasaki. J Radiat Res. 1991 Mar; 32 Suppl: 265–74. doi: 10.1269/jrr.32.supplement.265.
13. Pierce D.A., Shimizu Y., Preston D.L., Vaeth M., Mabuchi K. Studies of the mortality of atomic bomb survivors. Report 12, Part I. Cancer: 19501990. Radiat Res. 1996 Jul; 146(1): 1–27.
14. Daniels R.D., Bertke S., Waters K.M., Schubauer-Berigan M.K. Risk of leukaemia mortality from exposure to ionizing radiation in US nuclear workers: a pooled case-control study. Occup Environ Med. 2013; 70(1): 41–8. doi: 10.1136/oemed-2012-100906.
15. Metz-Flamant C., Samson E., Caër-Lorho S., Acker A., Laurier D. Leukemia risk associated with chronic external exposure to ionizing radiation in a French cohort of nuclear workers. Radiat Res. 2012; 178(5): 489–98. doi: 10.1667/RR2822.1.
16. Leuraud K., Richardson D.B., Cardis E., Daniels R.D., Gillies M., O'Hagan J.A., Hamra G.B., Haylock R., Laurier D., Moissonnier M., Schubauer-Berigan M.K., Thierry-Chef I., Kesminiene A. Ionising radiation and risk of death from leukaemia and lymphoma in radiation-monitored workers (INWORKS): an international cohort study. Lancet Haematol. 2015; 2(7): e276–81. doi: 10.1016/S2352-3026(15)00094-0.
17. Daniels R.D., Bertke S.J., Richardson D.B., Cardis E., Gillies M., O'Hagan J.A., Haylock R., Laurier D., Leuraud K., Moissonnier M., Thierry-Chef I., Kesminiene A., Schubauer-Berigan M.K. Examining temporal effects on cancer risk in the international nuclear workers' study. Int J Cancer. 2017 Mar 15; 140(6): 1260–69. doi: 10.1002/ijc.30544.
18. Hong J.Y., Han K., Jung J.H., Kim J.S. Association of Exposure to Diagnostic Low-Dose Ionizing Radiation With Risk of Cancer Among Youths in South Korea. JAMA Netw Open. 2019; 2(9): e1910584. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2019.10584.
19. Little M.P., Wakeford R., Borrego D., French B., Zablotska L.B., Adams M.J., Allodji R., de Vathaire F., Lee C., Brenner A.V., Miller J.S., Campbell D., Pearce M.S., Doody M.M., Holmberg E., Lundell M., Sadezki S., Linet M.S., Berrington de González A. Leukaemia and myeloid malignancy among people exposed to low doses (<100 mSv) of ionising radiation during childhood: a pooled analysis of nine historical cohort studies. Lancet Haematol. 2018 Aug; 5(8): e346e358. doi: 10.1016/S2352-3026(18)30092-9.

20. *Beyea J., von Hippel F.N.* History of Dose, Risk, and Compensation Assessments for US Veterans of the 1966 Plutonium Cleanup in Palomares, Spain. *Health Phys.* 2019 Dec; 117(6): 625–636. doi: 10.1097/HP.0000000000001103.
21. *Caldwell G.G., Zack M.M., Mumma M.T., Falk H., Heath C.W., Till J.E., Chen H., Boice J.D.* Mortality among military participants at the 1957 PLUMBBOB nuclear weapons test series and from leukemia among participants at the SMOKY test. *J Radiol Prot.* 2016 Sep; 36(3): 474–489. doi: 10.1088/0952-4746/36/3/474.
22. *Deltour I., Tretyakov F., Tsareva Y., Azizova T.V., Schütz J.* Mortality of populations potentially exposed to ionising radiation, 1953–2010, in the closed city of Ozyorsk, Southern Urals: a descriptive study. *Environ Health.* 2015 Nov 27; 14: 91. doi: 10.1186/s12940-015-0078-8.
23. *Koshurnikova N.A., Shilnikova N.S., Okatenko P.V., Kreslov V.V., Bolotnikova M.G., Sokolnikov M.E., Khokhriakov V.F., Suslova K.G., Vassilenko E.K., Romanov S.A.* Characteristics of the cohort of workers at the Mayak nuclear complex. *Radiat Res.* 1999 Oct; 152(4): 352–63.
24. *Beaglehole R., Bonita R., Kjellström T.* Basic Epidemiology (transl. from English). WHO, Geneva; 1994. 180 p.
25. *Breslow N.E., Day N.E.* Statistical Methods in Cancer Research. New York, Oxford: Oxford University Press; 1987.
26. *Мерков А.М., Поляков Л.Е.* Санитарная статистика. Л., 1974. 384 с. [*Merkov A.M., Polyakov L.E.* Sanitary Statistics. Leningrad, 1974. 384 p. (in Russian)].
27. *Реброва О.Ю.* Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. М., 2002. 305 с. [*Rebrova O.Yu.* Statistical analysis of medical data. Moscow, 2002. 305 p. (in Russian)].
28. *Ильин Л.А., Иванов А.А., Кочетков О.А., Семенов В.Г., Агапов А.М., Андреев Г.С., Калистратова В.С.* Техногенное облучение и безопасность человека. М., 2006. 304 с. [*Ilyin L.A., Ivanov A.A., Kochetkov O.A., Semenov V.G., Agapov A.M., Andreev G. S., Kalistratova V.S.* Technogenic exposure and human safety. Moscow, 2006. 304 p. (in Russian)].

Поступила/Received 25.03.2020
Принята в печать/Accepted 25.07.2020

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Калинкин Дмитрий Евгеньевич, доктор медицинских наук, руководитель отдела эпидемиологии и профилактики радиационно-химических поражений, Северский биофизический научный центр ФМБА России (г. Северск, Россия); профессор кафедры организации здравоохранения и общественного здоровья, Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России (г. Томск, Россия). E-mail: mail@sbrc.seversk.ru. SPIN-код: 8348-2698. Researcher ID (WOS): A-8134-2017. Author ID (Scopus): 36188174000. ORCID: 0000-0002-6948-6075.

Карпов Андрей Борисович, доктор медицинских наук, профессор кафедры организации здравоохранения и общественного здоровья, Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России (г. Томск, Россия). SPIN-код: 4393-5855. Researcher ID (WOS): R-7251-2016. Author ID (Scopus): 55944449600. ORCID: 0000-0002-0119-2740.

Максимов Дмитрий Евгеньевич, научный сотрудник отдела эпидемиологии и профилактики радиационно-химических поражений, Северский биофизический научный центр ФМБА России (г. Северск, Россия). SPIN-код: 4131-0170. Author ID (Scopus): 56606009500.

Кириакиди Елена Николаевна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры организации здравоохранения и общественного здоровья, Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России (г. Томск, Россия). SPIN-код: 2221-4708. Researcher ID (WOS): A-7168-2017. ORCID: 0000-0002-9845-5577.

Тахауов Равиль Манихович, доктор медицинских наук, профессор, директор Северского биофизического научного центра ФМБА России (г. Северск, Россия); профессор кафедры организации здравоохранения и общественного здоровья, Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России (г. Томск, Россия). SPIN-код: 5254-2461. Researcher ID (WOS): R-7258-2016. Author ID (Scopus): 55887674100. ORCID: 0000-0002-1994-957X.

ВКЛАД АВТОРОВ

Калинкин Дмитрий Евгеньевич: сбор и интерпретация научных данных.

Карпов Андрей Борисович: разработка концепции научной работы, составление черновика рукописи.

Максимов Дмитрий Евгеньевич: статистическая обработка данных.

Кириакиди Елена Николаевна: редактирование и дополнение литературного обзора.

Тахауов Равиль Манихович: анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Финансирование

Исследование выполнено при поддержке ФМБА России.

Конфликт интересов

Авторы объявляют, что у них нет конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Dmitriy E. Kalinkin, MD, PhD, Head of the Epidemiological Department, Seversk Biophysical Research Center of the Russian Federal Medical and Biological Agency (Seversk, Russia); Professor of the Department of Health Organization and Public Health, Siberian State Medical University (Tomsk, Russia). E-mail: mail@sbrc.seversk.ru. Researcher ID (WOS): A-8134-2017. Author ID (Scopus): 36188174000. ORCID: 0000-0002-6948-6075.

Andrey B. Karpov, MD, PhD, Professor of the Department of Health Organization and Public Health, Siberian State Medical University (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): R-7251-2016. Author ID (Scopus): 55944449600. ORCID: 0000-0002-0119-2740.

Dmitriy E. Maksimov, Lead Researcher of the Epidemiological Department, Seversk Biophysical Research Center of the Russian Federal Medical and Biological Agency (Seversk, Russia). Author ID (Scopus): 56606009500.

Elena N. Kiriakidi, MD, PhD, Associate Professor of the Department of Health Organization and Public Health, Siberian State Medical University (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): A-7168-2017. ORCID: 0000-0002-9845-5577.

Ravil M. Takhauov, MD, PhD, Professor, Director of Seversk Biophysical Research Center of the Russian Federal Medical and Biological Agency (Seversk, Russia), Professor of the Department of Health Organization and Public Health, Professor of the Department of Health Organization and Public Health, Siberian State Medical University (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): R-7258-2016. Author ID (Scopus): 55887674100. ORCID: 0000-0002-1994-957X.

AUTHOR CONTRIBUTION

Dmitriy E. Kalinkin: data collection and analysis.

Andrey B. Karpov: study conception, drafting of the manuscript.

Dmitriy E. Maksimov: statistical analysis.

Elena N. Kiriakidi: literature review.

Ravil M. Takhauov: study analysis, critical review for important intellectual content.

Funding

The study was supported by FMBA of Russia.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

Для цитирования: Минкина Л.М., Цветкова М.М., Тихонова Я.С., Постойкина М.А. Эпидемиология онкологической заболеваемости детей и подростков Приморского края за 2008–2018 гг. Сибирский онкологический журнал. 2020; 19(6): 19–27. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-6-19-27.

For citation: Minkina L.M., Tsvetkova M.M., Tikhonova Ya.S., Postoykina M.A. Cancer incidence and mortality in children and adolescents in Primorsky Krai for the 2008–2018 period. Siberian Journal of Oncology. 2020; 19(6): 19–27. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-6-19-27.

ЭПИДЕМИОЛОГИЯ ОНКОЛОГИЧЕСКОЙ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ ПРИМОРСКОГО КРАЯ ЗА 2008–2018 ГГ.

Л.М. Минкина¹, М.М. Цветкова², Я.С. Тихонова², М.А. Постойкина¹

Краевой детский онкогематологический центр, КГБУЗ «Краевая детская клиническая больница № 1», г. Владивосток, Россия¹

Россия, 690002, г. Владивосток, пр. Острякова, 27¹

ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава России²

Россия, 690002, г. Владивосток, пр. Острякова, 2. E-mail: flower_marina@mail.ru²

Аннотация

Введение. Онкологические заболевания являются одной из ведущих причин смертности детей и подростков. Во многих регионах мира отмечается рост детской и подростковой заболеваемости злокачественными новообразованиями. Важными факторами, определяющими уровень онкологической заболеваемости, являются климатогеографические и социальные особенности региона проживания.

Цель исследования – провести анализ онкологической заболеваемости и смертности детей и подростков Приморского края для выявления региональных особенностей с целью расширения возможностей профилактики и повышения качества жизни детей и подростков с данной патологией. **Материал и методы.** Проанализированы данные официального сборника «Злокачественные новообразования в России» 2008–18 гг., а также результаты деятельности Краевого детского онкогематологического центра КГБУЗ КДКБ № 1 г. Владивостока за 2014–19 гг. Проведён расчёт среднего уровня динамического ряда, среднего абсолютного ежегодного прироста, среднего ежегодного темпа прироста. **Результаты.** Выявлены различия уровня заболеваемости детей и подростков злокачественными новообразованиями за период 2008–2018 гг. по Приморскому краю по сравнению с данными по Российской Федерации и Дальневосточному федеральному округу не выявлено. В Приморье отмечена вариабельность уровня заболеваемости в течение анализируемого периода, отрицательный средний ежегодный темп прироста в группе детей до 14 лет (-0,86 %). За период 2008–18 гг. достигнуто выраженное снижение летальности от злокачественных новообразований детей и подростков в Приморском крае (с 5,65 % в 2008 г. до 2,16 % в 2018 г.; отрицательный средний ежегодный темп прироста в группе детей 0–17 лет (-9,17 %)). Улучшилось качество диагностики злокачественных новообразований: уменьшилось количество детей и подростков с поздно диагностированными опухолями (III–IV стадий). **Заключение.** Резервом для снижения онкологической заболеваемости и смертности детей и подростков Приморского края является первичная профилактика и ранняя диагностика с учётом региональных как климатогеографических, так и социальных факторов риска возникновения и развития злокачественных новообразований. Для повышения эффективности такой работы необходимы формирование регистра заболеваемости злокачественными новообразованиями детей и подростков и реализация государственных программ по улучшению качества жизни в регионе.

Ключевые слова: онкологическая заболеваемость, злокачественные новообразования, дети, подростки, факторы риска.

CANCER INCIDENCE AND MORTALITY IN CHILDREN AND ADOLESCENTS IN PRIMORSKY KRAI FOR THE 2008–2018 PERIOD

L.M. Minkina¹, M.M. Tsvetkova², Ya.S. Tikhonova², M.A. Postoykina¹

Regional Pediatric Clinical Hospital of Primorye № 1, Vladivostok, Russia¹

27, Ostryakova Prospekt, 690002, Vladivostok, Russia¹

State Medical University, Vladivostok, Russia²

2, Ostryakova Prospekt, 690002, Vladivostok, Russia. E-mail: flower_marina@mail.ru²

Abstract

Background. Cancer is a leading cause of death in children and adolescents worldwide. The cancer incidence rate in children and adolescents has been on the rise for decades. Climatic, geographic and social factors of the region play an important role for cancer incidence. **Objective:** To analyze the cancer incidence and mortality rates in children and adolescents of Primorsky Krai. **Methods.** Cancer incidence rates in Russia for 2008–2018 as well as cancer incidence among children treated at the Regional Pediatric Hematology/Oncology Center (Vladivostok, Russia) for 2014–2019 were analyzed. **Results.** No statistically significant differences in the cancer incidence rates for the 2008–2018 period between children and adolescents of Primorsky Krai and the Russian Federation in the whole and the Far-Eastern Federal District were found. In Primorsky Krai, there was a variability in the incidence rate during the analyzed period, a negative average annual growth rate in the group of children under 14 years of age (-0.86 %). For the 2008–2018 period, the cancer mortality rate in children and adolescents of Primorsky Krai significantly decreased (from 5.65 ‰ in 2008 to 2.6 ‰ in 2018), with the average annual increase rate in children aged 0–17 years of -9.17 %. In 2014–2019, the quality of cancer detection improved significantly, and the number of children and adolescents with stage III–IV cancer reduced. **Conclusion.** Cancer prevention and early detection can potentially reduce the cancer incidence and mortality rates in children and adolescents in Primorsky Krai. Population-based cancer registries are needed for quantifying the burden of cancer in children and adolescents and assessing prevention and control programs.

Key words: cancer incidence and mortality, children, adolescents, risk factors.

Введение

Онкологическая заболеваемость в детском возрасте является актуальной проблемой педиатрии, т. к. является серьёзным фактором прогноза для здоровья и жизни ребёнка и значительно снижает качество жизни семей в целом. По данным ВОЗ, онкологические заболевания являются одной из ведущих причин смертности детей и подростков в мире. В год регистрируется около 300 000 случаев злокачественных новообразований (ЗНО) у детей и подростков с рождения до 19 лет [1]. В Российской Федерации злокачественные новообразования занимают второе место в структуре смертности детей после травм, несовместимых с жизнью, и отнесены в группу социально значимых заболеваний [2].

Во многих регионах мира отмечается рост заболеваемости ЗНО у детей и подростков [1, 3]. В отдельных государствах уровень онкологической заболеваемости по отдельным группам и половым характеристикам снижается или находится на стабильном уровне, однако в мире ВОЗ прогнозирует рост заболеваемости злокачественными новообразованиями, в большей степени в развивающихся странах [4]. Из всех видов новообразований в возрасте до 20 лет чаще всего встречаются лейкемии, злокачественные опухоли головного мозга, лимфо-

мы, нейро- и нефробластомы [1, 5]. В структуре смертности от злокачественных новообразований также лидируют лейкозы [1, 6].

Результаты длительных когортных наблюдений показывают эффективность терапии злокачественных новообразований – достижение длительной ремиссии заболевания, граничащей с выздоровлением [7, 8]. Однако прогноз в значительной мере зависит от уровня доходов страны и региона проживания: в странах с высоким уровнем дохода излечение отмечается более чем в 80 % случаев, в странах с низким и средним уровнями дохода – лишь в 20 % [5, 9].

Изучение влияния различных факторов, в том числе возраста, пола, региона проживания, на возникновение и течение указанной группы заболеваний позволяет понять причины негативных тенденций и разработать более эффективные методы и программы для оптимизации диагностики и терапии в детской онкологии [1, 3]. Безусловно, важной является ранняя, особенно доклиническая диагностика, которая в значительной степени определяет эффективность терапии, её переносимость, прогноз для жизни и здоровья [10]. Региональные особенности эпидемиологии заболеваемости новообразованиями зависят от социокультурных,

климатогеографических характеристик местности, уровня медицинской помощи в регионе [1, 11].

Приморский край – отдаленный регион России, имеет характерные природно-климатические, экологические и социальные условия проживания, оказывающие влияние на онкологическую заболеваемость. Оценка влияния таких факторов проведена в ряде работ. Показано различие частоты онкологической заболеваемости как в общем по Приморью, так и в зависимости от района и биоклиматической зоны. Уровень общей онкологической заболеваемости коррелирует с уровнем экологической ситуации в определенных районах края. Основными факторами риска названы состояние атмосферного воздуха, обеспеченность населения доброкачественной водой и состояние почв [11]. Кроме того, значимое влияние на онкологическую заболеваемость в городах Приморского края оказывают антропогенные факторы, характеристики социальной инфраструктуры, экологические особенности [12]. При изучении роли среды обитания в распространенности рака почки и мочевого пузыря в различных биоклиматических зонах Приморского края определено, что высокая онкоурологическая заболеваемость отмечается в районах с критической и напряженной экологической ситуацией [13]. Однако в отношении детей и подростков подобных работ не проводилось.

Исследования по указанной проблеме проведены и в других регионах Российской Федерации, ряд авторов предлагают считать уровень онкологических заболеваний индикатором медико-экологической безопасности территории [14–17]. Выявить ведущий этиологический фактор развития злокачественных новообразований у детей в большинстве случаев трудно. Лишь для небольшого числа заболеваний выявлены причинно-значимые факторы внешней среды и/или образа жизни. Генетическая предрасположенность отмечена не более чем в 10 % случаев [18]. Показано, что генетический полиморфизм модифицирует риск развития рака в результате экспозиции к тому или иному внешнему фактору, большинство спонтанных опухолей человека развивается в результате взаимодействия генетического полиморфизма и внешних факторов [19].

Несмотря на то, что достижения здравоохранения в области диагностики, терапии и реабилитации исследуемой группы заболеваний значительны, смертность детей снижается медленно. Это в большой степени связано с поздней диагностикой, которую первым обязан осуществлять врач-педиатр любого профиля на основании определенных клинико-лабораторных признаков [10, 20]. Сложности ранней диагностики заболеваний возникают из-за отсутствия у врачей-педиатров «онкологической настороженности» в связи с относительно небольшим количеством пациентов с данной патологией и нередко с атипичным началом заболевания [21].

В 2018 г. в ВОЗ начата реализация Глобальной программы по борьбе с детским раком, которая предполагает создание и поддержку эффективных программ по диагностике и лечению онкологических заболеваний у детей. Целью программы является достижение общемирового показателя выживаемости всех детей, больных злокачественными новообразованиями, как минимум, до 60 % к 2030 г. Планируется повышение показателя эффективности лечения примерно вдвое, в результате чего в ближайшее десятилетие будет спасён миллион жизней [22].

Таким образом, этиологическими и триггерными факторами развития ЗНО является сочетание нескольких причин. Оценить вклад каждого из них или группы факторов – сложно выполнимая задача, особенно в группе детей и подростков. Изучение региональных особенностей эпидемиологии злокачественных новообразований в Приморском крае даст возможность поиска путей ранней диагностики и профилактики, в результате – снижения онкологической заболеваемости, повышения качества жизни больных детей и подростков.

Цель исследования – провести анализ онкологической заболеваемости и смертности детей и подростков Приморского края для выявления региональных особенностей с целью расширения возможностей профилактики и повышения качества жизни больных с данной патологией.

Материал и методы

Для анализа использованы материалы, опубликованные на официальном сайте Ассоциации онкологов России «Злокачественные новообразования в России в 2008–18 годах» – данные статистического сборника Московского научно-исследовательского онкологического института им. П.А. Герцена – филиала ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России [23].

В анализ включены данные годовых отчетов о работе Краевого детского онкогематологического центра КГБУЗ КДКБ № 1 г. Владивостока за период 2014–19 гг. Статистические расчеты заболеваемости и смертности проведены, согласно рекомендуемому для использования при оценке онкологической помощи населению методам [24]. Рассчитаны следующие показатели:

Y_{cp} – средний уровень динамического ряда;
 Y_{np} – средний абсолютный ежегодный прирост (на 100 тыс.);

T_{np} – средний ежегодный темп прироста (%);
 95 % ДИ: $(Y_{cp} - t_{0,05} \cdot m; Y_{cp} + t_{0,05} \cdot m)$, где ДИ – доверительный интервал, m – стандартная ошибка средней, $t_{0,05}$ – процентная точка t -распределения Стьюдента с $(n-1)$ степенями свободы, которая даёт двухстороннюю вероятность 0,05 (на 100 тыс.).

Результаты

По данным анализа заболеваемости ЗНО детей и подростков Приморья в сравнении с данными по Российской Федерации и Дальневосточному федеральному округу (ДФО) за период с 2008 по 2018 г. выявлено, что в среднем онкологическая заболеваемость по Приморскому краю сравнима с общероссийской и несколько ниже, чем в ДФО. В Приморье отмечен размах уровня заболеваемости в течение анализируемого периода (95 % ДИ в общем 0–17 лет (11,01; 13,89), для детей 0–14 лет (11,46; 14,03)), при положительном среднем ежегодном темпе прироста (0,93 %) в общем в группе детей и подростков 0–17 лет отмечается отрицательный средний ежегодный темп прироста в группе детей до 14 лет (-0,86%) (табл. 1).

Около половины онкологической заболеваемости в группе детей и подростков в России составляют заболевания лимфатической и кровеносной ткани, что соответствует общемировым тенденциям. В указанной группе заболеваемость по Приморью сравнима с общероссийской и дальневосточной, однако более выражен рост заболеваемости, средний ежегодный темп прироста – 6,45 % (табл. 2).

Важным достижением в течение анализируемого периода является значительное снижение смертности детей от злокачественных новообразований в России в целом, в ДФО и Приморском крае в частности. Динамика указанного показателя в

Приморье более выражена, о чём свидетельствуют отрицательные значения среднего ежегодного темпа прироста: -9,17 % – 0–17 лет; -6,33 % – 0–14 лет (табл. 3).

По результатам анализа деятельности Краевого детского онкогематологического центра КГБУЗ КДКБ № 1 г. Владивостока за 2014–19 г. наблюдается тенденция убыли онкологической заболеваемости среди детей 0–14 лет, средний ежегодный темп прироста – -0,83 %, она более выражена в группе подростков 15–17 лет, у которой средний ежегодный темп прироста – -8,09 %. Однако очень высока вариабельность ежегодных значений (95 % ДИ: 0–14 лет (10,28; 14,35), 15–17 лет (16,30; 33,10)) (рис. 3).

В структуре онкологической заболеваемости, по данным Центра, преобладают лейкозы (16,7 %), на втором месте лимфомы (10,7 %), что соответствует общемировым и российским данным (рис. 1). В течение анализируемого периода (2014–19 гг.) при относительно стабильных цифрах общего числа выявленных заболевших снизилось количество детей и подростков с поздней диагностикой (III–IV стадии), средний ежегодный темп прироста – -16,06 % (табл. 5).

Обсуждение

Показатели заболеваемости ЗНО детей и подростков за анализируемый 11-летний период (2008–18 гг.) в Приморье сравнимы с общероссий-

Таблица 1/Table 1

**Заболеваемость ЗНО детского населения (стандартизованный показатель на 100 тыс. населения)
Cancer incidence in children (age-standardized incidence rate per 100,000 population)**

Годы/ Years	Возраст больных/Age of patients					
	РФ/ Russia	0–14 лет/years ДФО/ Far East Region	ПК/ Primorsky Krai	РФ/ Russia	0–17 лет/years ДФО/ Far East Region	ПК/ Primorsky Krai
2008	12,44	10,76	13,29	12,21	10,72	12,73
2009	12,87	12,19	11,41	12,68	11,59	10,15
2010	12,98	13,63	9,31	12,78	12,72	9,07
2011	12,34	12,73	11,83	12,32	12,43	12,58
2012	12,27	13,11	10,84	12,26	13,74	10,3
2013	12,55	13	12,54	12,52	12,35	11,54
2014	12,79	12,59	15,85	12,95	12,62	16,2
2015	12,94	15	14,78	13,06	14,77	14,4
2016	13,08	13,01	14,62	13,3	13,4	14,24
2017	13,17	15,43	13,49	13,34	15,01	11,78
2018	12,94	12,85	12,19	13,12	13,26	13,96
Y _{ср}	12,45	13,12	12,74	12,78	12,96	12,45
95 % ДИ	(12,56; 12,97)	(12,27; 13,97)	(11,46; 14,03)	(12,50; 13,05)	(12,11; 13,82)	(11,01; 13,89)
Y _{пр}	0,05	0,209	-0,11	0,09	0,26	0,12
T _{пр}	0,39 %	1,79 %	-0,86 %	0,72 %	2,15 %	0,93 %

Примечание: Y_{ср} – средний уровень динамического ряда; Y_{пр} – средний абсолютный ежегодный прирост (на 100 тыс.); T_{пр} – средний ежегодный темп прироста (%); ДИ – доверительный интервал.

Note: Y_{ср} – average of dynamic range; Y_{пр} – average absolute annual increase per 100,000; T_{пр} – average annual percent change (%); CI – confidence interval.

Таблица 2/Table 2

**Заболеваемость ЗНО лимфатической и кроветворной ткани детского населения
(стандартизованный показатель на 100 тыс. населения)**

**Incidence of tumors of the lymphoid and hemotopoietic tissues in children
(age-standardized incidence rate per 100,000 population)**

Годы/ Years	Возраст больных/Age of patients					
	РФ/ Russia	0–14 лет/years ДФО/ Far East Region	ПК/ Primorsky Krai	РФ/ Russia	0–17 лет/years ДФО/ Far East Region	ПК/ Primorsky Krai
2008	5,26	4,84	4,63	5,12	4,47	4,33
2009	5,61	5,84	4,11	5,55	5,86	4,16
2010	5,71	5,73	5,16	5,62	5,26	4,6
2011	5,24	6,19	3,56	5,16	5,85	4,03
2012	5,7	5,45	4,13	5,71	5,7	4,05
2013	5,71	6,35	7,12	5,56	5,72	6,35
2014	5,6	5,42	7,59	5,69	5,28	7,36
2015	5,74	5,19	4,14	5,87	5,34	4,13
2016	5,9	5,66	5,41	5,88	5,65	5,5
2017	6,13	6,85	6,92	6,14	6,32	6,18
2018	6,12	5,98	7,23	6,13	5,88	8,09
Y _{ср}	5,70	5,75	5,45	5,68	5,58	5,34
95 % ДИ	5,51; 5,90	5,40; 6,15	4,45; 6,46	5,45; 5,90	5,25; 5,90	4,37; 6,32
Y _{пр}	0,09	0,11	0,26	0,10	0,14	0,38
T _{пр}	1,53 %	2,14 %	4,56 %	1,82 %	2,78 %	6,45 %

Примечание: Y_{ср} – средний уровень динамического ряда; Y_{пр} – средний абсолютный ежегодный прирост (на 100 тыс.); T_{пр} – средний ежегодный темп прироста (%); ДИ – доверительный интервал.

Note: Y_{ср} – average of dynamic range; Y_{пр} – average absolute annual increase per 100,000; T_{пр} – average annual percent change (%); CI – confidence interval.

Таблица 3/Table 3

**Смертность от ЗНО детского населения (стандартизованный показатель на 100 тыс. населения)
Cancer mortality rates in children (age-standardized incidence rate per 100,000 population)**

Годы/ Years	Возраст больных/Age of patients					
	РФ/ Russia	0–14 лет/years ДФО/ Far East Region	ПК/ Primorsky Krai	РФ/ Russia	0–17 лет/years ДФО/ Far East Region	ПК/ Primorsky Krai
2008	3,95	3,81	4,27	4,05	4,22	5,65
2009	4,31	3,92	5,91	4,35	3,85	4,7
2010	3,94	2,97	2,42	3,92	3,27	3,48
2011	3,91	3,5	3,49	3,96	3,55	3,72
2012	3,7	3,76	4,53	3,74	4,03	5,73
2013	3,68	2,99	3,72	3,68	3,1	4,03
2014	3,22	2,11	3,27	3,32	2,04	2,79
2015	3,3	3,08	2,58	3,39	3,29	3,71
2016	3,35	2,47	2,86	3,31	2,27	3,03
2017	3,08	2,7	2,8	3,19	3,11	3,24
2018	2,84	2,49	2,22	2,85	2,34	2,16
Y _{ср}	3,57	3,07	3,46	3,61	3,19	3,84
95 % ДИ	3,27; 3,87	2,67; 3,48	2,72; 4,20	3,32; 3,91	2,70; 3,68	3,08; 4,60
Y _{пр}	-0,11	-0,13	-0,21	-0,12	-0,19	-0,35
T _{пр}	-3,25 %	-4,16 %	-6,33 %	-3,45 %	-5,73 %	-9,17 %

Примечание: Y_{ср} – средний уровень динамического ряда; Y_{пр} – средний абсолютный ежегодный прирост (на 100 тыс.); T_{пр} – средний ежегодный темп прироста (%); ДИ – доверительный интервал.

Note: Y_{ср} – average of dynamic range; Y_{пр} – average absolute annual increase per 100,000; T_{пр} – average annual percent change (%); CI – confidence interval.

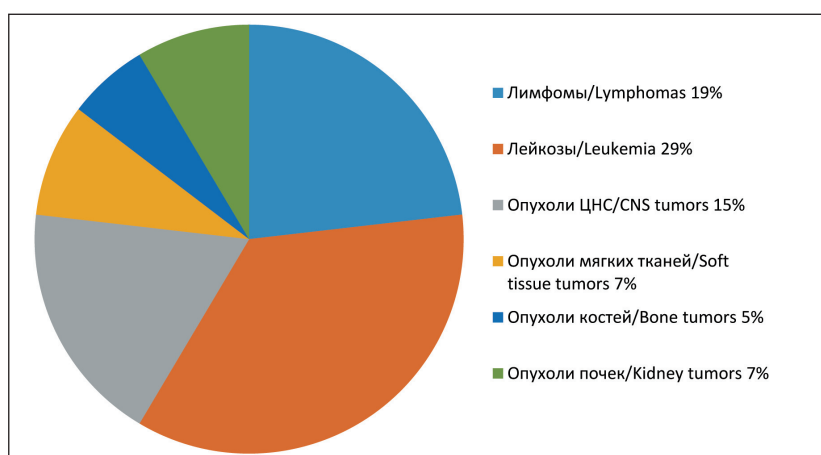


Рис. 1. Структура онкологической заболеваемости детей и подростков (0–17 лет), по данным Краевого детского онкогематологического центра, средние значения за 2014–19 гг.

Fig. 1. Structure of cancer incidence in children and adolescents aged 0–17 years at the Regional Centre of Pediatric Oncology and Hematology, Vladivostok. Average values, 2014–2019

Таблица 4/Table 4

Заболеваемость злокачественными новообразованиями детского населения (на 100 тыс. населения) по данным Краевого детского онкогематологического центра (2014–19 гг.)

Cancer incidence in children per 100,000 at the Regional Centre of Pediatric Oncology and Hematology, Vladivostok, 2014–2019

Годы/Years	Возраст больных/Age of patients	
	0–14 лет/years	0–17 лет/years
2014	12,3	30,8
2015	10,3	32,4
2016	14,6	16,2
2017	10,3	32,4
2018	14,6	16,2
2019	11,8	20,2
Y_{cp}	12,32	24,7
95 % ДИ	10,28; 14,35	16,30; 33,10
Y_{np}	-0,10	-2,12
T_{np}	-0,83 %	-8,09 %

Примечание: Y_{cp} – средний уровень динамического ряда; Y_{np} – средний абсолютный ежегодный прирост (на 100 тыс.); T_{np} – средний ежегодный темп прироста (%); ДИ – доверительный интервал.

Note: Y_{cp} – average of dynamic range; Y_{np} – average absolute annual increase per 100,000; T_{np} – average annual percent change (%); CI – confidence interval.

скими, несколько ниже, чем в ДФО, однако имеют более выраженную вариабельность ежегодных значений, что свидетельствует о нестабильности ситуации. Данный факт требует выявления причин, которыми могут явиться как региональные климатогеографические особенности, так и социально-экономические факторы. Если принять заболеваемость ЗНО, в особенности детей и подростков, индикаторным показателем здоровья и социального благополучия населения, то можно говорить о нестабильности экономического и социального состояния региона. Кроме указанных групп факторов, отрицательное влияние оказывает высокий уровень миграции, в том числе квалифицированных специалистов, людей с высоким

и средним уровнем дохода, что, в свою очередь, снижает социокультурный уровень в регионе и, соответственно, отрицательно влияет на прогноз заболеваемости, смертности и качества жизни детей.

За период 2008–18 гг. достигнуто снижение смертности от ЗНО детей и подростков в России, ДФО и Приморском крае, более выраженное в Приморском крае. Улучшилось качество диагностики ЗНО в исследуемой возрастной группе – уменьшилось количество детей и подростков с поздно диагностированными опухолями (III–IV стадии).

Выявленные позитивные тенденции обусловлены рядом причин, среди которых: раннее выявление заболевших детей и подростков, терапия

Таблица 5/Table 5

Выявляемость больных детей с онкологическими заболеваниями (абсолютное число)

Cancer detection in children (absolute number of patients)

Наименование индикаторов/годы/ Indicator names / years	Случаев заболеваний, впервые взятых на учет/ Newly registered cases of diseases	Выявлено больных, впервые взятых на учет/ Identified patients for the first time registered	Выявлено больных I–II стадии/ Revealed patients of stage I–II in total	Выявлено больных III стадии/ Stage III patients identified	Выявлено больных IV стадии/ Stage IV patients identified
2014	11	56	13	13	12
2015	11	54	5	6	9
2016	9	54	6	8	9
2017	10	47	10	11	5
2018	10	54	13	8	6
2019	11	55	13	9	5
Y_{cp}	10,33	53,33	10	9,17	7,67
95 % ДИ	9,48; 11,19	49,97; 56,70	6,13; 13,87	6,56; 11,77	4,72; 10,61
Y_{np}	0	-0,2	0	-0,8	-1,4
T_{np} (%)	0	-0,36 %	0	-7,09 %	-16,06 %

Примечание: Y_{cp} – средний уровень динамического ряда; Y_{np} – средний абсолютный ежегодный прирост (на 100 тыс.); T_{np} – средний ежегодный темп прироста (%); ДИ – доверительный интервал.

Note: Y_{cp} – average of dynamic range; Y_{np} – average absolute annual increase per 100,000; T_{np} – average annual percent change (%); CI – confidence interval.

согласно современным протоколам, использование высокотехнологичных видов медицинской помощи, качественное диспансерное наблюдение за детьми в процессе лечения и в период ремиссии, их реабилитация. Учитывая географические и транспортные особенности Приморского края, на постоянной основе проводятся *online* семинары и телемедицинские консультации. Значимую роль играет возможность консультирования детей специалистами ведущих центральных онкогематологических клиник России на любом этапе диагностики и терапии.

Закключение

Проведённое исследование показывает, что резервом для снижения онкологической заболе-

ваемости и смертности детей и подростков Приморского края являются первичная профилактика и ранняя диагностика с учётом региональных факторов риска возникновения и развития ЗНО, как климатогеографических, так и социальных. Это позволит разработать соответствующие направленные программы профилактики онкологических заболеваний в указанной возрастной группе. Для повышения эффективности такой работы считаем необходимым формирование регистра заболеваемости ЗНО детей и подростков, разработку и реализацию государственных программ по улучшению качества жизни в регионе в целом. Результатом внедрения предложенных мер станет повышение качества жизни больных детей и семей Приморья.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Steliarova-Foucher E., Colombet M., Ries L.A.G., Moreno F., Dolya A., Bray F., Hesselting P., Shin H.Y., Stiller C.A.; IICC-3 contributors. International incidence of childhood cancer, 2001–10: a population-based registry study. *Lancet Oncol.* 2017 Jun; 18(6): 719–31. doi: 10.1016/S1470-2045(17)30186-9.
2. Министерство здравоохранения Российской Федерации. Статистические материалы URL: <https://www.rosminzdrav.ru/ministry/61/22/stranitsa-979/statisticheskie-i-informatsionnye-materialy/statisticheskie-materialy> (дата обращения: 11.02.2019) [Ministry of Health of the Russian Federation. Statistical materials URL: <https://www.rosminzdrav.ru/ministry/61/22/stranitsa-979/statisticheskie-i-informatsionnye-materialy/statisticheskie-materialy> (cited 11.02.2019). (in Russian).]
3. Isaevska E., Manasievska M., Alessi D., Mosso M.L., Magnani C., Sacerdote C., Pastore G., Fagioli F., Merletti F., Maule M. Cancer incidence rates and trends among children and adolescents in Piedmont, 1967–2011. *PLoS One.* 2017 Jul 24; 12(7): e0181805. doi: 10.1371/journal.pone.0181805.
4. Одинцова И.Н., Писарева Л.Ф., Хряпенов А.В. Эпидемиология злокачественных новообразований в мире. Сибирский онкологический журнал. 2015; 5: 95–101. [Odintsova I.N., Pisareva L.F., Khryapenkov A.V. Worldwide cancer epidemiology. *Siberian Journal of Oncology.* 2015; 5: 95–101. (in Russian)].
5. Gelband H., Jha P., Sankaranarayanan R., Horton S. Disease Control Priorities (third edition): Vol. 3. Washington, DC: World Bank, 2015. 363 p.
6. Рыков М.Ю., Поляков В.Г. Клинические проявления и диагностика злокачественных новообразований у детей: что необходимо знать педиатру? Российский вестник перинатологии и педиатрии. 2017; 62(5): 69–79. [Rykov M.Yu., Polyakov V.G. Clinical manifestations and diagnosis of malignant neoplasms in children: what do pediatricians need to know? *Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics.* 2017; 62(5): 69–79. (in Russian)]. doi: 10.21508/1027-4065-2017-62-5-69-79.
7. Руднева А.Е., Ильина Е.Е. Наблюдение за пациентами с гемобластозами после окончания противоопухолевой терапии. Онкогематология. 2014; 4: 46–53. [Rudneva A. E., Ilyina E. E. Monitoring of patients with hematological malignancies after anticancer therapy. *Oncohematology.* 2014; 4: 46–53. (in Russian)].
8. Заева Г.Е., Валиев Т.Т., Гавриленко Т.Ф., Моисеенко Е.И., Медведовская Е.Г., Михайлова С.Н., Синягина Ю.В. Отдаленные последствия терапии злокачественных опухолей у детей: 35-летний опыт клинических наблюдений. Современная онкология. 2016; 1(18): 55–60. [Zaeva G.E., Valiev T.T., Gavrilenko T.F., Moiseenko E.I., Medvedovskaya E.G., Михайлова С.Н., Синягина Ю.В. Отдаленные последствия терапии злокачественных опухолей у детей: 35-летний опыт клинических наблюдений. *Современная онкология.* 2016; 1(18): 55–60. (in Russian)].

kaya E.G., Mikhailova S.N., Sinyagina Yu.V. Long-term consequences of the treatment of malignant tumors in children: 35 years of experience in clinical observations. *Modern Oncology*. 2016; 1(18): 55–60. (in Russian)].

9. Howard S.C., Zaidi A., Cao X., Weil O., Bey P., Patte C., Samudio A., Haddad L., Lam C.G., Moreira C., Pereira A., Harif M., Hessissen L., Choudhury S., Fu L., Caniza M.A., Lecciones J., Traore F., Ribeiro R.C., Gagnepain-Lacheteau A. The My Child Matters programme: effect of public-private partnerships on paediatric cancer care in low-income and middle-income countries. *Lancet Oncol*. 2018 May; 19(5): e252e266. doi: 10.1016/S1470-2045(18)30123-2.

10. Howard S.C., Lam C.G., Arora R.S. Cancer epidemiology and the “incidence gap” from non-diagnosis. *Pediatr Hematol Oncol J*. 2018; 3(4): 75–78.

11. Юдин С.В., Маслов Д.В. Влияние антропогенных факторов на онкологическую заболеваемость населения Приморского края. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2004; 3(17): 46–49. [Yudin S.V., Maslov D.V. The influence of anthropogenic factors on the oncological incidence of the population of the Primorsky region. *Pacific Medical Journal*. 2004; 3(17): 46–49. (in Russian)].

12. Жерновой М.В., Веремчук Л.В., Куку П.Ф., Красников Ю.А. Экологическая зависимость распространения онкологических заболеваний в Приморском крае. *Дальневосточный медицинский журнал*. 2011; 3: 22–26. [Zhernovoj M.V., Veremchuk L.V., Kiku P.F., Krasnikov U.A. Krasnikov Ecological dependence of the spread of cancer in the Primorsky Territory. *Far Eastern Medical Journal*. 2011; 3: 22–26. (in Russian)].

13. Куку П.Ф., Алексеева Г.Н., Мореева В.Г., Волков М.В., Юдин С.В. Влияние факторов среды обитания на распространённость рака почки и мочевого пузыря в биоклиматических зонах Приморского края. *Казанский медицинский журнал*. 2017; 98(3): 423–429. [Kiku P.F., Alekseeva G.N., Moreva V.G., Volkov M.V., Yudin S.V. Influence of environmental factors on the prevalence of cancer of the kidney and bladder in the bioclimatic zones of the Primorye Territory. *Kazan Medical Journal*. 2017; 98(3): 423–429. (in Russian)]. doi: 10.17750/KMJ2017-423.

14. Архипова О.Е., Черногубова Е.А., Тарасов В.А., Лихтанская Н.В., Кум О.И., Еремеева А.А., Матишов Д.Г. Уровень онкологических заболеваний как индикатор медико-экологической безопасности территорий (на примере Ростовской области). *Вестник Южного научного центра*. 2013; 9(3): 7–14. [Arkhipova O.E., Chernogubova E.A., Tarasov V.A., Likhanskaya N.V., Kit O.I., Eremeeva A.A., Matishov D.G. Level of oncological diseases as an indicator of medical and environmental safety of territories (on the example of the Rostov region). *Bulletin of the Southern Scientific Center*. 2013; 9(3): 7–14. (in Russian)].

15. Оганесян М.Г. Комплексное воздействие факторов окружающей среды как фон развития онкологических заболеваний. *Медицинские новости*. 2014; 5: 11–15. [Oganeyan M.G. The complex impact of environmental factors as a background for the development of cancer. *Medical News*. 2014; 5: 11–15. (in Russian)].

16. Манжуров И.Л., Лежнин В.Л. Многофакторная оценка влияния окружающей среды на развитие онкологических заболеваний. *Экология человека*. 2015; 1: 3–9. [Manzhurov I.L., Lezhnin V.L. Multivariate assessment of the influence of the environment on the development of oncological diseases. *Ecology of Man*. 2015; 1: 3–9. (in Russian)].

17. Мешков Н.А. Приоритетные факторы риска окружающей среды в развитии онкопатологии. *Научный альманах*. 2016; 5–3(19): 309–318. [Meshkov N.A. Priority environmental risk factors in the development of oncopathology. *Scientific Almanac*. 2016; 5–3(19): 309–318. (in Russian)].

18. Zhang J., Walsh M.F., Wu G., Edmonson M.N., Gruber T.A., Easton J., Hedges D., Ma X., Zhou X., Yergeau D.A., Wilkinson M.R., Vaddadaria B., Chen X., McGee R.B., Hines-Dowell S., Nuccio R., Quinn E., Shurtleff S.A., Rusch M., Patel A., Becksfors J.B., Wang S., Weaver M.S., Ding L., Mardis E.R., Wilson R.K., Gajjar A., Ellison D.W., Pappo A.S., Pui C.H., Nichols K.E., Downing J.R. Germline Mutations in Predisposition Genes in Pediatric Cancer. *N Engl J Med*. 2015 Dec 10; 373(24): 2336–2346. doi: 10.1056/NEJMoa1508054.

19. Заридзе Д.Г., Мукерия А.Ф., Шаньгина О.В. Взаимодействие факторов окружающей среды и генетического полиморфизма в этиологии злокачественных опухолей. *Успехи молекулярной онкологии*. 2016; 3(2): 8–16. [Zaridze D.G., Mukeria A.F., Shangina O.V. Interaction of environmental factors and genetic polymorphism in the etiology of malignant tumors. *Successes in Molecular Oncology*. 2016; 3(2): 8–16. (in Russian)].

20. Желудкова О.Г., Рыков М.Ю., Поляков В.Г., Сусулева Н.А., Турабов И.А. Клинические проявления онкологических заболеваний у детей. СПб., 2017. 52 с. [Zheludkova O.G., Rykov M.Yu., Polyakov V.T., Susuleva N.A., Turabov I.A. Clinical manifestations of oncological diseases in children. St. Petersburg, 2017. 52 p. (in Russian)].

21. Рыков М.Ю., Менткевич Г.Л. Гемобластозы у детей: трудности диагностики. *Российский вестник перинатологии и педиатрии*. 2017; 62: 81–86. [Rykov M.Yu., Mentkevich G.L. Hemoblastoses in children: difficulties in diagnosis. *Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics*. 2017; 62: 81–86. (in Russian)].

22. ВОЗ [Интернет]. URL: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/cancer-in-children> (дата обращения: 11.02.2019). [WHO [Internet]. URL: <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/cancer-in-children> (cited 11.02.2019)].

23. Ассоциация онкологов России [Интернет]. URL: <https://oncology-association.ru/medstat> (дата обращения: 11.02.2019). [Association of Oncologists of Russia [Internet]. URL: <https://oncology-association.ru/medstat> (cited 11.02.2019)].

24. Петрова Г.В., Грецова О.П., Каприн А.Д., Старинский В.В. Характеристика и методы расчета медико-статистических показателей, применяемых в онкологии. М., 2014. 40 с. [Petrova G.V., Gretsova O.P., Kaprin A.D., Starinsky V.V. Characteristics and methods for calculating medical and statistical indicators used in oncology. Moscow, 2014. 40 p. (in Russian)].

Поступила/Received 07.12.2019
Принята в печать/Accepted 05.06.2020

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Минкина Людмила Михайловна, кандидат медицинских наук, руководитель Краевого детского онкогематологического центра, КБУЗ «Краевая детская клиническая больница № 1» (г. Владивосток, Россия). SPIN-код: 6060-1352. AuthorID (РИНЦ): 1054134.

Цветкова Марина Михайловна, кандидат медицинских наук, доцент, Институт педиатрии, ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Владивосток, Россия).

Тихонова Яна Сергеевна, клинический ординатор, Институт педиатрии ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Владивосток, Россия).

Постойкина Марина Анатольевна, врач, Краевой детский онкогематологический центр «Краевая детская клиническая больница № 1» (г. Владивосток, Россия).

ВКЛАД АВТОРОВ

Минкина Людмила Михайловна: разработка концепции научной работы.

Цветкова Марина Михайловна: анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Тихонова Яна Сергеевна: составление черновика рукописи, статистическая обработка.

Постойкина Марина Анатольевна: 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.

Благодарность

Выражаем благодарность старшему преподавателю Института фундаментальных основ и информационных технологий в медицине ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава России Оксане Валерьевне Переломовой за содействие в статистической обработке материала.

ABOUT THE AUTHORS

Ludmila M. Minkina, MD, PhD, Head of Pediatric Hematology/Oncology Center, Regional Pediatric Clinical Hospital of Primorye № 1 (Vladivostok, Russia).

Marina M. Tsvetkova, MD, Assistant Professor, Pediatric Institute, Pacific State Medical University (Vladivostok, Russia).

Yana S. Tikhonova, MD, Clinical Resident, Pediatric Institute, Pacific State Medical University (Vladivostok, Russia).

Marina A. Postoykina, MD, Pediatric Hematology/Oncology Center (Regional Pediatric Clinical Hospital of Primorye № 1, Vladivostok, Russia).

AUTHOR CONTRIBUTION

Ludmila M. Minkina: study conception.

Marina M. Tsvetkova: analysis of the study results, critical revision for the important intellectual content.

Yana S. Tikhonova: drafting of the manuscript, statistical analysis.

Marina A. Postoykina: analysis of the study results, critical revision for the important intellectual content.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

Acknowledgment

We would like to express our gratitude to O.V. Perelomova, Senior Lecturer at the Institute of Fundamental Foundations and Information Technologies in Medicine, TSMU for her assistance in statistical processing of the material.

DOI: 10.21294/1814-4861-2020-19-6-28-37
УДК: 618.19-006.6-07:577.21

Для цитирования: Сергеева Н.С., Кармакова Т.А., Алентов И.И., Зикиряходжаев А.Д., Ортабаева Д.Р., Каприн А.Д. Клиническая значимость простатического специфического антигена у больных раком молочной железы. Сибирский онкологический журнал. 2020; 19(6): 28–37. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-6-28-37.
For citation: Sergeeva N.S., Karmakova T.A., Alentov I.I., Zikiryahodzhayev A.D., Ortayeva D.R., Kaprin A.D. Clinical significance of prostate-specific antigen in breast cancer patients. Siberian Journal of Oncology. 2020; 19(6): 28–37. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-6-28-37.

КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ПРОСТАТИЧЕСКОГО СПЕЦИФИЧЕСКОГО АНТИГЕНА У БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Н.С. Сергеева^{1,2}, Т.А. Кармакова¹, И.И. Алентов¹, А.Д. Зикиряходжаев¹,
Д.Р. Ортабаева¹, А.Д. Каприн¹

МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России,
г. Москва, Россия¹

Россия, 125284, г. Москва, 2-й Боткинский пр., 3. E-mail: igoralentov@yandex.ru¹

ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, г. Москва, Россия²

Россия, 117997, г. Москва, ул. Островитянова, 1²

Аннотация

Введение. Простатический специфический антиген (ПСА) преимущественно продуцируется клетками предстательной железы, однако его минорными источниками могут служить и другие ткани организма как у мужчин, так и у женщин, включая ткани молочных желез. У женщин повышенные сывороточные уровни ПСА описаны при ряде физиологических и патологических состояний, в том числе при доброкачественных заболеваниях молочной железы и при раке молочной железы (РМЖ). ПСА рассматривают как потенциальный серологический опухолеассоциированный маркер РМЖ, однако сведения о его возможной клинической значимости недостаточно убедительны. **Цель исследования** – оценка уровней ПСА у женщин с РМЖ и оценка перспективности его изучения как диагностического показателя при начальных стадиях заболевания. **Материал и методы.** Сывороточные уровни ПСА измерены иммунохемилюминесцентным методом (ARCHITECT, Abbott) у 99 пациенток с гистологически верифицированным РМЖ (карцинома *in situ* – 11, IA стадия – 56, IIA стадия – 32) и у 25 условно здоровых женщин-доноров. **Результаты.** В группе здоровых женщин ПСА был выявлен в 22/25 (88,0 %) образцах крови, среднее значение составило $4,0 \pm 0,9$ нг/л. В группе больных РМЖ детектируемый уровень ПСА обнаружен в 68/99 (68,7 %) случаях, его средний уровень – $2,8 \pm 0,9$ нг/л. Отличия между группами больных РМЖ и доноров по среднему уровню маркера статистически недостоверны ($p > 0,05$). Значения ПСА были выше у молодых женщин: у больных РМЖ моложе 40 лет доля ПСА-положительных случаев составила 89 %, у пациенток старше 50 лет – 60 %; в группах доноров моложе 40 лет и старше 50 лет – 100 % и 80 % соответственно. При карциноме *in situ* средний уровень ПСА оказался выше, чем при I и II стадиях заболевания ($3,0 \pm 1,2$ нг/л против $1,9 \pm 0,3$ нг/л и $1,6 \pm 0,3$ нг/л соответственно; $p > 0,05$). У больных РМЖ не выявлено зависимости концентраций ПСА от гистотипа, степени дифференцировки и молекулярного подтипа опухоли. **Заключение.** Уровень ПСА не обладает клинической значимостью при ранних стадиях РМЖ, так как доля случаев с повышенным уровнем ПСА и среднее значение показателя у больных РМЖ на начальных этапах заболевания не отличаются от таковых в группе здоровых женщин.

Ключевые слова: простатический специфический антиген, ПСА, рак молочной железы, диагностика.

CLINICAL SIGNIFICANCE OF PROSTATE-SPECIFIC ANTIGEN IN BREAST CANCER PATIENTS

N.S. Sergeeva^{1,2}, T.A. Karmakova¹, I.I. Alentov¹, A.D. Zikiryahodzhayev¹,
D.R. Ortabaeva¹, A.D. Kaprin¹

P.A. Hertsen Moscow Oncology Research Institute – branch of Federal Medical Research Centre of Radiology, Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia¹
3, 2nd Botkinskiy proezd, 125284, Moscow, Russia.
E-mail: igoralentov@yandex.ru¹
Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia²
1, Ostrovityanova Street, 117997, Moscow, Russia²

Abstract

Background. Prostate-specific antigen (PSA) is predominantly produced by prostate epithelium, however, other tissues can serve as its minor sources in both men and women, including breast tissue. In women, elevated serum PSA levels have been described in different physiological and pathological conditions, including benign breast diseases and breast cancer (BC). PSA is considered as a potential serum tumor marker for BC, but evidences of its possible clinical significance are insufficiently convincing. **Aim of the study:** investigation of PSA levels in female BC patients and assessment of perspectives of its study as a diagnostic tool for early detection of BC. **Material and methods.** Serum PSA levels were measured by chemiluminescence immunoassay (ARCHITECT, Abbott) in 99 female patients with histologically confirmed BC (carcinoma *in situ* – 11, stage I – 56, stage IIA – 32) and 25 conditionally healthy female donors. **Results.** In the donor group, serum PSA was revealed in 22/25 (88,0 %) cases, and its mean level was 4.0 ± 0.9 ng/l. In the group of BC patients, detectable PSA level was revealed in 68/99 (68.7 %) cases, and its mean level was 2.8 ± 0.9 ng/l. Differences between groups of BC patients and donors in mean marker values were not statistically significant ($p > 0.05$). Serum PSA levels were higher in young women: in the group of BC patients under 40 years old, percentage of PSA-positive cases was 89 %, in the group of patients over 50 years old – 60 %; in groups of donors under 40 and over 50 years old – 100 % and 80 %, respectively. In cases of *in situ* carcinoma, the mean serum PSA was higher than in cases with stages I and II (3.0 ± 1.2 ng/l vs 1.9 ± 0.3 ng/l and 1.6 ± 0.3 ng/l, respectively; $p > 0.05$). In the group of BC patients, no PSA levels were found to be dependent on the histological type, grade and molecular subtype of the tumor. **Conclusion.** The PSA level has no clinical significance in early stages of BC, since the proportion of cases with elevated PSA levels and its mean value in patients with early stages of BC don't differ from those in the group of healthy women.

Key words: prostate-specific antigen, PSA, breast cancer, diagnostics.

Введение

Рак молочной железы (РМЖ) – самое распространенное злокачественное новообразование у женщин во всем мире. Среди женского населения России в 2018 г. выявлено более 70 000 случаев РМЖ, наблюдается тенденция роста показателя заболеваемости [1]. Благодаря улучшению организации здравоохранения и внедрению современных методов инструментальной диагностики в России за последние годы значительно увеличилась доля случаев РМЖ I–II стадии [1], при которых шансы пациенток на полное выздоровление достаточно велики. Тем не менее проблема своевременной диагностики РМЖ сохраняет свою актуальность по причине бессимптомного течения заболевания на ранней стадии и объективных ограничений возможностей инструментальных диагностических процедур, часто не позволяющих выявить злокачественную опухоль на доклиническом этапе ее развития.

Простатический специфический антиген (ПСА) – протеолитический фермент, относящийся к се-

мейству калликреинов (KLK3), является одним из наиболее хорошо изученных серологических опухолеассоциированных маркеров и широко используется в диагностических исследованиях и для мониторинга пациентов при заболеваниях предстательной железы [2]. С появлением высокочувствительных методов определения ПСА было установлено, что в организме как у мужчин, так и у женщин существуют другие, минорные источники этого белка, в число которых входит ткань молочных желез [3–5]. Методами иммуногистохимического анализа показана экспрессия ПСА в эпителии молочной железы в норме, при доброкачественных изменениях и при РМЖ [6, 7]. Наличие мРНК ПСА в цитозольных фракциях ткани РМЖ подтверждено с использованием полимеразной цепной реакции [8].

В сыворотке крови здоровых женщин содержание ПСА значительно меньше, чем у мужчин. При этом концентрация ПСА у женщин зависит от фазы менструального цикла и повышается при беремен-

ности, что отражает влияние стероидных гормонов на продукцию этого фермента клетками эпителия [5, 9]. С изменением общего гормонального фона связывают и обратную корреляцию между уровнем ПСА и возрастом женщин [10].

Повышенные, по сравнению со здоровыми женщинами, значения ПСА наблюдаются в части случаев при доброкачественных заболеваниях молочной железы и при РМЖ [11–16]. Обнаруженное в ряде исследований снижение уровня общего ПСА у больных РМЖ после мастэктомии, по мнению авторов, косвенно указывает на то, что источником повышенного содержания антигена в крови пациенток в этих случаях являлась пораженная опухолью молочная железа [4, 12–14].

Обращает на себя внимание, что у больных РМЖ женщин отмечают обратную корреляцию между содержанием общего ПСА в сыворотке крови и стадией заболевания [4, 17, 18], размером опухоли [13, 17], а также степенью дифференцировки новообразования [16]. Такой характер корреляций дает основания полагать, что повышенный уровень ПСА преимущественно ассоциирован с ранними формами заболевания. В то же время при сравнении результатов, полученных разными исследовательскими группами, обращают на себя внимание противоречивые данные в отношении частоты наблюдения повышенного содержания ПСА в крови у женщин при РМЖ, неоднозначная его взаимосвязь с клинико-патологическими особенностями заболевания, а также вариабельность количественной оценки этого антигена.

Целью работы являлись исследование сывороточного уровня ПСА у женщин и оценка перспективности его изучения как диагностического показателя при начальных стадиях РМЖ.

Материал и методы

В исследование включены 99 пациенток с ранними формами РМЖ (табл. 1), проходивших обследование в МНИОИ им. П.А. Герцена – филиале ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России в 2018–19 гг. Контрольную группу составили 25 условно здоровых женщин-доноров. От всех

больных и доноров получено информированное согласие на участие в проведении исследования. В обеих когортах обследуемых были представлены все возрастные группы, однако среди доноров преобладали молодые женщины, а среди больных РМЖ – пациентки старше 50 лет (рис. 1). Средний возраст пациенток составил 51,3 года (25–79 лет), средний возраст доноров – 43,8 года (24–68 лет; $p=0,04$). Диагноз РМЖ верифицирован морфологически, стадия заболевания установлена согласно системе TNM (7-е издание, 2010 г.).

Образцы венозной крови у больных РМЖ получали до начала специфического лечения. После забора образцы крови больных и доноров выдерживали 30 мин при комнатной температуре, после чего центрифугировали 15 мин при 3000 g для отделения сывороточной фракции. Полученную сыворотку хранили при температуре -80°C до выполнения анализа. Измерение уровней общей фракции ПСА проводили на автоматическом иммуноанализаторе ARCHITECT i1000SR (Abbott Diagnostics, США) двухэтапным хемилюминесцентным иммунологическим методом на микрочастицах с использованием наборов реактивов ARCHITECT total PSA. Принцип метода заключается в инкубации образцов сыворотки крови с парамагнитными частицами, покрытыми антителами против ПСА, затем – с антителами, конъюгированными с акридином, и последующей индукции хемилюминесценции добавлением в реакционную смесь растворов перекиси водорода и едкого натра.

Статистическую обработку данных выполняли с использованием программы STATISTICA 10 (StatSoft. Inc.). Для оценки распределения значений показателя в группах рассчитывали величины среднего арифметического (M), стандартной ошибки среднего (m) и медианы. Отличия средних величин показателя в группах оценивали с применением t -критерия Стьюдента, различия между группами по частоте встречаемости признака – с применением χ^2 -критерия Пирсона. Проверку на нормальность распределения осуществляли с помощью теста Шапиро–Уилка. Построение гра-

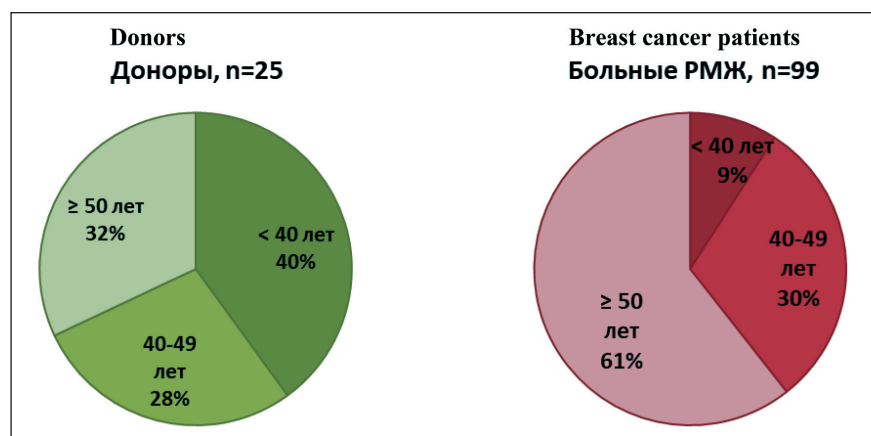


Рис. 1. Распределение доноров и больных РМЖ по возрасту
Fig. 1. Distribution of donors and breast cancer patients by age

Таблица 1/Table 1

Характеристика больных РМЖ, включенных в исследование
Characteristics of BC patients included in the study

Клинические группы/ Groups of patients	Кол-во наблюдений/ Number of cases
Число больных/Number of patients	99 (100 %)
Менопаузальный статус/Menopausal status	
Пременопауза/Premenopause	36 (36,4 %)
Менопауза и постменопауза/Menopause and postmenopause	63 (63,6 %)
Гистологический тип опухоли/Histological type of tumor	
Инвазивная карцинома неспецифического типа/Invasive carcinoma of a non-specific	68 (68,7 %)
Внутрипротоковая карцинома/Intraductal carcinoma	15 (15,2 %)
Инвазивная дольковая карцинома/Invasive lobular carcinoma	8 (8,1 %)
Тубулярная карцинома/Tubular carcinoma	4 (4,0 %)
Муцинозная карцинома/Mucinous carcinoma	3 (3,0 %)
Инвазивная микропапиллярная карцинома/Invasive micropapillary carcinoma	1 (1,0 %)
Стадия опухолевого процесса/Stage of the tumor	
0 стадия (TisN0M0)/Stage 0 (TisN0M0)	11 (11,1 %)
I стадия (T1N0M0)/Stage I (T1N0M0)	56 (56,6 %)
IIA стадия (T2N0M0)/IIA stage (T2N0M0)	32 (32,3 %)
Степень дифференцировки ткани опухоли/Differentiation grade	
G1	6 (6,1 %)
G2	74 (74,1 %)
G3	19 (19,2 %)
Молекулярные подтипы РМЖ/Molecular subtypes of BC	
Люминальный A/Luminal A	31 (31,3 %)
Люминальный B/Luminal B	60 (60,6 %)
Нелюминальный HER2+/Non-luminal HER2 +	2 (2,0 %)
Тройной негативный/Triple negative	6 (6,1 %)

фигов и диаграмм выполняли с использованием программы Microsoft Excel 2010.

Результаты

У подавляющего большинства женщин в обследованных группах, как у больных РМЖ, так и у доноров, содержание общего ПСА в сыворотке крови оказалось значительно ниже значений, которые обычно определяются у мужчин. В связи с этим результаты количественной оценки уровня маркера в данном исследовании представлены с использованием величины, соответствующей количеству нанограмм не в миллилитре (нг/мл), как это принято у мужчин, а в литре (нг/л).

В группе здоровых женщин ПСА был выявлен в 22/25 (88,0 %) случаях, а его определяемая концентрация варьировала от 1 до 24 нг/л. Среднее значение ПСА в общей группе здоровых женщин составило $4,0 \pm 0,9$ нг/л, среди женщин с определяемым уровнем маркера – $5,0 \pm 1,0$ нг/л. В группе больных РМЖ детектируемый уровень ПСА был обнаружен в 68/99 (68,7 %) случаях, а вариации определяемого уровня соответствовали диапазону 1,0146,0 нг/л. Среднее значение ПСА в общей группе больных РМЖ составило $2,8 \pm 0,9$ нг/л, а среди больных с отличными от нуля значениями показателя – $4,1 \pm 1,2$ нг/л. Значительно превышающая средние значения концентрация ПСА

(более 20,0 нг/л) выявлена у 1 здоровой женщины и у 2 больных РМЖ. Различия между группами больных РМЖ и здоровых женщин как по доле случаев с определяемым уровнем ПСА ($p=0,092$), так и по средним величинам показателя ($p=0,45$) не достигали статистически значимого уровня.

Анализ полученных данных показал, что содержание ПСА в сыворотке крови в обеих группах женщин зависит от возраста. Так, средний уровень ПСА у доноров и больных РМЖ был выше в группах более молодых женщин, чем у женщин старшего возраста, как при сравнении показателя в общих группах наблюдений, так и при сравнении случаев с определяемым уровнем маркера (рис. 2, А и Б). Однако разница средних значений маркера у женщин моложе 40 лет и старше 50 лет оказалась статистически недостоверной как среди больных РМЖ ($p=0,42$), так и среди доноров ($p=0,25$). Кроме того, отмечено, что среди больных РМЖ во всех возрастных группах доля случаев, в которых концентрация общего ПСА была ниже предела детекции, оказалась выше, чем среди доноров (рис. 2В).

Среднее значение ПСА у больных РМЖ в пременопаузе составило $2,5 \pm 0,4$ нг/л, а у менопаузальных пациенток – $1,6 \pm 0,3$ нг/л ($p=0,09$). В группе здоровых женщин в пременопаузе средний уровень ПСА был равен $4,5 \pm 0,8$ нг/л, а в постменопаузе – $2,2 \pm 0,8$ нг/л ($p=0,08$). При этом раз-

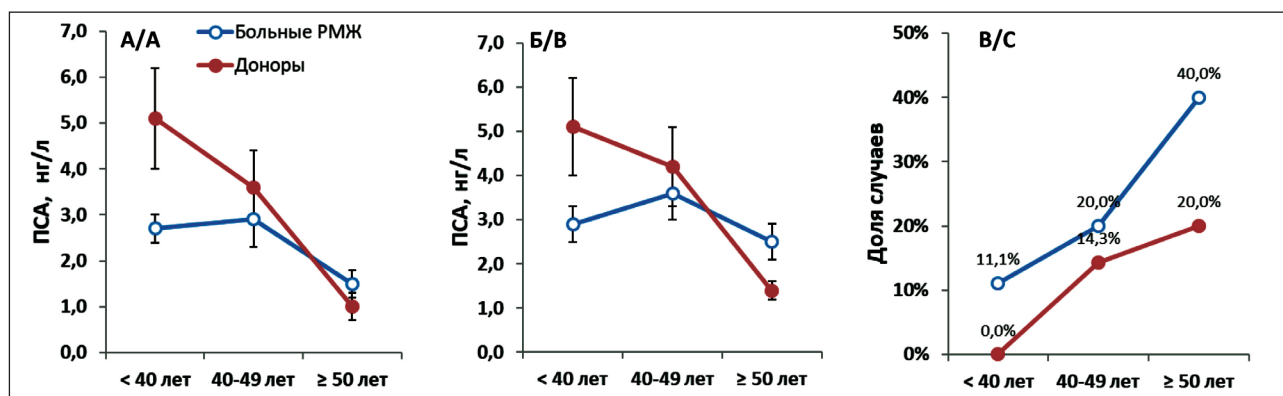


Рис. 2. Уровни ПСА в сыворотке крови у больных РМЖ и доноров в зависимости от возраста: А. Средние значения ПСА в общих группах наблюдений; Б. Средние значения ПСА в случаях с определяемым уровнем маркера; В. Доля случаев с уровнем ПСА ниже предела детекции.

Данные на диаграммах А и Б представлены в виде $M \pm m$
 Fig. 2. PSA levels in blood serum of breast cancer patients and donors with respect to the age group:
 A. Average PSA values in general groups of patients; B. Average PSA values in cases with a detectable marker level;
 C. Proportion of cases with PSA levels below the detection limit. Data in charts A and B are presented as $M \pm m$

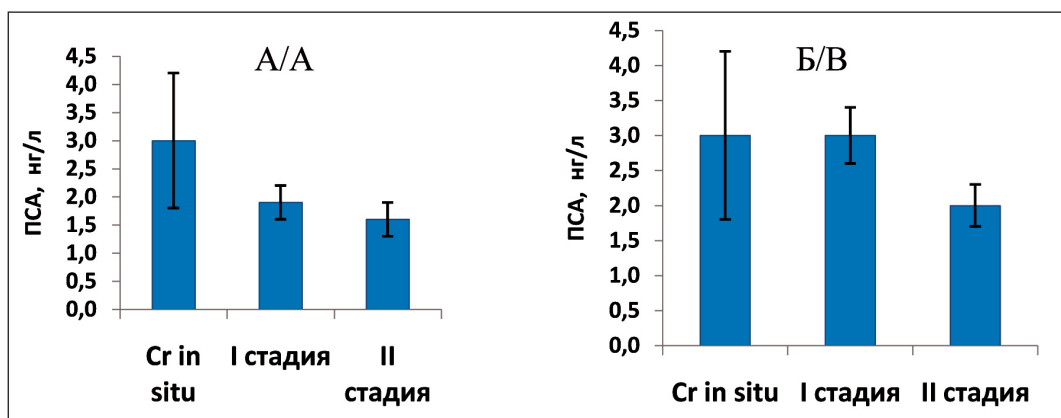


Рис. 3. Средние уровни ПСА у больных РМЖ в зависимости от стадии опухолевого процесса в общих группах наблюдений (А) и в группах с определяемым уровнем маркера (Б). Данные представлены в виде $M \pm m$

Fig. 3. Average PSA levels in breast cancer patients with respect to the stage of the tumor in general groups of patients (A) and in groups with a detectable marker level (B). Data are presented as $M \pm m$

личия в концентрациях маркера между группами больных РМЖ и здоровых женщин в перименопаузе оказались статистически достоверными ($p=0,04$), а среди пациенток и доноров в менопаузе не достигали статистической достоверности ($p=0,49$).

Анализ результатов определения уровня ПСА у больных РМЖ в зависимости от клинко-морфологических особенностей заболевания показал следующее. Средние концентрации общего ПСА при карциноме *in situ* оказались выше, чем при РМЖ I и II стадии (рис. 3; различия статистически не значимы, $p=0,15$), причем эта тенденция сохранялась и при стратификации больных по возрастным группам. Значения ПСА не зависели от молекулярного подтипа опухоли (табл. 2). Корреляции между уровнем ПСА и степенью дифференцировки опухоли, гистологическим типом РМЖ, а также индексом массы тела и наличием сопутствующих хронических заболеваний не выявлено (данные не представлены).

Обсуждение

Стимулом к выполнению настоящей работы стали данные ряда исследований, свидетельствующие о том, что у больных РМЖ сывороточные концентрации ПСА в ряде случаев значительно выше, чем у здоровых женщин [14–16], повышение уровня ПСА чаще обнаруживают при ранних формах заболевания [4, 13, 17, 18], а динамика показателя может быть дополнительным критерием оценки эффективности противоопухолевого лечения [12–14, 16].

В нашем исследовании измерение уровня общего ПСА выполнено на автоматическом иммуноанализаторе ARCHITECT i1000SR с использованием высокочувствительной системы на основе иммунохемилуминесцентного анализа с пределом детекции общего ПСА, равным 1 нг/л (0,001 нг/мл). Полученные результаты показали, что ПСА с использованием данной технологии выявляется у большинства здоровых женщин (88,0 %) и у

Таблица 2/Table 2

Уровни ПСА у больных РМЖ при разных молекулярных подтипах опухоли
PSA levels in breast cancer patients with different molecular tumor subtypes

Молекулярный подтип/ Molecular subtype	N	Вариация величин, нг/л (мин–макс)/ Variation of values, ng/l (min–max)	M ± m, нг/л/ M ± m, ng/l	Медиана, нг/л/ Median, ng/l
Люминальный A/Luminal A	31	0,0–82,0	2,1 ± 0,4	2,0
Люминальный B/Luminal B	60	0,0–146,0	2,0 ± 0,3	1,0
Тройной негативный/Triple negative	6	0,0–3,0	1,5 ± 0,6	2,0
Non-luminal HER2 +	2	1,0; 5,0	3,0	3,0

большей части больных РМЖ (68,7 %). Однако уровень маркера в подавляющем большинстве случаев оказался низким, не превышающим 10 нг/л (0,01 нг/мл). Для сравнения, у здоровых мужчин диапазон вариации данного показателя, как правило, на два порядка выше.

Доля случаев, в которых концентрация ПСА в сыворотке крови была доступна для определения, а также средние значения показателя в группах больных РМЖ и условно здоровых женщин в нашем исследовании статистически не отличались. При этом отмечено, что средний уровень ПСА как у доноров, так и у больных РМЖ снижается с возрастом, что согласуется с данными опубликованных исследований. Считается, что это может быть обусловлено угасанием гормональной активности у женщин с наступлением менопаузы [13, 14]. Более высокие показатели ПСА при карциноме *in situ*, чем при опухолях большего размера (T1–2N0M0), выявленные в нашем исследовании, также согласуются с наблюдениями других авторов [13], которые связывают снижение уровня ПСА в крови при увеличении размера узловых образований с нарушением архитектоники ткани.

Обращает на себя внимание более высокий средний уровень ПСА у здоровых женщин пременопаузального возраста по сравнению с больными РМЖ в пременопаузе. Подобное наблюдение не описано в литературе и в определенной степени противоречит тому, что в многочисленных исследованиях установлена корреляция между повышенным уровнем андрогенов в крови у женщин в пременопаузе и риском развития РМЖ [19–21]. Можно предположить, что выявленные нами отличия являются случайными и не будут воспроизведены при наборе большего числа наблюдений. С другой стороны, медиана возраста здоровых женщин в пременопаузе в нашем исследовании была несколько ниже, чем больных РМЖ в пременопаузе, и составила $35 \pm 1,9$ года и $44 \pm 1,2$ года соответственно (отличия незначимы). Известно, что активность продукции ПСА эпителиальными клетками находится под контролем андрогенных гормональных сигналов [22], при этом содержание андрогенов в крови

женщин существенно изменяется с возрастом. Так, в работе A. Guay et al. показано, что у здоровых женщин в возрасте 20–29 лет сывороточный уровень общего тестостерона и его предшественников был достоверно выше, чем у женщин в возрасте 40–49 лет [23]. Группа женщин в возрасте 30–39 лет по этим показателям занимала промежуточное положение, но достоверно отличалась от старшей группы более высоким содержанием в сыворотке крови дегидроэпиандростерона – физиологически активного предшественника тестостерона [23]. Можно предположить, что даже такие небольшие отличия могут оказывать влияние на синтез ПСА в чувствительных к андрогенам тканях организма, что, соответственно, отражается на уровне ПСА в крови.

Для анализа причин существенных расхождений в результатах количественного определения ПСА и оценки диагностической значимости маркера при опухолевых заболеваниях молочной железы, полученных в разное время разными исследовательскими группами, мы сопоставили собственные результаты с ранее опубликованными данными. Для этого были отобраны публикации, в которых, в том числе, содержались сведения о технических характеристиках метода анализа. В соответствии с указанным авторами пределом детекции метода были выделены исследования, в которых использовались высокочувствительные тест-системы (группа I), тест-системы со средним уровнем чувствительности (группа II) и тест-системы с низким уровнем чувствительности (группа III; табл. 3). Согласно данному критерию, наше исследование относится к группе I.

Анализ представленных в этих публикациях данных свидетельствует о том, что высокие уровни ПСА, сравнимые с таковыми у мужчин, были получены лишь при использовании низкочувствительных методов определения (группа III, табл. 3). Именно в этих работах авторы делают выводы о существенных отличиях уровня ПСА у здоровых женщин и у пациенток с заболеванием молочной железы. В то же время при использовании тест-систем со средним или высоким уровнем чувствительности наблюдается, с одной стороны,

Таблица 3/Table 3

**Уровень ПСА в сыворотке крови у здоровых женщин и пациенток
с заболеваниями молочной железы: анализ данных литературы**

The PSA level in blood serum of healthy women and patients with breast diseases: analysis of literature data

Группа/Groups	Метод определения/ Determination method	Предел детек- ции, нг/л/ Detection limit, ng/l	Клиниче- ская группа/ Clinical group of patients	N	Возраст, лет/ Age, years	Уровни ПСА, нг/л/PSA levels		
						Пози- тивный/ Positive	Вариация (мин– макс)/ Variation (min–max)	Медиана/ (IQR) Medium
I	ИФА (ручной метод) [11]/	1	Доноры/ Donors	99	40–60	29 %	0–55	0
	ELISA (manual method)		ДЗМЖ/BBD	162		75 %	0–221	3,5
	[11]		РМЖ/BC	118	30–88	57 %	0–8153	1,3
	ИФА (ручной метод) [13]/	1	Контроль#	100		33 %		
	ELISA (manual method)		ДЗМЖ/BBD	90	47 ± 10*	86 %		
	[13]		РМЖ/BC	107		70 %		
	ИХА (IMMULITE Third generation DPC, LA, CA) [10]/	3	Доноры/ Donors	100	32–77		3–90	6 (4–10)
	ICA (IMMULITE Third generation DPC, LA, CA)		ДЗМЖ/BBD	94	16–75		3–100	4 (2–10)
	[10]		РМЖ/BC	90	31–89		3–110	4 (2–11)
	ИХА (TOSOH Co, LTD, Токуо, Япония) [28]/	3	Доноры/ Donors	132	53 ± 11	26 %		0 (0–3)
	ICA (TOSOH Co, LTD, Токуо, Япония) [28]		РМЖ/BC	144	63 ± 13	29 %		0 (04)
II	ФИА-ВР (ручной метод) [29]/	10	Доноры/ Donors	674	17–69	17 %**	От 0 до >30*	
	FIA [29]		РМЖ/BC	198	29–93	22 %**		
	ИХА (Diasorin, LIAI- SON, Германия) [15]/	<40	ДЗМЖ/BBD	90	28–63		170 ± 16	
	ICA (Diasorin, LIAISON, Германия) [15]		РМЖ/BC	90	36–84		770 ± 100	
	ИФА (ручной метод) [14]/	50	Доноры/ Donors	82	48 ± 10		0–1300	517 ± 381
	ELISA (manual method)		РМЖ/BC	55	49 ± 11		100–3620	1373 ± 855
	[14]							
	ФИА-ВР (DELFLIA ®PSA) [30]/	100	Доноры/ Donors	46		39 %	0–3980	0
	FIA [30]		Мастопатия/ Mastopathy	114	18–45*	56 %	0–10700	670 ± 1860
			Киста МЖ/ Cyst	62		56 %	0–13700	800 ± 2550
III	ИФА (DS-EIA-TOTAL PSA kit; Siemens Limited) [16]/	300	Доноры/ Donors	50	43 ± 11			129
	ELISA (DS-EIA-TOTAL PSA kit; Siemens Limited)		ДЗМЖ/BBD	50	36 ± 10			1037
	[16]		РМЖ/BC	50	43 ± 11			1139

Примечания: N – число обследованных; Поз, % – частота случаев с определяемым уровнем общего ПСА; М ± σ – среднее ± стандартное отклонение; IQR – интерквартильный размах; ИФА – иммуноферментный анализ; ИХА – иммунохемилюминесцентный анализ; ФИА – флуоресцентный иммуноанализ; ДЗМЖ – доброкачественные заболевания молочной железы; # – пациентки, не имеющие заболевания молочной железы; * – для всей обследованной когорты женщин; ** – для уровня >10 нг/л

Note: N – number of patients; Positive, % – the frequency of cases with a definable level of total PSA; М ± σ – mean ± standard deviation; IQR – interquartile range; ELISA – enzyme immunoassay; ICA – immunochemiluminescent analysis; FIA – fluorescence immunoassay; BBD – benign breast diseases; BC – breast cancer; # – patients who do not have breast disease; * – for the entire surveyed cohort of women; ** – for level >10 ng/l

высокий разброс величин показателя, с другой стороны, в подавляющем большинстве случаев определяются низкие концентрации маркера. Это нашло отражение в способе представления авторами данных (расчеты средних величин показателя в публикациях часто не представлены). При этом доля наблюдений с определяемым уровнем общего ПСА в сыворотке крови у больных РМЖ варьирует в разных исследованиях от 22 до 70 %, что сходно с аналогичным показателем, полученным в нашей работе, а доля ПСА-положительных случаев в группах доноров (26–33 %) существенно меньше, чем в наших данных. Возможно, это обусловлено выбором дискриминационного уровня при разделении наблюдений на положительные и отрицательные по уровню маркера.

Необходимо отметить и сходство абсолютных значений уровня общего ПСА в публикациях, относящихся к группам I и II, включая наше исследование, а также то обстоятельство, что в отдельных наблюдениях уровни ПСА у женщин были достаточно высокими. В целом, приведенный анализ свидетельствует о том, что ПСА не может быть позиционирован как маркер, полезный для ранней диагностики РМЖ. Низкая частота случаев с относительно высокой концентрацией ПСА при РМЖ также ставит под сомнение возможность его использования для мониторинга пациенток после специфического лечения.

В то же время наличие у некоторых больных РМЖ высокого уровня ПСА, по нашему мнению, представляет определенный интерес. Известно, что экспрессия ПСА индуцируется стероидными гормонами группы андрогенов и контролируется

рецепторами андрогенов, которые в клетках играют роль факторов транскрипции [24]. Экспрессия рецепторов андрогенов в клетках РМЖ, как правило, ассоциирована с рецепторами эстрогенов, но определяется и в части случаев при HER2-позитивном и тройном негативном РМЖ [25–27]. В случаях тройного негативного РМЖ наличие рецепторов андрогенов коррелирует, с одной стороны, с низкой чувствительностью опухоли к неoadъювантной химиотерапии, с другой стороны, с лучшими показателями безрецидивной выживаемости и общей продолжительности жизни пациенток [27]. Недавно получены данные о прямой взаимосвязи между экспрессией рецепторов андрогенов в опухолевых клетках и наличием у больных РМЖ определяемого сывороточного уровня ПСА [28], в связи с чем авторы предполагают, что концентрация ПСА в крови у женщин, находящихся в постменопаузе, может отражать биологические особенности опухоли и служить суррогатным маркером активности рецепторов андрогенов [28]. Данный аспект возможной клинической значимости ПСА при РМЖ требует отдельного исследования.

Заключение

Уровень ПСА в сыворотке крови не обладает клинической значимостью при ранних стадиях РМЖ (стадии Tis, T1–2N0M0), так как доля случаев с повышенным уровнем ПСА и среднее значение показателя у больных РМЖ на начальных этапах заболевания не отличаются от таковых в группе здоровых женщин и не коррелируют с клинико-морфологическими особенностями заболевания.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2018 году (заболеваемость и смертность). М., 2019. 250 с. [Kaprin A.D., Starinskiy V.V., Petrova G.V. Malignant neoplasms in Russia in 2018 (morbidity and mortality). Moscow, 2019. 250 p. (in Russian)].
2. Сергеева Н.С., Скачкова Т.Е., Маршуткина Н.В., Алексеев Б.Я., Каприн А.Д. Клиническая значимость ПСА-ассоциированных тестов в диагностике и стадировании рака предстательной железы. Онкология. Журнал им. П.А. Герцена. 2018; 7(1): 55–63. [Sergeeva N.S., Skachkova T.E., Marshutina N.V., Alekseev B.Ya., Kaprin A.D. Clinical significance of PSA-associated tests in the diagnosis and staging of prostate cancer. P.A. Herzen Journal of Oncology. 2018; 7(1): 55–63. (in Russian)]. doi: 10.17116/onkolog20187155-67.
3. Yu H., Diamandis E.P., Levesque M., Giai M., Roagna R., Ponzzone R., Sismondi P., Monne M., Croce C.M. Prostate specific antigen in breast cancer, benign breast disease and normal breast tissue. Breast Cancer Res Treat. 1996; 40(2): 171–8. doi: 10.1007/BF01806212.
4. Yu H., Berkel H. Prostate-specific antigen (PSA) in women. J La State Med Soc. 1999 Apr; 151(4): 209–13.
5. Olsson A.Y., Bjartell A., Lilja H., Lundwall A. Expression of prostate-specific antigen (PSA) and human glandular kallikrein 2 (hK2) in ileum and other extraprostatic tissues. Int J Cancer. 2005; 113(2): 290–7. doi: 10.1002/ijc.20605.
6. Nariša D., Raica M., Anghel A., Suciu C., Cimpean A. Immunohistochemical localization of prostate-specific antigen in benign and malignant breast conditions. Rom J Morphol Embryol. 2005; 46(1): 41–5.
7. Kraus T.S., Cohen C., Siddiqui M.T. Prostate-specific antigen and hormone receptor expression in male and female breast carcinoma. Diagn Pathol. 2010 Sep 23; 5: 63. doi: 10.1186/1746-1596-5-63.
8. Mohajeri A., Zarghami N., Pourhasan Moghadam M., Alani B., Montazeri V., Baiat A., Fekhrjou A. Prostate-specific antigen gene expression and telomerase activity in breast cancer patients: possible relationship to steroid hormone receptors. Oncol Res. 2011; 19(8–9): 375–80. doi: 10.3727/096504011x13123323849636.
9. Zarghami N., Grass L., Sauter E.R., Diamandis E.P. Prostate-specific antigen in serum during the menstrual cycle. Clin Chem. 1997 Oct; 43(10): 1862–7.
10. Romppanen J., Kesikuru R., Kataja V., Eskelinen M., Kosma V.M., Savolainen K., Uusitupa M., Mononen I. Measurement of prostate-specific antigen in detection of benign or malignant breast disease in women. Br J Cancer. 1999 Mar; 79(9–10): 15837. doi: 10.1038/sj.bjc.6690252.
11. Black M.H., Giai M., Ponzzone R., Sismondi P., Yu H., Diamandis E.P. Serum total and free prostate-specific antigen for breast cancer diagnosis in women. Clin Cancer Res. 2000 Feb; 6(2): 467–73.
12. Dash P., Pati S., Mangaraj M., Sahu P.K., Mohapatra P.C. Serum total PSA and free PSA in breast tumors. Indian J Clin Biochem. 2011 Apr; 26(2): 182–6. doi: 10.1007/s12291-011-0115-5.
13. Das S., Paul R., De U., Mukhopadhyay M. The lady with raised prostate specific antigen: do we need to worry? Asian Pac J Cancer Prev. 2011; 12(8): 2051–3.
14. Mashkoor F.C., Al-Asadi J.N., Al-Naama L.M. Serum level of prostate-specific antigen (PSA) in women with breast cancer. Cancer Epidemiol. 2013 Oct; 37(5): 613–8. doi: 10.1016/j.canep.2013.06.009.
15. Razavi S.H., Ghajarzadeh M., Abdollahi A., Shoor S., Omranipour R. Is Serum Prostate-specific Antigen a Diagnostic Marker for Benign and Malignant Breast Tumors in Women? Int J Prev Med. 2015; 6: 15. doi: 10.4103/2008-7802.151824.
16. Jahir E.T., Devi R., Borthakur B.B. Study of Serum Total PSA and Free PSA as an Oncological Marker in Breast Tumour. J Clin Diagn Res. 2017 Mar; 11(3): BC13-BC16. doi: 10.7860/JCDR/2017/22111.9543.
17. Yu H., Giai M., Diamandis E.P., Katsaros D., Sutherland D.J., Levesque M.A., Roagna R., Ponzzone R., Sismondi P. Prostate-specific antigen is a new favorable prognostic indicator for women with breast cancer. Cancer Res. 1995 May 15; 55(10): 2104–10.

18. Borchert G.H., Melegos D.N., Tomlinson G., Giai M., Roagna R., Ponzone R., Sgro L., Diamandis E.P. Molecular forms of prostate-specific antigen in the serum of women with benign and malignant breast diseases. *Br J Cancer*. 1997; 76(8): 1087–94. doi: 10.1038/bjc.1997.512.
19. Clendenen T.V., Ge W., Koenig K.L., Afanasyeva Y., Agnoli C., Brinton L.A., Darvishian F., Dorgan J.F., Eliassen A.H., Falk R.T., Hallmans G., Hankinson S.E., Hoffman-Bolton J., Key T.J., Krogh V., Nichols H.B., Sandler D.P., Schoemaker M.J., Sluss P.M., Sund M., Werdlow A.J., Visvanathan K., Zeleniuch-Jacquotte A., Liu M. Breast cancer risk prediction in women aged 35–50 years: impact of including sex hormone concentrations in the Gail model. *Breast Cancer Res*. 2019 Mar; 21(1): 42. doi: 10.1186/s13058-019-1126-z.
20. Hüsing A., Fortner R.T., Kühn T., Overvad K., Tjønneland A., Olsen A., Boutron-Ruault M.C., Severi G., Fournier A., Boeing H., Trichopoulou A., Benetou V., Orfanos P., Masala G., Pala V., Tumino R., Fasanelli F., Panico S., Bueno de Mesquita H.B., Peeters P.H., van Gills C.H., Quirós J.R., Agudo A., Sánchez M.J., Chirlaque M.D., Barricarte A., Amiano P., Khaw K.T., Travis R.C., Dossus L., Li K., Ferrari P., Merritt M.A., Tzoulaki I., Riboli E., Kaaks R. Added Value of Serum Hormone Measurements in Risk Prediction Models for Breast Cancer for Women Not Using Exogenous Hormones: Results from the EPIC Cohort. *Clin Cancer Res*. 2017; 23(15): 4181–4189. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-16-3011.
21. Kaaks R., Tikk K., Sookthai D., Schöck H., Johnson T., Tjønneland A., Olsen A., Overvad K., Clavel-Chapelon F., Dossus L., Baglietto L., Rinaldi S., Chajes V., Romieu I., Boeing H., Schütze M., Trichopoulou A., Lagiou P., Trichopoulos D., Palli D., Sieri S., Tumino R., Ricceri F., Mattiello A., Buckland G., Ramón Quirós J., Sánchez M.J., Amiano P., Chirlaque M.D., Barricarte A., Bas Bueno-de-Mesquita H., van Gils C.H., Peeters P.H., Andersson A., Sund M., Weiderpass E., Khaw K.T., Wareham N., Key T.J., Travis R.C., Merritt M.A., Gunter M.J., Riboli E., Lukanova A. Premenopausal serum sex hormone levels in relation to breast cancer risk, overall and by hormone receptor status - results from the EPIC cohort. *Int J Cancer*. 2014; 134(8): 1947–57. doi: 10.1002/ijc.28528.
22. Zarghami N., Grass L., Diamandis E.P. Steroid hormone regulation of prostate-specific antigen gene expression in breast cancer. *Br J Cancer*. 1997; 75(4): 579–88. doi: 10.1038/bjc.1997.101.
23. Guay A., Munarriz R., Jacobson J., Talakoub L., Traish A., Quirk F., Goldstein I., Spark R. Serum androgen levels in healthy premenopausal women with and without sexual dysfunction: Part A. Serum androgen levels in women aged 20–49 years with no complaints of sexual dysfunction. *Int J Impot Res*. 2004 Apr; 16(2): 112–20. doi: 10.1038/sj.ijir.3901178.
24. Kim J., Coetzee G.A. Prostate specific antigen gene regulation by androgen receptor. *J Cell Biochem*. 2004 Oct 1; 93(2): 233–41. doi: 10.1002/jcb.20228.
25. Majumder A., Singh M., Tyagi S.C. Post-menopausal breast cancer: from estrogen to androgen receptor. *Oncotarget*. 2017 Oct 27; 8(60): 102739–758. doi: 10.18632/oncotarget.22156.
26. Седаков И.Е., Роголев А.В., Садрицкая Я.В., Стеценко И.Н. Андрогены и рак молочной железы: что мы знаем? Новообразование. 2019; 11(2): 63–7. [Sedakov I.E., Rogalev A.V., Sadritskaya Ya.V., Stetsenko I.N. Androgens and breast cancer: what do we know? *Neoplasia*. 2019; 11(2): 63–7. (in Russian)]. doi: 10.26435/neoplasia.v11i2.276.
27. Gerratana L., Basile D., Buono G., De Placido S., Giuliano M., Minichillo S., Coinu A., Martorana F., De Santo I., Del Mastro L., De Laurentiis M., Puglisi F., Arpino G. Androgen receptor in triple negative breast cancer: A potential target for the targetless subtype. *Cancer Treat Rev*. 2018 Jul; 68: 102–110. doi: 10.1016/j.ctrv.2018.06.005.
28. Hanamura T., Ohno K., Hokibara S., Murasawa H., Nakamura T., Watanabe H., Kaizuka M., Sawano S., Koyama H., Ito K.I. Clinical significance of serum PSA in breast cancer patients. *BMC Cancer*. 2019 Oct 29; 19(1): 1021. doi: 10.1186/s12885-019-6256-2.
29. Giai M., Yu H., Roagna R., Ponzone R., Katsaros D., Levesque M.A., Diamandis E.P. Prostate-specific antigen in serum of women with breast cancer. *Br J Cancer*. 1995 Sep; 72(3): 728–31. doi: 10.1038/bjc.1995.401.
30. Radowski S., Kunicki M., Bandurska-Stankiewicz E. Prostate-specific antigen in the serum of women with benign breast disease. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2008 Jun; 138(2): 212–6. doi: 10.1016/j.ejogrb.2007.05.023.

Поступила/Received 24.10.2019
Принята в печать/Accepted 20.07.2020

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Сергеева Наталья Сергеевна, доктор биологических наук, профессор, заведующая отделением прогноза эффективности консервативного лечения, МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России; профессор кафедры биологии педиатрического факультета ФГБОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России» (г. Москва, Россия). E-mail: prognos.01@mail.ru. SPIN-код: 1805-8141. Author ID (Scopus): 7102748586. ORCID: 0000-0001-7406-9973.

Кармакова Татьяна Анатольевна, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник отделения прогноза эффективности консервативного лечения, МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 4364-6134. Author ID (Scopus): 6603382243. ORCID: 0000-0002-8017-5657.

Алентов Игорь Игоревич, кандидат биологических наук, научный сотрудник отделения прогноза эффективности консервативного лечения, МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 9992-7676. ORCID: 0000-0002-5920-5823.

Зикирходжаев Азизжон Дилшодович, доктор медицинских наук, профессор кафедры онкологии и рентгенодиагностики РУДН, руководитель отделения онкологии и реконструктивно-пластической хирургии молочной железы и кожи, МНИОИ им. П.А. Герцена – филиала ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 8421-0364. AuthorID (РИНЦ): 701248. ORCID: 0000-0001-7141-2502.

Ортабаева Дзерасса Радионовна, хирург, врач-онколог общеклинического отдела, МНИОИ им. П.А. Герцена – филиала ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России (г. Москва, Россия). Researcher ID (WOS): Y-6369-2018.

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

ВКЛАД АВТОРОВ

Сергеева Наталья Сергеевна: разработка концепции научной работы, анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Кармакова Татьяна Анатольевна: анализ научной работы, интерпретация данных, написание текста статьи.

Алентов Игорь Игоревич: получение данных для анализа, статистическая обработка материала, интерпретация данных, написание текста статьи.

Зикирходжаев Азизжон Дилшодович: разработка дизайна исследования, критический анализ научной работы.

Ортабаева Дзерасса Радионовна: анализ литературы по теме статьи, сбор и анализ клинических данных.

Каприн Андрей Дмитриевич: критический анализ рукописи с внесением ценного интеллектуального содержания и одобрение окончательной версии.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы объявляют, что у них нет конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Natalia S. Sergeeva, DSc, Professor, Head of the Department of Efficiency of Conservative Therapy Prognosis, P.A. Hertsen Moscow Oncology Research Institute – branch of Federal Medical Research Centre of Radiology; Professor of Biology Department, Pirogov Russian National Research Medical University (Moscow, Russia). E-mail: prognos.01@mail.ru. Author ID (Scopus): 7102748586. ORCID: 0000-0001-7406-9973.

Tatyana A. Karmakova, DSc, Leading Researcher, Department of Efficiency of Conservative Therapy Prognosis, P.A. Hertsen Moscow Oncology Research Institute – branch of Federal Medical Research Centre of Radiology (Moscow, Russia). Author ID (Scopus): 6603382243. ORCID: 0000-0002-8017-5657.

Igor I. Alentov, PhD, Researcher, Department of Efficiency of Conservative Therapy Prognosis, P.A. Hertsen Moscow Oncology Research Institute – branch of Federal Medical Research Centre of Radiology (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0002-5920-5823.

Azizhon D. Zikiryahodzhaev, MD, DSc, Professor, Head of the Department of Oncology and Reconstructive Surgery of Breast and Skin, P.A. Hertsen Moscow Oncology Research Institute – branch of Federal Medical Research Centre of Radiology, professor of department of oncology and X-ray radiology of RUDN University (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0001-7141-2502.

Dzerassa R. Ortabaeva, MD, Surgeon, Oncologist, General Clinic Department, P.A. Hertsen Moscow Oncology Research Institute – branch of Federal Medical Research Centre of Radiology (Moscow, Russia). Researcher ID (WOS): Y-6369-2018.

Andrey D. Kaprin, MD, DSc, Professor, Member of the Russian Academy of Sciences, Head of P.A. Hertsen Moscow Oncology Research Institute – branch of Federal Medical Research Centre of Radiology (Moscow, Russia). Author ID (Scopus): 6602709853. ORCID: 0000-0001-8784-8415.

AUTHOR CONTRIBUTION

Natalia S. Sergeeva: study conception, study analysis, critical review for important intellectual content.

Tatyana A. Karmakova: study analysis, data analysis, writing of the manuscript.

Igor I. Alentov: data collection and analysis, statistical analysis, writing of the manuscript.

Azizhon D. Zikiryahodzhaev: study conception, study analysis.

Dzerassa R. Ortabaeva: literature review, data collection and analysis.

Andrey D. Kaprin: critical review 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: Анищенко В.В., Титов С.Е., Полоз Т.Л., Веряскина Ю.А., Архипова А.А., Бубнов И.В. Динамический скрининг предраковых состояний пищевода с помощью молекулярно-генетического анализа. Сибирский онкологический журнал. 2020; 19(6): 38–45. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-6-38-45.

For citation: Anishchenko V.V., Titov S.E., Poloz T.L., Veryaskina Yu.A., Arkhipova A.A., Bubnov I.V. Dinamic screening of precancerous esophagus using molecular genetic analysis. Siberian Journal of Oncology. 2020; 19(6): 38–45. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-6-38-45.

ДИНАМИЧЕСКИЙ СКРИНИНГ ПРЕДРАКОВЫХ СОСТОЯНИЙ ПИЩЕВОДА С ПОМОЩЬЮ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

В.В. Анищенко^{1,2}, С.Е.Титов^{3,4}, Т.Л. Полоз⁵, Ю.А. Веряскина³,
А.А. Архипова⁶, И.В. Бубнов¹

АО медицинский центр Авиценна группы компаний «Мать и Дитя», г. Новосибирск, Россия¹

Россия, г. Новосибирск, 630007, ул. Коммунистическая, 17. E-mail: avv1110@yandex.ru¹

Новосибирский государственный медицинский университет, г. Новосибирск, Россия²

Россия, г. Новосибирск, 630091, Красный проспект, 52²

ГБУН «Институт молекулярной и клеточной биологии» Сибирского отделения РАН,

г. Новосибирск, Россия³

Россия, г. Новосибирск, 630090, просп. акад. Лаврентьева, 8/2³

АО «Вектор-Бест», Новосибирская область, р.п. Кольцово, Россия⁴

Россия, Новосибирская область, 630559, р.п. Кольцово, Научно-производственная зона, 36⁴

ЧУЗ «Клиническая больница «РЖД-Медицина», г. Новосибирск, Россия⁵

Россия, г. Новосибирск, 630003, Владимировский спуск, 2а⁵

ГБУЗ Новосибирской области «Городская клиническая больница №2», г. Новосибирск, Россия⁶

Россия, г. Новосибирск, 630051, ул. Ползунова, 21⁶

Аннотация

Введение. Специализированный кишечный эпителий с признаками атипической гиперплазии при пищеводе Барретта наиболее часто подвергается малигнизации и является предшественником аденокарциномы пищевода, аналогично тому, как в желудке кишечная метаплазия трансформируется в аденокарциному. Атипия при внутриэпителиальной неоплазии в пищеводе Барретта трудно отличима от реактивных и регенераторных изменений, особенно при эрозированной слизистой пищевода. Анализ молекулярных маркеров является перспективным подходом в качестве дополнения к морфологическому исследованию при эндоскопическом скрининге пищевода Барретта. **Цель исследования** – изучение перспективности применения классификатора, основанного на профилировании миРНК в гистологических образцах пищевода Барретта, для определения риска злокачественности и тактики лечения.

Материал и методы. В работе было использовано 119 образцов архивного гистологического материала в виде парафиновых блоков: 89 образцов язв желудка с дисплазией и 30 образцов пищевода Барретта. Уровень экспрессии микроРНК-145-5р, -150-5р, -20а-5р, -21-5р, -31-5р, -34а-5р, -375 определялся с помощью ОТ-ПЦР в реальном времени. Стратификацию образцов на разные группы проводили с помощью алгоритма построения дерева принятия решений C-RT. **Результаты.** С помощью экспрессии предложенного набора миРНК 26,7 % образцов пищевода Барретта были классифицированы как рак, что может свидетельствовать о потенциальном развитии злокачественной опухоли в слизистой пищевода, когда морфологические изменения еще не найдены.

Ключевые слова: пищевод Барретта, аденокарцинома пищевода, дисплазия, эндоскопический скрининг, миРНК, молекулярная диагностика.

DINAMIC SCREENING OF PRECANCEROUS ESOPHAGUS USING MOLECULAR GENETIC ANALYSIS

V.V. Anishchenko^{1,2}, S.E. Titov^{3,4}, T.L. Poloz⁵, Yu.A. Veryaskina³,
A.A. Arkhipova⁶, I.V. Bubnov¹

AO Medical Centre Avicenna, group of companies «Mother and Child», Novosibirsk, Russia¹

17, Kommunisticheskaya str., 630007, Novosibirsk, Russia. E-mail: avv1110@yandex.ru¹

Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia²

52, Krasnyi Prospect, 630091, Novosibirsk, Russia²

Institute of Molecular and Cellular Biology SB RAS, Novosibirsk, Russia³

8/2, Akad. Lavrentyeva pr., 630090, Novosibirsk, Russia³

AO Vector-Best, Novosibirsk region, Koltsovo, Russia⁴

36, Scientific and Production Zone, 630559, Koltsovo, Novosibirsk region, Russia⁴

Private healthcare institution Clinical Hospital RZD-Medicine, Novosibirsk, Russia⁵

2a, Vladimirovskiy spusk 630003, Novosibirsk, Russia⁵

City Clinical Hospital №2, Novosibirsk, Russia⁶

21, Polzunova str. 630051, Novosibirsk, Russia⁶

Abstract

Introduction. Esophageal adenocarcinoma develops from areas of intestinal metaplasia in Barrett's esophagus, similar to how intestinal metaplasia transforms into gastric adenocarcinomas in the stomach. Atypia with intraepithelial neoplasia is difficult to distinguish from reactive and regenerative changes, especially in erosive mucosa of the esophagus. Observation of patients with Barrett's esophagus allows the identification of adenocarcinoma in the earlier, more curable stages in many patients. **The aim of our study** was to study the prospects of using a classifier based on miRNA profiling in histological samples of Barrett's esophagus to determine the risk of malignancy and treatment tactics. **Material and Methods.** In this study, 119 samples of archival histological material in the form of paraffin blocks were used: 89 samples of gastric mucosa with dysplasia and 30 samples of Barrett's esophagus. The expression level of miRNA-145-5p, -150-5p, -20a-5p, -21-5p, -31-5p, -34a-5p, -375 was determined using real-time RT-PCR. Samples were stratified into different groups using the C-RT decision tree algorithm. **Results.** 26.7 % of Barrett's esophagus samples were classified by expression of the proposed miRNAs as cancer, which may indicate a potential development of a malignant tumor in the mucosa of the esophagus when morphological changes have not yet been found.

Key words: Barrett's esophagus, esophagus adenocarcinoma, dysplasia, endoscopic screening, miRNA, molecular diagnostics.

Введение

Среди злокачественных опухолей проксимальных двух третей пищевода наиболее распространен плоскоклеточный рак; аденокарцинома – самая частая злокачественная опухоль в дистальной трети пищевода. Заболеваемость аденокарциномой пищевода (АП) в западных странах резко возросла в последние десятилетия – почти в 6 раз, в то время как медиана выживаемости в среднем не превышает 1 года [1]. Параллельно увеличению частоты аденокарциномы кардиального и субкардиального отделов желудка АП становится доминирующим гистологическим подтипом рака пищевода, при котором пятилетняя выживаемость составляет менее 20 % в случаях, диагностированных после появления симптомов. При наличии симптомов заболевания почти у 50 % пациентов диагностируют неизлечимый процесс, требующий паллиативных мер. С другой стороны, пятилетняя выживаемость пациентов, у которых АП была выявлена на ранней бессимптомной стадии, значительно выше [2].

АП обычно возникает в столбчатом метапластическом эпителии пищевода, который известен как пищевод Барретта (ПБ). Установленные факторы риска для АП и ПБ включают симптоматическую гастроэзофагеальную рефлюксную болезнь, европейское происхождение, мужской пол, ожирение и курение табака [3].

При ПБ плоский эпителий в нижней части пищевода замещается эпителием кишечного типа, распространяясь выше нижнего пищеводного сфинктера в дистальную часть пищевода, образуя островки железистой ткани по всей окружности. В ПБ часто развивается внутриэпителиальная неоплазия (ВЭН), являющаяся предшественником аденокарциномы. Однако сам по себе факт обнаружения ПБ не может говорить о развитии АП, поскольку атипия при ВЭН бывает трудноотличима от реактивных и регенераторных изменений, особенно при эрозированной слизистой пищевода. Специализированный кишечный эпителий с признаками атипической гиперплазии наиболее

часто подвергается малигнизации и является предшественником АП, аналогично тому, как в желудке кишечная метаплазия трансформируется в аденокарциному желудка.

Несмотря на то, что АП диагностируется только в 5–8 % случаев на фоне ПБ, динамическое наблюдение за пациентами с этим заболеванием рекомендуется медицинскими сообществами и активно практикуется в течение последних двух десятилетий. Связано это с тем, что хотя только 7 % пациентов в популяции, наблюдающихся по поводу ПБ, умирают от АП, отмечено, что 66,5 % АП возникают в течение 1 года после первоначального эндоскопического диагноза ПБ [3].

Эзофагогастродуоденоскопия с четырьмя квадратными биопсиями для выявления дисплазии и ранней инвазивной аденокарциномы является единственным методом скрининга, который в настоящее время рекомендуется для пациентов с ПБ [4, 5]. При этом, несмотря на значительное увеличение использования эндоскопии, клинически в популяции выявляется только треть пациентов с ПБ, а остальные остаются недиагностированными. Основными ограничениями при использовании диагноза дисплазии слизистой при ПБ в качестве маркера потенциального развития АП являются субъективность при оценке степени дисплазии и значительные расхождения среди патологов при диагностике предраковых изменений слизистой при морфологическом исследовании. При этом различие национальных клинических рекомендаций по отношению к дисплазии легкой степени ПБ и по отношению к желудочной метаплазии ПБ обуславливает субоптимальное согласие между экспертами. Даже среди опытных патологов в диагностике дисплазии у пациентов с ПБ имеются разногласия [6]. Низкая выявляемость и высокая стоимость скрининга требуют поиска более эффективных методов и биомаркеров для выявления пациентов с высоким риском прогрессирования ПБ в АП. Такими маркерами могут выступать микроРНК (миРНК), небольшие некодирующие РНК, задействованные в посттранскрипционной регуляции генов. При развитии онкологического процесса они могут выступать и как онкогены, и как опухолевые супрессоры в различных тканях [7]. МиРНК, помимо всего прочего, связаны с воспалительными процессами [8], которые могут играть важную роль в развитии ПБ. Также предполагается, что миРНК можно использовать для прогноза развития заболевания [9].

В предыдущих исследованиях нами была разработана методика на основе профилирования 6 миРНК (-150, -20a, -34a, -31, -145 и -375) для дифференциальной диагностики дисплазии и рака желудка (РЖ) по сравнению с нормальной слизистой в образцах гистологического материала. Поскольку при ПБ эпителий в нижней части пищевода замещается кишечным эпителием, мы

предположили, что данную методику можно использовать для стратификации ПБ по степени злокачественности.

Цель исследования – изучение перспективности применения классификатора, основанного на профилировании миРНК, для исследования гистологических образцов ПБ для определения риска злокачественности и тактики лечения.

Материал и методы

В работе было использовано 119 образцов архивного гистологического материала в виде парафиновых блоков: 89 образцов язв желудка с дисплазией и 30 образцов ПБ. Гистологический материал был получен в соответствии с законодательством РФ, от каждого пациента было получено информированное согласие на его использование, все данные были деперсонализированы. Диагнозы, относящиеся к язвам желудка, подтверждены гистологически в послеоперационном материале. До выполнения молекулярно-генетического исследования проведена независимая экспертная оценка гистологических образцов.

Выделение РНК. К 2–3 5-мкм срезам парафинового блока добавляли 1 мл белого парафинового масла (класс вязкости ISO VG 15), инкубировали в термошейкере при 65 °C 2 мин. Центрифугировали при 13000 g в течение 2 мин. К осадку добавляли 700 мкл лизирующего гуанидинового буфера (4 М гуанидин изотиоцианат; 25 мМ цитрат натрия; 0,3 % саркозил; 100 мМ Трис-HCl pH 6,5; 0,1 % 2-меркаптоэтанол) и оставляли в термошейкере при 90 °C на 60 мин. Центрифугировали при 13000 g в течение 2 мин, после чего супернатант переносили в новые пробирки. Далее в пробирки добавляли 600 мкл изопропанола, перемешивали и оставляли при комнатной температуре на 5 мин. Центрифугировали 10 мин при 13000 g, затем супернатант сливали, осадок промывали сначала 500 мкл 70 % этанола, а затем 300 мкл ацетона. РНК растворяли в 200 мкл деионизированной воды.

Выявление микроРНК. Детекцию 7 миРНК и малой ядерной РНК (мяРНК) U6 с помощью ОТ-ПЦР-РВ проводили для всех типов образцов. Для выявления зрелых миРНК использовали метод stem-loop ОТ-ПЦР. Для каждой миРНК отдельно проводили реакцию обратной транскрипции с последующей ПЦР-РВ [10]. Для каждого образца анализ проводили в одном повторе. Нормировку содержания миРНК проводили на содержание мяРНК U6 в образце с помощью метода $2^{-\Delta C_q}$ с учетом эффективности реакций. Выявление мяРНК U6 проводилось по той же схеме stem-loop ОТ-ПЦР, которая использовалась для миРНК.

Классификатор. Образцы изначально были классифицированы так, как описано ранее [11]. Дерево принятия решения выглядело следующим образом:

миР-150 > -14,12
 миР-31 > -39,41
 миР-145 > -3,19 Диагноз = РЖ
 миР-145 ≤ -3,19 Диагноз = Дисплазия
 миР-31 ≤ -39,41 Диагноз = РЖ
 миР-150 ≤ -14,12
 миР-34а > -49,18
 миР-21 > -3,08 Диагноз = РЖ
 миР-21 ≤ -3,08 Диагноз = Норма
 миР-34а ≤ -49,18
 миР-375 > -22,82 Диагноз = Норма
 миР-375 ≤ -22,82 Диагноз = Дисплазия

В процессе работы выборка образцов язвы желудка с дисплазией увеличилась и дерево принятия решения было перестроено.

Обработку данных проводили в программе Excel (Microsoft, США). Стратификацию образцов на разные группы проводили методом построения дерева принятия решений C-RT (Classification and Regression Tree) [12].

Результаты

Перестройка дерева принятия решения. В своей предыдущей работе [11] мы описали алгоритм классификации образцов слизистой желудка на норму, дисплазию и рак с помощью данных об относительном содержании миРНК в образце. В ходе дальнейшей работы были получены еще 89 образцов, относящихся к язве желудка с дисплазией. На основании данных, относящихся к новым образцам, дерево принятия решения было перестроено:

миР-150 > -34,29
 миР-31 > -56,17
 миР-145 > -10,59
 миР-21 > -1,21 Диагноз = Дисплазия
 миР-21 ≤ -1,21 Диагноз = РЖ
 миР-145 ≤ -10,59
 миР-375 > -247,85 Диагноз =
 = Дисплазия
 миР-375 ≤ -247,85 Диагноз = Норма
 миР-31 ≤ -56,17 Диагноз = РЖ
 миР-150 ≤ -34,29
 миР-145 > -62,91
 миР-21 > -1,67 Диагноз = РЖ
 миР-21 ≤ -1,67
 миР-34а > -39,98 Диагноз = РЖ
 миР-34а ≤ -39,98 Диагноз = Норма
 миР-145 ≤ -62,91
 миР-20 > -10,47 Диагноз = РЖ
 миР-20 ≤ -10,47 Диагноз = Дисплазия

Таким образом, в дерево решений вошли все миРНК, включая миРНК-20а. Данные о диагностических характеристиках определения РЖ и дисплазии с помощью этого дерева решений в сравнении с предыдущей версией представлены в табл. 1.

Исследование гистологических образцов ПБ. При ПБ эпителий в нижней части пищевода замещается кишечным эпителием, поэтому мы предположили, что дерево принятия решения, полученное для слизистой желудка, можно использовать для

Таблица 1/Table 1

Диагностические характеристики выявления РЖ и дисплазии, полученные в данном и в предыдущих исследованиях

Diagnostic characteristics of the detection of gastric cancer and dysplasia obtained in this and in the previous study

Диагностические характеристики/ Diagnostic characteristics	Дерево принятия решения – данная работа/ Decision Tree – this study		Дерево принятия решения из работы [11]/ Decision Tree from the study [11]	
	РЖ (95 % ДИ)/ Gastric cancer (95 % CI)	Дисплазия (95 % ДИ)/ Dysplasia (95 % CI), %	РЖ (95 % ДИ)/ Gastric cancer (95 % CI)	Дисплазия (95 % ДИ)/ Dysplasia (95 % CI)
Специфичность/ Specificity	94 % (90–97 %)	92 % (83–97 %)	93 % (86–97 %)	97 % (90–99 %)
Чувствительность/ Sensitivity	94 % (80–99 %)	94 % (89–97 %)	91 % (76–98 %)	87 % (75–94 %)
Общая точность/ Accuracy	94 % (90–97 %)	94 % (90–97 %)	93 % (86–96 %)	93 % (86–96 %)
ПЦПР/ PPV	76 % (63–85 %)	96 % (92–98 %)	84 % (70–92 %)	96 % (85–99 %)
ПЦОР/ NPV	99 % (95–99 %)	89 % (80–94 %)	96 % (90–99 %)	90 % (82–95 %)

Примечание: ПЦПР – предсказательная ценность положительного результата; ПЦОР – предсказательная ценность отрицательного результата; ДИ – доверительный интервал.

Notes: PPV – positive predictive value; NPV – negative predictive value; CI – confidence interval.

Таблица 2/Table 2

Результаты стратификации образцов ПБ с помощью дерева принятия решения, полученного в данной работе

The results of stratification of Barrett's esophagus samples using the decision tree obtained in this study

Заключение на основании экспрессии миРНК/ Conclusion based on miRNA expression	Количество/Quantity
Нормальная слизистая/ Normal mucosa	3 (10 %)
Дисплазия/Dysplasia	19 (63,3 %)
Рак/Cancer	8 (26,7 %)

выявления предраковых изменений эпителия и аденокарциномы пищевода. Было исследовано 30 гистологических образцов ПБ, однако только 28 относились к разным пациентам, у одного пациента было 3 операционных образца с известным гистологическим заключением – аденокарцинома пищевода. Следует отметить, что те три образца, для которых был известен послеоперационный диагноз, попали в группу «Рак» (табл. 2).

Обсуждение

Аденокарцинома пищевода развивается из ПБ, при котором нормальный многослойный плоский эпителий заменяется специализированной кишечной метаплазией в ответ на хронический рефлюкс в пищевод желудочной кислоты. У части людей ПБ может прогрессировать до дисплазии низкой и высокой степени (low-grade и high-grade) и в конечном итоге приводить к внутриэпителиальной, а затем инвазивной карциноме. Молекулярные исследования ПБ показали, что при кишечной метаплазии возникают изменения, которые также присутствуют в слизистой пищевода при дисплазии и в АП. Как ПБ, так и АП характеризуются потерей гетерозиготности, анеуплоидией, специфическими генетическими мутациями и клональным разнообразием.

Национальные рекомендации по текущему ведению ПБ в Великобритании и США советуют повторять эндоскопическое исследование через регулярные интервалы наблюдения [3, 13]. Динамический скрининг направлен на увеличение доли пациентов, у которых опухолевые образования выявляются на ранних стадиях (ВЭН или неинвазивной карциномы), чтобы можно было проводить эндоскопическое лечение. За прошедшие годы появились противоречивые данные о пользе скрининга. В исследовании, отражающем повседневную клиническую практику, эндоскопическое наблюдение не привело к значительному снижению риска смерти от АП [4].

С другой стороны, метаанализ 51 исследования, включающего более 11 000 пациентов, показал, что эндоскопическое наблюдение у больных с недиспластическим ПБ увеличивает вероятность раннего выявления опухоли и, следовательно, снижает риск смертности более чем на 61 % [5]. Эти данные были подтверждены результатами

проспективного многоцентрового когортного исследования из Нидерландов [14]. Таким образом, рекомендуется, чтобы у всех пациентов с ПБ целевые биопсии были взяты из участков видимых поражений, подозрительных на диспластические изменения слизистой оболочки, а также из четырех «случайных» фрагментов ткани с интервалами 2 см по всей протяженности сегмента ПБ – так называемый протокол Сиэтла [15].

Возможно, одним из наиболее важных вопросов при рассмотрении мониторинга пациентов является качество гистопатологического диагноза. В клинической практике выбор тактики лечения основан на субъективных оценках патоморфологов, которые могут иметь значительные расхождения в гистологическом диагнозе, особенно в отношении оценки степени дисплазии. Пока не будет разработан и утвержден более надежный инструмент диагностики, дополняющий морфологическое исследование, оценка должна проводиться двумя независимыми специалистами по патологии желудочно-кишечного тракта.

Прогрессирование ПБ в АП представляет собой патогенетический механизм, характеризующий процесс перехода в рак предшествующего патологического процесса. Геномные исследования ПБ показали, что это не просто метапластическая ткань, но что во многих случаях ПБ имеются соматические генетические изменения и почти при всех поражениях ПБ есть существенные эпигенетические изменения по сравнению с нормальной слизистой пищевода или кардии [16]. Анализ молекулярных изменений, отмеченных в процессе развития ПБ, был значительно улучшен благодаря значительному прогрессу в геномных технологиях, включая инструменты для изучения вариантов соматических мутаций, важные структурные изменения и эпигенетические изменения (метилирование ДНК, экспрессия миРНК) в раковых и предраковых клетках [17].

Одна из основных целей нашей работы состоит в оценке диагностической значимости миРНК в качестве потенциальных биомаркеров при скрининге изменений слизистой пищевода при кишечной метаплазии, для раннего выявления злокачественного поражения. Различные профили экспрессии миРНК для выявления РЖ определяют достаточно давно, однако результаты исследований нередко

противоречат друг другу, что мешает решить проблему ранней диагностики опухолей и предопуховых процессов с помощью профилирования мРНК [9].

Как было показано в нашем предыдущем исследовании, небольшой набор из 6 мРНК позволяет дифференцировать РЖ и дисплазию слизистой желудка в гистологических образцах [11]. Учитывая факт возможной трансформации кишечной метаплазии в ПБ в аденокарциному, основной задачей представленного исследования была попытка использовать разработанную нами панель из 6 мРНК для классификации образцов с кишечной метаплазией при ПБ, чтобы выявить потенциальные раки и предраковые состояния на молекулярном уровне. В результате исследования 26,7 % образцов ПБ были классифицированы с помощью экспрессии предложенного набора мРНК как рак, что может свидетельствовать о потенциальном развитии злокачественной опухоли в слизистой пищевода, когда морфологические изменения еще не найдены.

Клинический пример

Мужчина, 43 лет. Диагноз при поступлении: Кардиоэзофагеальный рак T_xN_xM₀ (I тип по Siewert). Из анамнеза известно, что в 2015 г. выявлена гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь, ПБ. При гистологическом исследовании биоптатов из нижней трети слизистой пищевода обнаружены: кишечная метаплазия, циркулярное поражение, дисплазия легкой степени тяжести. Выполнена радиочастотная абляция, через 1 мес повторена биопсия слизистой пищевода и проведена лапароскопическая фундопликация. В дальнейшем продолжено консервативное лечение препаратами из группы ингибиторов протонной помпы.

При контрольной ФГС в апреле 2019 г. выявлен участок дисплазии на фоне желудочной метаплазии слизистой нижней трети пищевода, признаки хронического рефлюкс-эзофагита, состояние после фундопликации, эритематозная гастропатия. Выполнена эндоскопическая резекция слизистой. Гистологический диагноз: высокодифференцированная аденокарцинома нижней трети пищевода. Заключение на основе анализа мРНК: рак. При дополнительном обследовании, включающем фиброколоноскопию, компьютерную томографию с контрастированием, общеклинические исследования, отдаленных метастазов не выявлено. Дальнейшая тактика лечения обсуждена на мультисциплинарном консилиуме, принято решение об оперативном лечении в объеме проксимальной резекции желудка с нижней третью пищевода и расширенной лимфодиссекцией, с последующим решением вопроса о необходимости адъювантной системной терапии по данным плановой гистологической проводки операционного материала.

Заключение

Эндоскопическое лечение влечет за собой резекцию слизистой оболочки любого видимого поражения с последующей абляцией всего сегмента ПБ, что может быть достигнуто с использованием нескольких методов, включая радиочастотную абляцию и аргонно-плазменную коагуляцию [18]. На основании рандомизированного контролируемого исследования пациентам с диагнозом ВЭН решение о проведении хирургического лечения должно быть подтверждено двумя независимыми патологами для исключения больных с доброкачественным процессом [19].

Учитывая высокую специфичность экспрессии мРНК для каждого вида ткани, включая опухолевую, данную диагностическую панель можно использовать в качестве онкомаркеров для идентификации раннего рака пищевода по результатам исследования биопсийного материала. Результаты применения классификатора из набора 7 мРНК (145, -150, -20a, -21, -31, -34a, -375) при исследовании образцов слизистой у пациентов с ПБ указывают на возможность их использования при дифференциальной диагностике опухолевых и предраковых изменений.

Данные, полученные в проведенном исследовании, позволяют высказать мнение, что кишечная метаплазия кардиоэзофагеальной зоны практически в каждом 4-м случае по молекулярному профилю соответствует раку желудка. Больным из этой группы показано более «агрессивное» лечение для предупреждения развития аденокарциномы. Дальнейшие исследования с увеличением выборки пациентов и расширением панели применяемых мРНК позволят предложить метод молекулярного анализа в качестве скрининга ПБ и, возможно, для более раннего выявления злокачественной трансформации слизистой оболочки в зоне кардиоэзофагеального перехода. Наличие профиля микроРНК, который будет соответствовать аденокарциноме пищевода, может рассматриваться в качестве показаний для эндоскопической резекции слизистой у больных с пищеводом Барретта.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Wani S., Drahos J., Cook M.B., Rastogi A., Bansal A., Yen R., Sharma P., Das A. Comparison of endoscopic therapies and surgical resection in patients with early esophageal cancer: a population-based study. *Gastrointest Endosc.* 2014 Feb; 79(2): 224–232.e1. doi: 10.1016/j.gie.2013.08.002.
2. Pech O., May A., Manner H., Behrens A., Pohl J., Weferling M., Hartmann U., Manner N., Huijsmans J., Gossner L., Rabenstein T., Vieth M., Stolte M., Ell C. Long-term efficacy and safety of endoscopic resection for patients with mucosal adenocarcinoma of the esophagus. *Gastroenterology.* 2014 Mar; 146(3): 652–660.e1. doi: 10.1053/j.gastro.2013.11.006.
3. Fitzgerald R.C., di Pietro M., Ragunath K., Ang Y., Kang J.Y., Watson P., Trudgill N., Patel P., Kaye P.V., Sanders S., O'Donovan M., Bird-Lieberman E., Bhandari P., Jankowski J.A., Attwood S., Parsons S.L., Loft D., Lagergren J., Moayyedi P., Lyratzopoulos G., de Caestecker J.; British Society of Gastroenterology. British Society of Gastroenterology guidelines on the diagnosis and management of Barrett's oesophagus. *Gut.* 2014 Jan; 63(1): 7–42. doi: 10.1136/gutjnl-2013-305372.
4. Corley D.A., Mehtani K., Quesenberry C., Zhao W., de Boer J., Weiss N.S. Impact of endoscopic surveillance on mortality from Barrett's esophagus-associated esophageal adenocarcinomas. *Gastroenterology.* 2013 Aug; 145(2): 312–9.e1. doi: 10.1053/j.gastro.2013.05.004.

5. Qiao Y, Hyder A, Bae S.J., Zarin W, O'Neill T.J., Marcon N.E., Stein L., Thein H.H. Surveillance in Patients With Barrett's Esophagus for Early Detection of Esophageal Adenocarcinoma: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Clin Transl Gastroenterol*. 2015 Dec 10; 6(12): e131. doi: 10.1038/ctg.2015.58.
6. Vennalaganti P., Kanakadandi V., Goldblum J.R., Mathur S.C., Patil D.T., Offerhaus G.J., Meijer S.L., Vieth M., Odze R.D., Shreyas S., Parasa S., Gupta N., Repici A., Bansal A., Mohammad T., Sharma P. Discordance Among Pathologists in the United States and Europe in Diagnosis of Low-Grade Dysplasia for Patients With Barrett's Esophagus. *Gastroenterology*. 2017 Feb; 152(3): 564–570.e4. doi: 10.1053/j.gastro.2016.10.041.
7. Di Leva G., Garofalo M., Croce C.M. MicroRNAs in cancer. *Annu Rev Pathol*. 2014; 9: 287–314. doi: 10.1146/annurev-pathol-012513-104715.
8. Pereira A.L., Magalhães L., Moreira F.C., Reis-das-Mercês L., Vidal A.F., Ribeiro-Dos-Santos A.M., Demachki S., Anaissi A.K.M., Burbano R.M.R., Albuquerque P., Dos Santos S.E.B., de Assumpção P.P., Ribeiro-Dos-Santos A.K.C. Epigenetic Field Cancerization in Gastric Cancer: microRNAs as Promising Biomarkers. *J Cancer*. 2019 Feb 26; 10(6): 1560–1569. doi: 10.7150/jca.27457.
9. Hwang J., Min B.H., Jang J., Kang S.Y., Bae H., Jang S.S., Kim J.I., Kim K.M. MicroRNA Expression Profiles in Gastric Carcinogenesis. *Sci Rep*. 2018 Sep 26; 8(1): 14393. doi: 10.1038/s41598-018-32782-8.
10. Titov S.E., Ivanov M.K., Karpinskaya E.V., Tsvilikova E.V., Shevchenko S.P., Varyaskina Y.A., Akhmerova L.G., Poloz T.L., Klimova O.A., Gulyaeva L.F., Zhimulev I.F., Kolesnikov N.N. miRNA profiling, detection of BRAF V600E mutation and RET-PTC1 translocation in patients from Novosibirsk oblast (Russia) with different types of thyroid tumors. *BMC Cancer*. 2016 Mar 9; 16: 201. doi: 10.1186/s12885-016-2240-2.
11. Титов С.Е., Анищенко В.В., Полоз Т.Л., Веряскина Ю.А., Архипова А.А., Устинов С.Н. Возможности дифференциальной диагностики рака желудка и предраковых изменений слизистой желудка с помощью анализа экспрессии шести микроРНК. Клиническая лабораторная диагностика. 2020; 65(2): 131–136. [Titov S.E., Anishchenko V.V., Poloz T.L., Varyaskina Yu.A., Arkhipova A.A., Ustinov S.N. Differential Diagnostics of Gastric Cancer and Precancerous Changes of the Gastric Mucosa Using Analysis of Expression of Six Micrornas. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2020; 65(2): 131–136. (in Russian)]. doi: 10.18821/0869-2084-2020-65-2-131-136.
12. Krzywinski M., Altman N.S. Classification and regression trees. *Nature Methods*. 2017; 14(8): 757–758. doi: 10.1038/nmeth.4370.
13. American Gastroenterological Association, Spechler S.J., Sharma P., Souza R.F., Inadomi J.M., Shaheen N.J. American Gastroenterological Association medical position statement on the management of Barrett's esophagus. *Gastroenterology*. 2011; 140(3): 1084–91. doi: 10.1053/j.gastro.2011.01.030.
14. Kastelein F., van Olphen S.H., Steyerberg E.W., Spaander M.C., Bruno M.J., ProBar-Study Group. Impact of surveillance for Barrett's esophagus on tumour stage and survival of patients with neoplastic progression. *Gut*. 2016 Apr; 65(4): 54854. doi: 10.1136/gutjnl-2014-308802.
15. Levine D.S., Blount P.L., Rudolph R.E., Reid B.J. Safety of a systematic endoscopic biopsy protocol in patients with Barrett's esophagus. *Am J Gastroenterol*. 2000; 95(5): 1152–7. doi: 10.1111/j.1572-0241.2000.02002.x.
16. Grady W.M., Yu M. Molecular Evolution of Metaplasia to Adenocarcinoma in the Esophagus. *Dig Dis Sci*. 2018 Aug; 63(8): 2059–69. doi: 10.1007/s10620-018-5090-8.
17. Contino G., Vaughan T.L., Whiteman D., Fitzgerald R.C. The Evolving Genomic Landscape of Barrett's Esophagus and Esophageal Adenocarcinoma. *Gastroenterology*. 2017; 153(3): 657–3.e1. doi: 10.1053/j.gastro.2017.07.007.
18. Haidry R.J., Dunn J.M., Butt M.A., Burnell M.G., Gupta A., Green S., Miah H., Smart H.L., Bhandari P., Smith L.A., Willert R., Fullarton G., Morris J., Di Pietro M., Gordon C., Penman I., Barr H., Patel P., Boger P., Kapoor N., Mahon B., Hoare J., Narayanasamy R., O'Toole D., Cheong E., Direkze N.C., Ang Y., Novelli M., Banks M.R., Lovat L.B. Radiofrequency ablation and endoscopic mucosal resection for dysplastic barrett's esophagus and early esophageal adenocarcinoma: outcomes of the UK National Halo RFA Registry. *Gastroenterology*. 2013 Jul; 145(1): 87–95. doi: 10.1053/j.gastro.2013.03.045.
19. Phoa K.N., van Vilsteren F.G., Weusten B.L., Bisschops R., Schoon E.J., Ragunath K., Fullarton G., Di Pietro M., Ravi N., Visser M., Offerhaus G.J., Seldenrijk C.A., Meijer S.L., ten Kate F.J., Tijssen J.G., Bergman J.J. Radiofrequency ablation vs endoscopic surveillance for patients with Barrett esophagus and low-grade dysplasia: a randomized clinical trial. *JAMA*. 2014 Mar 26; 311(12): 1209–17. doi: 10.1001/jama.2014.2511.

Поступила/Received 06.04.2020
Принята в печать/Accepted 28.05.2020

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Анищенко Владимир Владимирович, доктор медицинских наук, профессор, научный руководитель клиники хирургии АО медицинского центра Авиценна группы компаний «Мать и Дитя»; заведующий кафедрой хирургии факультета повышения квалификации и профессиональной переподготовки врачей, НГМУ (г. Новосибирск, Россия). E-mail: avv1110@yandex.ru. ORCID: 0000-0003-1178-5205.

Титов Сергей Евгеньевич, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории ПЦР, АО «Вектор-Бест»; старший научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики, ФГБУН «Институт молекулярной и клеточной биологии» СО РАН; инженер лаборатории структурной, функциональной и сравнительной геномики, НГУ (г. Новосибирск, Россия). SPIN-код: 4924-8365. ORCID: 0000-0001-9401-5737. Research ID (WOS): O-5808-2015. Author ID (Scopus): 57159107200.

Полоз Татьяна Львовна, доктор медицинских наук, заведующая цитологической лабораторией, ЧУЗ «Клиническая больница» РЖД-Медицина (г. Новосибирск, Россия). ORCID: 0000-0003-4006-7560.

Веряскина Юлия Андреевна, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики, ФГБУН «Институт молекулярной и клеточной биологии» СО РАН (г. Новосибирск, Россия). SPIN-код: 7989-6099. ORCID: 0000-0002-3799-9407. Research ID (WOS): N-7020-2015. Author ID (Scopus): 57160188400.

Архипова Анна Александровна, кандидат медицинских наук, заведующая эндоскопическим отделением, ГБУ ЗНО «Городская клиническая больница № 2» (г. Новосибирск, Россия). ORCID: 0000-0001-5653-2960.

Бубнов Иван Валерьевич, врач эндоскопического отделения, АО медицинского центра Авиценна группы компаний «Мать и Дитя» (г. Новосибирск, Россия). ORCID: 0000-0001-7828-2878.

ВКЛАД АВТОРОВ

Анищенко Владимир Владимирович: разработка концепции научной работы, составление черновика рукописи, критический пересмотр рукописи.

Титов Сергей Евгеньевич: разработка концепции научной работы, составление черновика рукописи, молекулярно-генетический анализ гистологического материала, статистическая обработка данных.

Полоз Татьяна Львовна: разработка концепции научной работы, составление черновика рукописи, морфологический анализ материала, редактирование текста.

Веряскина Юлия Андреевна: обработка и анализ гистологического материала, статистическая обработка данных.

Архипова Анна Александровна: сбор, обработка и молекулярно-генетический анализ клинического материала.

Бубнов Иван Валерьевич: сбор, обработка и анализ клинического материала.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Vladimir V. Anishchenko, MD, DSc, Professor, Head of Scientific Department AO Medical Centre Avicenna, group of companies «Mother and Child», Head of the Postgraduate Education Faculty Surgery Department, Novosibirsk State Medical University (Novosibirsk, Russia). ORCID: 0000-0003-1178-5205

Sergey E. Titov, PhD, Senior Researcher of the Laboratory of PCR, AO Vector-Best (Koltsovo, Russia); Senior Assistant of the Laboratory of Molecular Genetics, Institute of Molecular and Cell Biology SB RAS (Novosibirsk, Russia). ORCID: 0000-0001-9401-5737. Research ID (WOS): O-5808-2015. Author ID (Scopus): 57159107200.

Tatiana L. Poloz, MD, DSc, Head of Cytological Laboratory, Private Healthcare Institution «Clinical Hospital «RZD-Medicine» (Novosibirsk, Russia). ORCID: 0000-0003-4006-7560.

Yuliya A. Veryaskina, PhD, Researcher of the Laboratory of Gene Engineering, Institute of Cytology and Genetics SB RAS; Researcher of the Laboratory of Molecular Genetics, Institute of Molecular and Cell Biology SB RAS (Novosibirsk, Russia). ORCID: 0000-0002-3799-9407. Research ID (WOS): N-7020-2015. Author ID (Scopus): 57160188400.

Anna A. Arkhipova, MD, PhD, Head of Endoscopy Department, State Public Health Service of the Novosibirsk Region «City Clinical Hospital № 2» (Novosibirsk, Russia). ORCID: 0000-0001-5653-2960.

Ivan V. Bubnov, MD, Endoscopy Department AO Medical Centre Avicenna, group of companies «Mother and Child» (Novosibirsk, Russia). ORCID: 0000-0001-7828-2878.

AUTHOR CONTRIBUTION

Vladimir V. Anishchenko: study design, drafting of the manuscript, critical review of the manuscript.

Sergey E. Titov: study design, drafting of the manuscript, molecular-genetic analysis of histologic samples, statistical data analysis.

Tatiana L. Poloz: study design, drafting of the manuscript, morphological analysis, editing of the manuscript.

Yuliya A. Veryaskina: processing and molecular-genetic analysis of histologic samples, statistical data analysis.

Anna A. Arkhipova: collection, processing and analysis of clinical data.

Ivan V. Bubnov: collection, processing and analysis of clinical data.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

Для цитирования: Павлов М.В., Рыхтик П.И., Ильинская О.Е., Субочев П.В., Крейнина Ю.М., Масленникова А.В. Изучение динамики опухолевого кровотока для оценки раннего ответа рака молочной железы на неоадъювантную химиотерапию. Сибирский онкологический журнал. 2020; 19(6): 46–56. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-6-46-56.

For citation: Pavlov M.V., Rykhtik P.I., Ilyinskaya O.E., Subochev P.V., Kreinina Yu.M., Maslennikova A.V. Study of changes in tumor blood flow for the assessment of early response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer patients. Siberian Journal of Oncology. 2020; 19(6): 46–56. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-6-46-56.

ИЗУЧЕНИЕ ДИНАМИКИ ОПУХОЛЕВОГО КРОВОТОКА ДЛЯ ОЦЕНКИ РАННЕГО ОТВЕТА РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ НА НЕОАДЪЮВАНТНУЮ ХИМИОТЕРАПИЮ

М.В. Павлов^{1,5}, П.И. Рыхтик², О.Е. Ильинская¹, П.В. Субочев³,
Ю.М. Крейнина⁴, А.В. Масленникова⁵

ГБУЗ НО «Нижегородский областной клинический онкологический диспансер»,
г. Нижний Новгород, Россия¹

Россия, 603126, г. Нижний Новгород, ул. Деловая, 11/1.

E-mail: pavlov.med88@gmail.com¹

ФБУЗ «Приволжский окружной медицинский центр» ФМБА России,

г. Нижний Новгород, Россия²

Россия, 603001, г. Нижний Новгород, Нижневолжская набережная, 2²

ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт прикладной физики

Российской академии наук», г. Нижний Новгород, Россия³

Россия, 603950, г. Нижний Новгород, ул. Ульянова, 46³

ФГБУ «Российский научный центр рентгенодиагностики» Минздрава России,

г. Нижний Новгород, Россия⁴

Россия, 117997, г. Москва, ул. Профсоюзная, 86/2⁴

ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России,

г. Нижний Новгород, Россия⁵

Россия, 603950, г. Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1⁵

Аннотация

Введение. В течение последних 20 лет произошло изменение подходов к лечению рака молочной железы, в частности существенное повышение роли лекарственной терапии. Ответ на неоадъювантную химиотерапию рассматривается в настоящее время как суррогатный биомаркер, который позволяет оценить течение и прогноз заболевания. Для решения данной задачи необходимо проводить оценку функциональных и метаболических изменений опухолевой ткани в процессе лечения. Ультразвуковая доплерография – это неинвазивный, доступный и недорогой метод визуализации, который можно безопасно использовать для повторных измерений. **Цель исследования** – изучение динамики васкуляризации опухоли ультразвуковым методом в режиме энергетического доплера для оценки раннего ответа рака молочной железы на неоадъювантную химиотерапию. **Материал и методы.** Исследование проводилось на базе ФБУЗ ПОМЦ ФМБА России с мая 2017 по август 2019 г. В исследование были включены 63 больных раком молочной железы, которым проводилась неоадъювантная химиотерапия. Оценка кровотока опухоли с использованием доплеровского сканирования проводилась до начала и перед вторым курсом неоадъювантной химиотерапии. Изменения кровоснабжения опухоли на фоне химиотерапии сопоставлялись с патоморфологическим ответом опухоли после оперативного лечения.

Результаты. В подавляющем большинстве случаев (78 %) наблюдалось не зависящее от степени лечебного патоморфоза уменьшение количества опухолевых сосудов после первого курса химиотерапии. В 8 случаях повышения васкуляризации после первого курса неоадъювантной химиотерапии при гистологическом исследовании удаленной опухоли наблюдалось отсутствие ответа/слабый ответ на лечение при отсутствии перитуморального воспаления, в 5 случаях – резкое увеличение количества сосудов вокруг обширных зон интранодулярного некроза и обусловленного им перитуморального воспаления. В целом сопоставление динамики васкуляризации опухоли и патоморфологического ответа выявило слабую, хотя и статистически значимую отрицательную корреляцию между изменениями кровоснабжения опухоли на фоне химиотерапии и степенью лечебного патоморфоза. **Выводы.** Не удалось установить однозначной зависимости между реакцией сосудистого русла и ответом опухоли на

цитостатическое воздействие. Повышение количества опухолевых сосудов при отсутствии перитуморального воспаления оказалось единственной ситуацией, когда изменения опухолевого кровотока на фоне проведения химиотерапии могут быть однозначно интерпретированы как предиктивный критерий отсутствия/слабого ответа опухоли на лечение.

Ключевые слова: рак молочной железы, ультразвуковая диагностика, энергетический доплер, неoadъювантная химиотерапия, ранний ответ опухоли на лечение, кровоснабжение опухоли.

STUDY OF CHANGES IN TUMOR BLOOD FLOW FOR THE ASSESSMENT OF EARLY RESPONSE TO NEOADJUVANT CHEMOTHERAPY IN BREAST CANCER PATIENTS

M.V. Pavlov^{1,5}, P.I. Rykhtik², O.E. Ilyinskaya¹, P.V. Subochev³, Yu.M. Kreinina⁴,
A.V. Maslennikova⁵

Nizhny Novgorod Regional Clinical Oncology Dispensary, Nizhny Novgorod, Russia¹

11/1, Delovaya Street, 603126-Nizhny Novgorod, Russia,

E-mail: pavlov.med88@gmail.com¹

Volga Region Medical Center, Nizhny Novgorod, Russia²

2, Lower Volga Embankment, 603001-Nizhny Novgorod, Russia²

Institute of Applied Physics RAS, Nizhny Novgorod, Russia³

46, Ulyanov Street, 603950-Nizhny Novgorod, Russia³

Russian Scientific Center of Roentgenoradiology, Nizhny Novgorod, Russia⁴

86, Profsoyuznaya Street, 117997-Moscow, Russia⁴

Privolzhsky Research Medical University, Nizhny Novgorod, Russia⁵

10/1, Minina Square, 603950-Nizhny Novgorod, Russia⁵

Abstract

Background. Over the past 20 years, there has been a change in approaches to the treatment of breast cancer, in particular, a significant increase in the role of drug therapy. Breast cancer response to neoadjuvant chemotherapy is currently considered as a surrogate biomarker, which allows evaluation of the clinical course and prognosis of the disease. To solve this problem, it is necessary to assess the functional and metabolic changes in tumor tissue during treatment. Doppler ultrasound is a non-invasive, affordable, and low-cost imaging technique that can be safely used for repeated measurements. **The purpose of the study** was to study vascular changes in the tumor by power Doppler ultrasound for the evaluation of the early breast cancer response to neoadjuvant chemotherapy. **Material and Methods.** From May 2017 to August 2019, 63 patients with breast cancer received neoadjuvant chemotherapy. Changes in the tumor blood flow were assessed before starting the treatment and prior to the second course of neoadjuvant chemotherapy using Doppler scanning. Changes in tumor blood flow after chemotherapy were compared with the pathological tumor response after surgical treatment. **Results.** In the vast majority of cases (78 %), there was a decrease in the number of tumor vessels after the first cycle of neoadjuvant chemotherapy independent of the grade of pathological response. In 8 cases with increased vascularization after the first cycle of neoadjuvant chemotherapy, histological examination of the removed tumor showed no response / weak response to treatment in the absence of peritumoral inflammation. In 5 cases, a sharp increase in the number of vessels around large areas of intranodular necrosis and peritumoral inflammation was observed. In general, a comparison of changes in tumor vascularization and pathological response revealed a weak, although statistically significant, negative correlation between changes in the tumor blood flow after neoadjuvant chemotherapy and pathological response. **Conclusion.** It was not possible to establish an unambiguous relationship between the reaction of the vascular bed and the tumor response to the cytostatic effect. An increase in the number of tumor vessels in the absence of peritumoral inflammation was the only situation when changes in tumor blood flow during chemotherapy can be unambiguously interpreted as a predictive criterion for the absence / weak response of the tumor to treatment.

Key words: breast cancer, ultrasound diagnostics, energy Doppler, neoadjuvant chemotherapy, early tumor response to treatment, tumor blood supply.

Введение

Рак молочной железы (РМЖ) занимает первое место среди онкологических заболеваний у женщин, а также является главной причиной смертности женщин от злокачественных опухолей [1]. В течение последних 20 лет произошло изменение подходов к лечению РМЖ, в частности существенное повышение роли лекарственной терапии [2, 3]. Неоадьювантная химиотерапия (НАХТ) изначально рассматривалась как метод «снижения стадии» местнораспространенных новообразований перед оперативным вмешательством [4], однако в последние годы показания к ее применению существенно расширились [5]. Ответ РМЖ на неоадьювантную химиотерапию рассматривается в настоящее время как суррогатный биомаркер, который позволяет оценить течение и прогноз заболевания [6]. Наилучшим показателем эффективности лечения, влияющим на общую и безрецидивную выживаемость, является полный ответ опухоли (pCR), определяемый как отсутствие жизнеспособных опухолевых клеток в молочной железе и регионарных лимфатических узлах [5, 7]. К сожалению, этот результат достигается не более чем у 13–33 % больных в зависимости от степени злокачественности, иммунофенотипа опухоли и схемы противоопухолевой терапии [4, 8]. У части больных предоперационная химиотерапия вообще не оказывает противоопухолевого эффекта, о чем свидетельствует отсутствие признаков лечебного патоморфоза [9–12]. В случае нечувствительности новообразования к химиотерапии встает проблема отсрочки оперативного вмешательства, развития токсических эффектов и высокой стоимости неэффективного, по сути, лечения [12]. С этой точки зрения актуальной является разработка методов, позволяющих прогнозировать ответ опухоли на лекарственную терапию в короткие сроки после ее начала. Стандартная на сегодняшний день оценка изменений новообразования по критериям RECIST имеет существенные ограничения, поскольку структурная визуализация отражает только изменения размеров опухоли, но не ее биологическую активность [13–15].

Для решения данной задачи необходимо проводить оценку функциональных и метаболических изменений опухолевой ткани в процессе лечения [16]. Одним из маркеров таких изменений может быть изменение кровоснабжения [17]. Существуют данные, что гибель опухолевой ткани в результате воздействия цитотоксических агентов может оказывать влияние на опухолевый неангиогенез [18, 19]. Для определения перфузии сосудов опухоли в настоящее время применяются такие методы, как ПЭТ, МРТ и КТ с динамическим контрастным усилением, маммоцитинграфия, УЗИ с контрастным усилением [15, 20–23], которые требуют введения контрастных веществ, использования радиофармацевтических препаратов и являются

относительно дорогостоящими для повторного использования. Для сравнения, ультразвуковая доплерография – это неинвазивный, более доступный и менее затратный метод визуализации, который можно безопасно использовать для повторных измерений. Проведены исследования эффективности ультразвуковой доплерографии в качестве метода диагностики РМЖ [24, 25]. С целью ранней оценки ответа опухоли на лечение изучалась роль таких параметров доплерографии, как максимальная скорость кровотока (V_{max}), пульсационный индекс (PI), индекс резистентности (RI) и изменения количества регистрируемых сосудов [26–28]. Уменьшение числа регистрируемых сосудов оказалось единственным независимым фактором, отражающим ответ опухоли на лечение. Авторы оценивали динамику параметров опухолевого кровотока уже после трех курсов НАХТ или перед проведением оперативного лечения, что не могло выявить раннюю реакцию новообразования на проводимую терапию.

Целью исследования явилось изучение динамики опухолевого кровотока ультразвуковым методом в режиме энергетического доплера для оценки раннего ответа РМЖ на неоадьювантную химиотерапию.

Материал и методы

Исследование было проведено на базе Приволжского окружного медицинского центра (г. Нижний Новгород) на основании разрешения Локального этического комитета. Критериями включения в исследование были гистологически подтвержденный рак молочной железы II–IV стадии; подписанное информированное согласие; планирование НАХТ в комплексном лечении рака молочной железы; удовлетворительное общее состояние (статус по ECOG 0–1). Критериями исключения были опухоли, прорастающие кожу, и возраст пациенток менее 18 лет. С мая 2017 г. по август 2019 г. изучение результатов неоадьювантной химиотерапии в рамках клинического протокола полностью закончили 63 пациентки (таблица).

До лечения всем пациенткам проводилось обследование в соответствии с клиническими рекомендациями Европейского общества медицинской онкологии (ESMO) [29], которое включало маммографию, УЗИ молочных желез и периферических лимфоузлов, биопсию опухоли с определением рецепторного статуса, HER2neu статуса и индекса пролиферации. Оценка кровотока опухоли с использованием доплеровского сканирования проводилась до НАХТ и перед 2-м курсом химиотерапии. После завершения НАХТ пациенткам проводилось оперативное вмешательство с последующим патоморфологическим исследованием опухоли и оценкой ответа опухоли на лечение. В соответствии с результатами гистологического исследования пациентки были разделены на 5 групп,

Таблица/Table

Общая характеристика пациенток, включенных в исследование
General characteristics of the patients included into the study

Параметр/Parameters		Число пациенток/ Number of patients
Возраст/ Age	<40	17 (27 %)
	41–50	19 (30 %)
	51–60	15 (24 %)
	>61	12 (19 %)
Стадия/ Stage	IIa	15 (24 %)
	IIb	26 (41 %)
	IIIa	10 (16 %)
	IIIb	8 (12 %)
	IIIc	3 (5 %)
	IV	1 (2 %)
Состояние регионарных лимфоузлов/ Regional lymph node status	N0	20 (32 %)
	N+	43 (68 %)
Иммунофенотип/ Immunophenotype	Люминальный A/Luminal A	10 (16 %)
	Люминальный B, HER2отрицательный/ Luminal B, HER2 negative	15 (24 %)
	Люминальный B, HER2положительный/ Luminal B, HER2 positive	7 (11 %)
	HER2neu положительный/ HER2neu positive	11 (17 %)
	Трипл-негативный/ Triple negative	20 (32 %)
Схема химиотерапии/ Chemotherapy regimen	Содержащие антрациклины/ Containing anthracyclines	22 (35 %)
	Содержащие антрациклины и таксаны/ Containing anthracyclines and taxane	23 (37 %)
	Содержащие антрациклины и трастузумаб/ Containing anthracyclines and trastuzumab	18 (28 %)
Итого/Total		63 (100 %)

соответствующих степени лечебного патоморфоза (ЛП), которая определялась по классификации I.D. Miller, S. Payne [30]. Для более точного сопоставления динамики кровоснабжения опухоли с патоморфологическим ответом опухоли была проведена морфометрия остаточной опухолевой ткани с оценкой числа жизнеспособных злокачественных клеток.

Для оценки состояния кровотока опухоли молочной железы была разработана оригинальная методика ультразвукового исследования. Сканирование зоны интереса проводилось на аппарате «Medison Accuvix-V20» (Samsung, Корея) с использованием 5,0–13,0 МГц мультисекторного линейного датчика в режиме энергетического доплера с шагом 5 мм во взаимно перпендикулярных плоскостях. Центр опухоли сопоставлялся с центром трафарета из прозрачного полимерного материала с точечными отверстиями в виде сетки через каждые 5 мм, через которые маркером на коже отмечались точки. По ним после удаления трафарета в режиме энергетического доплера с заданным размером окна интереса проводилось последовательное сканирование всей опухоли во взаимно перпендикулярных плоскостях. При этом

если размер опухоли был менее 4 см, то достаточное число сканов составляло 18 (9 в сагиттальной и 9 в аксиальной плоскости). В случае опухолей размером более 4 см с помощью трафарета можно добавить количество точек, необходимое для сканирования всего объема опухолевой ткани. С помощью программы «Matlab» в каждой плоскости определялось отношение числа окрашенных пикселей (соответствующих сосудам) к общему числу пикселей на изображении. Таким образом обрабатывались все изображения и рассчитывалась средняя величина для всех изображений, полученных при сканировании всей опухоли (индекс васкуляризации). Васкуляризация оценивалась до начала лечения и перед вторым курсом НАХТ. Затем определялась разница индекса васкуляризации до и после первого курса НАХТ в процентах (Δ индекса васкуляризации) [31]. Данный показатель принимался в качестве параметра, который сопоставлялся с патоморфологическим ответом опухоли на лечение.

Корреляционный анализ между изменениями васкуляризации опухоли после начала химиотерапии (Δ индекса васкуляризации (%)) и патологическим ответом опухоли был выполнен в программе

GraphPad Prism (Graphpad Software Inc., La Jolla, CA, USA). Облако корреляции было создано и линейно аппроксимировано ранговым коэффициентом корреляции Спирмена, чтобы подтвердить гипотезу соответствия между этими показателями и ответом опухоли. Значение $p < 0,05$ было принято в качестве статистически значимого.

Результаты

У подавляющего большинства пациенток после первого курса химиотерапии наблюдалось снижение или незначительное повышение опухолевого кровотока (рис. 1). Однако у 5 больных с различной степенью патоморфоза опухолевой ткани было выявлено существенное (не менее 50 %) увеличение количества опухолевых сосудов (рис. 1). У этих пациенток наблюдался тройной негативный (n=3) или люминальный В HER2neu позитивный (n=2) иммунофенотип РМЖ, а опухоли по данным УЗИ в В-режиме содержали обширные зоны некроза, что было подтверждено гистологическим исследованием. Динамика васкуляризации одной из этих пациенток представлена в клиническом примере № 1. Мы предположили, что увеличение размера опухоли и количества опухолевых сосудов в данной группе больных связано не с ответом опухоли на лекарственное лечение, а с возникновением выраженного перитуморального воспаления в области некроза, в связи с чем данные о динамике кровотока опухолей этих пациенток не были включены в дальнейший анализ.

Клинический пример № 1

Пациентка С., 49 лет, получала неоадьювантную химиотерапию (схема АС) по поводу рака правой молочной железы (неспецифицированная инфильтрирующая карцинома G3, трипл-негативный иммунофенотип) Па стадии (T2N0M0). По данным УЗИ перед неоадьювантной химиотерапией определялся опухолевый узел с нечетким контуром, размером 36×35 мм, с признаками некроза в центре и скудным кровотоком по периферии (рис. 2А). При морфологическом исследовании (core-биопсия) выявлены обширные пласты некротической ткани со структурами инвазивного рака молочной железы и явлениями краш-синдрома (рис. 2Г (верхнее изображение)). По данным УЗИ после начала химиотерапии отмечено увеличение размера опухоли до 42×40 мм, значительное увеличение центральной зоны некроза и появление отека в перинодулярной области (рис. 2А). Отмечалось увеличение площади сосудов в исследуемой области на 54 %. Кровоток регистрировался в основном по периферии опухоли и в перинодулярной области (рис. 2Б). После 4 курсов НАХТ выполнена радикальная мастэктомия по Маддену. При морфологическом исследовании операционного материала – ЛПП III степени по Miller and Pain с наличием обширной области некроза, занимающего центральную часть опухоли (рис. 2Г, нижнее изображение).

У 50 (78 %) из 58 пациенток, включенных в дальнейший анализ, после 1-го курса НАХТ наблюдалось различной степени выраженности

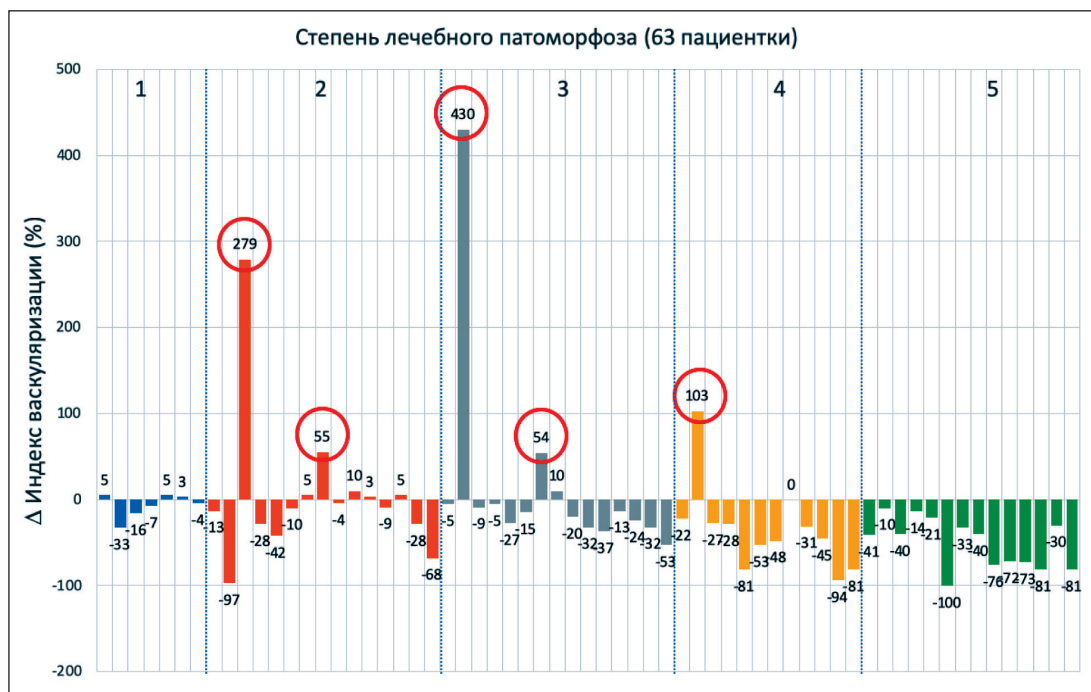


Рис. 1. Динамика кровоснабжения опухоли до начала химиотерапии и перед вторым курсом НАХТ в зависимости от степени лечебного патоморфоза (n=63). Красным кругом отмечены пациентки с некротическими изменениями опухоли

Fig. 1. Changes in tumor blood flow before chemotherapy and before the second cycle of NACT, depending on the grade of pathological tumor response (n=63). Red circle marks patients with necrotic changes in the tumor

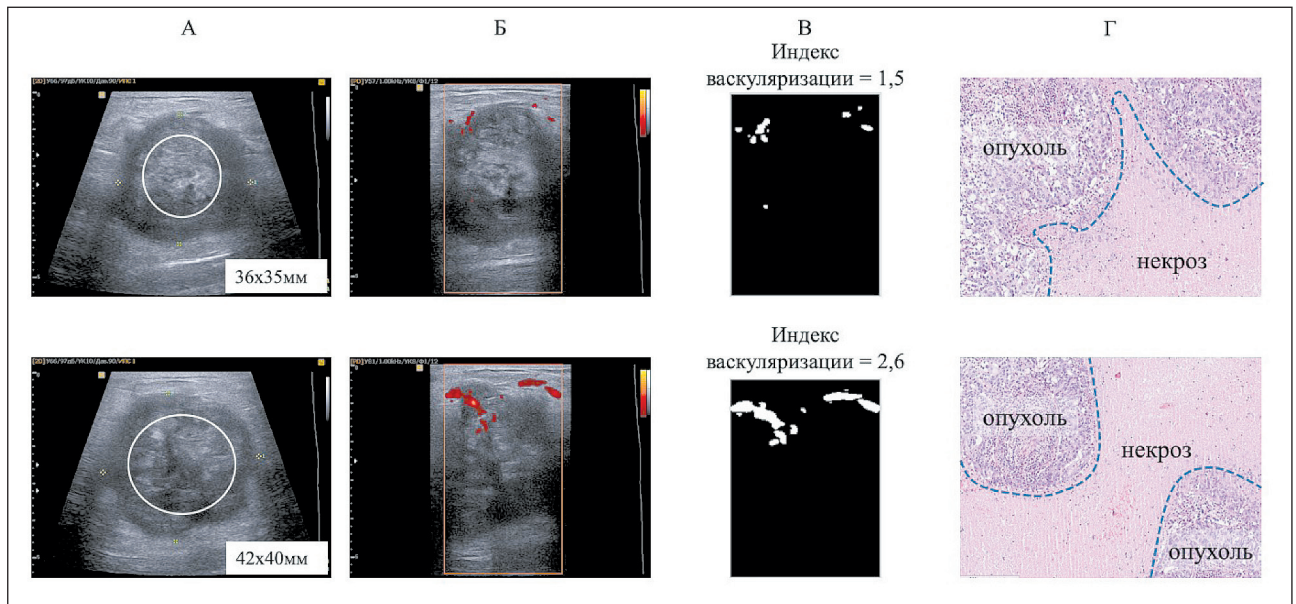


Рис. 2. Динамика кровоснабжения опухоли. Верхний ряд – результаты до НАХТ, нижний ряд – после 1-го курса НАХТ (А, Б, В) и после завершения НАХТ (Г): А – УЗИ в В-режиме, область некроза отмечена белым овалом; Б – УЗИ в режиме энергетического доплера; В – численная обработка изображения в программе «Matlab»; Г – микрофото: верхнее изображение – core-биопсия, нижнее изображение – послеоперационный материал, окраска гематоксилином и эозином, $\times 50$

Fig. 2. Changes in tumor blood floor. Upper row – results before NACT, lower row – after the 1st cycle of NACT (A, B, C) and after completion of NACT (D): A – ultrasound scan, B-mode, the necrosis zone is indicated by a white oval; B – image of ultrasound (energy Doppler mode); C – numerical image processing in the Matlab program; D – histological samples, hematoxylin-eosin staining, $\times 50$

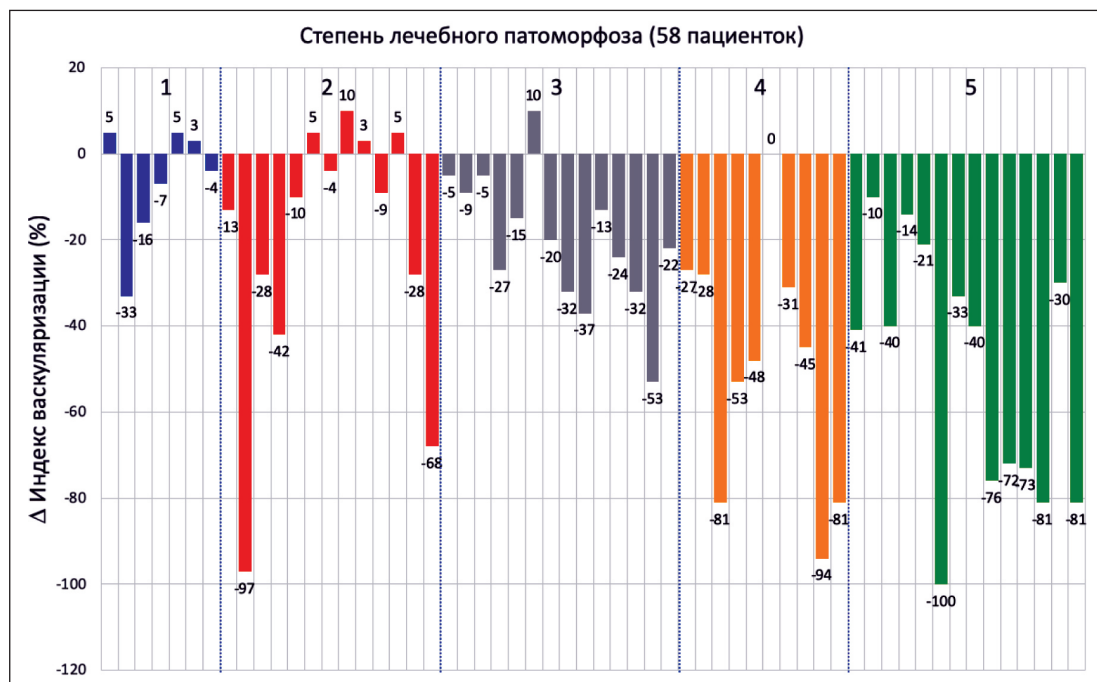


Рис. 3. Динамика кровоснабжения опухоли до начала химиотерапии и перед 2-м курсом НАХТ в зависимости от степени лечебного патоморфоза (n=58)

Fig. 3. Changes in tumor blood floor before chemotherapy and before the second cycle of NACT, depending on the grade of pathological tumor response (n=58)

уменьшение количества опухолевых сосудов (рис. 3). Динамика васкуляризации в данной группе представлена в клиническом примере № 2.

Клинический пример № 2

Больная В., 50 лет. Диагноз: рак правой молочной железы (неспецифицированная инфи-

трирующая карцинома G2) IIa стадии (T2N0M0), немутуальный HER2неи позитивный иммунофенотип (рецепторы эстрогена 0 баллов, рецепторы прогестерона 0 баллов, Ki67 55%). По данным УЗИ до неoadъювантной химиотерапии в молочной железе определялся опухолевый узел с неровным

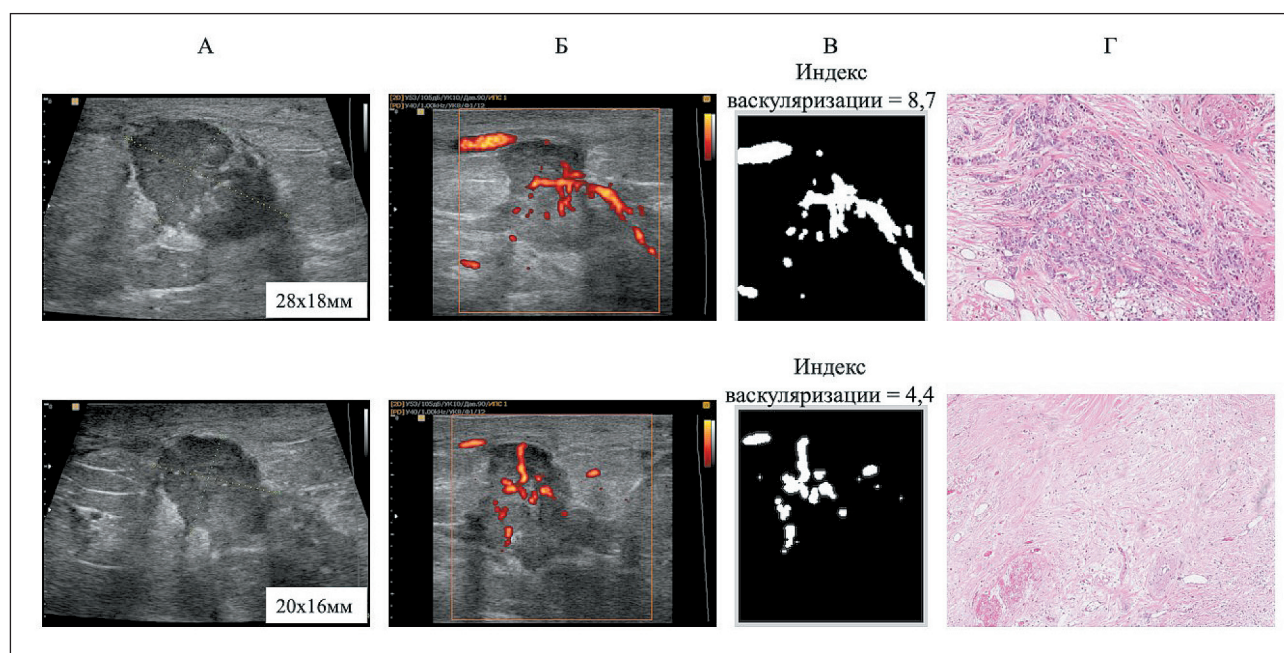


Рис. 4. Динамика кровоснабжения опухоли. Верхний ряд – результаты до НАХТ, нижний ряд – после 1-го курса НАХТ (А, Б, В) и после завершения НАХТ (Г): А – УЗИ в В-режиме; Б – УЗИ в режиме энергетического доплера; В – численная обработка изображения в программе «Matlab»; Г – микрофото: верхнее изображение – core-биопсия, нижнее изображение – послеоперационный материал, окраска гематоксилином и эозином, $\times 50$

Fig. 4. Changes in tumor blood floor. Upper row – results before NACT, lower row – after the 1st cycle of NACT (A, B, C) and after completion of NACT (D):

A – ultrasound scan, B-mode; B – image of ultrasound (energy Doppler mode); C – numerical image processing in the Matlab program; D – histological samples, hematoxylin-eosin staining, $\times 50$

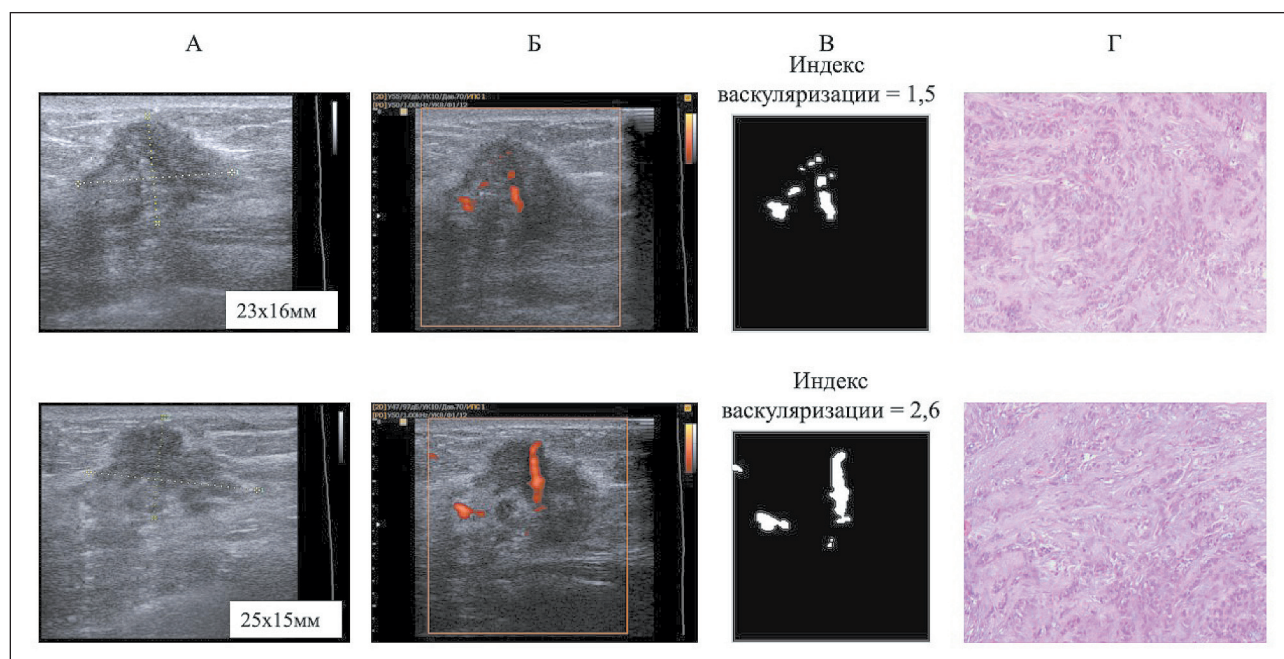


Рис. 5. Динамика кровоснабжения опухоли. Верхний ряд – результаты до НАХТ, нижний ряд – после 1-го курса НАХТ (А, Б, В) и после завершения НАХТ (Г): А – УЗИ в В-режиме; Б – УЗИ в режиме энергетического доплера; В – численная обработка изображения в программе «Matlab»; Г – микрофото: верхнее изображение – core-биопсия, нижнее изображение – послеоперационный материал, окраска гематоксилином и эозином, $\times 50$.

Fig. 5. Changes in tumor blood floor. Upper row – results before NACT, lower row – after the 1st cycle of NACT (A, B, C) and after completion of NACT (D):

A – ultrasound scan, B-mode; B – image of ultrasound (energy Doppler mode); C – numerical image processing in the Matlab program; D – histological samples, hematoxylin-eosin staining, $\times 50$

нечетким контуром, размером 28×18 мм (рис. 4А). При морфологическом исследовании выявлена инвазивная протоковая карцинома (рис. 4Г, верхнее изображение). Исходный уровень васкуляризации – 7,3 %. Пациентке назначена неоадъювантная химиотерапия (схема CAF + трастузумаб). После первого курса НАХТ выявлено уменьшение размера опухоли до 20×16 мм (рис. 4А) и снижение опухолевого кровотока на 21 % по сравнению с исходным (рис. 4Б, В). Морфологическое исследование после 6 курсов НАХТ и оперативного лечения не выявило жизнеспособных клеток, что соответствует ЛП V степени (рис. 4Г, нижнее изображение).

Как известно, нелюминальный HER2neu позитивный РМЖ очень чувствителен к лекарственному лечению с применением таргетной терапии. Частота полных патоморфологических регрессий в данной группе может быть достигнута у 45–55 % пациенток [5]. В представленном клиническом примере уменьшение количества опухолевых сосудов отразило ответ опухоли на химиотерапию уже на раннем этапе лечения.

У 8 пациенток мы отметили увеличение количества опухолевых сосудов после первого курса НАХТ (рис. 4), которое наблюдалось в случае ЛП I или II степени (отсутствие ответа/сокращение числа опухолевых клеток после НАХТ до 30 %, клинический пример № 3).

Клинический пример № 3

Больная Е., 42 года. Диагноз: рак левой молочной железы (неспецифицированная инфильтрирующая карцинома G2) Ib стадия (T2N1M0), люминальный В HER2neu негативный рак (рецепторы эстрогена 8 баллов, рецепторы прогестерона 0 баллов, Ki67 40 %) При УЗИ до неоадъювантной химиотерапии определялся опухолевый узел с нечетким контуром, размером 23×16 мм (рис. 5А). При морфологическом исследовании выявлена инвазивная протоковая карцинома (рис. 5Г, верхнее изображение). Исходный уровень васкуляризации – 4,5 %. Пациентке назначена неоадъювантная химиотерапия (схема CAF). После первого курса НАХТ размеры опухоли не изменились (рис. 5А). Опухолевый кровоток по сравнению с исходным увеличился на 3 % (рис. 5Б, В). Морфологическое исследование после 6 курсов НАХТ и радикальной мастэктомии по Маддену выявило ЛП I степени (рис. 5Г, нижнее изображение).

В случае люминального HER2neu негативного РМЖ полная патоморфологическая регрессия достигается в 6–9 % [5]. Ввиду отсутствия молекулярной мишени для таргетной терапии крайне важной задачей остается выявление на самом раннем этапе отсутствия ответа на лечение у пациенток из данной группы. Представленный клинический пример продемонстрировал возможность УЗИ в режиме энергетического доплера предсказать отсутствие эффекта на лечение уже после первого курса НАХТ.

Обсуждение

Рациональное использование НАХТ при раке молочной железы требует как можно более ранней объективной оценки эффективности проводимого лечения [32]. Предполагается, что изменение кровоснабжения опухоли под влиянием лекарственного лечения может быть таким диагностическим критерием. В ряде исследований сообщалось, что увеличение кровоснабжения опухоли в процессе НАХТ является независимым прогностическим показателем плохого ответа на лечение при РМЖ. В нашем исследовании для оценки предиктивного значения изменений состояния сосудистого русла был разработан стандартизированный подход к сканированию опухоли и окружающих тканей, а также проведена компьютерная обработка изображений, что сделало оценку более точной и объективной. Анализ результатов показал, что в подавляющем большинстве случаев (78 %) наблюдается не зависящее от степени лечебного патоморфоза уменьшение количества опухолевых сосудов после первого курса НАХТ. Исключением является ситуация, когда в ответ на лечение возникало резкое увеличение числа опухолевых сосудов, что отмечено у 5 пациенток с различной степенью лечебного патоморфоза. После анализа ультразвуковых изображений в В-режиме и оценки данных послеоперационного гистологического исследования установлено, что данная сосудистая реакция была связана с наличием интранодулярного некроза и ассоциированного с ним перинодулярного воспаления. Такие особенности злокачественного роста характерны для наиболее агрессивных вариантов РМЖ [33]. Мы полагаем, что в случае интранодулярного некроза, выявленного при УЗИ в В-режиме, интерпретация изменений опухолевого кровотока может быть значительно затруднена и требует применения альтернативных методов. Кроме того, данный метод неинформативен при малых размерах опухоли (менее 10 мм) и отсутствии регистрируемых интранодулярных и перинодулярных сосудов до начала и после первого курса НАХТ.

У остальных пациенток в подавляющем большинстве случаев наблюдалось различной степени снижение васкуляризации вне зависимости от степени лечебного патоморфоза. При этом во всех 8 случаях повышения опухолевого кровотока после первого курса НАХТ при морфологическом исследовании операционного материала наблюдалось отсутствие ответа/слабый ответ на лечение. Сопоставление динамики васкуляризации и патоморфологического ответа выявило слабую, хотя и статистически значимую, отрицательную корреляцию между изменениями кровоснабжения опухоли на фоне химиотерапии и степенью ЛП ($r = -0,53$; $p < 0,01$) (рис. 6).

Полученные результаты позволяют сделать вывод, что химиотерапия оказывает раннее влияние на сосудистое русло опухоли после начала

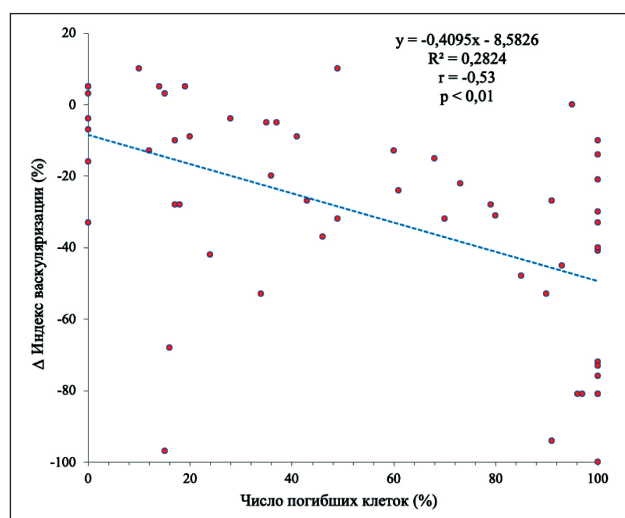


Рис. 6. Корреляция между ответом опухоли (число погибших клеток после завершения химиотерапии) и Δ индекса васкуляризации (%) после первого курса НАХТ

Fig. 6. The correlation between the tumor response (the number of dead cells after completion of chemotherapy) and the Δ vascularization index (%) after the first cycle of NACT

лечения, однако нам не удалось установить однозначной зависимости между реакцией сосудистого русла и патоморфологическим ответом опухоли. Повышение количества опухолевых сосудов при отсутствии перитуморального воспаления оказалось единственной ситуацией, когда изменения опухолевого кровотока на фоне химиотерапии могут быть однозначно интерпретированы как

предиктивный критерий отсутствия/слабого ответа опухоли на лечение, однако такая информация была получена только в 14 % случаев.

Закключение

Ультразвуковой метод в режиме энергетического доплера в качестве метода ранней оценки ответа опухоли на химиотерапию оказался малоинформативным за исключением случаев увеличения количества сосудов после первого курса НАХТ, что указывает на нечувствительность опухоли к лечению. Наше исследование не подтвердило результаты ряда исследований [26–28], в которых утверждается, что УЗИ в режиме энергетического доплера является оптимальным методом для оценки ответа РМЖ на химиотерапию. Кроме того, при УЗИ невозможно оценить состояние микроциркуляторного русла РМЖ, поскольку метод не позволяет получить информацию о сосудах диаметром менее 100 мкм [34]. Для решения данной задачи необходимо использовать более высоко-разрешающие методы. В своем руководстве по методам визуализации рака молочной железы Уве Фишер, глава первого европейского медицинского центра женского здоровья, утверждал, что «вопрос о роли цветного доплеровского картирования в диагностике заболеваний молочной железы, вероятно, останется без ответа навсегда» [35]. Возможно, этот вывод актуален и для роли метода в ранней оценке эффективности предоперационной химиотерапии при раке молочной железы.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. World health organization [Internet]. URL: <http://www.who.int/en/> (cited 07.03.2020).
2. Fisher B. Laboratory and clinical research in breast cancer--a personal adventure: the David A. Karnofsky memorial lecture. *Cancer Res.* 1980 Nov; 40(11): 3863–74.
3. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG), Peto R., Davies C., Godwin J., Gray R., Pan H.C., Clarke M., Cutter D., Darby S., McGale P., Taylor C., Wang Y.C., Bergh J., Di Leo A., Albain K., Swain S., Piccart M., Pritchard K. Comparisons between different polychemotherapy regimens for early breast cancer: meta-analyses of long-term outcome among 100,000 women in 123 randomised trials. *Lancet.* 2012; 379(9814): 432–44. doi: 10.1016/S0140-6736(11)61625-5.
4. Waljee J.F., Newman L.A. Neoadjuvant systemic therapy and the surgical management of breast cancer. *Surg Clin North Am.* 2007 Apr; 87(2): 399–415. ix. doi: 10.1016/j.suc.2007.02.004.
5. Cortazar P., Zhang L., Untch M., Mehta K., Costantino J.P., Wolmark N., Bonnefoi H., Cameron D., Gianni L., Valagussa P., Swain S.M., Prowell T., Loibl S., Wickerham D.L., Bogaerts J., Baselga J., Perou C., Blumenthal G., Blohmer J., Mamounas E.P., Bergh J., Semiglazov V., Justice R., Eidtmann H., Paik S., Piccart M., Sridhara R., Fasching P.A., Slaets L., Tang S., Gerber B., Geyer C.E.Jr., Pazdur R., Ditsch N., Rastogi P., Eiermann W., von Minckwitz G. Pathological complete response and long-term clinical benefit in breast cancer: the CTNeoBC pooled analysis. *Lancet.* 2014 Jul; 384(9938): 164–72. doi: 10.1016/S0140-6736(13)62422-8.
6. Gradishar W.J., Anderson B.O., Balassanian R., Blair S.L., Burstein H.J., Cyr A., Elias A.D., Farrar W.B., Forero A., Giordano S.H., Goetz M.P., Goldstein L.J., Isakoff S.J., Lyons J., Marcom P.K., Mayer I.A., McCormick B., Moran M.S., O'Regan R.M., Patel S.A., Pierce L.J., Reed E.C., Salerno K.E., Schwartzberg L.S., Sitapati A., Smith K.L., Smith M.L., Soliman H., Somlo G., Telli M.L., Ward J.H., Kumar R., Shead D.A. Breast Cancer, Version 4.2017, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Natl Compr Canc Netw.* 2018 Mar; 16(3): 310–320. doi: 10.6004/jncn.2018.0012.

7. von Minckwitz G., Untch M., Blohmer J.U., Costa S.D., Eidtmann H., Fasching P.A., Gerber B., Eiermann W., Hilfrich J., Huober J., Jackisch C., Kaufmann M., Konecny G.E., Denkert C., Nekjudova V., Mehta K., Loibl S. Definition and impact of pathologic complete response on prognosis after neoadjuvant chemotherapy in various intrinsic breast cancer subtypes. *J Clin Oncol.* 2012 May 20; 30(15): 1796–804. doi: 10.1200/JCO.2011.38.8595.
8. Imai H., Kuroi K., Ohsumi S., Ono M., Shimozuma K. Economic evaluation of the prevention and treatment of breast cancer--present status and open issues. *Breast Cancer.* 2007; 14(1): 81–7. doi: 10.2325/jbcs.14.81.
9. Gonzalez-Angulo A.M., Morales-Vasquez F., Hortobagyi G.N. Overview of resistance to systemic therapy in patients with breast cancer. *Adv Exp Med Biol.* 2007; 608: 1–22. doi: 10.1007/978-0-387-74039-3_1.
10. Balmativila D., Marchiò C., Maule M., Chiusa L., Annaratone L., Maletta F., Montemurro F., Kulka J., Figueiredo P., Varga Z., Liepniece-Karele I., Cserni G., Arkoumani E., Amendoeira I., Callagy G., Reiner-Concin A., Cordoba A., Bianchi S., Decker T., Gläser D., Focke C., van Diept P., Grabau D., Lips E., Wesseling J., Arisio R., Medico E., Wells C., Sapino A. Pathological non-response to chemotherapy in a neoadjuvant setting of breast cancer: an inter-institutional study. *Breast Cancer Res Treat.* 2014 Dec; 148(3): 511–23. doi: 10.1007/s10549-014-3192-3.
11. Ono M., Tsuda H., Shimizu C., Yamamoto S., Shibata T., Yamamoto H., Hirata T., Yonemori K., Ando M., Tamura K., Katsumata N., Kinoshita T., Takiguchi Y., Tanzawa H., Fujiwara Y. Tumor-infiltrating lymphocytes are correlated with response to neoadjuvant chemotherapy in triple-negative breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2012; 132(3): 793–805. doi: 10.1007/s10549-011-1554-7.
12. Schaafsma B.E., van de Giessen M., Charehbili A., Smit V.T., Kroep J.R., Lelieveldt B.P., Liefers G.J., Chan A., Löwik C.W., Dijkstra J., van de Velde C.J., Wasser M.N., Vahrmeijer A.L. Optical mammography using diffuse optical spectroscopy for monitoring tumor response to neoadjuvant chemotherapy in women with locally advanced breast cancer. *Clin Cancer Res.* 2015 Feb 1; 21(3): 577–84. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-14-0736.

13. Therasse P., Arbuck S.G., Eisenhauer E.A., Wanders J., Kaplan R.S., Rubinstein L., Verweij J., Van Glabbeke M., van Oosterom A.T., Christian M.C., Gwyther S.G. New guidelines to evaluate the response to treatment in solid tumors. European Organization for Research and Treatment of Cancer, National Cancer Institute of the United States, National Cancer Institute of Canada. *J Natl Cancer Inst.* 2000; 92(3): 205–16. doi: 10.1093/jnci/92.3.205.
14. Wang J., Wu N., Cham M.D., Song Y. Tumor response in patients with advanced non-small cell lung cancer: perfusion CT evaluation of chemotherapy and radiation therapy. *AJR.* 2009; 193(4): 1090–6. doi: 10.2214/AJR.08.1367.
15. Wang J.W., Zheng W., Liu J.B., Chen Y., Cao L.H., Luo R.Z., Li A.H., Zhou J.H. Assessment of early tumor response to cytotoxic chemotherapy with dynamic contrast-enhanced ultrasound in human breast cancer xenografts. *PLoS One.* 2013; 8(3): e58274. doi: 10.1371/journal.pone.0058274.
16. Marcus C.D., Ladam-Marcus V., Cucu C., Bouché O., Lucas L., Hoeffel C. Imaging techniques to evaluate the response to treatment in oncology: current standards and perspectives. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2009 Dec; 72(3): 217–38. doi: 10.1016/j.critrevonc.2008.07.012.
17. Cosgrove D., Lassau N. Imaging of perfusion using ultrasound. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2010; 37 Suppl 1: S65–85. doi: 10.1007/s00259-010-1537-7.
18. Shaked Y., Ciarrocchi A., Franco M., Lee C.R., Man S., Cheung A.M., Hicklin D., Chaplin D., Foster F.S., Benze R., Kerbel R.S. Therapy-induced acute recruitment of circulating endothelial progenitor cells to tumors. *Science.* 2006 Sep 22; 313(5794): 1785–7. doi: 10.1126/science.1127592.
19. Marmé D., Fusenig N. Tumor Angiogenesis. Springer, 2008. 829 p.
20. Koolen B.B., Pengel K.E., Wesseling J., Vogel W.V., Vrancken Peeters M.J., Vincent A.D., Gilhuijs K.G., Rodenhuis S., Rutgers E.J., Valdés Olmos R.A. Sequential (18)F-FDG PET/CT for early prediction of complete pathological response in breast and axilla during neoadjuvant chemotherapy. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2014 Jan; 41(1): 32–40. doi: 10.1007/s00259-013-2515-7.
21. Sharma A., Sharma S., Sood S., Seam R.K., Sharma M., Fotedar V. DCE-MRI and parametric imaging in monitoring response to neoadjuvant chemotherapy in breast carcinoma: a preliminary report. *Pol J Radiol.* 2018 May 18; 83: e220e228. doi: 10.5114/pjr.2018.76271.
22. Bellomi M., Petralia G., Sonzogni A., Zampino M.G., Rocca A. CT perfusion for the monitoring of neoadjuvant chemotherapy and radiation therapy in rectal carcinoma: initial experience. *Radiology.* 2007 Aug; 244(2): 486–93. doi: 10.1148/radiol.2442061189.
23. Mankoff D.A., Dunnwald L.K., Gralow J.R., Ellis G.K., Drucker M.J., Livingston R.B. Monitoring the response of patients with locally advanced breast carcinoma to neoadjuvant chemotherapy using [technetium 99m]-sestamibi scintimammography. *Cancer.* 1999 Jun 1; 85(11): 2410–23.
24. Бусько Е.А., Семглазов В.В., Мищенко А.В., Шишова А.С., Смирнова В.О., Костромина Е.В., Черная А.В., Артемьева А.С., Криворотко П.В. Возможности ультразвукового цветового доплерографического картирования в ранней диагностике рака молочной железы. *Сибирский онкологический журнал.* 2019; 18(6): 12–19. [Busko E.A., Semiglavov V.V., Mishchenko A.V., Shishova A.S., Smirnova V.O., Kostromina E.V., Chernaya A.V., Artemieva A.S., Kryvorotko P.V. Diagnostic value of ultrasound color doppler mapping in early detection of breast cancer. *Siberian Journal of Oncology.* 2019; 18(6): 12–19. (in Russian)]. doi: 10.21294/1814-4861-2019-18-6-12-19.
25. Watanabe T., Kaoku S., Yamaguchi T., Izumori A., Konno S., Okuno T., Tsunoda H., Ban K., Hirokaga K., Sawada T., Ito T., Nakatani S., Yasuda H., Tsuruoka M., Ueno E., Tohno E., Umemoto T., Shirakawa T. Multicenter Prospective Study of Color Doppler Ultrasound for Breast Masses: Utility of Our Color Doppler Method. *Ultrasound Med Biol.* 2019 Jun; 45(6): 1367–1379. doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2019.01.021.
26. Singh S., Pradhan S., Shukla R.C., Ansari M.A., Kumar A. Color Doppler ultrasound as an objective assessment tool for chemotherapeutic response in advanced breast cancer. *Breast Cancer.* 2005; 12(1): 45–51. doi: 10.2325/jbcs.12.45.
27. Kumar A., Singh S., Pradhan S., Shukla R.C., Ansari M.A., Singh T.B., Shyam R., Gupta S. Doppler ultrasound scoring to predict chemotherapeutic response in advanced breast cancer. *World J Surg Oncol.* 2007; 5: 99. doi: 10.1186/1477-7819-5-99.
28. Singh G., Kumar P., Parshad R., Seith A., Thulkar S., Hosten N. Role of color Doppler indices in predicting disease-free survival of breast cancer patients during neoadjuvant chemotherapy. *Eur J Radiol.* 2010 Aug; 75(2): e158–62. doi: 10.1016/j.ejrad.2009.12.027.
29. Тюляндин С.А., Носов Д.А., Переводчикова Н.И. Минимальные клинические рекомендации Европейского общества медицинской онкологии (ESMO). Медицинский алфавит. 2014; 3–4(18): 59–65. [Tyulandin S.A., Nosov D.A., Perevodchikova N.I. Minimum Clinical Guidelines of the European Society for Medical Oncology (ESMO). *Medical Alphabet.* 2014; 3–4(18): 59–65. (in Russian)].
30. Ogston K.N., Miller I.D., Payne S., Hutcheon A.W., Sarkar T.K., Smith I., Schofield A., Heys S.D. A new histological grading system to assess response of breast cancers to primary chemotherapy: prognostic significance and survival. *Breast.* 2003 Oct; 12(5): 320–7. doi: 10.1016/s0960-9776(03)00106-1.
31. Pavlov M.V., Kalganova T.I., Lyubimtseva Y.S., Plekhanov V.I., Golubyatnikov G.Y., Ilyinskaya O.Y., Orlova A.G., Subochev P.V., Safonov D.V., Shakhova N.M., Maslennikova A.V. Multimodal approach in assessment of the response of breast cancer to neoadjuvant chemotherapy. *J Biomed Opt.* 2018 May; 23(9): 1–11. doi: 10.1117/1.JBO.23.9.091410.
32. Fiorentino C., Berruti A., Bottini A., Bodini M., Brizzi M.P., Brunelli A., Marini U., Allevi G., Aguggini S., Tira A., Alquati P., Olivetti L., Dogliotti L. Accuracy of mammography and echography versus clinical palpation in the assessment of response to primary chemotherapy in breast cancer patients with operable disease. *Breast Cancer Res Treat.* 2001 Sep; 69(2): 143–51. doi: 10.1023/a:1012277325168.
33. Livasy C.A., Karaca G., Nanda R., Tretiakova M.S., Olopade O.I., Moore D.T., Perou C.M. Phenotypic evaluation of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma. *Mod Pathol.* 2006; 19(2): 264–71. doi: 10.1038/modpathol.3800528.
34. Kiessling F., Huppert J., Palmowski M. Functional and molecular ultrasound imaging: concepts and contrast agents. *Curr Med Chem.* 2009; 16(5): 627–42. doi: 10.2174/092986709787458470.
35. Фишер У., Баум Ф. Маммография: 100 клинических случаев. М., 2009. 125 с. [Fisher W., Baum F. *Mammography: 100 clinical cases.* Moscow, 2009. 125 p. (in Russian)].

Поступила/Received 07.03.2020
Принята в печать/Accepted 14.09.2020

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Павлов Михаил Викторович, онколог, ГБУЗ НО «Нижегородский областной клинический онкологический диспансер» (г. Нижний Новгород, Россия). E-mail: Pavlov.med88@gmail.com. SPIN-код: 5342-3978. Author ID (Scopus): 57193805010.

Рыхтик Павел Иванович, кандидат медицинских наук, заведующий отделом лучевой диагностики, ФБУЗ «Приволжский окружной медицинский центр» ФМБА России (г. Нижний Новгород, Россия). Author ID (Scopus): 55164736000.

Ильинская Ольга Евгеньевна, заведующая патологоанатомическим отделением, ГБУЗ НО «Нижегородский областной клинический онкологический диспансер» (г. Нижний Новгород, Россия). SPIN-код: 2870-6177.

Субочев Павел Владимирович, кандидат физико-математических наук, старший научный сотрудник, ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт прикладной физики Российской академии наук» (г. Нижний Новгород, Россия). SPIN-код: 6178-7859. Researcher ID (WOS): E-4918-2014. Author ID (Scopus): 12241506200.

Крейнина Юлия Михайловна, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник, ФГБУ «Российский научный центр рентгенодиагностики» МЗ РФ (г. Нижний Новгород, Россия). SPIN-код: 3270-7053. Author ID (Scopus): 7801460523. ORCID: 0000-0002-7229-594.

Масленикова Анна Владимировна, доктор медицинских наук, профессор, ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России (г. Нижний Новгород, Россия). SPIN-код: 7511-8393. Researcher ID (WOS): S-2734-2016. Author ID (Scopus): 9841297600. ORCID: 0000-0003-0434-4372.

ВКЛАД АВТОРОВ

Павлов Михаил Викторович: набор клинического материала, анализ полученных данных, написание статьи.

Рыхтик Павел Иванович: набор клинического материала, анализ полученных данных, написание статьи.

Ильинская Ольга Евгеньевна: набор и обработка материала, написание статьи.

Субочев Павел Владимирович: разработка алгоритма обработки ультразвуковых изображений, анализ полученных данных, статистическая обработка, написание статьи.

Крейнина Юлия Михайловна: критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Масленникова Анна Владимировна: систематизация и статистическая обработка полученных результатов, анализ полученных данных.

Финансирование

Грант РФФИ 18-42-520041 «Комплексная оценка ответа рака молочной железы на цитостатическое воздействие на основе информации об оптических и механических свойствах опухоли.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности

Авторы благодарят А.Г. Орлову за полезные обсуждения.

ABOUT THE AUTHORS

Mikhail V. Pavlov, MD, Oncologist, Regional Clinical Oncology Dispensary (Nizhny Novgorod, Russia). E-mail: Pavlov.med88@gmail.com. Author ID (Scopus): 57193805010.

Pavel I. Rykhtik, MD, PhD, Head of Diagnostic Imaging Department . Volga Region Medical Center (Nizhny Novgorod, Russia). Author ID (Scopus): 55164736000.

Olga E. Ilyinskaya, MD, Head of the Department of Pathology, Nizhny Novgorod Regional Clinical Oncology Dispensary (Nizhny Novgorod, Russia).

Pavel V. Subochev, PhD, Senior Researcher, Institute of Applied Physics RAS (Nizhny Novgorod, Russia). Researcher ID (WOS): E-4918-2014. Author ID (Scopus): 12241506200.

Yulia M. Kreinina, MD, DSc, Leading Researcher, Russian Scientific Center of Roentgenoradiology (Nizhny Novgorod, Russia). Author ID (Scopus): 7801460523. ORCID: 0000-0002-7229-594.

Anna V. Maslennikova, MD, PhD, DSc, Professor, Privolzhsky Research Medical University (Nizhny Novgorod, Russia). Researcher ID (WOS): S-2734-2016. Author ID (Scopus): 9841297600. ORCID: 0000-0003-0434-4372.

AUTHOR CONTRIBUTION

Mikhail V. Pavlov: data collection and analysis, drafting of the manuscript.

Pavel I. Rykhtik: data collection and analysis, drafting of the manuscript.

Olga E. Ilyinskaya: collection and analysis, drafting of the manuscript.

Pavel V. Subochev: development of ultrasound imaging algorithms, data analysis, drafting of the manuscript.

Yulia M. Kreinina: critical review for important intellectual content.

Anna V. Maslennikova: data systematization and statistical processing, data analysis.

Funding

RFBR grant No 18-42-520041 «The complex assessment of the response of breast cancer to cytostatic effects based on information about the optical and mechanical properties of the tumor».

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

Acknowledgments

The authors thank A.G. Orlova for useful discussions.

DOI: 10.21294/1814-4861-2020-19-6-57-65
УДК: 618.19-006.6-092.18-033.2-076-036:616.15

Для цитирования: *Кайгородова Е.В., Тарабановская Н.А., Суркова П.В., Зельчан Р.В., Гарбуков Е.Ю.* Наличие в крови различных популяций циркулирующих опухолевых клеток у больных раком молочной железы до лечения: связь с пятилетней безметастатической выживаемостью. Сибирский онкологический журнал. 2020; 19(6): 57–65. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-6-57-65.

For citation: *Kaigorodova E.V., Tarabanovskaya N.A., Surkova P.V., Zelchan R.V., Garbukov E.Yu.* The presence of various populations of circulating tumor cells in the blood of breast cancer patients before treatment: association with five-year metastasis-free survival. Siberian Journal of Oncology. 2020; 19(6): 57–65. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-6-57-65.

THE PRESENCE OF VARIOUS POPULATIONS OF CIRCULATING TUMOR CELLS IN THE BLOOD OF BREAST CANCER PATIENTS BEFORE TREATMENT: ASSOCIATION WITH FIVE-YEAR METASTASIS-FREE SURVIVAL

**E.V. Kaigorodova^{1,2}, N.A. Tarabanovskaya¹, P.V. Surkova¹, R.V. Zelchan¹,
E.Yu. Garbukov¹**

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center,
Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia¹
5, Kooperativny Street, 634050-Tomsk, Russia. E-mail: zlobinae@mail.ru¹
Siberian State Medical University, Tomsk, Russia²
2, Moskovsky Trakt, 634050-Tomsk, Russia²

Abstract

Localized and metastatic tumors are known to lead to the formation of circulating tumor cell (CTC) clusters in the blood. Currently, there is a heightened interest in the study of molecular and biological characteristics of CTCs. Recent studies have shown the presence of different populations of CTCs in the blood of cancer patients. Some cells are cancer stem cells, some tumor cells undergo epithelial-mesenchymal transition (EMT), and most CTCs do not have features of either stem cells or EMT. **The aim of the study** was to evaluate the five-year metastasis-free survival rate in patients with invasive breast carcinoma, depending on the presence of various populations of circulating tumor cells in the blood before treatment. **Material and Methods.** A prospective study included 47 patients with newly diagnosed invasive breast cancer (T1–4N0–3M0), who were treated at Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center. The patients aged 31 to 69 years. The presence of different populations of CTCs in the blood of patients before treatment was determined by multicolor flow cytometry on the BD FACS Canto system, using different fluorochrome-labeled monoclonal antibodies to EpCam, CD45, CD44, CD24, and N-cadherin. Five-year metastasis-free survival was evaluated by the Kaplan–Meier method. The differences were considered significant at $p < 0.05$. **Results.** The results obtained demonstrated that the presence of both stem-like and non-stem CTCs showing signs of EMT with Epcam+CD45-CD44-CD24-Ncadherin+, Epcam+CD45-CD44+CD24-Ncadherin+, and Epcam(m)-CD45-CD44+CD24-Ncadherin+ phenotypes in the blood of breast cancer patients before treatment reduced the five-year metastasis-free survival rate ($p = 0.0016$, $p = 0.017$ and $p = 0.011$, respectively). **Conclusion.** Thus, CTCs in the EMT state are informative for liquid biopsy to assess the risk of hematogenous metastasis and can be considered as targets for selection of personalized chemotherapy.

Key words: breast cancer, CTC heterogeneity, five-year metastasis-free survival, circulating cancer stem cells, epithelial-mesenchymal transition, liquid biopsy.

НАЛИЧИЕ В КРОВИ РАЗЛИЧНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК У БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ДО ЛЕЧЕНИЯ: СВЯЗЬ С ПЯТИЛЕТНЕЙ БЕЗМЕТАСТАТИЧЕСКОЙ ВЫЖИВАЕМОСТЬЮ

Е.В. Кайгородова^{1,2}, Н.А. Тарабановская¹, П.В. Суркова¹, Р.В. Зельчан¹,
Е.Ю. Гарбуков¹

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия¹
Россия, 634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5. E-mail: zlobinae@mail.ru¹
ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, г. Томск, Россия²
Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2²

Аннотация

Локализованные и метастатические опухоли приводят к образованию циркулирующих опухолевых клеток, которые обнаруживаются в крови. В настоящее время отмечен повышенный интерес к изучению молекулярно-биологических характеристик циркулирующих опухолевых клеток. Недавние исследования показали наличие различных популяций циркулирующих опухолевых клеток в крови у онкологических больных. Часть клеток являются стволовыми опухолевыми клетками, часть опухолевых клеток находятся в состоянии EMT (epithelial-mesenchymal transition), и большая часть циркулирующих опухолевых клеток не имеют признаков стволовости и EMT. **Целью исследования** явилась оценка пятилетней безметастатической выживаемости у больных с инвазивной карциномой молочной железы в зависимости от наличия различных популяций циркулирующих опухолевых клеток в крови до начала лечения. **Материал и методы.** В проспективное исследование включено 47 больных с впервые диагностированным инвазивным раком молочной железы T1–4N0–3M0 стадии, в возрасте от 31 до 69 лет, поступивших на лечение в НИИ онкологии, Томский НИМЦ. В крови больных до начала лечения с помощью меченных различными флуорохромами моноклональных антител к EpCam, CD45, CD44, CD24 и N-Cadherin определяли наличие различных популяций ЦОК методом многоцветной проточной цитометрии на аппарате BD FACSCanto. Пятилетнюю безметастатическую выживаемость оценивали методом Каплана–Мейера. Различия считались достоверными при уровне значимости $p < 0,05$. **Результаты.** Полученные результаты показали, что наличие циркулирующих опухолевых клеток с признаками EMT как стволовых, так и нестволовых с фенотипами EpCam+CD45-CD44-CD24-Ncadherin+, EpCam+CD45-CD44+CD24-Ncadherin+ и EpCam(m)-CD45-CD44+CD24-Ncadherin+ в крови у больных РМЖ до лечения снижает пятилетнюю безметастатическую выживаемость. **Заключение.** Таким образом, циркулирующие опухолевые клетки с признаками EMT являются информативным объектом для жидкостной биопсии с целью оценки риска гематогенного метастазирования и могут рассматриваться как мишени для подбора персонализированной химиотерапии.

Ключевые слова: рак молочной железы, гетерогенность ЦОК, пятилетняя безметастатическая выживаемость, циркулирующие стволовые опухолевые клетки, эпителиально-мезенхимальный переход, жидкостная биопсия.

Introduction

Breast cancer (BC) is the most common cancer in women (20.9 %) and is the leading cause of cancer-related death (17.0 %) in women. Approximately 60,000 new cases of breast cancer are diagnosed annually, with approximately 23,000 deaths from it [1].

Hematogenous metastasis is the major cause of cancer mortality. Currently, it is believed that circulating tumor cells (CTCs) are a population of tumor cells that enter the bloodstream. It has been shown that even localized tumors without clinical evidence of metastases are sources of CTCs [2]. However, CTCs are a rare population of cells. The number of

CTCs in 1L of blood (erythrocytes – 10^{12} ; granulocytes – 10^9 – 10^{10} ; lymphocytes – 10^9 , etc.) is 1 – 10^7 cells. Besides, CTCs are quite heterogeneous in size and density, which creates great difficulties for their complete isolation [3]. Not more than 0.01 % of all CTCs initiate metastases [4].

Today, there is a heightened interest in studying the molecular and biological characteristics of circulating tumor cells. CTCs are a heterogeneous population: some cells are cancer stem cells, some of them undergo epithelial-mesenchymal transition (EMT), and most CTCs do not have features of either stem cells or EMT [5–7].

Circulating cancer stem cells may have specific features that allow them to survive in the bloodstream and cause metastatic lesions. Cancer stem cell populations have a number of molecular markers, which include antigens CD44, CD24, CD133, CD166, the ALDH1 enzyme (aldehyde dehydrogenase 1), ABC transport proteins (ABCG2, ABCB5), and the epithelial cell adhesion molecule (EpCam) [8–11].

In 2003, M. Al-Hajj et al., using breast cancer as an example, for the first time proved the existence of cancer stem cells in solid tumors. They showed that only cells with a specific phenotype – CD44 + CD24-/low Epcam + – were able to induce human breast cancer in immunodeficient mice models. It should be noted that the tumor developed with the introduction of only 200 such cells, while the introduction of even several tens of thousands of breast cancer cells without this phenotype did not induce tumor development [12].

The aim of this study was to evaluate five-year metastasis-free survival in patients with invasive breast carcinoma, depending on the presence of various populations of circulating tumor cells in the blood before treatment.

Material and Methods

A prospective study included 47 patients with newly diagnosed invasive breast cancer (T1–4N0–3M0), who were treated at the Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center between 2013 and 2016. The patients aged 31 to 69 years. Venous blood in a volume of 5 ml taken before treatment was the material of the study. The study was approved by the local Ethics Committee of Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center (protocol No 2, 14.02.2014).

Different populations of CTCs were evaluated by flow cytometry on the BD FACS Canto system (Becton, Dickinson and Company (BD), USA) using BD FACSDiva and NovoExpress software:

(CTC1 – Epcam+CD45-CD44-CD24-Ncadherin-;

CTC2 – Epcam+CD45-CD44-CD24-Ncadherin+;

CTC3 – Epcam+CD45-CD44+CD24-Ncadherin+;

CTC4 – Epcam+CD45-CD44+CD24-Ncadherin-;

CTC5 – Epcam (m)-CD45-CD44+CD24-Ncadherin-;

CTC6 – Epcam (m)-CD45-CD44+CD24-Ncadherin+).

For this procedure, venous blood was incubated with different fluorochrome-labeled monoclonal antibodies to CD45 (clone HI30, APC/Cy7) (Biolegend, USA), EpCAM (clone 9C4, PE) (Biolegend, USA), CD44 (clone BJ18, FITC) (Biolegend, USA), CD24 (clone ML5, PE/Cy7) (Biolegend, USA), and N-cadherin (clone 8C11, PerCP/Cy5.5) (Biolegend,

USA). Then erythrocytes were lysed in a lysis solution (BD FACS lysing solution) and washed twice with the CellWash buffer. The cell pellet was resuspended in 1 ml BD Flow buffer. All samples were stored in the dark at 4 °C and analyzed using flow cytometry within 1 hour. To exclude autofluorescence, unstained samples were used.

The data obtained were processed using the Statistica 10.0 software package (StatSoft Inc., USA). The significance of differences was assessed using Pearson's χ^2 test and Fisher's exact test. The five-year metastasis-free survival rate was assessed by the Kaplan-Meier method and Log-rank (Mantel-Cox) test. The differences were considered significant at $p < 0.05$.

Results

The presence of CTCs (CTC1 and/or CTC2-CTC6) in the blood of breast cancer patients before treatment was observed in 77 % of cases (36/47), while 23 % (11/47) of breast cancer patients were CTC-negative. In the group of patients with CTCs, hematogenous metastases were detected in 17 % (8/47) of cases; no evidence of hematogenous metastases were found in 60 % of cases. In the group of CTC-negative patients, no hematogenous metastases were observed.

Division of CTCs into 6 phenotypes (CTC1 – Epcam+CD45-CD44-CD24-Ncadherin-; CTC2 – Epcam+CD45-CD44-CD24-Ncadherin+; CTC3 – Epcam+CD45-CD44+CD24-Ncadherin+; CTC4 – Epcam+CD45-CD44+CD24-Ncadherin-; CTC5 – Epcam (m)-CD45-CD44+CD24-Ncadherin-; CTC6 – Epcam (m)-CD45-CD44+CD24-Ncadherin+) showed that CTCs without stemness and EMT features (CTC1) were observed in 51 % of cases. In the group of breast cancer patients with hematogenous metastases, the frequency of presence and absence of CTC1 was statistically insignificant (Fig. 1).

Non-stem CTCs showing signs of EMT (CTC2) were observed in 38% of cases. We observed CTC2 significantly more often in the group of patients with hematogenous metastases ($p < 0.05$) (Fig. 2). Stem-like CTCs showing signs of EMT (CTC3) were observed in 32 % of patients with breast cancer. In the group of patients with hematogenous metastases of breast cancer, CTC3 population was found in 5 of 8 patients. In 3 of 8 patients, no CTC3 cells were detected (Fig. 3). Stem-like CTCs showing no signs of EMT (CTC4) were detected in 43 % of patients. In the group of patients with hematogenous metastases, the frequency of presence and absence of CTC4 was statistically insignificant (Fig. 4).

Stem-like CTCs without expression of Epcam on the membrane (Epcam (m)-CD45-CD44+CD24-Ncadherin-) were observed in 57.45 % of cases. In retrospective studies we showed that CTCs with this phenotype were cytokeratin-7-positive and they demonstrated expression of Epcam in the cytoplasm [13]. Their frequency in the blood of breast cancer patients

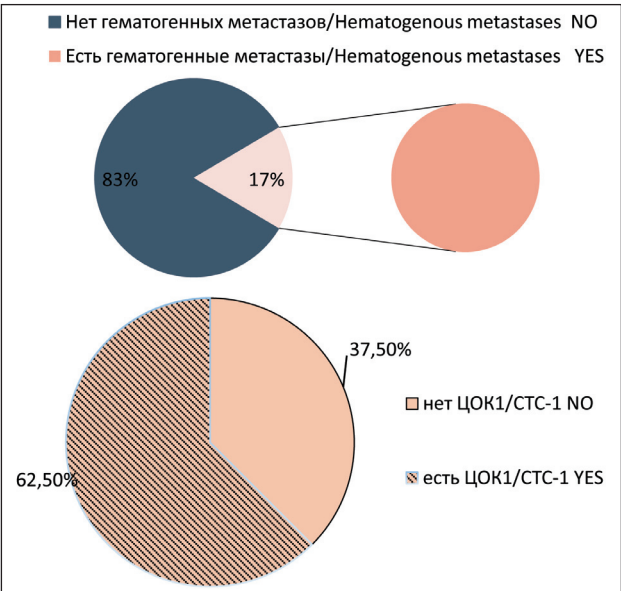


Рис. 1. Частота встречаемости популяции ЦОК1 у больных раком молочной железы с выявленными гематогенными метастазами. Точный критерий Фишера (двусторонний)=0,700, $p>0,05$.
Примечание: ЦОК1 – Epcam+CD45-CD44-CD24-Ncadherin-
Fig. 1. Frequency of CTC1 population in group of breast cancer patients with hematogenous metastases. Fisher's exact test=0.700, $p>0.05$.
Note: CTC1 – Epcam+CD45-CD44-CD24-Ncadherin-

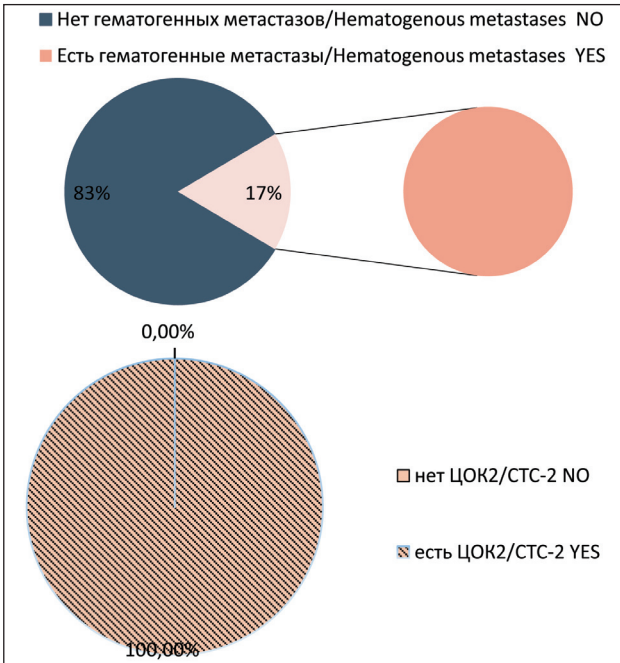


Рис. 2. Частота встречаемости популяции ЦОК2 у больных раком молочной железы с гематогенными метастазами. Точный критерий Фишера (двусторонний)=0,00014, $p<0,05$.
Примечание: ЦОК2 – Epcam+CD45-CD44-CD24-Ncadherin+
Fig. 2. Frequency of CTC2 population in group of breast cancer patients with hematogenous metastases. Fisher's exact test=0.00014, $p<0.05$.
Note: CTC2 – Epcam+CD45-CD44-CD24-Ncadherin+

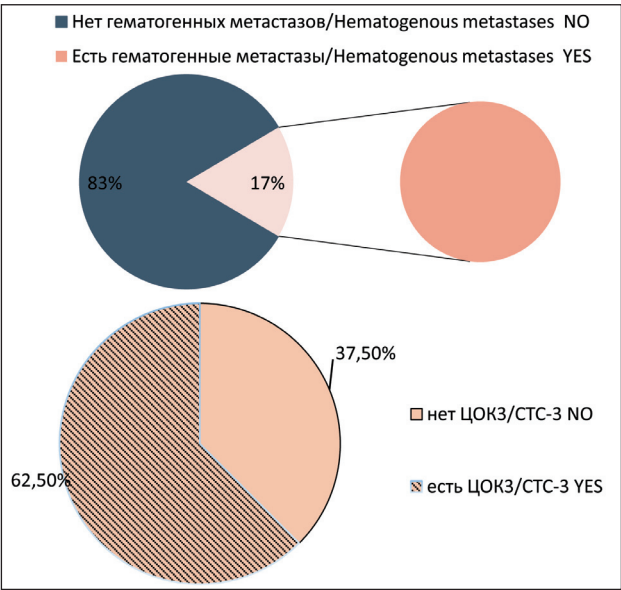


Рис. 3. Частота встречаемости популяции ЦОК3 у больных раком молочной железы с гематогенными метастазами. Точный критерий Фишера (двусторонний)=0,089, $p>0,05$.
Примечание: ЦОК3 – Epcam+CD45-CD44+CD24-Ncadherin+
Fig. 3. Frequency of CTC3 population in group of breast cancer patients with hematogenous metastases. Fisher's exact test=0.089, $p>0.05$.
Note: CTC3 – Epcam+CD45-CD44+CD24-Ncadherin+

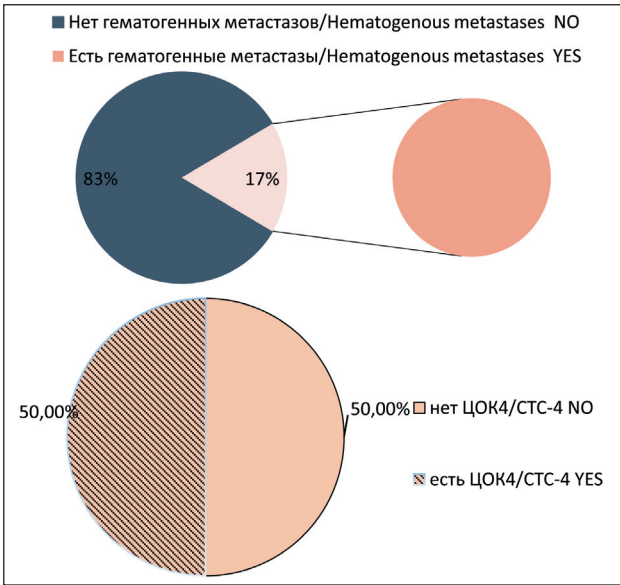


Рис. 4. Частота встречаемости популяции ЦОК4 у больных раком молочной железы с гематогенными метастазами. Точный критерий Фишера (двусторонний)=0,707, $p>0,05$.
Примечание: ЦОК4 – Epcam+CD45-CD44+CD24-Ncadherin-
Fig. 4. Frequency of CTC4 population in group of breast cancer patients with hematogenous metastases. Fisher's exact test=0.707, $p>0.05$.
Note: CTC4 – Epcam+CD45-CD44+CD24-Ncadherin-

with and without hematogenous metastases before treatment showed no statistically differences (Fig. 5). On the other hand, CTCs with the Epcam(m)-CD45-CD44+CD24-Ncadherin+ phenotype were detected in the blood of 7 out of 8 patients breast cancer with hematogenous metastases; these CTCs were absent in other patient ($p=0.002$) (Fig. 6).

Evaluation of the five-year metastasis-free survival rate in breast cancer patients with different CTC populations in the blood before treatment showed that a statistically significant decrease in the metastasis-free survival was observed in the presence of non-stem CTCs showing signs of EMT (CTC2) ($p=0.0016$), in stem-like CTCs showing signs of EMT (CTC3) ($p=0.0172$), and in CTCs with stemness and EMT features and without expression of Epcam on the membrane (CTC6) ($p=0.0112$) (Fig. 7).

Discussion

The number of tumor cells in the peripheral blood is the result of three processes: recruitment and intravasation in the tumor, destruction in the blood, and extravasation in distant organs. To predict the hematogenous spread of cancer, it is important to find out which of the mechanisms is characteristic of each of the studied subpopulations.

Intravasation is a key stage in the metastasis of malignant neoplasms, during which tumor cells enter the circulation, passing through the vascular wall, and become circulating tumor cells and potential metastatic seeds. There are several types of intravasation: asso-

ciated with invasion; associated with macrophages; TMEM (Tumor Micro Environment of Metastasis) – mediated tumor cell intravasation; intravasation of tumor cells not related to invasion (metastasis by clusters of tumor cells); and intravasation in conditions of vasculogenic mimicry of tumor cells [14].

The existence of various types of intravasation (associated and not associated with invasion) partly explains the presence of various forms of CTCs in the bloodstream (single CTCs, clusters of CTCs, CTCs showing signs of EMT, CTCs showing no signs of EMT, atypical/hybrid forms of CTCs). A large percentage of CTC-positive breast cancer patients in the group of patients without hematogenous spread of the disease (60 %), as opposed to the group of patients with detected hematogenous metastases (17 %), confirms the hypothesis that not all CTCs are capable of seeding. The presence of CTCs is not a determining factor in the development of hematogenous metastases. It can be assumed that hematogenous metastases develop both in the presence of CTCs capable of seeding and in conditions favorable for the formation of pre-metastatic niches.

The findings of the study showed that non-stem CTCs showing signs of EMT (CTC2) and stem-like CTCs showing signs of EMT (CTC3 and CTC6) significantly reduced the metastasis-free survival. A common feature of these cells is the presence of EMT signs. The obtained results show that the ability of CTCs to undergo EMT is a predetermining characteristic for their acquisition of the seed properties. The results

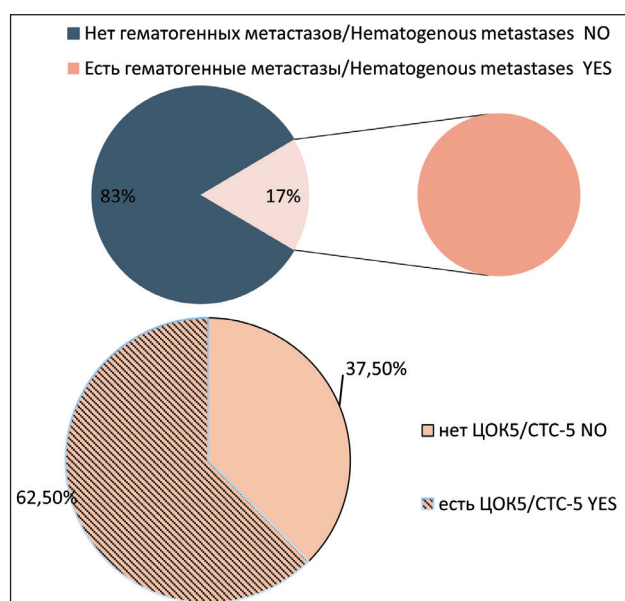


Рис. 5. Частота встречаемости популяции ЦОК5 у больных раком молочной железы с гематогенными метастазами. Точный критерий Фишера (двусторонний)=1,000, $p>0,05$.
Примечание: ЦОК5 – Epcam (m)-CD45-CD44+CD24-Ncadherin+
Fig. 5. Frequency of CTC5 in group of breast cancer patients with hematogenous metastases. Fisher's exact test=1.000, $p>0.05$.
Note: CTC5 – Epcam (m)-CD45-CD44+CD24-Ncadherin-

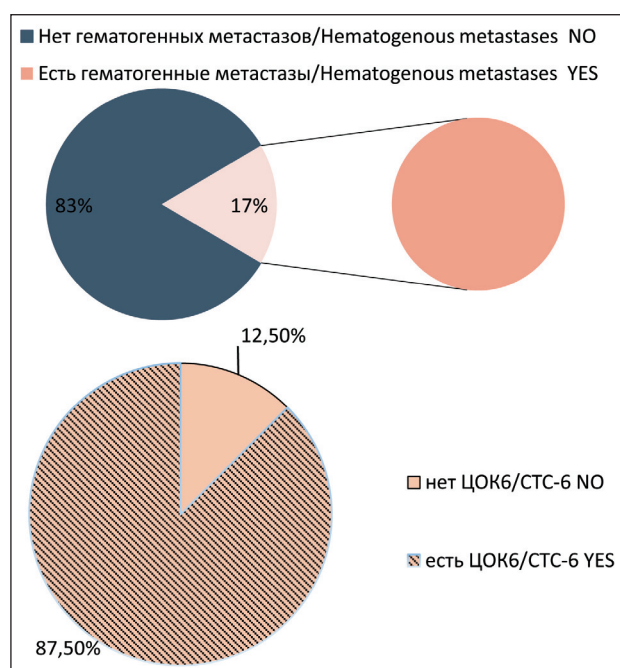


Рис. 6. Частота встречаемости популяции ЦОК6 у больных раком молочной железы с гематогенными метастазами. Точный критерий Фишера (двусторонний)=0,00473, $p<0,05$.
Примечание: ЦОК6 – Epcam (m)-CD45-CD44+CD24-Ncadherin+
Fig. 6. Frequency of CTC6 in group of breast cancer patients with hematogenous metastases. Fisher's exact test=0.00473, $p<0.05$.
Note: CTC6 – Epcam (m)-CD45-CD44+CD24-Ncadherin+

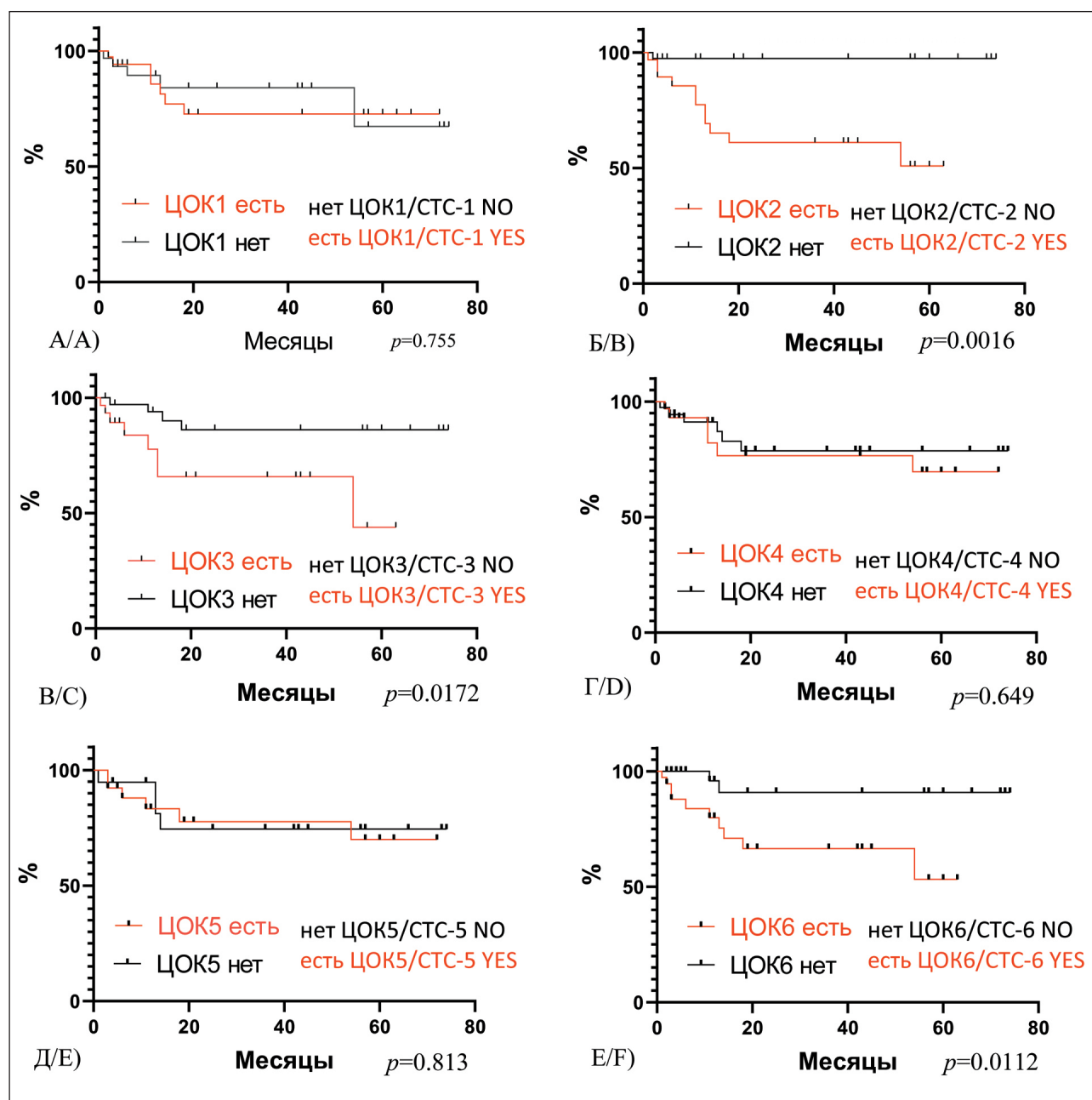


Рис. 7. Безметастатическая выживаемость у больных инвазивной карциномой молочной железы в зависимости от наличия различных популяций ЦОК в крови до лечения:

А) безметастатическая выживаемость у больных РМЖ в зависимости от наличия/отсутствия ЦОК1 – Epcam+CD45-CD44-CD24-Ncadherin-, Log-rank test $p=0,755$; Б) безметастатическая выживаемость у больных РМЖ в зависимости от наличия/отсутствия ЦОК2 – Epcam+CD45-CD44-CD24-Ncadherin+, Log-rank test $p=0,0016$; В) Безметастатическая выживаемость у больных РМЖ в зависимости от наличия/отсутствия ЦОК3 – Epcam+CD45-CD44+CD24-Ncadherin+, Log-rank test $p=0,0172$; Г) безметастатическая выживаемость у больных РМЖ в зависимости от наличия/отсутствия ЦОК4 – Epcam+CD45-CD44+CD24-Ncadherin-, Log-rank test $p=0,649$; Д) безметастатическая выживаемость у больных РМЖ в зависимости от наличия/отсутствия ЦОК5 – Epcam (m)-CD45-CD44+CD24-Ncadherin-, Log-rank test $p=0,813$; Е) безметастатическая выживаемость у больных РМЖ в зависимости от наличия/отсутствия ЦОК6 – Epcam (m)-CD45-CD44+CD24-Ncadherin+, Log-rank test $p=0,0112$

Fig. 7. Five-year survival rate in patients with invasive breast carcinoma, depending on the presence of different CTC populations in the blood before treatment.

A) Metastasis-free survival rate in patients with invasive breast carcinoma, depending on the presence of CTC1 – Epcam+CD45-CD44-CD24-Ncadherin-, log-rank test $p=0.755$; B) Metastasis-free survival rate in patients with invasive breast carcinoma, depending on the presence of CTC2 – Epcam+CD45-CD44-CD24-Ncadherin+, log-rank test $p=0.0016$; C) Metastasis-free survival rate in patients with invasive breast carcinoma, depending on the presence of CTC3 – Epcam+CD45-CD44+CD24-Ncadherin+, log-rank test $p=0.0172$; D) Metastasis-free survival rate in patients with invasive breast carcinoma, depending on the presence of CTC4 – Epcam+CD45-CD44+CD24-Ncadherin-, log-rank test $p=0.649$; E) Metastasis-free survival rate in patients with invasive breast carcinoma, depending on the presence of CTC5 – Epcam (m)-CD45-CD44+CD24-Ncadherin-, log-rank test $p=0.813$; F) Metastasis-free survival rate in patients with invasive breast carcinoma, depending on the presence of CTC6 – Epcam (m)-CD45-CD44+CD24-Ncadherin+, log-rank test $p=0.0112$

are consistent with the literature data. Thus, in breast cancer, a direct relationship was established between the EMT markers in primary and disseminated bone marrow tumor cells and aggressive clinical behavior of the tumor [15].

It is known that cancer stem cells are chemoresistant [8]. During EMT, cells change their epithelial phenotype (partially or completely) to the mesenchymal one [16]. This process, which is involved in organogenesis and wound healing, is intensively studied in relation to CTCs. It has been suggested that the epithelial-mesenchymal transition is associated with cancer aggressiveness and may increase cell migration [9]. It was shown that in tumor cells that hyperexpress RAS or HER2, a stem-like CD44+/CD24-subpopulation had an increased potential for EMT [10]. It was also found that in CD44+/CD24-/low breast cancer cells, a subtype with the claudin-low phenotype was determined, which was characterized by the expression of many EMT-associated genes, such as FoxC2, Zeb, and N-cadherin [17].

It is worth noting that EMT inducers can cause the emergence of stemness features in cells. S.A. Mani et al. showed for the first time that EMT can lead to the formation of a population of cells with oncogenic and metastatic properties [18]. It should be stressed that EMT does not occur spontaneously; it is regulated by microenvironment signals. The control of EMT plasticity most likely depends on normal cells of the tumor microenvironment, including tumor-associated stromal cells, such as immune cells, fibroblasts, and endothelial cells. It has also been shown that tumor cells that undergo EMT are often able to survive genotoxic and other influences, and, as a rule, are resistant to chemotherapy and radiation therapy. M. Mego et al. (2012) demonstrated that CTCs showing signs of EMT can be detected in 26 % of patients with metastatic breast cancer. High expression of EMT markers predicted short metastasis-free survival in these patients [19]. Cells undergoing EMT were detected in the blood of 7 % of CTC-negative patients [20].

Similar findings for primary breast cancer were presented by S. Kasimir-Bauer et al. (2012), who showed that EMT markers can be detected in 72 % of CTC-positive and 18 % of CTC-negative patients, respectively [9]. These data indicate that, in addition to CTCs expressing epithelial antigens, a CTC fraction with an exclusively mesenchymal phenotype may exist, and, therefore, they remain invisible for tests based on epithelial markers of these cells.

Our studies identified CTCs with negative Epcam expression on the membrane and showed their relationship with five-year metastasis-free survival in breast cancer patients. The results indicate the advantages of multicolor flow cytometry for assessing blood CTCs in cancer patients as opposed to the CellSearch system, which is based on the use of magnetic particles coated with anti-Epcam antibodies and does not take into account Epcam-negative CTCs. It was shown that the presence of both stem-like and non-stem CTCs showing signs of EMT with the Epcam+CD45-CD44-CD24-Ncadherin+, Epcam+CD45-CD44+CD24-Ncadherin+, and Epcam(m)-CD45-CD44+CD24-Ncadherin+ phenotypes in the blood of patients with breast cancer before treatment reduced the five-year metastasis-free survival rate.

Conclusion

Our results suggest that a heterogeneous population of CTCs includes cells showing signs of EMT, cells with stemness features, cells with both signs of EMT and stemness, and CTCs showing no stemness or EMT signs. CTCs are the best objects for isolation of tumor cells with seed properties and cells contributing to adaptation of seeds in sites where hematogenous metastases develop. CTCs showing signs of EMT (both stem-like and non-stem cells) are informative for liquid biopsy for assessing the risk of hematogenous metastases and can be considered as targets for personalized therapy.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные опухоли в России в 2018 г. (Заболеваемость и смертность). М., 2019. 250 с. [Kaprin A.D., Starinskiy V.V., Petrova G.V. Malignant neoplasms in Russia in 2018 (morbidity and mortality). Moscow, 2019. 250 p. (in Russian)].
2. Yang M.H., Imrali A., Heeschen C. Circulating cancer stem cells: the importance to select. *Chin J Cancer Res.* 2015 Oct; 27(5): 437–49. doi: 10.3978/j.issn.1000-9604.2015.04.08.
3. Stoecklein N.H., Fischer J.C., Niederacher D., Terstappen L.W. Challenges for CTC-based liquid biopsies: low CTC frequency and diagnostic leukapheresis as a potential solution. *Expert Rev Mol Diagn.* 2016; 16(2): 147–164. doi:10.1586/14737159.2016.1123095.
4. Zhe X., Cher M.L., Bonfil R.D. Circulating tumor cells: finding the needle in the haystack. *Am J Cancer Res.* 2011; 1(6): 740–751.
5. Giordano A., Gao H., Anfossi S., Cohen E., Mego M., Lee B.N., Tin S., De Laurentiis M., Parker C.A., Alvarez R.H., Valero V., Ueno N.T., De Placido S., Mani S.A., Esteva F.J., Cristofanilli M., Reuben J.M. Epithelial-mesenchymal transition and stem cell markers in patients with HER2-positive metastatic breast cancer. *Mol Cancer Ther.* 2012 Nov; 11(11): 2526–34. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-12-0460.
6. Каigorodова Е.В. Циркулирующие опухолевые клетки: клиническое значение при раке молочной железы (обзор литературы). Вест-

- ник Российской академии медицинских наук. 2017; 72(6): 450–457. [Kaigorodova E.V. Circulating tumor cells: clinical significance in breast cancer (Review). *Herald of the Russian Academy of Medical Sciences.* 2017; 72(6): 450–457. (in Russian.). doi: 10.15690/vramn833.
7. Kaigorodova E.V., Tarabanovskaya N.A., Staheeva M.N., Saveliyeva O.E., Tashireva L.A., Denisov E.V., Perelmuter V.M. Effect of minor and major surgical injury on the level of different populations of circulating tumor cells in the blood of breast cancer patients. *Neoplasma.* 2017; 64(3): 437–443. doi: 10.4149/neo_2017_315.
8. Theodoropoulos P.A., Poliodaki H., Agelaki S., Kallergi G., Saridaki Z., Mavroudis D., Georgoulas V. Circulating tumor cells with a putative stem cell phenotype in peripheral blood of patients with breast cancer. *Cancer Lett.* 2010 Feb 1; 288(1): 99–106. doi: 10.1016/j.canlet.2009.06.027.
9. Kasimir-Bauer S., Hoffmann O., Wallwiener D., Kimmig R., Fehm T. Expression of stem cell and epithelial-mesenchymal transition markers in primary breast cancer patients with circulating tumor cells. *Breast Cancer Res.* 2012 Jan 20; 14(1): R15. doi: 10.1186/bcr3099.
10. Reuben J.M., Lee B.N., Gao H., Cohen E.N., Mego M., Giordano A., Wang X., Lodhi A., Krishnamurthy S., Hortobagyi G.N., Cristofanilli M., Lucci A., Woodward W.A. Primary breast cancer patients with high risk clinicopathologic features have high percentages of bone marrow epithelial cells with ALDH activity and CD44-CD24lo cancer stem cell

phenotype. *Eur J Cancer*. 2011 Jul; 47(10): 1527–36. doi: 10.1016/j.ejca.2011.01.011.

11. *Armstrong A.J., Marengo M.S., Oltean S., Kemeny G., Bitting R.L., Turnbull J.D., Herold C.I., Marcom P.K., George D.J., Garcia-Blanco M.A.* Circulating tumor cells from patients with advanced prostate and breast cancer display both epithelial and mesenchymal markers. *Mol Cancer Res*. 2011; 9(8): 997–1007. doi: 10.1158/1541-7786.MCR-10-0490.

12. *Al-Hajj M., Wicha M.S., Benito-Hernandez A., Morrison S.J., Clarke M.F.* Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2003 Apr 1; 100(7): 3983–8. doi: 10.1073/pnas.0530291100.

13. *Kaigorodova E.V., Savelieva O.E., Tashireva L.A., Tarabanovskaya N.A., Simolina E.I., Denisov E.V., Slonimskaya E.M., Choyznov E.L., Perelmutter V.M.* Heterogeneity of Circulating Tumor Cells in Neoadjuvant Chemotherapy of Breast Cancer. *Molecules*. 2018 Mar 22; 23(4): 727. doi: 10.3390/molecules23040727.

14. *Zavyalova M.V., Denisov E.V., Tashireva L.A., Savelieva O.E., Kaigorodova E.V., Krakhmal N.V., Perelmutter V.M.* Intravasation as a Key Step in Cancer Metastasis. *Biochemistry (Mosc)*. 2019; 84(7): 762–72. doi: 10.1134/S0006297919070071.

15. *Kim M.Y., Oskarsson T., Acharyya S., Nguyen D.X., Zhang X.H., Norton L., Massague J.* Tumor self-seeding by circulating cancer cells. *Cell*. 2009; 139: 1315–26. doi: 10.1016/j.cell.2009.11.025.

16. *Scatena R., Bottoni P., Giardina B.* Circulating tumour cells and cancer stem cells: a role for proteomics in defining the interrelationships

between function, phenotype and differentiation with potential clinical applications. *Biochim Biophys Acta*. 2013; 1835(2): 129–143. doi: 10.1016/j.bbcan.2012.12.002.

17. *Asiedu M.K., Ingle J.N., Behrens M.D., Radisky D.C., Knutson K.L.* TGFbeta/TNF(alpha)-mediated epithelial-mesenchymal transition generates breast cancer stem cells with a claudin-low phenotype. *Cancer Res*. 2011 Jul 1; 71(13): 4707–19. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-10-4554.

18. *Mani S.A., Guo W., Liao M.J., Eaton E.N., Ayyanan A., Zhou A.Y., Brooks M., Reinhard F., Zhang C.C., Shipitsin M., Campbell L.L., Polyak K., Briskin C., Yang J., Weinberg R.A.* The epithelial-mesenchymal transition generates cells with properties of stem cells. *Cell*. 2008; 133(4): 704–15. doi: 10.1016/j.cell.2008.03.027.

19. *Mego M., Gao H., Lee B. N., Cohen E. N., Tin S., Giordano A., Wu Q., Liu P., Nieto Y., Champlin R.E., Hortobagyi G.N., Cristofanilli M., Ueno N.T., Reuben J.M.* Prognostic value of EMT-circulating tumor cells in metastatic breast cancer patients undergoing high-dose chemotherapy with autologous hematopoietic stem cell transplantation. *J Cancer*. 2012; 3: 369–80. doi: 10.7150/jca.5111.

20. *Aktas B., Tewes M., Fehm T., Hauch S., Kimmig R., Kasimir-Bauer S.* Stem cell and epithelial-mesenchymal transition markers are frequently overexpressed in circulating tumor cells of metastatic breast cancer patients. *Breast Cancer Res*. 2009. 11(4): R46. doi: 10.1186/bcr2333

Поступила/Received 18.06.2020
Принята в печать/Accepted 26.09.2020

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Кайгородова Евгения Викторовна, доктор медицинских наук, доцент, ведущий научный сотрудник отделения общей и молекулярной патологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук; профессор кафедры биохимии и молекулярной биологии, Сибирский государственный медицинский университет (г. Томск, Россия). SPIN-код: 8286-3757. Researcher ID (WOS): A-5400-2014. ORCID: 0000-0003-4378-6915. Author ID (Scopus): 24778286000.

Тарабановская Наталья Анатольевна, кандидат медицинских наук, научный сотрудник отделения общей онкологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 7481-2159. Researcher ID (WOS): A-5400-2014. ORCID: 0000-0003-4378-6915.

Суркова Полина Валериевна, кандидат медицинских наук, научный сотрудник отделения лучевой диагностики, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 3647-5354. Researcher ID (WOS): C-8976-2012. ORCID: 0000-0001-6845-6037.

Зельчан Роман Владимирович, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отделения радионуклидной диагностики, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 2255-5282. Researcher ID (WOS): C-8597-2012. ORCID: 0000-0002-4568-1781. Author ID (Scopus): 56901332100.

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

ВКЛАД АВТОРОВ

Кайгородова Евгения Викторовна: разработка концепции и дизайна исследования, проведение исследований и анализ данных, написание рукописи статьи.

Тарабановская Наталья Анатольевна: проведение исследований, анализ данных, диагностика, мониторинг и лечение больных.

Суркова Полина Валериевна: диагностика, мониторинг и лечение больных.

Зельчан Роман Владимирович: диагностика, мониторинг и лечение больных.

Гарбуков Евгений Юрьевич: проведение исследований, анализ данных, диагностика, мониторинг и лечение больных.

Финансирование

Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта Президента РФ МД-544.2018, МД-2017.2020.7.

Конфликт интересов

Авторы объявляют, что у них нет конфликта интересов.

Благодарности

Авторы выражают благодарность руководителю отделения общей и молекулярной патологии НИИ онкологии Томского НИМЦ д.м.н. С.В. Вторушину, проф. В.М. Перельмутеру, д.м.н. М.Н. Стахеевой, проф. Н.В. Чердынцевой, проф. В.И. Чернову, проф. И.Г. Фроловой.

ABOUT THE AUTHORS

Evgeniya V. Kaigorodova, MD, DSc, Leading researcher, Department of General and Molecular Pathology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences; Professor, Department of Biochemistry and Molecular Biology with a Course in Clinical Laboratory Diagnostics, Siberian State Medical University (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): A-5400-2014. ORCID: 0000-0003-4378-6915. Author ID (Scopus): 24778286000.

Nataliya A. Tarabanovskaya, MD, PhD, Researcher, Department of General Oncology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): A-5400-2014. ORCID: 0000-0003-4378-6915.

Polina V. Surkova, MD, PhD, Researcher, Department of Radiation Diagnostics, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): C-8976-2012. ORCID: 0000-0001-6845-6037.

Roman V. Zelchan, MD, PhD, Senior Researcher, Department of Radionuclide Diagnostics, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): C-8597-2012. ORCID: 0000-0002-4568-1781. Author ID (Scopus): 56901332100.

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

AUTHOR CONTRIBUTION

Evgeniya V. Kaigorodova: study design and conception, data collection and statistical analysis, drafting of the manuscript.

Nataliya A. Tarabanovskaya: performed the diagnosis, monitoring, and treatment of breast-cancer patients.

Polina V. Surkova: performed the diagnosis and monitoring of breast-cancer patients.

Roman V. Zelchan: performed the diagnosis and monitoring of breast-cancer patients.

Evgenii Y. Garbukov: performed the diagnosis, monitoring, and treatment of breast-cancer patients.

Funding

The study was supported by the grant of the President of the Russian Federation MD-544.2018, MD-2017.2020.7.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

Acknowledgements

The authors would like to thank Prof. S.V. Vtorushin, Head of the Department of General and Molecular Pathology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Prof. V.M. Perelmuter, M.N. Stakheeva, and Prof. N.V. Cherdyntseva.

Для цитирования: Черткова А.И., Славина Е.Г., Заботина Т.Н., Кадагидзе З.Г., Шоуа Э.К., Гордеева О.О., Колядина И.В., Жукова Л.Г., Ганьшина И.П., Мещеряков А.А. Взаимосвязь NKT-клеток и активированных CD25⁺ лимфоцитов периферической крови с продолжительностью безрецидивной и общей выживаемости больных трижды негативным раком молочной железы. Сибирский онкологический журнал. 2020; 19(6): 66–72. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-6-66-72.

For citation: Chertkova A.I., Slavina E.G., Zabolotina T.N., Kadagidze Z.G., Shoua E.K., Gordееva O.O., Kolyadina I.V., Zhukova L.G., Ganshina I.P., Meshcheryakov A.A. Association of NKT- and activated CD25⁺ peripheral blood lymphocytes with disease free and overall survival of triple negative breast cancer patients. Siberian Journal of Oncology. 2020; 19(6): 66–72. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-6-66-72.

ВЗАИМОСВЯЗЬ NKT-КЛЕТОК И АКТИВИРОВАННЫХ CD25⁺ ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ С ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬЮ БЕЗРЕЦИДИВНОЙ И ОБЩЕЙ ВЫЖИВАЕМОСТИ БОЛЬНЫХ ТРИЖДЫ НЕГАТИВНЫМ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

А.И. Черткова¹, Е.Г. Славина¹, Т.Н. Заботина¹, З.Г. Кадагидзе¹,
Э.К. Шоуа¹, О.О. Гордеева¹, И.В. Колядина², Л.Г. Жукова³,
И.П. Ганьшина¹, А.А. Мещеряков¹

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Россия¹
Россия, 115478, г. Москва, Каширское шоссе, 24. E-mail: tatzabolotina@yandex.ru¹
ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Россия²
Россия, 125993, г. Москва, ул. Баррикадная, 2/1²
ГБУЗ «Московский клинический научно-практический центр им. А.С. Логинова»
Департамента здравоохранения города Москвы, г. Москва, Россия³
Россия, 111123, г. Москва, шоссе Энтузиастов, 86³

Аннотация

Введение. Ранее мы обнаружили, что снижение количества NKT-клеток и активированных CD25⁺ лимфоцитов периферической крови до начала неоадъювантной химиотерапии ассоциировалось с повышением вероятности прогрессирования заболевания у больных трижды негативным раком молочной железы II и III стадии. **Цель исследования** – изучение взаимосвязи исходного количества NKT- и CD25⁺ лимфоцитов периферической крови с безрецидивной и общей выживаемостью больных трижды негативным раком молочной железы, получивших неоадъювантную химиотерапию цисплатином и паклитакселом и последующее оперативное лечение. **Материал и методы.** В исследование были включены больные трижды негативным раком молочной железы II и III стадии. Период наблюдения составил 36 и 66,9 мес. До начала лечения определяли процент CD3⁺CD16⁺CD56⁺ (NKT)- и CD25⁺-лимфоцитов периферической крови методом проточной цитометрии. Статистический анализ данных проводили с использованием пакета статистических программ «Статистика 7». Для определения взаимосвязи иммунологических показателей с безрецидивной и общей выживаемостью больных трижды негативным раком молочной железы использовался метод Каплана–Мейера. **Результаты.** Сниженный до начала лечения по сравнению с контролем процент NKT-клеток периферической крови ассоциировался с уменьшением трехлетней безрецидивной выживаемости больных [Me – 20,1 (0,533 и 39,7) мес] по сравнению с больными, у которых процент этих клеток был выше, чем в контроле (Me не достигнута). Статистически значимых различий в трехлетней общей выживаемости между данными группами пациенток не наблюдалось. Исходно сниженное по сравнению с контролем количество CD25⁺ лимфоцитов ассоциировалось как с уменьшением безрецидивной, так и общей выживаемости, по сравнению с больными, у которых количество этих клеток до лечения было выше нормы. Различие в продолжительности безрецидивной и общей выживаемости было еще более выражено при сравнении группы пациенток, у которых одновременно было повышено исходное количество и NKT- и CD25⁺ клеток, с больными, у которых оба показателя были ниже нормы. **Заключение.** Исходное (до начала

химиотерапии) количество NKT-клеток и активированных CD25⁺ лимфоцитов периферической крови, вероятно, может являться предиктивным фактором у больных трижды негативным раком молочной железы, получавших неoadъювантную химиотерапию цисплатином и паклитакселом.

Ключевые слова: трижды негативный рак молочной железы, NKT-клетки, CD25⁺ лимфоциты, безрецидивная выживаемость, общая выживаемость, неoadъювантная химиотерапия.

ASSOCIATION OF NKT- AND ACTIVATED CD25⁺ PERIPHERAL BLOOD LYMPHOCYTES WITH DISEASE FREE AND OVERALL SURVIVAL OF TRIPLE NEGATIVE BREAST CANCER PATIENTS

A.I. Chertkova¹, E.G. Slavina¹, T.N. Zabolotina¹, Z.G. Kadagidze¹,
E.K. Shoua¹, O.O. Gordeeva¹, I.V. Kolyadina², L.G. Zhukova³,
I.P. Ganshina¹, A.A. Meshcheryakov¹

N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Moscow, Russia¹
24, Kashirskoe Shosse, 115478, Moscow, Russia1. E-mail: tatzabolotina@yandex.ru
Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Moscow, Russia²
2/1 Barrikadnaya str., 125993, Moscow, Russia²
A.S. Loginov Moscow Clinical Research Center, Moscow, Russia³
86, Entuziastov Shosse, 1112386, Moscow, Russia³

Abstract

Background. We previously found that a decrease in the number of NKT cells and activated CD25⁺ peripheral blood lymphocytes (PBLs) before neoadjuvant chemotherapy was associated with an increased likelihood of disease progression in patients with locally advanced triple-negative breast cancer (TN BC). The purpose of this study was to determine the relationship between the initial number of NKT and CD25⁺ PBLs and relapse-free survival (RFS)/overall survival (OS) in patients with TN BC who received neoadjuvant chemotherapy with cisplatin and paclitaxel followed by surgery. **Material and Methods.** The study included patients with stage II and III TN BC. The follow-up time was 36 and 66.9 months. Immediately before chemotherapy, the percentage of CD3⁺CD16⁺CD56⁺ (NKT) -, CD25⁺- and CD8⁺ PBLs was determined by flow cytometry. Statistical analysis of the data was carried out using the Statistics 7 software package. The Kaplan-Meier method was used to determine the relationship between immunological parameters and RFS/ OS. **Results.** The decreased level of NKT cells before treatment was associated with a decrease in the 3-year RFS [Me: 20.1 (0.533 and 39.7) months] compared to that observed in patients with higher percentage of these cells than in the control (Me was not achieved). There were no statistically significant differences in the 3-year OS between the groups. The initially reduced number of CD25⁺ lymphocytes in comparison with the control was associated with decreased rates of both RFS and OS. The difference in DFS and OS was more significant between the groups of patients who simultaneously had an increased initial number of both NKT and CD25⁺ cells and patients in whom both cell populations were below normal levels. **Conclusion.** The initial (prior to chemotherapy) number of NKT and activated CD25⁺ PBLs can apparently be a predictive factor in TN BC patients, who received neoadjuvant chemotherapy with cisplatin and paclitaxel.

Key words: triple-negative breast cancer, NKT cells, CD25⁺ lymphocytes, relapse free survival, overall survival, neoadjuvant chemotherapy.

Введение

Рак молочной железы (РМЖ) характеризуется клеточной и молекулярной гетерогенностью и является наиболее распространенным злокачественным новообразованием среди женщин во всем мире. В клинике для прогноза РМЖ используют различные клинико-патологические, молекулярные и генетические факторы, тем не менее исход этого заболевания во многих случаях трудно предсказать. Установление надежных прогностических факторов при РМЖ имеет решающее значение для разработки методов эффективной индивидуальной

помощи пациенткам [1]. Важную роль в контроле над возникновением и ростом злокачественных новообразований играет иммунная система [2, 3]. Появляется все больше свидетельств того, что взаимодействие между иммунными и опухолевыми клетками оказывает значимое влияние на развитие и прогрессирование рака молочной железы [4]. Опухоль индуцирует как локальный, так и системный иммунный ответ, и иммунные клетки, как инфильтрирующие опухоль, так и лимфоциты периферической крови (ПК), могут иметь прогностическое значение [5–7]. Иммун-

ная система пациента активно взаимодействует с различными видами противоопухолевой терапии [8, 9]. Ключевыми эффекторными клетками противоопухолевого иммунитета являются CD8⁺ Т-лимфоциты, положительное прогностическое значение которых продемонстрировано в различных клинических исследованиях [10]. В то же время в ответе на опухоль участвует значительное число лимфоцитарных популяций как адаптивного, так и врожденного иммунитета, которые также могут иметь прогностическое значение. Ранее при изучении субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови больных с трижды негативным (ТН) РМЖ мы обнаружили, что снижение количества NKT-клеток и активированных CD25⁺ лимфоцитов до начала неоадьювантной химиотерапии ассоциировалось с повышением вероятности прогрессирования заболевания [11]. В данной работе проводилось дальнейшее изучение возможной прогностической значимости этих популяций лимфоцитов у пациенток с ТН РМЖ.

Проведенное в настоящей работе определение взаимосвязи исходного количества NKT-клеток и CD25⁺ лимфоцитов ПК с выживаемостью больных ТН РМЖ, получавших стандартную противоопухолевую терапию, является актуальным и может послужить основой для установления прогностической значимости этих популяций лимфоцитов, а также более точного предсказания исхода заболевания.

Цель исследования – изучить взаимосвязь исходного количества NKT- и CD25⁺ лимфоцитов ПК с продолжительностью безрецидивной (БРВ) и общей выживаемости (ОВ) больных ТН РМЖ, получивших неоадьювантную химиотерапию цисплатином и паклитакселом с последующей операцией.

Материал и методы

В исследование было включено 50 больных ТН РМЖ II и III стадии. Медиана возраста составила 50 лет (от 26 до 76 лет). После 4–6 курсов химиотерапии (паклитаксел 80 мг/м², в 1, 8, 15-й дни + цисплатин 75 мг/м², в 1-й день, цикл 28 дней) все пациентки подвергались хирургическому лечению. Период наблюдения составил 36 и 66,9 мес. Данные о прогрессировании заболевания и выживаемости в течение 3-летнего периода были получены относительно 50 (у 24 из них отмечалось прогрессирование заболевания) и 42 (13 из них умерли) пациенток соответственно.

Иммунологическое обследование пациенток (многопараметровый цитометрический анализ на пятипараметровом проточном цитофлуориметре аналитического типа FACSCalibur «Becton Dickinson», США) проводилось непосредственно перед началом химиотерапии. Лимфоциты выделялись по параметрам светорассеяния и экспрессии CD45. Для двух-, трех- и четырех-

цветного окрашивания клеток использовали моноклональные антитела, конъюгированные с FITC, PE, PC5 (Bekman Coulter США; «Сорбент», Россия), к следующим маркерам лимфоцитов: CD45, CD3, CD16, CD56, CD25. В группу сравнения (К) вошли практически здоровые женщины соответствующего возраста (n=26). Все пациентки дали информированное согласие на проведение иммунологического обследования.

Для статистического анализа данных использовали пакет статистических программ «Статистика 7». Результаты представлены в виде Me (Медиана) и 95 % доверительного интервала Me (95 % ДИ). Анализ выживания проводили с помощью метода Каплана–Майера. Для сравнения кривых выживания использовали лог-ранговый критерий (log-rank test) или критерий Кокса–Мантеля (Cox–Mantel test) и F-критерий Кокса (Cox's F-Test). В качестве точки отсчета для определения уровня каждого иммунологического показателя принимали значение его медианы в контрольной группе Me_{contr} (N). Уровень статистической значимости был принят равным 0,05.

Результаты

Исследовалось значение исходного количества CD3⁺CD16⁺CD56⁺ NKT-клеток для трехлетней БРВ (n=50) и ОВ (n=42) больных ТН РМЖ, получавших неоадьювантную химиотерапию (паклитаксел + цисплатин) и последующее оперативное лечение. У пациенток, у которых количество NKT-клеток до лечения было ниже контрольного значения, БРВ была статистически значимо уменьшена по сравнению с пациентками, у которых процент этих клеток был выше, чем Me_{contr} (8,7 %). При этом БРВ у больных с количеством NKT-клеток <N составила 20,1 (0,533 и 39,7) мес, а у пациенток с повышенным показателем (≥N) не была достигнута (рис. 1а). Статистически значимых различий в уровне 3-летней ОВ не наблюдалось (рис. 1б). В обоих случаях медиана не была достигнута, однако отмечалась тенденция к более выраженному различию в величине ОВ между группами на более поздних сроках наблюдения. Исходное снижение по сравнению с контролем (Me_{contr} 10,7 %) количества лимфоцитов, экспрессирующих активационный маркер CD25, ассоциировалось со статистически значимым уменьшением как БРВ (n=47), так и ОВ (n=39) [БРВ: 13,1 (7,7 и 18,5); ОВ: Me не достигнута] по сравнению с пациентками, у которых этот показатель был выше контрольного значения (Me БРВ и ОВ в этой группе не достигнуты) (рис. 2а, б). Различия в продолжительности БРВ и ОВ (n=32) было еще более выражено при сравнении группы пациенток, у которых одновременно было повышено исходное количество и NKT- и CD25⁺ клеток, с больными, у которых оба показателя были ниже нормы. Срок наблюдения в данном случае составил 66,9 мес. (рис. 3а, б).

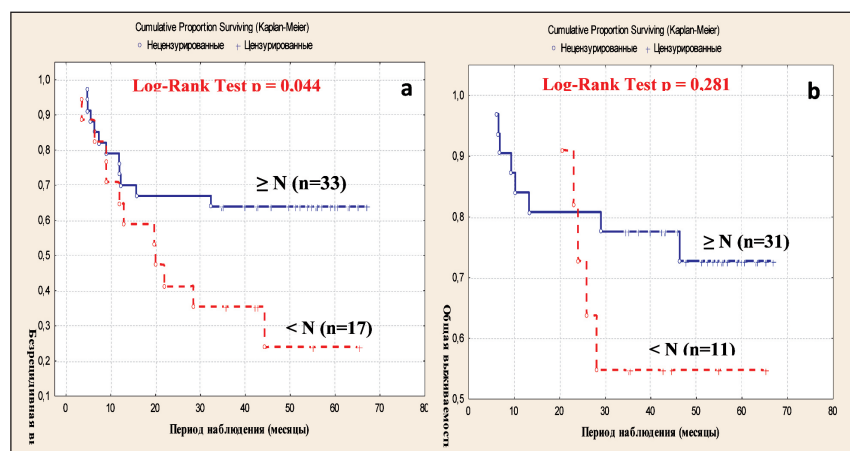


Рис. 1. Взаимосвязь трехлетней безрецидивной (а) и общей (б) выживаемости больных ТН РМЖ с количеством $CD3^+CD16^+CD56^+$ (NKT%) лимфоцитов до начала химиотерапии (по методу Каплана–Мейера).

Примечание: ° – нецензурированные данные: (а) $n=24$, (б) $n=13$; + – цензурированные данные (больные с безрецидивным течением заболевания или живые пациентки на момент анализа): (а) $n=26$, (б) $n=29$

Fig. 1. The relationship between the three-year relapse-free (a) overall (b) survival of breast cancer patients and the number of $CD3^+CD16^+CD56^+$ (NKT%) lymphocytes before chemotherapy (according to the Kaplan–Meier method).

Note: ° – Complete: (a) $n=24$, (b) $n=13$; + – Censored: (a) $n=26$, (b) $n=29$

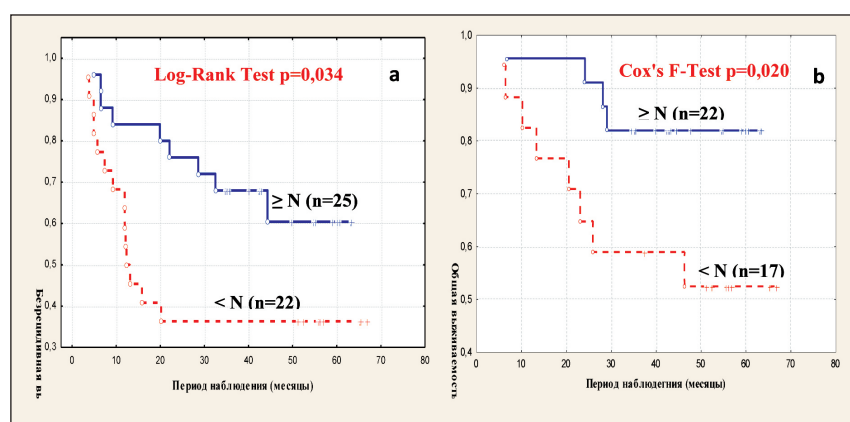


Рис. 2. Взаимосвязь безрецидивной (а) и общей (б) выживаемости больных ТН РМЖ с количеством $CD25^+$ лимфоцитов ($CD25^+$ %) периферической крови до начала химиотерапии (по методу Каплана–Мейера).

Примечание: ° – нецензурированные данные: (а) $n=23$, (б) $n=12$; + – цензурированные данные (больные с безрецидивным течением заболевания или живые пациентки на момент анализа): (а) $n=24$, (б) $n=27$

Fig. 2. The relationship between the three-year relapse-free (a)/overall (b) survival of breast cancer patients and the number of $CD25^+$ ($CD25^+$ %) lymphocytes before chemotherapy (according to the Kaplan–Meier method). Note: ° – Complete: (a) $n=23$, (b) $n=12$; + – Censored: (a) $n=24$, (b) $n=27$

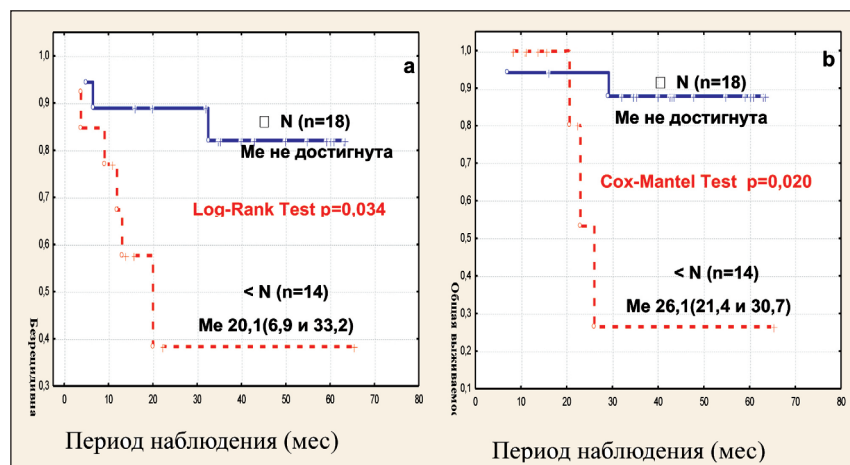


Рис. 3. Взаимосвязь безрецидивной (а) и общей (б) выживаемости больных ТН РМЖ с количеством NKT- и $CD25^+$ (NKT%& $CD25^+$ %) лимфоцитов периферической крови до начала химиотерапии (по методу Каплана–Мейера). Период наблюдения – 66,9 мес. Примечание: ° – нецензурированные данные: (а) $n=9$, (б) $n=5$; + – цензурированные данные (больные с безрецидивным течением заболевания или живые пациентки на момент анализа): (а) $n=23$, (б) $n=27$

Note: ° – Complete: (a) $n=9$, (b) $n=5$; + – Censored: (a) $n=23$, (b) $n=27$

Обсуждение

NKT-клетки врожденного иммунитета составляют небольшую часть лимфоцитов, однако они способны эффективно уничтожать опухолевые клетки. В настоящее время выделяют три типа NKT-клеток: тип I NKT (iNKT), тип II NKT и NKT-подобные клетки. Наивысшую противоопухолевую активность проявляют iNKT-клетки,

которые повреждают опухоль как с помощью прямого цитотоксического действия, так и непрямым путем секреции различных цитокинов, активирующих противоопухолевые механизмы, а также активизации истощенных $CD8^+$ T- и NK-клеток [12]. Снижение количества iNKT в ПК было обнаружено при различных злокачественных новообразованиях [13]. Выраженный дефицит iNKT-

клеток ПК ассоциировался с неблагоприятным клиническим исходом у больных раком головы и шеи [14], а восстановление количества периферических iNKT-клеток обеспечивало длительную ремиссию у детей с различными гемобластозами [15]. В настоящем исследовании популяция NKT-клеток определялась по экспрессии наиболее часто используемых при исследовании этих лимфоцитов маркеров: CD3, CD16 и CD56 (CD3⁺CD16⁺CD56⁺), что не позволяет определить, к какому типу относятся эти клетки. Было обнаружено, что повышение процента (CD3⁺CD16⁺CD56⁺) NKT-клеток до лечения у части больных ТН РМЖ явилось благоприятным фактором и ассоциировалось с увеличением БРВ, по сравнению с больными, у которых этот показатель был снижен. Исходный уровень этих клеток, вероятно, не имел значимого влияния на ОВ. У пациенток, у которых до лечения количество CD25⁺ лимфоцитов было ниже контроля, и БРВ, и ОВ были статистически значимо снижены по сравнению с больными, у которых число этих

клеток было повышено. Молекула CD25 – α-цепь рецептора интерлейкина 2 участвует в генерации высокоаффинного рецепторного комплекса и имеет решающее значение для активации пролиферативного ответа Т-лимфоцитов и их дифференцировки [16, 17]. Различие в продолжительности БРВ и ОВ было еще более значимым при сравнении группы пациенток, у которых определялось повышение исходного количество клеток обеих популяций (NKT- и CD25⁺), с больными, у которых оба показателя были снижены.

Заключение

Полученные результаты указывают на то, что такие иммунологические показатели, как исходное (до начала лечения) количество NKT-клеток и количество активированных CD25⁺ лимфоцитов ПК, вероятно, могут являться предиктивными факторами у больных ТН РМЖ II и III стадии, получавших неoadъювантную химиотерапию цисплатином в сочетании с паклитакселем.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Rivenbark A.G., O'Connor S.M., Coleman W.B. Molecular and cellular heterogeneity in breast cancer: challenges for personalized medicine. *Am J Pathol.* 2013 Oct; 183(4): 1113–1124. doi: 10.1016/j.ajpath.2013.08.002.
2. Teng M.W., Galon J., Fridman W.H., Smyth M.J. From mice to humans: developments in cancer immunoeediting. *J Clin Invest.* 2015; 125(9): 3338–46. doi: 10.1172/JCI80004.
3. Finn O.J. A Believer's Overview of Cancer Immunotherapy. *J Immunol.* 2018 Jan 15; 200(2): 385–91. doi: 10.4049/jimmunol.1701302.
4. Huang Y., Ma C., Zhang Q., Ye J., Wang F., Zhang Y., Hunborg P., Varvares M.A., Hoft D.F., Hsueh E.C., Peng G. CD4⁺ and CD8⁺ T cells have opposing roles in breast cancer progression and outcome. *Oncotarget.* 2015 Jul 10; 6(19): 17462–78. doi: 10.18632/oncotarget.3958.
5. Standish L.J., Sweet E.S., Novack J., Wenner C.A., Bridge C., Nelson A., Martzen M., Torkelson C. Breast cancer and the immune system. *J Soc Integr Oncol.* 2008 Fall; 6(4): 158–68.
6. Péguillet I., Milder M., Louis D., Vincent-Salomon A., Dorval T., Piperno-Neumann S., Scholl S.M., Lantz O. High numbers of differentiated effector CD4 T cells are found in patients with cancer and correlate with clinical response after neoadjuvant therapy of breast cancer. *Cancer Res.* 2014 Apr 15; 74(8): 2204–16. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-13-2269.
7. Rühle P.F., Fietkau R., Gaip U.S., Frey B. Development of a Modular Assay for Detailed Immunophenotyping of Peripheral Human Whole Blood Samples by Multicolor Flow Cytometry. *Int J Mol Sci.* 2016 Aug 11; 17(8): 1316. doi: 10.3390/ijms17081316.
8. Wu J., Waxman D.J. Immunogenic chemotherapy: Dose and schedule dependence and combination with immunotherapy. *Cancer Lett.* 2018 Apr 10; 419: 210–221. doi: 10.1016/j.canlet.2018.01.050.
9. Haikewal S.J., Hagekyriakou J., MacManus M., Martin O.A., Haynes N.M. Building immunity to cancer with radiation therapy. *Cancer Lett.* 2015 Nov 28; 368(2): 198–208. doi: 10.1016/j.canlet.2015.01.009.
10. Burugu S., Asleh-Aburaya K., Nielsen T.O. Immune infiltrates in the breast cancer microenvironment: detection, characterization and clinical implication. *Breast Cancer.* 2017 Jan; 24(1): 3–15. doi: 10.1007/s12282-016-0698-z.

11. Черткова А.И., Славина Е.Г., Шоуа Э.К., Жукова Л.Г., Округлова М.А., Нуртдинова В.А., Борунова А.А., Джамгадзе Н.Т., Кадагидзе З.Г. Основные параметры клеточного иммунитета у больных раком молочной железы с тройным негативным фенотипом. Связь с эффективностью химиотерапии. *Медицинская иммунология.* 2018; 20(5): 667–680. [Chertkova A.I., Slavina E.G., Shoua E.K., Zhukova L.G., Okruzhnova M.A., Nurtidinova V.A., Borunova A.A., Dzhgamadze N.T., Kadagidze Z.G. The main parameters of cellular immunity in patients with triple-negative breast cancer: relationship with efficiency of chemotherapy. *Medical Immunology.* 2018; 20(5): 667–680. (in Russian)].
12. Bae E.A., Seo H., Kim I.K., Jeon I., Kang C.Y. Roles of NKT cells in cancer immunotherapy. *Arch Pharm Res.* 2019 Jul; 42(7): 543–548. doi: 10.1007/s12272-019-01139-8.
13. Giaccone G., Punt C.J., Ando Y., Ruijter R., Nishi N., Peters M., von Blomberg B.M., Scheper R.J., van der Vliet H.J., van den Eertwegh A.J., Roelvink M., Beijnen J., Zwierzina H., Pinedo H.M. A phase I study of the natural killer T-cell ligand alpha-galactosylceramide (KRN7000) in patients with solid tumors. *Clin Cancer Res.* 2002 Dec; 8(12): 3702–9.
14. Molling J.W., Langius J.A., Langendijk J.A., Leemans C.R., Bontkes H.J., van der Vliet H.J., von Blomberg B.M., Scheper R.J., van den Eertwegh A.J. Low levels of circulating invariant natural killer T cells predict poor clinical outcome in patients with head and neck squamous cell carcinoma. *J Clin Oncol.* 2007 Mar 1; 25(7): 862–8. doi: 10.1200/JCO.2006.08.5787.
15. Casorati G., de Lalla C., Dellabona P. Invariant natural killer T cells reconstitution and the control of leukemia relapse in pediatric haploidentical hematopoietic stem cell transplantation. *Oncoimmunology.* 2012 May 1; 1(3): 355–357. doi: 10.4161/onci.18399.
16. Benczik M., Gaffen S.L. The interleukin (IL)-2 family cytokines: survival and proliferation signaling pathways in T lymphocytes. *Immunol Invest.* 2004 May; 33(2): 109–42. doi: 10.1081/imm-120030732.
17. Ellery J.M., Nicholls P.J. Possible mechanism for the alpha subunit of the interleukin-2 receptor (CD25) to influence interleukin-2 receptor signal transduction. *Immunol Cell Biol.* 2002 Aug; 80(4): 351–7. doi: 10.1046/j.1440-1711.2002.01097.x.

Поступила/Received 12.03.2020
Принята в печать/Accepted 30.04.2020

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Черткова Антонина Ивановна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения РФ (г. Москва, Россия). E-mail: antcher@gmail.com. SPIN-код: 6083-2870. Author ID (Scopus): 6603256108. ORCID: 0000-0001-9146-5986.

Славина Елена Григорьевна, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения РФ (г. Москва, Россия). Author ID (Scopus): 6603852193.

Заботина Татьяна Николаевна, доктор биологических наук, заведующая отделом клинико-лабораторной диагностики, НИИ КО им. акад. РАН и РАМН Н.Н. Трапезникова, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения РФ (г. Москва, Россия). SPIN-код: 8628-9705. Author ID (Scopus): 6701659265. ORCID: 0000-0001-7631-5699.

Кадагидзе Заира Григорьевна, доктор медицинских наук, профессор, ведущий научный сотрудник, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения РФ (г. Москва, Россия). SPIN-код: 5799-8977. Author ID (Scopus): 7006314985. ORCID: 0000-0002-0058-0987.

Шоуа Эсма Константиновна, врач-онколог, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения РФ (г. Москва, Россия). SPIN-код: 5928-1121. Author ID (Scopus): 57201556418.

Гордеева Ольга Олеговна, врач-онколог, онкологическое отделение лекарственных методов лечения (химиотерапевтическое) № 3, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения РФ (г. Москва, Россия). ORCID: 0000-0002-8266-0218.

Колядина Ирина Владимировна, доктор медицинских наук, профессор кафедры онкологии и паллиативной медицины, РМАНПО (г. Москва, Россия). ORCID: 0000-0002-1124-6802.

Жукова Людмила Григорьевна, доктор медицинских наук, профессор РАН, руководитель отделения химиотерапии ГБУЗ МКНЦ им. А.С. Логанова ДЗМ (г. Москва, Россия).

Ганьшина Инна Петровна, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник, онкологическое отделение лекарственных методов лечения (химиотерапевтическое) № 3, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения РФ (г. Москва, Россия).

Мещеряков Андрей Альбертович, доктор медицинских наук, заведующий отделением, онкологическое отделение лекарственных методов лечения (химиотерапевтическое) № 3, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения РФ (г. Москва, Россия). ORCID: 0000-0002-6009-653X.

ВКЛАД АВТОРОВ

Черткова Антонина Ивановна: написание статьи, статистическая обработка материала.

Славина Елена Григорьевна: идея, концепция и дизайн исследования.

Заботина Татьяна Николаевна: общее руководство работой, редактирование статьи.

Кадагидзе Заира Григорьевна: написание статьи.

Шоуа Эсма Константиновна: сбор и обработка материала.

Гордеева Ольга Олеговна: сбор и систематизация данных.

Колядина Ирина Владимировна: координация исследования, статистическая обработка материала.

Жукова Людмила Григорьевна: анализ данных, редактирование статьи.

Ганьшина Инна Петровна: обработка материала, подготовка данных к анализу.

Мещеряков Андрей Альбертович: утверждение окончательного варианта статьи.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы объявляют, что у них нет конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Antonina I. Chertkova, PhD, N.N. Blokhin NMRCO (Moscow, Russia). Author ID (Scopus): 6603256108. ORCID: 0000-0001-9146-5986.

Elena G. Slavina, PhD, Leading Research Associate, N.N. Blokhin NMRCO (Moscow, Russia). Author ID (Scopus): 6603852193.

Tatiana N. Zabolina, PhD, DSc, Head of the Department of Clinical and Laboratory Diagnostics, N.N. Blokhin NMRCO (Moscow, Russia). Author ID (Scopus): 6701659265. ORCID: 0000-0001-7631-5699.

Zaira G. Kadagidze, MD, PhD, Professor, Leading Research Associate, N.N. Blokhin NMRCO (Moscow, Russia). Author ID (Scopus): 7006314985. ORCID: 0000-0002-0058-0987.

Esma K. Shoua, MD, Oncologist, Laboratory of Clinical Cancer Immunology, N.N. Blokhin NMRCO (Moscow, Russia). Author ID (Scopus): 57201556418.

Ol'ga O. Gordeeva, MD, MD, Oncologist, N.N. Blokhin NMRCO, (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0002-8266-0218.

Irina V. Kolyadina, PhD, MD, Russian Medical Academy of Continuing Professional Education (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0002-1124-6802.

Lyudmila G. Zhukova, MD, PhD, Professor, A.S. Loginov MCRC MHD (Moscow, Russia).

Inna P. Gan'shina, MD, PhD, Leading Researcher, Chemotherapy Department, N.N. Blokhin NMRCO, (Moscow, Russia).

Andrey A. Meshcheryakov, MD, PhD, DSc, Head of Chemotherapy Department, N.N. Blokhin NMRCO, (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0002-6009-653X.

AUTHOR CONTRIBUTION

Antonina I. Chertkova: writing of the manuscript, statistical analysis.
Elena G. Slavina: study conception and design.
Tatiana N. Zabolina: general management of work, editing of the article.
Zaira G. Kadagidze: writing of the manuscript.
Esma K. Shoua: data collection and analysis.
Ol'ga O. Gordeeva: data collection and analysis.
Irina V. Kolyadina: coordination of research, statistical analysis.
Lyudmila G. Zhukova: data analysis, editing of the article.
Inna P. Gan'shina: data collection and analysis.
Andrey A. Meshcheryakov: critical review 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: Лылова Е.С., Савинкова А.В., Жидкова Е.М., Кирсанов К.И., Якубовская М.Г., Будунова И.В., Лесовая Е.А. Ингибирование экспрессии гена *REDD1* для снижения побочных эффектов глюкокортикоидов. Сибирский онкологический журнал. 2020; 19(6): 73–81. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-6-73-81.

For citation: Lylova E.S., Savinkova A.V., Zhidkova E.M., Kirsanov K.I., Yakubovskaya M.G., Budunova I.V., Lesovaya E.A. Inhibition of *REDD1* expression for the reduction of glucocorticoid-induced side effects. Siberian Journal of Oncology. 2020; 19(6): 73–81. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-6-73-81.

ИНГИБИРОВАНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА *REDD1* ДЛЯ СНИЖЕНИЯ ПОБОЧНЫХ ЭФФЕКТОВ ГЛЮКОКОРТИКОИДОВ

Е.С. Лылова¹, А.В. Савинкова^{1,2}, Е.М. Жидкова¹, К.И. Кирсанов^{1,3},
М.Г. Якубовская¹, И.В. Будунова⁴, Е.А. Лесовая^{1,5}

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

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

ГБУЗ МКНЦ имени А.С. Логинова ДЗМ, г. Москва, Россия²

Россия, 111123, г. Москва, ш. Энтузиастов, 86²

ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», г. Москва, Россия³

Россия, 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6³

Northwestern University, Chicago, USA⁴

USA, IL 60611, Chicago, East Chicago Ave, 303⁴

ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет» Минздрава России,

г. Рязань, Россия⁵

Россия, 390026, г. Рязань, ул. Высоковольтная, 9⁵

Аннотация

Глюкокортикоиды (ГК) являются неотъемлемым компонентом терапии лейкозов и лимфом на протяжении нескольких десятков лет. Их специфическое цитотоксическое действие на трансформированные лимфобласты обуславливает применение данных препаратов как при индукции ремиссии, так и в ходе дальнейшего лечения. Однако одной из проблем, осложняющих длительное применение ГК, является развитие атрофических и метаболических побочных эффектов, а также резистентности. Биологические эффекты ГК реализуются посредством активации глюкокортикоидного рецептора (GR) по двум механизмам: транскрепрессии (TR), обуславливающей терапевтическое действие ГК, и трансаактивации (TA), опосредующей развитие побочных эффектов. В частности, с индукцией трансаактивации связано увеличение экспрессии ГК-зависимого гена *REDD1*, ассоциированного с ГК-индуцированной атрофией кожного покрова, мышечной и костной ткани. В связи с этим актуальным является поиск потенциальных ингибиторов экспрессии *REDD1* и изучение их эффектов в комбинации с ГК на моделях лейкозов и лимфом. Ранее нами с помощью биоинформатического анализа был отобран ряд препаратов класса модуляторов сигнального пути PI3K/Akt/mTOR. Данные лекарственные средства оказались эффективными ингибиторами экспрессии гена *REDD1*, модулировали активность GR, усиливая транскрепсию, а также предотвращали развитие ГК-индуцированных побочных эффектов у мышей. В представленной работе изучены эффекты потенциальных ингибиторов экспрессии *REDD1*, соединений других фармакологических групп, эметина и CGP-60474 на клетки лейкозов и лимфом совместно с ГК. Было отмечено противоопухолевое действие соединений *in vitro*, снижение экспрессии генов, ассоциированных с TA, и усиление TR. В связи с этим дальнейшее изучение противоопухолевых эффектов ингибиторов экспрессии *REDD1* эметина и CGP-60474 является перспективным направлением исследований.

Ключевые слова: глюкокортикоиды, глюкокортикоидный рецептор, лимфомы, лейкозы, *REDD1*, эметин, CGP-60474.

INHIBITION OF *REDD1* EXPRESSION FOR THE REDUCTION OF GLUCOCORTICOID-INDUCED SIDE EFFECTS

E.S. Lylova¹, A.V. Savinkova^{1,2}, E.M. Zhidkova¹, K.I. Kirsanov^{1,3},
M.G. Yakubovskaya¹, I.V. Budunova⁴, E.A. Lesovaya^{1,5}

N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Moscow, Russia¹
24, Kashirskoe shosse, 115478-Moscow, Russia. E-mail: e.s.lylova@gmail.com¹
Loginov Moscow Clinical Scientific Center, Moscow, Russia²
86, Entuziastov Street, 111123-Moscow, Russia²
RUDN University, Moscow, Russia³
6, Miklukho-Maklaya Street, 117198-Moscow, Russia³
Northwestern University, Chicago, USA⁴
303, East Chicago Ave, Chicago, IL 60611, USA⁴
I.P. Pavlov Ryazan State Medical University, Ryazan, Russia⁵
9b, Vysokovoltynaya Street, 390026-Ryazan, Russia⁵

Abstract

Glucocorticoids (GC) have been an integral component of the treatment of leukemias and lymphomas for several decades. Specific cytotoxic effect of GC on transformed lymphoblasts mediates their use at the stage of the remission induction as well as consolidation of treatment. However, the main problem of the long-term GC use is the development of atrophic and metabolic side effects as well as GC resistance. The biological effects of GC are realized via activation of the glucocorticoid receptor (GR) by two mechanisms: transrepression (TR) associated with the therapeutic effects of GC, and transactivation (TA), which mediates the development of metabolic and atrophic complications. It was demonstrated that an increase in the expression of the GC-dependent gene *REDD1* associated with GC-induced skin, muscle and bone atrophy of the skin, muscle and bone tissue was realized via the induction of transactivation. Therefore, identification of potential inhibitors of *REDD1* expression and study of their biological effects in combination with GC in models of leukemia and lymphoma is of particular interest. In our recent study we have selected a number of drugs from the class of PI3K/Akt/mTOR modulators using bioinformatic screening. These drugs effectively inhibited *REDD1* expression, modulated GR activity and shifted it towards transrepression, and prevented the development of GC-induced side effects in mice. Here we aimed to study the effects of potential inhibitors of *REDD1* expression from different pharmacological groups, the compounds Emetine and CGP-60474, on leukemia and lymphoma cells in combination with GC. We demonstrated antitumor effect of the compounds *in vitro*, a decrease in the expression of TA-associated genes and an increase in TR induction. Further studies of the antitumor effects of *REDD1* expression inhibitors (Emetine and CGP-60474) is a promising area of research.

Key words: glucocorticoids, glucocorticoid receptor, lymphoma, leukemia, *REDD1*, Emetine, CGP-60474.

Введение

Глюкокортикоиды (GC) широко используются в терапии лейкозов и лимфом, однако их длительное применение проблематично. Одним из недостатков, снижающих терапевтическую эффективность глюкокортикоидов, является развитие побочных эффектов: остеопороза, атрофии кожного покрова и мышечной ткани, нарушения образования жировой ткани, гипергликемии, резистентности к инсулину, гипертонии. Данные осложнения могут сохраняться спустя годы после лечения и существенно ухудшать качество жизни пациентов. Другим недостатком GC как терапевтических агентов является глюкокортикоидная резистентность, которая развивается при лечении не только онкологических заболеваний, но и астмы, хронической обструктивной болезни легких, сепсиса [1, 2]. Реализация биологического действия GC осуществляется посредством активации глю-

кокортикоидного рецептора (GR). Терапевтические эффекты GC обусловлены активацией механизма транспрессии (TR), белок-белковым взаимодействием GR с рядом про-пролиферативных транскрипционных факторов (CCND2, ALOX5AP), что подавляет их активность и снижает жизнеспособность опухолевой клетки. Побочные эффекты обусловлены запуском трансактивации (ТА) – взаимодействия димеров GR с GC-респонсивными элементами ДНК и запуском транскрипции анти-апоптотических и про-пролиферативных генов (GILZ, FKBP51) [3, 4] (рис. 1).

Отдельную роль в реализации GC-опосредованных метаболических и атрофических нарушений играет ген *REDD1*, консервативный GR-зависимый ген, белковый продукт которого ингибирует пролиферативный комплекс mTOR [5, 6]. Повышение экспрессии *REDD1* коррелирует с развитием кожной и мышечной атрофии и остео-

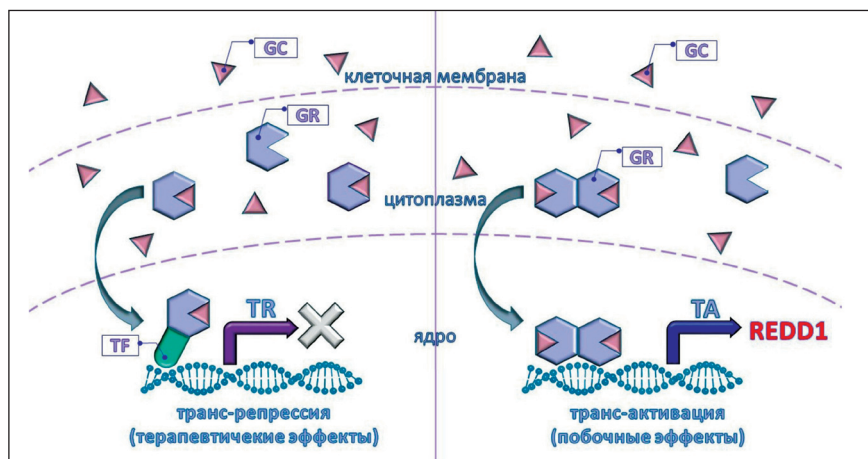


Рис. 1. Механизмы действия глюкокортикоидного рецептора. Примечание: GC – глюкокортикоид, GR – глюкокортикоидный рецептор, TF – транскрипционный фактор, TR – транспрессия, TA – транс-активация
Fig. 1. Mechanisms of action of a glucocorticoid receptor. Note: GC – glucocorticoid, GR – glucocorticoid receptor, TF – transcription factor, TR – transrepression, TA – transactivation

пороза, а ингибирование экспрессии, напротив, препятствует развитию побочных эффектов [2]. В наших предыдущих исследованиях с помощью биоинформатического анализа на основании идеи перепрофилирования лекарственных средств был отобран ряд соединений класса модуляторов сигнального пути PI3K/Akt/mTOR в качестве потенциальных ингибиторов экспрессии *REDD1*: рапамицин, вортманнин, LY294002, AZD8055 и ряд других [7, 8]. В экспериментах *in vivo* была показана способность рапамицина снижать степень стероид-индуцированной атрофии, не влияя в то же время на терапевтический противовоспалительный эффект глюкокортикоидов [7].

В данной работе с помощью биоинформатического скрининга были отобраны новые перспективные ингибиторы экспрессии *REDD1*, не относящиеся к классу ингибиторов PI3K/Akt/mTOR: антипротозойное средство эметин и ингибитор протеинкиназы C CGP-60474 (рис. 2).

Цель исследования – изучение влияния потенциальных ингибиторов экспрессии гена *REDD1* на биологические эффекты GC на моделях лейкоза и лимфомы.

Материал и методы

Клеточные культуры. Клеточные линии острого лимфобластного лейкоза СЕМ и мантийноклеточной лимфомы Granta культивировали в стандартной среде RPMI (ПанЭко, Россия), содержащей 10 % эмбриональную сыворотку телят,

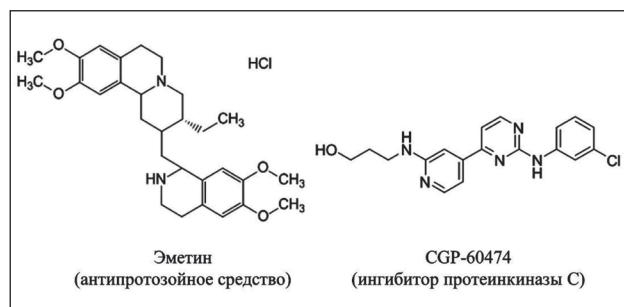


Рис. 2. Структурные формулы эметина и CGP-60474
Fig. 2. Structural formulas of Emetine and GGP-60474

L-глутамин (2 мМ), пируват натрия (2,5 мМ), пенициллин (50 ед/мл) и стрептомицин (50 ед/мл) («ПанЭко», Россия) при 37 °C в атмосфере 5 % CO₂.

Обработка клеток. Клетки рассаживали в планшеты и культивировали сутки при 37 °C и при 5 % содержании CO₂. Далее проводили обработку эметин или CGP-60474 (1 мкМ), по прошествии 6 ч проводили обработку дексаметазоном (10 мМ).

Оценка жизнеспособности клеток. Оценку жизнеспособности клеток после воздействия веществ определяли методом прямого подсчета клеток в камере Горяева. Клетки рассаживали в 24-луночные планшеты (25000 кл/мл) и обрабатывали, как описано ранее. Подсчет клеток проводили каждые 48 ч.

Вестерн-блоттинг. Клетки отделяли от среды центрифугированием, промывали PBS. Лизис клеток проводили в буфере RIPA с добавлением ингибитора протеиназ. Лизат отделяли центрифугированием. Белки разделяли методом вертикального электрофореза в полиакриламидном геле в Tris-глициновом буфере с 1 % SDS. Перенос на нитроцеллюлозную мембрану осуществляли мокрым способом. Для предотвращения неспецифической сорбции мембраны инкубировали с 5 % раствором обезжиренного молока в PBS, затем проводили гибридизацию с первичными антителами к PARP (Santa Cruz Biotechnology, USA). В качестве контроля загрузки проводили гибридизацию с антителами к глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназе (Abcam, US). Далее проводили гибридизацию с вторичными антителами (Abcam, US). Белки проявляли, нанося на мембрану реагент для проявления на основе люминола. Количественный анализ проводился путем денситометрического сканирования.

Проточная цитофлуориметрия. Клетки высевали в 6-луночный планшет в концентрации 100 тыс. клеток/луночка и инкубировали 1 сут. Затем клетки обрабатывали 1 мкМ эметина или CGP-60474, 10 мМ Dex, их комбинацией или растворителем, инкубировали в течение 24 ч. Затем

клетки отделяли от среды центрифугированием, отмывали центрифугированием в холодном PBS. Далее к клеткам добавляли 50 мкл холодного PBS и фиксировали 70 % EtOH 1 ч при 4 °C. Фиксированные клетки отмывали от спирта центрифугированием, ресуспендировали осадок в РІ-буфере. Полученные образцы анализировали на проточном цитофлуориметре FACSCalibur (Becton Dickinson and Company, США).

Количественная ПЦР-амплификация (Q-PCR). Для получения кДНК проводили реакцию обратной транскрипции с использованием коммерческого набора («Синтол», Россия) по протоколу производителя. Затем к 2 нг кДНК добавляли по 500 нМ обратного и прямого праймеров (табл. 1) и по 18 мкл реакционной смеси, содержащей Eva Green Master Mix. Амплификацию проводили в следующем режиме: 95 °C, 10 мин (95 °C, 15 с; 72 °C, 30 с; 60 °C, 30 с) – 40 циклов. Детекцию результатов Q-PCR проводили при помощи флуоресцентного красителя EVA GREEN. Относительное изменение экспрессии, исследуемой мРНК, вычисляли методом $\Delta\Delta Ct$, где $\Delta\Delta Ct$ определяли путем вычитания среднего значения ΔCt для контрольного гена из ΔCt для экспериментальных образцов. Для каждого гена интереса ПЦР-анализ был проведен в трех повторях. Количество ПЦР-продуктов оценивали и нормализовали по количеству ПЦР-продукта рибосомного белка L27 (*Rpl27*).

Статистическая обработка данных. Все эксперименты выполнены в трех повторях. Средние значения и среднеквадратичные отклонения рассчитывали с помощью пакета программ Microsoft

Excel. Для определения статистической значимости выявленных различий использовали t-тест Стьюдента для средних.

Результаты

Первостепенной задачей в данной работе являлась оценка влияния исследуемых соединений на экспрессию *REDD1*. По результатам Q-PCR эметин и CGP-60474 статистически значимо снижали базальный и GC-индуцированный уровень экспрессии *REDD1*, что подтверждает их ингибирующее действие в отношении данного гена (табл. 2).

На следующем этапе было оценено влияние соединений на противоопухолевое действие GC *in vitro* путем оценки жизнеспособности клеток и индукции апоптоза. Цитотоксичность оценивали методом прямого подсчета клеток в камере Горяева. Для клеточной линии СЕМ наблюдали более выраженное снижение числа живых клеток, чем для линии Granta. На 6-е сут эксперимента количество жизнеспособных клеток обеих линий не превышало 2–5 %. Цитотоксический эффект эметина и CGP-60474 оценивали в двух концентрациях, однако дозозависимый эффект был слабо выражен. На клетках линии Granta наблюдали слабый кооперативный эффект эметина и CGP-60474 в комбинации с дексаметазоном (Dex) (рис. 3)

С помощью проточной цитофлуориметрии для линии Granta было показано увеличение SubG1-популяции клеток, что свидетельствует об индукции апоптоза. Эффект наблюдали как для ингибиторов экспрессии *REDD1* при индивидуальной обработке, так и при использовании их комбинации с

Таблица 1/Table 1

Последовательности праймеров для Q-PCR
Primer sequences for Q-PCR

Праймер/ Primer	Последовательность/Sequences	
	Прямой праймер	Обратный праймер
FKBP51	5'-gaatggtgaggaaacgccgat-3'	5'-tgccaagactaaagacaatggt-3'
GILZ	5'-cagcccgagccatgaacacc-3'	5'-cgcagaaccaccagggcct-3'
RPL27	5'-accgctaccccgcaagggtg-3'	5'-cccgtcgggccttgcgttta-3'
CCND2	5'-acctccgcagtgctccta-3'	5'-cccagccaagaacaggtcc-3'
REDD1	5'-tagcctttgggaccgtctcgt-3'	5'-caggttaagcgtgtcttctcgc-3'
ALOX5AP	5'-ttgcctttgagcgggtctac-3'	5'-gcctcacaaacaagtacatcagt-3'

Таблица 2/Table 2

Относительная экспрессия гена *REDD1* после обработки эметином (Em), CGP-60474 (CGP) и их комбинацией с дексаметазоном (Dex)

Fold change of *REDD1* expression after the treatment with Emetine, CGP-60474 and their combination with Dex

Клеточная линия/ Cell line	Ген/ Gene	Ctrl	Dex	Em	Em + Dex	CGP	CGP + Dex
Granta	<i>REDD1</i>	1 ± 0,01	1,90 ± 0,03 ^a	0,48 ± 0,04 ^a	0,67 ± 0,08 ^{a,b}	0,30 ± 0,05 ^a	0,41 ± 0,03 ^{a,b}
СЕМ		1 ± 0,01	3,73 ± 0,2 ^a	0,07 ± 0,008 ^a	0,03 ± 0,004 ^{a,b}	0,01 ± 0,001 ^a	0,01 ± 0,001 ^{a,b}

Примечание: ^a – статистически значимое различие по отношению к контролю, ^b – статистически значимое различие по отношению к Dex.

Note: ^a – statistically significant difference in relation to control, ^b – statistically significant difference in relation to Dex.

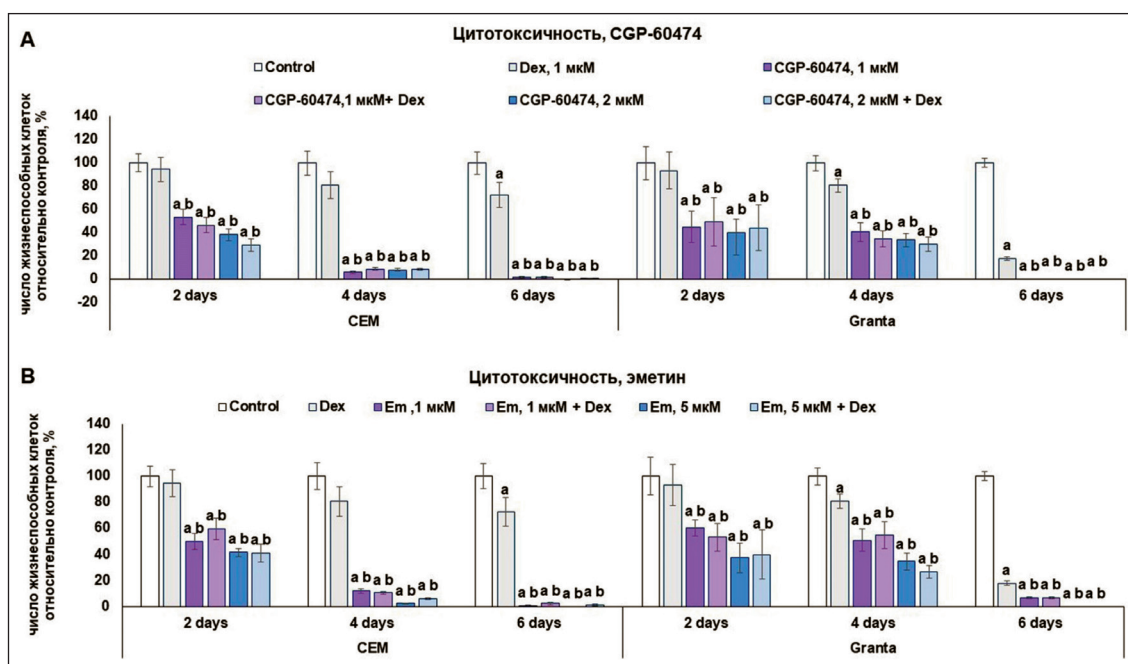


Рис. 3. Цитотоксический эффект ингибиторов экспрессии *REDD1* на клетки CEM и Granta.

Клетки культивировали в присутствии растворителя, дексаметазона (Dex, 10 мМ), CGP-60474 (А, 1 мкМ, 2 мкМ), эметина (В, 1 мкМ, 5 мкМ) или их комбинации. Оценку числа жизнеспособных клеток осуществляли каждые 2 дня методом прямого подсчета клеток. Данные представлены как $M \pm SD$ ($n=3$). Примечание: а – статистически значимое отличие от контроля, б – статистически значимое отличие от образцов, обработанных Dex ($p<0,05$)

Fig. 3. Cytotoxic effect of the inhibitors of *REDD1* expression on CEM and Granta cells. Cells were cultivated in the presence of solvent, Dex (10 mM), Emetine (А, 1 μ M, 5 μ M), CGP-60474 (В, 1 μ M, 2 μ M), or their combinations. The number of viable cells was evaluated every 2 days by direct cell counting. Data are presented as $M \pm SD$ ($n=3$). Note: a – a statistically significant difference from the control, b – a statistically significant difference from the samples treated with Dex ($p<0.05$)

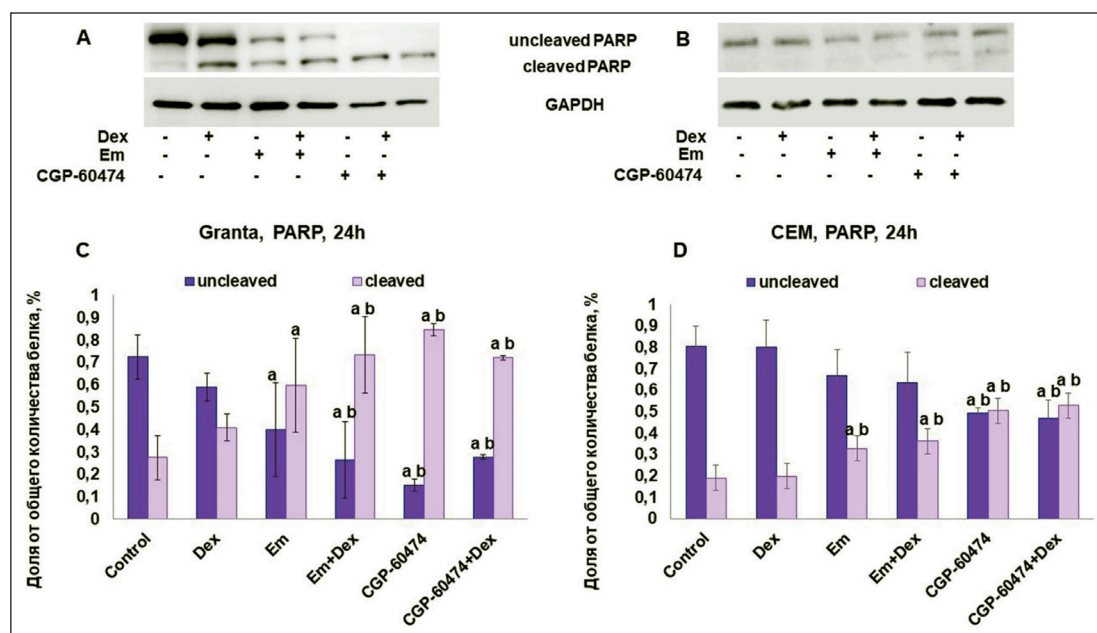


Рис. 4. Анализ индукции апоптоза в клетках линий Granta (А) и CEM (Б) после обработки ингибиторами экспрессии *REDD1* с помощью проточной цитофлуориметрии. Клетки культивировали в течение 24 ч в присутствии растворителя, дексаметазона (Dex, 10 мМ), эметина (1 мкМ), CGP-60474 (1 мкМ) или их комбинации. Уровень индукции апоптоза определяли методом проточной цитофлуориметрии с использованием окраски йодидом пропидия. Данные представлены как $M \pm SD$ ($n=3$). Примечание: а – статистически значимое отличие от контроля, б – статистически значимое отличие от образцов, обработанных Dex ($p<0,05$)

Fig. 4. Analysis of apoptosis induction in Granta (А) and CEM (Б) cells after the treatment of the inhibitors of *REDD1* expression using flow cytometry. Cells were cultured for 24 hours in the presence of a solvent, Dex (10 mM), Emetine (1 μ M), CGP-60474 (1 μ M), or their combinations. Apoptosis induction was determined by flow cytometry using propidium iodide staining. Data are presented as $M \pm SD$ ($n=3$). Note: a – a statistically significant difference from the control, b – a statistically significant difference from the samples treated with Dex ($p<0.05$)

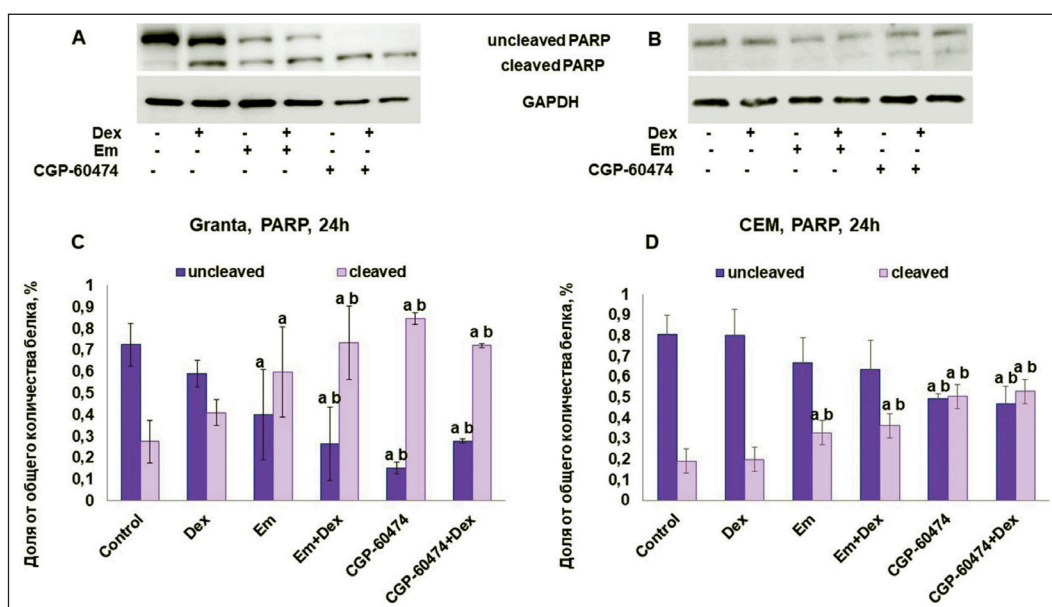


Рис. 5. Анализ индукции апоптоза в клетках линий Granta (A, C) и CEM (B, D) после обработки ингибиторами экспрессии *REDD1* по степени расщепления белка PARP. A, B – Вестерн блоттинг; C, D – денситометрический анализ интенсивности полос в долях единицы, анализ проводили с использованием программного обеспечения Image Quant для Windows

Fig. 5. Analysis of apoptosis induction in Granta (A, C) and CEM (B, D) cells after the treatment of the inhibitors of *REDD1* expression using PARP cleavage. A, B results of Western blot analysis; C, D – densitometry of the band intensity as relative units, densitometry was performed using Image Quant for Windows free software

Дex. Для комбинации эметин+Дex было отмечено статистически значимое отличие от эффекта, возникающего при обработке эметинем. Для клеточной линии только CEM тенденция к увеличению SubG1-популяции клеток была отмечена только для CGP-60474 и его комбинации с Dex (рис. 4). Индукция апоптоза оценивалась также с помощью Вестерн-блоттинга по расщеплению белка PARP1. Наблюдали увеличение фракции расщепленного PARP1 для обеих клеточных линий при обработке как только ингибиторами экспрессии *REDD1*, так и их комбинаций с Dex (рис. 5).

При оценке степени запуска механизма трансактивации (ТА) по результатам Q-PCR для клеточной линии Granta отмечали снижение

GC-индуцированного уровня экспрессии ТА-ассоциированных генов *GILZ* и *FKBP51* при обработке CGP-60474 индивидуально и его комбинацией с Dex. Для эметина снижение GC-индуцированной экспрессии данных генов было статистически незначимо. Для линии CEM под воздействием ингибиторов экспрессии *REDD1* показано снижение GC-индуцированного уровня экспрессии *GILZ* и *FKBP51*, однако для гена *GILZ* при обработке CGP-60474 этот показатель статистически не отличался от контроля.

Степень запуска механизма трансрепрессии (ТР) также оценивали с помощью Q-PCR. Снижение экспрессии маркера ТР, *ALOX5AP* отмечали как при обработке CGP-60474, так и в случае

Таблица 3/Table 3

Относительная экспрессия генов, ассоциированных с трансактивацией и трансрепрессией глюкокортикоидного рецептора после обработки ингибиторами *REDD1* и их комбинаций с дексаметазоном (Dex)

Fold change of the expression of TA- and TR-associated genes after treatment with *REDD1* inhibitors and their combination with Dex

Клеточная линия/ Cell line	Ген/ Gene	Ctrl	Dex	Em	Em + Dex	CGP	CGP + Dex
Granta	<i>GILZ</i>	1 ± 0,01	6,24 ± 0,5 ^a	1,80 ± 0,21 ^a	9,39 ± 0,72 ^{a, b}	1,60 ± 0,02 ^a	2,02 ± 0,31 ^{a, b}
	<i>FKBP51</i>	1 ± 0,001	2,39 ± 0,32 ^a	1,57 ± 0,13 ^a	2,72 ± 0,15 ^{a, b}	1,04 ± 0,005	1,08 ± 0,2 ^b
	<i>ALOX5AP</i>	1 ± 0,013	0,85 ± 0,04 ^a	0,73 ± 0,03 ^a	0,74 ± 0,04 ^a	0,32 ± 0,02 ^a	0,21 ± 0,03 ^{a, b}
CEM	<i>GILZ</i>	1 ± 0,01	8,87 ± 0,94 ^a	4,74 ± 0,52 ^a	7,54 ± 0,82 ^{a, b}	1,41 ± 0,15 ^a	12,88 ± 1,42 ^{a, b}
	<i>FKBP51</i>	1 ± 0,004	1,23 ± 0,30 ^a	1,17 ± 0,23	0,38 ± 0,05 ^{a, b}	0,76 ± 0,06 ^a	0,15 ± 0,01 ^{a, b}
	<i>CCND2</i>	1 ± 0,002	1,18 ± 0,12	0,10 ± 0,02 ^a	0,14 ± 0,01 ^{a, b}	0,10 ± 0,02 ^a	0,07 ± 0,003 ^{a, b}

Примечание: ^a – статистически значимое различие по отношению к контролю, ^b – статистически значимое различие по отношению к Dex.

Note: ^a – statistically significant difference in relation to control, ^b – statistically significant difference in relation to Dex.

эметина, однако для эметина эффект был менее выражен. В клетках линии СЕМ под воздействием ингибиторов *REDD1* было показано снижение экспрессии гена *CCND2*, также ассоциированного с TR (табл. 3).

Обсуждение

Поскольку фармакологические ингибиторы *REDD1* не описаны в литературе, ранее в нашей лаборатории в сотрудничестве с лабораториями И.В. Будуновой (Northwestern University, Чикаго, США) и Дж.Т. Дадли (госпиталь Маунт-Синай, Нью-Йорк, США) с использованием аналитической системы Connectivity Map (СМар) был проведен биоинформатический скрининг 1300 зарегистрированных и одобренных к использованию лекарственных препаратов различных классов [7]. Подобное перепрофилирование препаратов позволяет снизить стоимость исследований за счет отсутствия стадии разработки схем синтеза соединений и значительного сокращения стадии доклинических испытаний, необходимых для регистрации препарата и введения его в клиническую практику [9]. В ходе скрининга были отобраны соединения, для которых *REDD1* входил в 10 % генов, экспрессия которых падала наиболее выраженно. Так, был идентифицирован ряд предполагаемых ингибиторов *REDD1*, среди которых перспективными кандидатами являлись ингибиторы сигнального пути PI3K/Akt/mTOR рапамицин, LY294002, вортманнин, AZD8055 и др. [10]. Было показано, что данные соединения ингибируют как базальный, так и GC-индуцированный уровень белка и мРНК *REDD1*. Более того, было продемонстрировано, что модуляторы PI3K/Akt/mTOR вызывают ингибирование трансактивации GR и усиление транскрепции. В экспериментах *in vivo* была показана способность рапамицина снижать степень стероид-индуцированной атрофии, не влияя в то же время на терапевтический противовоспалительный эффект GC.

Новые потенциальные ингибиторы экспрессии *REDD1* были отобраны с помощью расширенной базы данных LINCS (The Library of Integrated Network-Based Cellular Signatures <http://lincsproject.org/LINCS/>). Среди 10 наиболее активных ингибиторов экспрессии *REDD1* нами для анализа были выбраны антипротозойное средство эметин и ингибитор протеинкиназы C – CGP-60474 [10].

Эметин является основным алкалоидом ипекакуаны, или рвотного корня – травянистого растения семейства Мареновых рода *Carapichea*. Он ингибирует синтез белка в эукариотических клетках путем необратимого блокирования движения рибосом вдоль цепи мРНК за счет ингибирования переноса пептидил тРНК из акцепторного в донорный сайт рибосомы [11]. В недавних исследованиях было показано, что эметин индуцирует апоптоз за счет повышения экспрессии генов проапоптотических

факторов (антагонист-киллер Bcl-2 (BAK1), каспаза 8, каспаза 9, ассоциированный с клеточной гибелью белок DAXX, гранзим В (GZMB)) и снижения экспрессии антиапоптотических генов (Bcl-xL, рецептор эпидермального фактора роста (EGFR), фактор некроза опухоли (TNF)) [12, 13]. По своей структуре эметин относится к флавоноидам изохинолинового ряда [14], что предполагает его потенциальное ингибирующее действие на пролиферативную активность опухолевых клеток [15]. Такой эффект дает возможность рассматривать эметин в качестве потенциального противоопухолевого средства. В настоящее время проводят исследования его противоопухолевой активности *in vitro* на клетках линий рака легкого и мочевого пузыря [16, 17].

Фениламинопиримидины, такие как 3-{4-[2-(3-хлорфениламино) пиримидин-4-ил] пиримидин-2-иламино} пропанол (CGP-60474), представляют собой перспективный класс ингибиторов протеинкиназы C с высокой степенью селективности, способный также конкурентно взаимодействовать с АТФ [18]. Были получены данные, что CGP-60474 является двойным ингибитором циклинзависимых киназ cdk1/cdk2 и запускает обратимую остановку клеточного цикла в G1/S фазах [18]. Таким образом, данный препарат также может быть рассмотрен в качестве потенциального противоопухолевого средства.

Выявленный цитотоксический и проапоптотический эффект соединений на культивируемые клетки в настоящее время принято рассматривать как противоопухолевую активность препарата в системе *in vitro*. Соответственно, исходя из полученных данных о снижении жизнеспособности и индукции апоптоза при обработке клеток лейкоза и лимфомы исследуемыми соединениями, мы можем говорить о противоопухолевом потенциале эметина и CGP-60474. Более того, в наших исследованиях было показано, что совместное использование GC с эметином и CGP-60474 не приводит к повышению жизнеспособности и подавлению проапоптотического действия, и, следовательно, возможно комбинированное использование данных препаратов в исследованиях *in vivo*.

Для оценки трансактивационного потенциала были выбраны гены *GILZ* и *FKBP51*, несущие в своих промоторах множественные GC-респонсивные элементы и являющиеся маркерами запуска процесса трансактивации. Для оценки транскрепторного потенциала были выбраны гены *ALOX5AP* для линии Granta и *CCND2* для линии СЕМ, экспрессия которых регулируется провоспалительными и про-пролиферативными факторами NF-kB, AP-1 и др. и снижается при обработке GC. По совокупности эффектов на вышеупомянутые гены было показано, что эметин и CGP-60474 препятствуют ТА, что способствует снижению интенсивности побочных эффектов при использовании

ГС. Однако действие соединений не затрагивает механизм TR, это позволяет предположить, что терапевтические эффекты ГС будут сохраняться в полном объеме. Совокупность биологических свойств соединений позволяет рекомендовать их дальнейшее исследование для включения в протоколы терапии лейкозов и лимфом, где проблема побочных эффектов при применении ГС стоит особенно остро.

Заключение

На модели лейкозов и лимфом получены данные, подтверждающие подавление базального и

ГС-индуцированного уровня экспрессии *REDD1* эметином и CGP-60474. Также показан противоопухолевый эффект эметина и CGP-60474 *in vitro*. Продemonстрировано, что оба исследуемых препарата модулируют функциональную активность GR, подавляя в той или иной степени запуск трансактивации, но не влияя или усиливая степень индукции трансрепрессии. Таким образом, данные соединения представляются перспективными для совместного применения с ГС и потенциально могут быть включены в схемы лечения злокачественных новообразований кроветворной системы для повышения их эффективности и безопасности.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Barnes P.J., Adcock I.M. Glucocorticoid resistance in inflammatory diseases. *Lancet*. 2009 May; 373(9678): 1905–17. doi: 10.1016/S0140-6736(09)60326-3.
2. Baida G., Bhalla P., Kirsanov K., Lesovaya E., Yakubovskaya M., Yuen K., Guo S., Lavker R.M., Readhead B., Dudley J.T., Budunova I. REDD1 functions at the crossroads between the therapeutic and adverse effects of topical glucocorticoids. *EMBO Mol Med*. 2015 Jan; 7(1): 42–58. doi: 10.15252/emmm.201404601.
3. Miller W.L., Auchus R.J. The molecular biology, biochemistry, and physiology of human steroidogenesis and its disorders. *Endocr Rev*. 2011; 32(1): 81–151. doi: 10.1210/er.2010-0013.
4. De Bosscher K., Beck I.M., Haegeman G. Classic glucocorticoids versus non-steroidal glucocorticoid receptor modulators: survival of the fittest regulator of the immune system? *Brain Behav Immun*. 2010 Oct; 24(7): 1035–42. doi: 10.1016/j.bbi.2010.06.010.
5. Lim H.W., Uhlenhaut N.H., Rauch A., Weiner J., Hübner S., Hübner N., Won K.J., Lazar M.A., Tuckermann J., Steger D.J. Genomic redistribution of GR monomers and dimers mediates transcriptional response to exogenous glucocorticoid in vivo. *Genome Res*. 2015 Jun; 25(6): 836–44. doi: 10.1101/gr.188581.114.
6. Sofer A., Lei K., Johannessen C.M., Ellisen L.W. Regulation of mTOR and cell growth in response to energy stress by REDD1. *Mol Cell Biol*. 2005 Jul; 25(14): 5834–45. doi: 10.1128/MCB.25.14.5834-5845.2005.
7. Lesovaya E., Agarwal S., Readhead B., Vinokour E., Baida G., Bhalla P., Kirsanov K., Yakubovskaya M., Platanius L.C., Dudley J.T., Budunova I. Rapamycin Modulates Glucocorticoid Receptor Function, Blocks Atrophogenic REDD1, and Protects Skin from Steroid Atrophy. *J Invest Dermatol*. 2018 Sep; 138(9): 1935–1944. doi: 10.1016/j.jid.2018.02.045.
8. Agarwal S., Mirzoeva S., Readhead B., Dudley J.T., Budunova I. PI3K inhibitors protect against glucocorticoid-induced skin atrophy. *EBio-Medicine*. 2019 Mar; 41: 526–537. doi: 10.1016/j.ebiom.2019.01.055.
9. Савинкова А.В., Жидкова Е.М., Тилова Л.Р., Лаврова М.Д., Лылова Е.С., Кузин К.А., Портянникова А.Ю., Максимова В.П., Холодова А.В., Власова О.А., Фетисов Т.И., Кирсанов К.И., Белицкий Г.А., Якубовская М.Г., Лесовая Е.А. Варианты и перспективы перепрофилирования лекарственных препаратов для использования в терапии онкологических заболеваний. *Сибирский онкологический журнал*. 2018; 17(3): 77–87. [Savinkova A.V., Zhidkova E.M., Tilova L.R., Lavrova M.D., Lylova E.S., Kuzin K.A., Portyannikova A.Yu., Maximova V.P.,
10. Kholodova A.V., Vlasova O.A., Fetisov T.I., Kirsanov K.I., Belitskiy G.A., Yakubovskaya M.G., Lesovaya E.A. Variants and perspectives of drug repurposing for cancer treatment. *Siberian journal of oncology*. 2018; 17(3): 77–87. (in Russian). doi: 10.21294/1814-4861-2018-17-3-77-87.
11. Lamb J., Crawford E.D., Peck D., Modell J.W., Blat I.C., Wrobel M.J., Lerner J., Brunet J.P., Subramanian A., Ross K.N., Reich M., Hieronymus H., Wei G., Armstrong S.A., Haggarty S.J., Clemons P.A., Wei R., Carr S.A., Lander E.S., Golub T.R. The Connectivity Map: using gene-expression signatures to connect small molecules, genes, and disease. *Science*. 2006 Sep; 313(5795): 1929–35. doi: 10.1126/science.1132939.
12. Akinboye E.S., Rosen M.D., Bakare O., Denmeade S.R. Anticancer activities of emetine prodrugs that are proteolytically activated by the prostate specific antigen (PSA) and evaluation of in vivo toxicity of emetine derivatives. *Bioorg Med Chem*. 2017 Dec 15; 25(24): 6707–17. doi: 10.1016/j.bmc.2017.11.015.
13. Akinboye E.S., Bakare O. Biological activities of emetine. *The Open Nat Prod J*. 2011; 4: 8–15. doi: 10.2174/1874848101104010008.
14. Boon-Ung K., Yu Q., Zou T., Zhou A., Govitrapong P., Zhou J. Emetine regulates the alternative splicing of Bcl-x through a protein phosphatase 1-dependent mechanism. *Chem Biol*. 2007 Dec; 14(12): 1386–92. doi: 10.1016/j.chembiol.2007.11.004.
15. Nomura T., Kutchan T.M. Three new O-methyltransferases are sufficient for all O-methylation reactions of ipecac alkaloid biosynthesis in root culture of *Psychotria ipecacuanha*. *J Biol Chem*. 2010 Mar 5; 285(10): 7722–38. doi: 10.1074/jbc.M109.086157.
16. Белицкий Г.А., Кирсанов К.И., Лесовая Е.А., Якубовская М.Г. Механизмы антиканцерогенного действия флавоноидов. *Успехи молекулярной онкологии*. 2014; 1(1): 56–68. [Belitskiy G.A., Kirsanov K.I., Lesovaya E.A., Yakubovskaya M.G. Mechanisms of carcinogenesis prevention by flavonoids. *Advances in Molecular Oncology*. 2014; 1(1): 56–68. (in Russian). doi: 10.17650/2313-805X.2014.1.1.56-68.
17. Möller M., Herzer K., Wenger T., Herr I., Wink M. The alkaloid emetine as a promising agent for the induction and enhancement of drug-induced apoptosis in leukemia cells. *Oncol Rep*. 2007 Sep; 18(3): 737–44.
18. Street E.W. Cyclophosphamide plus emetine in lung cancer. *Lancet*. 1972 Aug 19; 2(7773): 381–2. doi: 10.1016/s0140-6736(72)91771-0.
19. Meyuhas O. Ribosomal Protein S6 Phosphorylation: Four Decades of Research. *Int Rev Cell Mol Biol*. 2015; 320: 41–73. doi: 10.1016/bs.ircmb.2015.07.006.

Поступила/Received 26.03.2020
Принята в печать/Accepted 23.05.2020

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Лылова Евгения Сергеевна, лаборант-исследователь отдела химического канцерогенеза, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» (г. Москва, Россия). E-mail: e.s.lylova@gmail.com. SPIN-код: 2739-8808. ORCID: 0000-0001-6388-1624.

Савинкова Алена Валерьевна, младший научный сотрудник отдела химического канцерогенеза, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» (г. Москва, Россия). SPIN-код: 9805-7127. AuthorID (РИНЦ): 985189. Researcher ID (WOS): K-6838-2018. ORCID: 0000-0001-9664-0931.

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

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

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

Будунова Ирина Владимировна, MD, PhD, Associate Professor, Department of Dermatology, Feinberg School of Medicine, Northwestern University (Chicago, IL, USA). ORCID: 0000-0001-5880-6822.

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

ВКЛАД АВТОРОВ

Лылова Евгения Сергеевна: проведение экспериментов, составление черновика рукописи.

Савинкова Алена Валерьевна: проведение экспериментов, составление черновика рукописи.

Жидкова Екатерина Михайловна: проведение экспериментов, работа над иллюстрациями.

Кирсанов Кирилл Игоревич: проведение экспериментов, правка рукописи.

Якубовская Марианна Геннадиевна: разработка концепции научной работы, правка рукописи.

Будунова Ирина Владимировна: разработка концепции научной работы, правка рукописи.

Лесовая Екатерина Андреевна: разработка концепции научной работы, статистическая обработка, правка рукописи.

Информация о финансировании

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, грант № 17-75-20124.

Информация о конфликте интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Evgeniya S. Lylova, Laboratory Research Assistant, Department of Chemical Carcinogenesis, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology (Moscow, Russia). E-mail: e.s.lylova@gmail.com. ORCID: 0000-0001-6388-1624.

Alena V. Savinkova, Junior Researcher, Department of Chemical Carcinogenesis, N.N. Blokhin NMRCO (Moscow, Russia). Researcher ID (WOS): K-6838-2018. ORCID: 0000-0001-9664-0931.

Ekaterina M. Zhidkova, Junior Researcher, Department of Chemical Carcinogenesis, N.N. Blokhin NMRCO (Moscow, Russia). Author ID (Scopus): 57195322730. ORCID: 0000-0003-3318-9391.

Kirill I. Kirsanov, PhD, Head of Laboratory of Chemical Carcinogens, N.N. Blokhin NMRCO (Moscow, Russia). Researcher ID (WOS): L-3062-2015. ORCID: 0000-0002-8599-6833.

Marianna G. Yakubovskaya, MD, PhD, DSc, Head of Department of Chemical Carcinogenesis, N.N. Blokhin NMRCO (Moscow, Russia). Researcher ID (WOS): R-6984-2016. ORCID: 0000-0002-9710-8178.

Irina V. Budunova, MD, PhD, Associate Professor, Department of Dermatology, Feinberg School of Medicine, Northwestern University (Chicago, IL, USA). ORCID: 0000-0001-5880-6822.

Ekaterina A. Lesovaya, PhD, Senior Researcher, Department of Chemical Carcinogenesis, N.N. Blokhin NMRCO (Moscow, Russia). Researcher ID (WOS): J-7790-2015. ORCID: 0000-0002-1967-9637.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Evgeniya S. Lylova: experiments' performance, manuscript preparation and editing.

Alena V. Savinkova: experiments' performance, manuscript preparation and editing.

Ekaterina M. Zhidkova: experiments' performance, artwork preparation.

Kirill I. Kirsanov: experiments' performance, manuscript editing.

Marianna G. Yakubovskaya: design of the study, manuscript editing.

Irina V. Budunova: design of the study, manuscript editing.

Ekaterina A. Lesovaya: design of the study, statistical data processing, manuscript editing.

Funding

This work was supported by the Russian Science Foundation, grant No. 17-75-20124.

Conflict of interest

Authors declare lack of the possible conflicts of interests.

Для цитирования: Круглов С.С., Гельфонд М.Л., Тындык М.Л., Майдин М.А., Гришачева Т.Г., Басина Р.М., Губарева Е.А., Плахов Е.А., Киреева Г.С., Панченко А.В. Методические аспекты проведения фотодинамической терапии солидной карциномы Эрлиха у мышей линии BALB/C с различной локализацией опухоли. Сибирский онкологический журнал. 2020; 19(6): 82–92. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-6-82-92.

For citation: Kruglov S.S., Gelfond M.L., Tyndyk M.L., Maydin M.A., Grishacheva T.G., Basina R.M., Gubareva E.A., Plakhov E.A., Kireeva G.S., Panchenko A.V. Methodological aspects of photodynamic therapy of ehrlich solid carcinoma in BALB/C mouse strain with various tumor localization. Siberian Journal of Oncology. 2020; 19(6): 82–92. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-6-82-92.

МЕТОДИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПРОВЕДЕНИЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ СОЛИДНОЙ КАРЦИНОМЫ ЭРЛИХА У МЫШЕЙ ЛИНИИ BALB/C С РАЗЛИЧНОЙ ЛОКАЛИЗАЦИЕЙ ОПУХОЛИ

С.С. Круглов¹, М.Л. Гельфонд¹, М.Л. Тындык¹, М.А. Майдин¹,
Т.Г. Гришачева², Р.М. Басина³, Е.А. Губарева¹, Е.А. Плахов¹,
Г.С. Киреева¹, А.В. Панченко¹

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: stepkaspb93@mail.ru¹

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

Россия, 197022, г. Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 68²

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет»
Минздрава России, г. Санкт-Петербург, Россия³

Россия, г. Санкт-Петербург, 194100, ул. Литовская, 2³

Аннотация

Введение. Фотодинамическая терапия – один из методов лечения, применяемых в современной онкологии. Оценка эффективности фотосенсибилизаторов *in vivo* на моделях опухолей является общепринятой, однако методика проведения фотодинамической терапии у мышей не лишена недостатков.

Цель исследования – оценить эффективность фотодинамической терапии у мышей на модели опухоли Эрлиха при подкожной и внутрикожной инъекции опухолевых клеток. **Материал и методы.** Исследование проведено на мышах BALB/C обоего пола. В качестве фотосенсибилизаторов использовали препараты Фотодитазин и Радахлорин. Для фотоактивации применяли лазерный аппарат Алод с длиной волны 662 нм. **Результаты.** Проведено сравнение фотодинамической терапии при подкожной и внутрикожной локализации опухоли Эрлиха. Показано, что в зависимости от локализации и глубины инъекции опухоли Эрлиха в значительной степени различаются фармакокинетика (как интенсивность флуоресценции во времени, так и контрастность по отношению опухоль/окружающие ткани) и фармакодинамика (торможение роста опухоли, выживаемость животных) фотосенсибилизаторов. Большая контрастность опухоль/окружающие ткани наблюдается при внутрикожной локализации опухоли. **Заключение.** Модель с внутрикожной локализацией опухоли Эрлиха может быть рекомендована для первичной оценки эффективности и позволяет использовать меньшее число животных в эксперименте. При планировании экспериментов по изучению фотосенсибилизаторов и оценке их результатов должны учитываться преимущества и недостатки разных способов моделирования опухоли у мышей.

Ключевые слова: фотодинамическая терапия, опухоли Эрлиха, фотосенсибилизатор, модель, фотодитазин, радахлорин, мышь.

METHODOLOGICAL ASPECTS OF PHOTODYNAMIC THERAPY OF EHRLICH SOLID CARCINOMA IN BALB/C MOUSE STRAIN WITH VARIOUS TUMOR LOCALIZATION

S.S. Kruglov¹, M.L. Gelfond¹, M.L. Tyndyk¹, M.A. Maydin¹, T.G. Grishacheva², R.M. Basina³, E.A. Gubareva¹, E.A. Plakhov¹, G.S. Kireeva¹, A.V. Panchenko¹

FSBI «N.N. Petrov National Medical Research Centre of Oncology» Ministry of Public Health of Russian Federation, Saint-Petersburg, Russia¹

68, Leningradskaya Street, 197758-Saint-Petersburg, Russia. E-mail: stepkaspb93@mail.ru¹

Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Saint-Petersburg, Russia²

6-8, L'va Tolstogo Street, 197022-Saint-Petersburg, Russia²

Saint-Petersburg State Pediatric Medical University, Saint-Petersburg, Russia³

2, Litovskaya Street, 194100-Saint-Petersburg, Russia³

Abstract

Background. Photodynamic Therapy is one of the treatment methods used in modern oncology. Evaluation of the efficacy *in vivo* of photosensitizers on tumor models is generally accepted, but the photodynamic therapy technique in mice is not without drawbacks. **The purpose of the study was** evaluation of the efficacy of photodynamic therapy in mice with Ehrlich tumor model after subcutaneous and intracutaneous injection of tumor cells. **Material and Methods.** The study was conducted on BALB/C mice of both sexes. Fotoditazin® and Radachlorin® were used as photosensitizers. For photoactivation, the Alod laser apparatus with a wavelength of 662 nm was used. **Results.** A comparison of photodynamic therapy with subcutaneous and intracutaneous localization of Ehrlich tumor was performed. It was shown that depending on the location and depth of inoculation of Ehrlich tumor, the pharmacokinetics (both the fluorescence intensity over time and the contrast ratio of the tumor/surrounding tissue) and pharmacodynamics (tumor growth inhibition, survival) of photosensitizers are significantly different. Higher contrast of the tumor/surrounding tissue is observed with intracutaneous localization of the tumor. **Conclusion.** A model with intracutaneous localization of Ehrlich tumor can be recommended for a primary assessment of efficacy; it allows the use of fewer animals in the experiment. When planning experiments to study photosensitizers and evaluating their results, the advantages and disadvantages of different methods for modeling tumors in mice should be taken into account.

Key words: photodynamic therapy, Ehrlich tumor, photosensitizer, model, Fotoditazin, Radachlorin, mice.

Введение

Фотодинамическая терапия (ФДТ) – один из активно развивающихся методов лечения в онкологии. В соответствии с существующими рекомендациями по оценке эффективности фотосенсибилизаторов *in vivo* используются модели перевиваемых опухолей у мышей и крыс различного гистогенеза [1]. Опухоль Эрлиха (ОЭ) является одним из самых распространенных штаммов опухолей, используемых в моделировании опухолевого роста на лабораторных животных, и рекомендована для оценки фотосенсибилизаторов наряду с эпидермоидной карциномой легкого Льюис (LLC), меланомой B16 (B16), саркомой 37 (S37), карциномой толстой кишки C26 и альвеолярным раком печени (PC-1). При исследовании варьируют дозу фотосенсибилизатора и интервалы времени между его введением и световым воздействием. В качестве критериев эффективности используются излеченность животных (50–100 %), увеличение продолжительности жизни (от 50 % и более), торможение роста опухоли в течение 14–20 дней (не менее 80 %) [1]. Опухоль Эрлиха хорошо прививается мышам различных линий, обладает

высоким пролиферативным потенциалом, инвазивностью и способностью к метастазированию, не склонна к спонтанной регрессии у мышей различных линий [2]. Для стандартизации работы с животными рекомендуется инъекция опухолевых клеток на наружную поверхность бедра подкожно, сеанс ФДТ проводят на 6–7-й день после перевивки, когда размеры опухоли в диаметре достигают 0,4–0,6 см [1]. Несмотря на существующие критерии стандартизации при подкожной локализации опухоли, существует ряд недостатков, связанных с неравномерным распределением плотности мощности светового потока от поверхности опухоли к её глубоким зонам. Кроме этого, требуется большее число животных, чем необходимо для оценки, что связано с вариабельностью размеров, глубины прорастания и сроков формирования на месте инъекции опухолевых узлов. Подкожная локализация опухоли подразумевает пальпаторное определение границ опухолевого узла, имеет субъективный характер и при небольших размерах опухоли в 0,4–0,6 мм определенную степень ошибки определения. Для преодоления этих недостатков может быть использована инъекция опухолевых клеток

внутрикожно. В связи с этим нами проведено сравнительное исследование эффективности ФДТ у мышей на модели ОЭ при подкожной и внутрикожной инъекции опухолевых клеток.

Цель исследования – оценить эффективность фотодинамической терапии у мышей на модели опухоли Эрлиха при подкожной и внутрикожной инъекции опухолевых клеток.

Материал и методы

Исследование проведено на мышах обоего пола линии BALB/C. В течение эксперимента все животные находились в стандартных условиях содержания (12:12-часовой искусственный режим освещения, проточно-вытяжная вентиляция, t – 20–25 °C), получали комбинированный корм для лабораторных грызунов (ООО «Лабораторкорм») и питьевую воду *ad libitum*. Манипуляции с животными осуществлялись в соответствии с этическими принципами, установленными Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, использующихся в экспериментальных и прочих научных целях (Страсбург, 1986 г.). Эвтаназия животных проводилась при достижении опухоли размера 2 см в наибольшем измерении, полной анорексии в течение 24 ч, признаках кахексии, слабости/невозможности получения доступа к корму и воде [3, 4], а также в конце эксперимента методом ингаляции CO₂. День эвтаназии принимали за день гибели.

Асцитный штамм ОЭ (коллекция ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» МЗ РФ) размораживали и вводили внутрибрюшинно мышам, через 7 дней после введения асцитическую жидкость отбирали, вели контроль клеточности (в камере Горяева), готовили необходимое разведение в 0,9 % NaCl. За день до перевивки у мышей-реципиентов – депилировали участок кожи (кремом для депиляции). Вводили 5×10^5 клеток в объеме 0,2 мл при подкожной инъекции и 0,05 мл – при внутрикожной. Использовали инсулиновый шприц с иглой размером 29 G, срез иглы обращали к наружной поверхности кожи. Критерием, при котором мышь брали в эксперимент, считали достижение опухолью линейного размера 10 мм (с допустимым отклонением ± 10 %), что в среднем наступало при подкожной локализации через 7 дней, при внутрикожной – через 10 дней после инъекции опухолевых клеток. Такой размер опухоли был выбран для уменьшения погрешности, которая составила при измерениях разными лицами 10 %, а при меньших размерах опухоли – до 30 % (собственные данные).

День проведения ФДТ в группах был принят за нулевой. Время наблюдения за животными – 60 дней. Полученные данные оценивали по принятым показателям – излеченность животных (%), объем опухолевого узла (V, см³), торможение роста опухоли (T, %) и выживаемость [1].

В качестве фотосенсибилизаторов (ФС) были использованы Фотодитазин (ООО «Вета Гранд», Россия) и Радахлорин (ООО «РАДА-ФАРМА», Россия). Дозы фотосенсибилизаторов подбирали согласно общепринятому перерасчету с рекомендованной дозой у человека [5], по литературным данным [6–10] и результатам собственных предварительных экспериментов. Фотодитазин вводили внутривенно в дозах 20, 10 и 5 мг/кг за 2 и 4 ч до начала фотоактивации при подборе оптимальной дозы и в дозе 5 мг/кг за 4 ч до фотоактивации в основном эксперименте. Радахлорин вводили в дозе 10 мг/кг за 6 ч до начала фотоактивации внутривенно. До выполнения фотоактивации и на протяжении времени до полной деактивации ФС животные находились в затемненной комнате без доступа прямых солнечных лучей, чтобы исключить фотоповреждение.

Время до фотоактивации сильно различается у мышей [6–10], поэтому мы провели собственные исследования накопления ФС в тканях мышей. Для исследования накопления ФС была использована система неинвазивной визуализации флуоресценции – «Флуовизор» (ООО «Аткус», Россия). Длина волны возбуждения – 660 нм; регистрация флуоресценции в инфракрасном диапазоне длин волн. Оценку проводили через 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 и 24 ч после введения ФС.

Для фотоактивации проводили облучение лазером Алод (ООО «Алком медика», Россия) с длиной волны 662 нм. Лазерное излучение подвели световодом с линзой для наружного облучения (ООО «Полироник», Россия), которая формировала равномерное пятно в зоне воздействия диаметром от 10 до 20 мм в зависимости от размера опухоли. Мощность излучения составляла от 0,5 до 1,2 Вт, время – от 8 до 13 мин. Плотность энергии или доза энергии во всех экспериментах составила 300 Дж/см².

Статистическую обработку данных исследования выполняли с помощью программного обеспечения GraphPad Prism 7.0. Данные представляли в виде среднего значения и среднеарифметической ошибки. Для проверки гипотезы о нормальности распределения применяли критерий Шапиро–Уилка. Оценку различий в группах по количественным переменным проводили по *t*-критерию (Стьюдента). Анализ выживаемости проводили на основе процедуры Каплана–Мейера. При сравнении кривых выживаемости в группах применяли логранговый критерий. Все различия считали статистически значимыми при уровне значимости $p=0,05$.

Результаты

Проведена оценка оптимальной локализации опухоли на теле мыши и глубины её прививки (внутрикожно или подкожно). Внутрикожная инокуляция ОЭ в область спины оказалась неподходя-

Таблица 1/Table 1

Сравнение эффектов различных доз фотосенсибилизаторов и времени выполнения фотоактивации при разной локализации опухолей Эрлиха у мышей BALB/C
Comparison of the effects of different doses of photosensitizers and the time of photoactivation at different localization of Ehrlich tumor in BALB/C mice

Место перевивки, кол-во мышей/ Site of inoculation, number of mice	ФС (доза)/ Photosensitizer (dose)	Путь введения/ Way of introduction	Время до фотоактивации/ Time to photoactivation	Результат/ Result
Внутрикожно в правое бедро (n=5)/ Intracutaneous to the hip (n=5)	Фотодитазин (5 мг/кг)/ Fotoditazin (5 mg/kg)	Внутривенно/ IV	4 ч	Возможна оценка эффективности ФДТ/ Assessment of the efficacy of PDT is possible
Внутрикожно в области спины (n=6)/ Intracutaneous to the back (n=6)	Фотодитазин (20, 10, 5 мг/кг)/ Fotoditazin (20, 10, 5 mg/kg)	Внутривенно/ IV	2 ч	Гибель животных/ Assessment of the efficacy of PDT is possible ¹
Подкожно в область бедра (n=6)/ Subcutaneous to the hip (n=6)	Фотодитазин (5 мг/кг)/ Fotoditazin (5 mg/kg)	Внутривенно/ IV	4 ч	Возможна оценка эффективности ФДТ/ Assessment of the efficacy of PDT is possible
Подкожно в область живота (n=5)/ Subcutaneous to the abdomen (n=5)	Радахлорин (10 мг/кг)/ Radachlorin (10 mg/kg)	Внутрибрюшинно/ IP	6 ч	Гибель части животных, затруднена оценка ² / Decease of some animals, assessment is difficult ²
Подкожно в область бедра (n=8)/ Subcutaneous to the hip (n=8)	Радахлорин (10 мг/кг)/ Radachlorin (10 mg/kg)	Внутрибрюшинно/ IP	6 ч	Возможна оценка эффективности ФДТ/ Assessment of the efficacy of PDT is possible

Примечание: ¹ – эвтаназия в связи с двусторонним парезом задних конечностей, на вскрытии в печени выявлено крупное светлое пятно с четкой демаркационной линией; ² – макроскопически при аутопсии на правом нижнем крае печени обнаруживали крупное светлое пятно с четкими границами; рост ОЭ в данной локализации связан с прорастанием на грудную клетку, что затрудняет оценку размеров опухоли.

Note: ¹ – euthanasia due to bilateral hind limb paresis, an autopsy in the liver revealed a large bright spot with a clear demarcation line; ² – macroscopically, at autopsy, a large bright spot with clear margins was found on the lower right edge of the liver; the growth of Ehrlich in this localization is associated with spread on the chest, which makes it difficult to assess the size of the tumor.

Таблица 2/Table 2

Интенсивность флуоресценции Радахлорина в опухолевой ткани и контрастность по отношению к окружающим нормальным тканям во времени у самок и самцов мышей BALB/C с внутрикожной опухолью Эрлиха на бедре

Radachlorin fluorescence intensity in tumor tissue and contrast with respect to surrounding normal tissues over time in female and male BALB/C mice with intracutaneous Ehrlich tumor on the hip

Параметр/ Index	Пол/ Sex	Время после введения ФС, ч/Time after administration of photosensitizer, hours							
		2 ч	3 ч	4 ч	5 ч	6 ч	7 ч	8 ч	24 ч
Контрастность/ Contrast	Самки/ Female	1,35 ± 0,07	1,35 ± 0,17	1,72 ± 0,14	1,89 ± 0,06	1,92 ± 0,17	2,26 ± 0,05	2,45 ± 0,22	3,33 ± 0,13
	Самцы/ Male	1,34 ± 0,17	1,46 ± 0,28	1,76 ± 0,28	1,98 ± 0,27	2,12 ± 0,37	2,20 ± 0,38	2,44 ± 0,36	3,09 ± 0,33
	p*	0,97	0,68	0,87	0,71	0,59	0,87	0,98	0,47
Интенсивность, у.е./ Intensity, r.u.	Самки/ Female	**	**	4995 ± 529	5000 ± 353	4955 ± 354	5193 ± 628	4514 ± 600	3930 ± 359
	Самцы/ Male	**	**	4620 ± 925	5032 ± 733	4692 ± 908	4860 ± 939	4374 ± 83	3393 ± 642
	p*	**	**	0,68	0,96	0,76	0,72	0,73	0,42

Примечание: p* – статистическая значимость отличий локализации по критерию Стьюдента, ** – интенсивность флуоресценции была выше линейного предела определения.

Note: p* – statistical significance of localization differences by Student's test, ** – fluorescence intensity was above the linear limit of determination.

Таблица 3/Table 3

Интенсивность флуоресценции Радахлорина в опухолевой ткани и контрастность по отношению к окружающим нормальным тканям во времени после внутривенного и внутрибрюшинного введения у самцов и самок с внутрикожной опухолью Эрлиха на бедре

Radachlorin fluorescence intensity in tumor tissue and contrast with respect to surrounding normal tissues in time after intravenous and intraperitoneal administration in males and females with intracutaneous Ehrlich tumor on the hip

Параметр/ Index	Путь введения/ Administration route	Время после введения ФС, ч/Time after administration of photosensitizer, hours							
		2 ч	3 ч	4 ч	5 ч	6 ч	7 ч	8 ч	24 ч
Контрастность/ Contrast	Внутривенно/ IV	1,36 ± 0,07	1,21 ± 0,04	1,87 ± 0,19	1,96 ± 0,04	1,72 ± 0,21	2,20 ± 0,02	2,60 ± 0,36	3,34 ± 0,24
	Внутрибрюшинно/ IP	1,34 ± 0,12	1,45 ± 0,22	1,69 ± 0,19	1,91 ± 0,18	2,09 ± 0,24	2,25 ± 0,24	2,39 ± 0,24	3,21 ± 0,23
	p*	0,87	0,13	0,51	0,66	0,28	0,76	0,66	0,69
Интенсивность, у.е./ Intensity, r.u.	Внутривенно/ IV	**	**	5343 ± 958	4806 ± 602	4880 ± 659	5318 ± 1244	5292 ± 645	4239 ± 542
	Внутрибрюшинно/ IP	**	**	4692 ± 588	5081 ± 481	4849 ± 597	4985 ± 602	4185 ± 166	3559 ± 440
	p*	**	**	0,62	0,73	0,97	0,83	0,33	0,41

Примечание: p* – статистическая значимость отличий локализации по критерию Стьюдента, ** – интенсивность флуоресценции была выше линейного предела определения.

Note: p* – statistical significance of localization differences by Student's test, ** – fluorescence intensity was above the linear limit of determination.

Таблица 4/Table 4

Интенсивность флуоресценции Радахлорина в опухолевой ткани и контрастность по отношению к окружающим нормальным тканям во времени после его внутривенного введения при внутрикожной и подкожной локализации опухолей Эрлиха у мышей-самок и самцов на бедре

Radachlorin fluorescence intensity in tumor tissue and contrast with respect to surrounding normal tissues in time after intravenous administration in male and female mice grafted Ehrlich tumor with intracutaneous or subcutaneous localization on the hip

Параметр/ Index	Локализация/ Localization	Время после введения ФС, ч/Time after administration of photosensitizer, hours							
		2 ч	3 ч	4 ч	5 ч	6 ч	7 ч	8 ч	24 ч
Контрастность/ Contrast	Внутрикожная/ IC	1,35 ± 0,11	1,39 ± 0,20	1,73 ± 0,19	1,92 ± 0,16	2,00 ± 0,25	2,24 ± 0,21	2,44 ± 0,26	3,24 ± 0,22
	Подкожная/ SC	1,55 ± 0,25	1,33 ± 0,10	1,47 ± 0,29	1,59 ± 0,16	1,61 ± 0,12	1,58 ± 0,19	1,68 ± 0,23	1,34 ± 0,08
	p*	0,35	0,66	0,31	0,05	0,03	0,01	0,01	0,00
Интенсивность, у.е./ Intensity, r.u.	Внутрикожная/ IC	**	**	4854 ± 651	5012 ± 474	4857 ± 563	5068 ± 701	4462 ± 458	3729 ± 479
	Подкожная/ SC	**	**	5995 ± 958	5813 ± 241	4724 ± 466	4313 ± 422	4396 ± 288	1490 ± 278
	p*	**	**	0,20	0,02	0,77	0,13	0,83	0,00

Примечание: p* – статистическая значимость отличий локализации по критерию Стьюдента, ** – интенсивность флуоресценции была выше линейного предела определения.

Note: p* – statistical significance of localization differences by Student's test, ** – fluorescence intensity was above the linear limit of determination.

щей для проведения ФДТ, так как в течение суток наблюдалось развитие осложнений в виде двустороннего пареза задних конечностей и животные были подвергнуты эвтаназии (табл. 1). При аутопсии макроскопически определялись синюшность в зоне проведения ФДТ, эрозия опухоли, со стороны подкожно-жировой клетчатки наблюдалась синюшная кайма вокруг опухоли. Подлежащие мышцы спины в зоне ФДТ были гиперемизированы. Наблюдались выраженный отек стенки тонкой кишки почти на всем протяжении, плевральный серозный выпот и окраска легких серо-синюшного цвета. Подобные изменения свидетельствуют о неизбежном поражении тканей и системной воспалительной реакции, которая развивалась вне зависимости от дозы фотосенсибилизатора. Локализация ОЭ в области живота также не лишена недостатков, связанных с повреждением внутренних органов (печени) животного при проведении ФДТ. При прогрессировании опухолевого роста происходит распространение опухоли в область грудной клетки, что затрудняет оценку ее размеров (табл. 1). Наиболее оптимальной была перевивка опухоли в зону бедра, что согласуется с рекомендациями [1].

Оценка накопления фотосенсибилизаторов в тканях

Проводили сравнение накопления Радахлорина у самцов и самок мышей с внутрикожной ОЭ (табл. 2). На основании проведенной оценки интенсивности флуоресценции и контрастности к

окружающей опухоль ткани выбрана точка 6 ч для проведения фотоактивации, так как в дальнейшем значительного увеличения степени контрастности не происходит, а интенсивность флуоресценции снижается. Половых отличий не выявлено.

Оптимальное время проведения фотоактивации в случае Фотодитазина составляет 4 ч, когда наблюдаются наивысшая контрастность и интенсивность флуоресценции (данные не приведены), что согласуется с эмпирическим подбором в предварительных опытах (табл. 1).

Оценка интенсивности флуоресценции ФС может быть применена для определения оптимального пути введения (табл. 3). При внутривенном и внутрибрюшинном путях введения Радахлорина оптимальное время для проведения фотоактивации составило 6 ч. Статистически значимых отличий по интенсивности флуоресценции Радахлорина в опухолевой ткани, контрастности по отношению к окружающим нормальным тканям при двух путях введения не выявлено. Таким образом, у мышей могут быть использованы оба пути введения данного фотосенсибилизатора.

Проведено сравнение степени контрастности между опухолевой и окружающими нормальными тканями при различной глубине локализации ОЭ на бедре (табл. 4). Контрастность опухолевой ткани к нормальной значимо больше при внутрикожной локализации опухоли, по сравнению с подкожной, а интенсивность накопления ФС в опухолевой ткани, напротив, значимо больше при подкожной локализации опухоли, максимум наблюдается

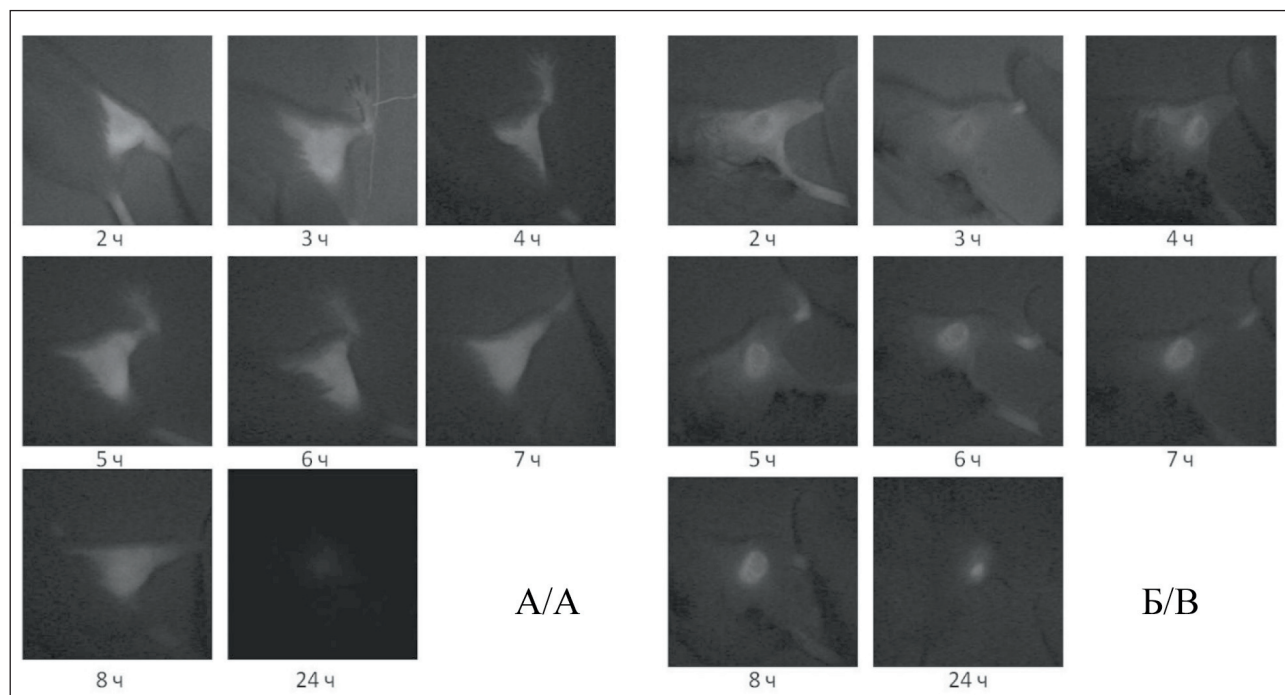


Рис. 1. Флуоресцентные изображения, полученные после внутривенного введения Радахлорина: А – при внутрикожной, Б – при подкожной локализации опухоли Эрлиха у мышей-самок на бедре

Fig. 1. Fluorescence images obtained after intravenous administration of Radachlorin: A – with intracutaneous, B – with subcutaneous localization of Ehrlich tumor in female mice on the hip

Таблица 5/Table 5

Результаты проведения фотодинамической терапии ОЭ при подкожной прививке в зону бедра у мышей

The results of photodynamic therapy of an Ehrlich tumor with subcutaneous inoculation on the hip in mice

Группа/ Group	Пара- метр/ Index	Дни после воздействия/Days after impact											
		0	2	5	9	12	16	19	23	26	30	40	58
Контроль/ Control	V	0,33 ± 0,17	0,58 ± 0,33	0,77 ± 0,40	1,82 ± 1,03	1,90 ± 0,81	1,92 ± 0,93	2,37 ± 1,30	3,06 ± 1,69	5,40 ± 0,33			
	N	13	13	13	13	11	8	6	6	2			
ФДТ (Фото- дитазин)/ PDT (Fotoditazin)	V	0,41 ± 0,24	0,64 ± 0,41	0,47 ± 0,54	1,37 ± 1,29	2,22 ± 1,34	2,92 ± 1,36	1,88 ± 1,67	1,88 ± 2,16				
	N	6	6	6	6	6	4	2	2				
ЛУЧИ/ Laser	TPO	-22 %	-10 %	39 %	25 %	-17 %	-52 %	21 %	39 %				
	V	0,36 ± 0,08	0,54 ± 0,18	0,59 ± 0,17	0,96 ± 0,31	1,63 ± 0,43	2,19 ± 0,50	3,49 ± 0,60	4,52 ± 0,70	6,00 ± 0,84			
	N	5	5	5	5	5	5	5	5	3			
	TPO	-7 %	8 %	23 %	47 %	14 %	-14 %	-47 %	-48 %	-11 %			
ФДТ (Радах- лорин)/ PDT (Radachlorin)	V	0,30 ± 0,10	0,76 ± 0,23	0,60 ± 0,12	0,50 ± 0,04*	0,42 ± 0,11*	0,38 ± 0,10*	0,48 ± 0,30*	0,69 ± 0,53	0,66 ± 0,55*	0,70 ± 0,60	0,65 ± 0,42	0,59 ± 0,59
	N	8	8	8	8	8	8	8	8	7	7	5	2 (1)
(Radachlorin)	TPO	9 %	-30 %	22 %	72 %	78 %	80 %	80 %	78 %	88 %			

Примечание: V – объем опухоли (среднее ± стандартная ошибка среднего), см³; N – число живых мышей, в скобках, если указано, число животных без опухолей; TPO – торможение роста опухоли, %; * – различия статистически значимы по сравнению с контрольной группой (p<0,05).

Note: V – tumor volume (mean ± standard error of mean), cm³; N – number of alive mice, in brackets, if indicated, number of animals without tumors; TGI – tumor growth inhibition, %; * – values statistically significant (p<0.05) differ from the corresponding values in the Control group.

Таблица 6/Table 6

Результаты проведения фотодинамической терапии ОЭ при внутрикожной прививке в зону бедра у мышей

The results of photodynamic therapy of an Ehrlich tumor with intracutaneous inoculation on the hip in mice

Группа/ Group	Пара- метр/ Index	Дни после воздействия/Days after impact											
		0	2	5	9	12	16	19	23	26	30	40	58
Контроль/ Control	V	0,20 ± 0,05	0,37 ± 0,08	0,54 ± 0,09	0,68 ± 0,15	1,18 ± 0,56	1,53 ± 0,54	1,64 ± 0,40	3,08 ± 0,89	2,55 ± 0,15			
	N	10	10	10	10	10	10	10	8	4			
ФДТ (Фото- дитазин)/ PDT (Fotoditazin)	V	0,16 ± 0,03	0,27 ± 0,08	0,33 ± 0,07*	0,29 ± 0,17*	0,31 ± 0,37*	0,50 ± 0,75*	0,39 ± 0,62*	0,49 ± 0,81*	0,00 ± 0,00*	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
	N	10	10	10	10	10	10	10(2)	10(8)	8(8)	8(8)	8(8)	8(8)
ЛУЧИ/ Laser	TPO	20%	27%	39%	57%	74%	67%	76%	84%	100%			
	V	0,16 ± 0,05	0,33 ± 0,11	0,37 ± 0,09*	0,47 ± 0,21	0,73 ± 0,50	1,14 ± 0,66	1,43 ± 0,57	2,35 ± 1,07	2,20 ± 0,89	0,53 ± 0,53	0	0
	N	10	10	10	10	10	10	10(1)	10(1)	7(1)	2(1)	(1)	(1)
	TPO	23%	10%	31%	30%	38%	26%	13%	23%	13%			
ФДТ (Радах- лорин)/ PDT (Radachlorin)	V	0,15 ± 0,04	0,31 ± 0,08	0,44 ± 0,08	0,56 ± 0,13	1,16 ± 0,61	1,45 ± 0,50	1,52 ± 0,52	2,83 ± 0,83	2,44 ± 0,27			
	N	10	10	10	10	10	10	9	9	3			
(Radachlorin)	TPO	25%	16%	19%	17%	2%	5%	8%	8%	4%			

Примечание: V – объем опухоли (среднее ± стандартная ошибка среднего), см³; N – число живых мышей, в скобках, если указано, число животных без опухолей; TPO – торможение роста опухоли, %; * – различия статистически значимы по сравнению с контрольной группой (p<0,05).

Note: V – tumor volume (mean ± standard error of mean), cm³; N – number of alive mice, in brackets, if indicated, number of animals without tumors; TGI – tumor growth inhibition, %; * – values statistically significant (p<0.05) differ from the corresponding values in the Control group.

через 5 ч после введения Радахлорина. При внутрикожной локализации опухоли интенсивность флуоресценции уменьшается медленнее, через 24 ч после введения она превышает более чем в 2 раза интенсивность флуоресценции подкожной опухоли (рис. 1). Таким образом, внутрикожная локализация опухоли обладает преимуществом в степени контрастности, что позволяет более избирательно воздействовать на опухоль.

Различия в накоплении фотосенсибилизаторов при подкожной и внутрикожной опухоли могут быть связаны с особенностями кровоснабжения. При гистологическом исследовании асцитный штамм, растущий внутрикожно, имеет солидное строение. Состоит из низкодифференцированных крупных полиморфных клеток с высокой степенью ядерной атипии, обладающих высокой митотической активностью. Площадь спонтанного некроза внутрикожной опухоли на 10-е сут после перевивки составляет $13,6 \pm 7,0 \%$, что значительно меньше, чем при подкожной ОЭ ($30 \pm 8,0 \%$, $p < 0,05$). В меньшей степени развита сосудистая сеть опухоли по сравнению с подкожной локализацией, что может быть преимуществом для оценки фотосенсибилизаторов и препаратов, механизм действия которых, не связан с сосудистым компонентом.

Существенным параметром, влияющим на количество используемых мышей в опыте, является вариация размеров опухоли и глубины прорастания в окружающие ткани. Так, при подкожной инъекции клеток ОЭ ко времени начала эксперимента вариация размеров опухоли достигает 60 %, а при подкожном – 38 %, что приводит к использованию дополнительных животных, которые будут «выбракованы» по критерию размера опухоли. По нашей оценке, количество выбраковываемых мышей при внутрикожной локализации опухоли около 5 %, а при подкожной – 25 %. Данное обстоятельство следует учитывать при выборе модели, соответствующей этическим принципам «трех R» (Replacement, Refinement, Reduction) [11].

Однако внутрикожная локализация опухоли при проведении ФДТ не лишена недостатков. Уже через сутки образуется плотный струп в месте воздействия, разрешающийся только к 16-м сут, что затрудняет оценку размеров регрессирующей/прогрессирующей опухоли.

Приведены результаты экспериментов с подкожной и внутрикожной локализацией ОЭ, которые позволяют провести сравнение использованных моделей (табл. 5, 6). Получены значительные различия при использовании Фотодитазина и Радахлорина при подкожной локализации ОЭ. ФДТ с Фотодитазином не оказала статистически значимого влияния по сравнению с контрольной

группой по таким параметрам, как выживаемость и ТРО (табл. 5). Применение фотосенсибилизатора 2-го поколения Радахлорина оказало более выраженный эффект на выживаемость животных, а излеченность животных достигла 13 %. При изменении способа прививки ОЭ с подкожного на внутрикожный эффективность ФДТ с Фотодитазином значительно возросла, излеченность животных достигла 80 % (табл. 6).

Проведение ФДТ при подкожной локализации опухоли в зоне бедра не лишено недостатков, связанных с течением раневого процесса. Так, у животных, излеченных от опухоли, наблюдались самоампутация конечности, тугоподвижность задней конечности, атрофия мышц бедра, что в ряде случаев требует выполнения эвтаназии животных по гуманным соображениям и, соответственно, ведет к потере информации об эффективности тестируемого фотосенсибилизатора.

Заключение

Оценка эффективности ФДТ с фотосенсибилизаторами может проводиться у мышей. При планировании экспериментов в зависимости от цели исследования следует учитывать ряд особенностей. Наилучшей локализацией опухоли у мышей следует считать область бедра, что хорошо согласуется с существующими рекомендациями [1]. Глубина прививки опухоли влияет на интенсивность флуоресценции ФС во времени и степени контрастности опухолевой и нормальной окружающей опухоль ткани, а, следовательно, влияет на выбор времени для проведения фотоактивации и на эффективность ФС. Для первичной оценки эффективности может быть рекомендована внутрикожная инъекция опухолевых клеток, а для сравнительной оценки с существующими ФС – подкожная. Оба метода не лишены ряда недостатков. Подкожная инъекция опухолевых клеток приводит к большей вариабельности формирующихся к определенному сроку опухолевых узлов по размеру и глубине прорастания, что требует отбора животных для эксперимента, т.е. ведет к потере части животных.

Для соблюдения принципов гуманного использования животных в экспериментах рассмотренные в статье особенности разных способов моделирования опухоли у мышей должны учитываться при планировании экспериментов по оценке эффективности новых фотосенсибилизаторов. Локализация опухоли при использовании перевиваемых моделей у мышей для оценки эффективности ФДТ оказывает влияние на фармакодинамику и фармакокинетику изучаемого фотосенсибилизатора и должна учитываться при оценке результатов.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Миронов А.Н., Бунатян Н.Д., Васильев А.Н., Верстакова О.Л., Жұравлева М.В., Лепакхин В.К., Коробов Н.В., Меркулов В.А., Орехов С.Н., Сакаева И.В., Утешев Д.Б., Яворский А.Н. Руководство по прове-

дению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. М., 2012. 944 с. [Mironov A.N., Bunatyan N.D., Vasil'ev A.N., Verstakova O.L., Zhuravleva M.V., Lepakhin V.K., Korobov N.V., Merkulov V.A., Orekhov S.N., Sakaeva I.V., Uteshev D.B., Yavorskii A.N. Guide-

lines for preclinical studies of drugs. Part one. Moscow, 2012. 944 p. (in Russian)].

2. Вершинина С.Ф., Стуков А.Н. Экспериментальные опухоли: Практическое руководство. СПб., 2008. 68 с. [Verzhinina S.F., Stukov A.N. Experimental tumors: A practical guide. St. Petersburg, 2008. 68 p. (in Russian)].

3. Herrmann K., Flecknell P. The application of humane endpoints and humane killing methods in animal research proposals: A retrospective review. *Altern Lab Anim*. 2018 Dec; 46(6): 317–333. doi: 10.1177/026119291804600606.

4. Workman P., Aboagye E.O., Balkwill F., Balmain A., Bruder G., Chaplin D.J., Double J.A., Everitt J., Farningham D.A., Glennie M.J., Kelland L.R., Robinson V., Stratford I.J., Tozer G.M., Watson S., Wedge S.R., Eccles S.A.; Committee of the National Cancer Research Institute. Guidelines for the welfare and use of animals in cancer research. *Br J Cancer*. 2010 May 25; 102(11): 1555–77. doi: 10.1038/sj.bjc.6605642.

5. Nair A.B., Jacob S. A simple practice guide for dose conversion between animals and human. *J Basic Clin Pharm*. 2016 Mar; 7(2): 27–31. doi: 10.4103/0976-0105.177703.

6. Иен Ч.Т.Х., Поздеев В.И., Меерович Г.А., Каршиева С.Ш., Борисова Л.М., Орлова О.Л., Оборотова Н.А. Липосомальная лекарственная форма фотодитазина. Российский биотерапевтический журнал. 2010; 9(2): 105–7. [Tran Thi Hai Yen, Pozdeev V.I., Meeroovich G.A., Karshieva S.Sh., Borisova L.M., Orlova O.L., Polozkova A.P., Ramenskaya G.V., Oborotova N.A. Chlorin derivatives in cancer photodynamic

therapy. *Russian Journal of Biotherapy*. 2010; 9(2): 105–7. (in Russian)].

7. Gavrina A.I., Shirmanova M.V., Aksenova N.A., Yuzhakova D.V., Snopova L.B., Solovieva A.B., Timashev P.S., Dudenkova V.V., Zagaynova E.V. Photodynamic therapy of mouse tumor model using chlorin e6-polyvinyl alcohol complex. *J Photochem Photobiol*. 2018; 178: 614–22. doi: 10.1016/j.jphotobiol.2017.12.016.

8. Mun S.T., Bae D.H., Ahn W.S. Epigallocatechin gallate with photodynamic therapy enhances anti-tumor effects in vivo and in vitro. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2014 Jun; 11(2): 141–7. doi: 10.1016/j.pdpdt.2014.03.003.

9. Kim Y.W., Bae S.M., Liu H.B., Kim I.W., Chun H.J., Ahn W.S. Selenium enhances the efficacy of Radachlorin mediated-photodynamic therapy in TC-1 tumor development. *Oncol Rep*. 2012 Aug; 28(2): 576–84. doi: 10.3892/or.2012.1820.

10. Ono B.A., Pires L., Nogueira M.S., Kurachi C., Pratavieira S. Subcellular localization and photodynamic activity of Photodithazine (glucosamine salt of chlorin e6) in murine melanoma B16-F10: an in vitro and in vivo study. *Proc. SPIE 10476, Optical Methods for Tumor Treatment and Detection: Mechanisms and Techniques in Photodynamic Therapy XXVII*. International Society for Optics and Photonics, 2018; 10476: 1047616.

11. Franco N.H., Sandoe P., Olsson I.A.S. Researchers' attitudes to the 3Rs-An upturned hierarchy? *PLoS One*. 2018 Aug 15; 13(8): e0200895. doi: 10.1371/journal.pone.0200895.

Поступила/Received 06.03.2020
Принята в печать/Accepted 13.05.2020

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Круглов Степан Сергеевич, научный сотрудник научной лаборатории канцерогенеза и старения, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). SPIN-код: 6856-4572. Researcher ID (WOS): AAE-7628-2020. ORCID: 0000-0003-1214-4637.

Гельфонд Марк Львович, доктор медицинских наук, старший научный сотрудник научного отделения торакальной онкологии, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). ORCID: 0000-0001-8697-6175.

Тындык Маргарита Леонидовна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник научной лаборатории канцерогенеза и старения, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). SPIN-код: 6349-0014. Author ID (Scopus): 6602634277. ORCID: 0000-0002-4755-9317.

Майдин Михаил Александрович, научный сотрудник научной лаборатории канцерогенеза и старения, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). Author ID (Scopus): 56184141100. SPIN-код: 6211-0035.

Гришачева Татьяна Георгиевна, младший научный сотрудник Центра лазерной медицины, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова (г. Санкт-Петербург, Россия). SPIN-код: 4170-4253. Author ID (Scopus): 57203639384. ORCID: 0000-0002-9515-914X.

Басина Раиса Михайловна, студент, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). ORCID: 0000-0002-2496-6139.

Губарева Екатерина Александровна, научный сотрудник лаборатории канцерогенеза и старения, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). SPIN-код: 5556-8242.

Плахов Евгений Александрович, научный сотрудник лаборатории канцерогенеза и старения, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). SPIN-код: 9455-2660.

Киреева Галина Сергеевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории канцерогенеза и старения ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). SPIN-код: 5643-6973. Author ID (Scopus): 56184283000. ORCID: 0000-0002-4732-5895.

Панченко Андрей Владимирович, кандидат медицинских наук, заведующий научной лабораторией канцерогенеза и старения, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). SPIN-код: 4741-1855. Author ID (Scopus): 51964396400. ORCID: 0000-0002-5346-7646.

ВКЛАД АВТОРОВ

Круглов Степан Сергеевич: разработка концепции и планирование научной работы, выполнение экспериментальной части исследования, анализ материалов исследования, составление черновика и оформление окончательного варианта статьи, утверждение публикуемой версии рукописи.

Гельфонд Марк Львович: планирование научной работы, критический пересмотр, анализ научной работы, окончательное утверждение публикуемой версии рукописи.

Тындык Маргарита Леонидовна: проведение экспериментальной части исследования, анализ материалов исследования, составление черновика рукописи, окончательное утверждение публикуемой версии рукописи.

Майдин Михаил Александрович: проведение экспериментальной части исследования, анализ материалов исследования, составление черновика рукописи, окончательное утверждение публикуемой версии рукописи.

Гришачева Татьяна Георгиевна: планирование научной работы, анализ материалов исследования, критический пересмотр научной работы, окончательное утверждение публикуемой версии рукописи.

Басина Раиса Михайловна: проведение экспериментальной части исследования, составление черновика рукописи, окончательное утверждение публикуемой версии рукописи.

Губарева Екатерина Александровна: проведение экспериментальной части исследования, анализ материалов исследования, составление черновика рукописи, окончательное утверждение публикуемой версии рукописи.

Плахов Евгений Александрович: проведение экспериментальной части исследования, составление черновика рукописи, окончательное утверждение публикуемой версии рукописи.

Киреева Галина Сергеевна: разработка концепции научной работы, планирование научной работы, проведение экспериментальной части исследования, анализ материалов исследования, оформление окончательного варианта статьи, утверждение публикуемой версии рукописи.

Панченко Андрей Владимирович: разработка концепции научной работы, проведение экспериментальной части исследования, анализ материалов исследования, составление черновика рукописи, окончательное утверждение публикуемой версии рукописи.

Финансирование

Исследование выполнено за счет гранта Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 18-315-00224).

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHOR

Stepan S. Kruglov, Researcher, Laboratory for Carcinogenesis and Aging, FSBI «N.N. Petrov National Medical Research Centre of Oncology» Ministry of Public Health of RF (St. Petersburg, Russia). E-mail: stepkaspb93@mail.ru. Researcher ID (WOS): AAE-7628-2020. ORCID: 0000-0003-1214-4637.

Mark L. Gelfond, MD, DSc, Senior Researcher, Department of Thoracic Oncology, FSBI «N.N. Petrov National Medical Research Centre of Oncology» Ministry of Public Health of RF (St. Petersburg, Russia). ORCID: 0000-0001-8697-6175.

Margarita L. Tyndyk, PhD, Senior Researcher, Laboratory for Carcinogenesis and Aging, FSBI «N.N. Petrov National Medical Research Centre of Oncology» Ministry of Public Health of RF (St. Petersburg, Russia). Author ID (Scopus): 6602634277. ORCID: 0000-0002-4755-9317.

Mikhail A. Maydin, Researcher, Laboratory for Carcinogenesis and Aging, FSBI «N.N. Petrov National Medical Research Centre of Oncology» Ministry of Public Health of RF (St. Petersburg, Russia). Author ID (Scopus): 56184141100.

Tatyana G. Grishacheva, Researcher, Laser Center, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University (St. Petersburg, Russia). Author ID (Scopus): 57203639384. ORCID: 0000-0002-9515-914X.

Raisa M. Basina, student, St. Petersburg State Pediatric Medical University of the Ministry of Healthcare of Russia (St. Petersburg, Russia). ORCID: 0000-0002-2496-6139.

Ekaterina A. Gubareva, Researcher, Laboratory for Carcinogenesis and Aging, FSBI «N.N. Petrov NMRC of Oncology» of Ministry of Healthcare of Russia (St. Petersburg, Russia).

Evgeny A. Plakhov, Researcher, Laboratory for Carcinogenesis and Aging, FSBI «N.N. Petrov National Medical Research Centre of Oncology» Ministry of Public Health of RF (St. Petersburg, Russia).

Galina S. Kireeva, PhD, Senior Researcher, Laboratory for Carcinogenesis and Aging, FSBI «N.N. Petrov National Medical Research Centre of Oncology» Ministry of Public Health of RF (St. Petersburg, Russia). Author ID (Scopus): 56184283000. ORCID: 0000-0002-4732-5895.

Andrey V. Panchenko, PhD, Head of the Laboratory for Carcinogenesis and Aging, FSBI «N.N. Petrov National Medical Research Centre of Oncology» Ministry of Public Health of RF (St. Petersburg, Russia). Author ID (Scopus): 51964396400. ORCID: 0000-0002-5346-7646.

AUTHOR CONTRIBUTION

Stepan S. Kruglov: study concept development and research planning, participation in the experimental part of the study, data analysis, draft and final manuscript preparation, approval of the final version of the manuscript.

Mark L. Gelfond: research planning, critical review and analysis of the scientific work, approval of the final version of the manuscript.

Margarita L. Tyndyk: participation in the experimental part of the study, data analysis, draft manuscript preparation, approval of the final version of the manuscript.

Mikhail A. Maydin: participation in the experimental part of the study, data analysis, draft manuscript preparation, approval of the final version of the manuscript.

Tatyana G. Grishacheva: research planning, data analysis and critical review, approval of the final version of the manuscript.

Raisa M. Basina: participation in the experimental part of the study, draft manuscript preparation, approval of the final version of the manuscript.

Ekaterina A. Gubareva: participation in the experimental part of the study, data analysis, draft manuscript preparation, approval of the final version of the manuscript.

Evgeny A. Plakhov: participation in the experimental part of the study, draft manuscript preparation, approval of the final version of the manuscript.

Galina S. Kireeva: study concept development and research planning, participation in the experimental part of the study, data analysis, final manuscript preparation, approval of the final version of the manuscript.

Andrey V. Panchenko: study concept development, participation in the experimental part of the study, data analysis, draft manuscript preparation, approval of the final version of the manuscript.

Funding

The study was supported by a grant from the Russian Foundation for Basic Research (project No. 18-315-00224).

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

Для цитирования: Соловьева О.И., Завьялов Е.Л., Теплякова Т.В., Лебедев Л.Р., Разумов И.А. Эффект экстракта мицелия *Duddingtonia Flagrans* на подкожные ксенографты клеток С33а карциномы шейки матки человека. Сибирский онкологический журнал. 2020; 19(6): 93–98. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-6-93-98.
For citation: Solovieva O.I., Zavjalov E.L., Teplyakova T.V., Lebedev L.R., Razumov I.A. Effect of the mycelium extract from *Duddingtonia Flagrans* fungus on subcutaneous xenograft of human C33a cervical carcinoma cells. Siberian Journal of Oncology. 2020; 19(6): 93–98. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-6-93-98.

ЭФФЕКТ ЭКСТРАКТА МИЦЕЛИЯ *DUDDINGTONIA FLAGRANS* НА ПОДКОЖНЫЕ КСЕНОГРАФТЫ КЛЕТОК С33а КАРЦИНОМЫ ШЕЙКИ МАТКИ ЧЕЛОВЕКА

О.И. Соловьева¹, Е.Л. Завьялов¹, Т.В. Теплякова², Л.Р. Лебедев²,
И.А. Разумов^{1,2}

ФГБУН ФИЦ «Институт цитологии и генетики» СО РАН, г. Новосибирск, Россия¹
Россия, 630090, г. Новосибирск, пр. Ак. Лаврентьева, 10. E-mail: solovieva@bionet.nsc.ru¹
Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора,
г. Новосибирск, Россия²
Россия, 630559, р. п., Кольцово²

Аннотация

Цель исследования – изучение противоопухолевого действия экстракта мицелия *Duddingtonia flagrans* (штамм F-882) на ксенографты карциномы шейки матки человека С33а. **Материал и методы.** Для оценки противоопухолевого действия использовали абсолютные значения объемов ксенографтов и рассчитывали показатели: торможение роста опухоли и индекс прироста опухоли. **Результаты.** На первом этапе эксперимента после 4 нед подкожных введений F-882 значение торможения роста опухоли составило 50,6 %, т. е. инъекции привели к почти двукратному замедлению роста опухолей в экспериментальной группе. На следующем этапе комбинированное введение, подкожное в течение 2,5 нед, а затем внутриопухолевое в течение 1,5 нед, также показало ингибирование роста ксенографтов, после окончания инъекций F-882 эффект замедления роста опухолей продолжался в течение 2,5 нед и показатель торможения роста опухоли составлял 58,7 %. **Заключение.** Впервые было выявлено, что экстракт мицелия F-882 способен оказывать интенсивное противоопухолевое действие на подкожные ксенографты карциномы шейки матки человека клеток С33а.

Ключевые слова: *Duddingtonia flagrans*, хищные грибы, С33а, карцинома шейки матки, злокачественные новообразования.

EFFECT OF THE MYCELIUM EXTRACT FROM *DUDDINGTONIA FLAGRANS* FUNGUS ON SUBCUTANEOUS XENOGRAFT OF HUMAN C33a CERVICAL CARCINOMA CELLS

O.I. Solovieva¹, E.L. Zavjalov¹, T.V. Teplyakova², L.R. Lebedev², I.A. Razumov^{1,2}

Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics, Siberian Division
of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia¹
10, Ak. Lavrentiev ave., 630090, Novosibirsk, Russia. E-mail: solovieva@bionet.nsc.ru¹
State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector», Novosibirsk, Russia²
630559, Koltsovo, Russia²

Abstract

The purpose of the study was to analyze the antitumor effects of the extract of mycelium from *Duddingtonia flagrans* (strain F-882) on xenografts of human C33a cervical cancer cells. **Material and Methods.** To evaluate the antitumor effect, we used the absolute values of xenograft volumes and calculated the tumor growth inhibition and the index of tumor growth. **Results.** At the first stage of the experiment, a 4-week subcutaneous injection of the water extract of F-882 resulted in an almost twofold slowdown in xenograft growth, with the tumor growth inhibition value of 50.6 %. In the second stage of the experiment, a 2.5-week subcutaneous injection followed by a 1.5-week intratumoral injection of F-882 also caused the tumor growth inhibition. After completing F-882 injections, the effect of tumor growth inhibition continued for 2.5 weeks and the tumor growth inhibition value was 58.7 %. **Conclusion.** The mycelium extract F-882 was shown to have an antitumor effect on subcutaneous xenografts of human C33a cervical carcinoma cells.

Key words: *Duddingtonia flagrans*, predatory fungi, C33a, cervical carcinoma, malignant tumors.

Проблема разработки новых препаратов для борьбы с онкологическими заболеваниями является актуальной. Согласно данным ВОЗ, в 2018 г. злокачественные новообразования (ЗНО) стали причиной смерти 9,6 млн человек, а рак шейки матки (РШМ) занимает второе место по распространенности среди ЗНО репродуктивной системы [1, 2].

Многолетний опыт человечества в использовании медицинских препаратов наряду с их преимуществами показал и их недостатки. Токсическое влияние цитостатических препаратов на нормальные органы и ткани обуславливает интерес к разработке новых лекарственных средств, основанных на природных соединениях [3]. Одним из перспективных источников лекарственного сырья являются грибы. Грибы содержат биологически активные вещества (БАВ), такие как полисахариды, гликопротеины, терпены, стеролы, пигменты и др., противоопухолевые эффекты которых уже были описаны [4–8]. По данным литературы, получаемые из грибов полисахариды могут опосредованно воздействовать на всю иммунную систему организма, а также обладать непосредственно цитотоксическим эффектом в отношении опухолевых клеток [4, 5, 9]. По мнению учёных, комплексы полисахаридов с белками можно рассматривать как новый тип противоопухолевых соединений [9].

Среди большого разнообразия грибов, обладающих выраженной биологической активностью, можно выделить группу «хищных» нематофаговых грибов. Для них характерно высокое содержание ферментов, а также антибиотиков [10]. Наиболее изученным представителем этой группы является *Duddingtonia flagrans*. В настоящей работе использовался штамм *D. flagrans* F-882 (далее – F-882), который был разработан как биологическое средство борьбы с фитопатогенными нематодами растений, а также паразитическими нематодами животных [11]. Водный и этанольный экстракты F-882 являются малотоксичными в системе *in vitro* [12]. Помимо этого, установлено, что F-882 обладает противовирусной активностью в отношении ВИЧ-1, вирусов гриппа человека и птиц типа А и

вируса осповакцины [13]. Эти свойства гриба, его относительная безопасность для животных [11] и, возможно, для человека, а также необходимость поиска новых кандидатных соединений для борьбы с онкологическими заболеваниями стали причиной изучения противоопухолевого эффекта F-882.

Целью исследования явилось изучение противоопухолевого действия экстракта мицелия *Duddingtonia flagrans* (штамм F-882) на ксенографты карциномы шейки матки человека C33a.

Материал и методы

Исследование выполнено на площадке ЦКП «SPF-виварий» Института цитологии и генетики СО РАН на животных SPF-статуса. В эксперименте были использованы бестимусные мыши линии SCID (SHO-*Prkdc^{scid}Hr^{hr}*) (самки), всего 21 животное. Все манипуляции проводили в соответствии с международными правилами работы с животными (European Communities Council Directive 86/609 EEC).

В работе использовали клеточную линию C33a карциномы шейки матки человека (ATCC HTB 31). Культуру клеток, хранящуюся в криобанке ЦКП «SPF-виварий» ИЦиГ СО РАН в жидком азоте, размораживали и культивировали 34 пассажа на среде DMEM/F12 1:1 с 10 % фетальной бычьей сыворотки (Invitrogen).

Для получения солидных опухолей животным подкожно вводили 100 мкл суспензии, содержащей 8×10^6 клеток, в область правой лопатки. В течение 2 нед наблюдали за ростом опухолевых узлов, при появлении характерных уплотнений измеряли линейные размеры штангенциркулем (Росинструмент, Россия) и высчитывали объём опухоли (V) по формуле [14]

$$V = (a \times b^2) \times 0,52,$$

где a – наибольший диаметр опухоли, b – наименьший диаметр опухоли.

Показатель торможения роста опухоли (ТРО) рассчитывали по формуле [15]

$$\text{ТРО (\%)} = (V_k - V_0) / V_k \times 100,$$

где V_k – средний объём опухоли в контрольной группе; V_o – средний объём опухоли в группе «F-882».

Также использовали показатель индекса прироста опухоли (ИПО), рассчитанный для каждого животного по формуле [16]

$$\text{ИПО} = V_i / V_o,$$

где V_i – объём опухоли в определённый день исследования; V_o – объём опухоли в первый день исследования (до введения препарата).

Для исследования использовали водный экстракт мицелия F-882, полученный из биомассы гриба, наработанной по методике глубинного культивирования [11]. Мицелиальную массу получали на основе штамма F-882, депонированного в Коллекции микроорганизмов ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор». Сухой экстракт растворяли в 10 мл воды для инъекций Bufus (Renewal, Россия), получая концентрацию по полисахаридам 7,8 мг/мл и по белкам 5,7 мг/мл.

Инъекции начинали на 13-е сут от инокуляции опухолевых клеток, когда объём ксенографтов составлял около 80 мм³. Объём введения на одну мышь составлял 200 мкл раствора (1,56 мг полисахаридов и 1,14 мг белков). Использовали 2 схемы, или протокола, лечения животных: в первом случае субстанцию вводили подкожно на протяжении 4 нед с интервалом 2–3 сут (всего 11 инъекций). Во втором варианте, с использованием других животных с ксенографтами С33а, первоначально F-882 вводили подкожно в область расположения ксенографта в течение 2,5 нед, а затем вводили интратуморально на протяжении 1,5 нед с тем же интервалом (всего 10 инъекций). Возможность внутриопухолевого введения была обусловлена наличием достаточно больших объёмов опухолей. Животным контрольных групп в том же объёме и по той же схеме вводили воду для инъекций.

Статистические различия оценивали при помощи пакета программ STATISTICA 10. Полученные результаты выражали как среднее ± ошибка среднего.

Результаты

На первом этапе эксперимента по окончании введения исследуемого экстракта отмечено практически двукратное замедление роста опухолей в группе «F-882» (рис. 1). После 11 инъекций экстракта значение ТРО составило 50,6 %, а значения ИПО составляли $16,79 \pm 3,24$ в опытной группе и $68,84 \pm 41,9$ в контрольной группе. Таким образом, было отмечено ингибирующее воздействие экстракта мицелия F-882 на рост опухолей, которое, однако, не было статистически достоверным.

На втором этапе эксперимента, при изменении схемы введения с подкожного на комбинированную (4 подкожных инъекции в область опухолевого

узла и 6 последующих введений в опухолевый узел) было обнаружено, что с 27-х сут от начала инъекций отличия в объёмах опухолей у животных из контрольной группы и группы «F-882» становились статистически значимыми (рис. 2).

Эффект введения F-882 на рост опухолевого узла далее сохранялся и усиливался до конца эксперимента. Показатель ТРО на 27-е сут составил 43,53 %. На 45-е сут (58-е сут от инокуляции опухолевых клеток) из эксперимента по биоэтическим нормам были выведены животные контрольной группы (n=6). На этот момент в группе «F-882» был зафиксирован максимальный терапевтический эффект со значением ТРО 58,7 %. Среднее значение ИПО контрольной группы на 45-е сут составляло $87,91 \pm 25,54$, при этом для группы «F-882» показатель был равен $38,47 \pm 9,5$. Таким образом, отличия средних объёмов опухолей в контрольной и опытной группе сохранялись достоверными на протяжении 2,5 нед после окончания инъекций исследуемой субстанции. Наблюдение за группой «F-882» было продолжено до 66-х (n=1), 72-х (n=2) и 87-х (n=3) сут от начала лечения (79-е, 85-е и 100-е сут от инокуляции опухолевых клеток). В указанные дни были зафиксированы максимально допустимые объёмы ксенографтов и осуществлена эвтаназия животных. На рис. 3 представлены фотографии животных из разных групп на 27-е сут от начала инъекций.

Впервые был обнаружен противоопухолевый эффект экстракта мицелия F-882 на подкожные ксенографты клеток С33а карциномы шейки матки человека. Полученные результаты показали, что комбинированное введение экстракта F-882 (подкожно и интратуморально) значительно замедляет рост ксенографтов даже после окончания инъекций. При этом показатель ТРО в период наблюдения последовательно увеличивался, изменившись со значения в 45,8 % до 58,7 % за 2,5 нед, что позволяет предположить накопительное действие исследуемого экстракта. Продолжительность жизни мышей, получавших F-882, была продлена на срок от 3 до 6 нед (индивидуально для каждого животного).

Обсуждение

Механизм противоопухолевого действия грибов довольно слабо изучен на данный момент. Существуют предположения о том, что БАВ грибов индуцируют экспрессию генов многих цитокинов, таким образом активизируя иммунную систему организма, оказывая протективное действие, без токсического воздействия на организм [16].

Непосредственно противоопухолевая активность экстракта мицелия F-882, возможно, связана с нарушением функций митохондрий, что приводит к снижению метаболизма и активации клеточной гибели. Данный факт, вероятно, указывает на единый механизм воздействия соединений из данного

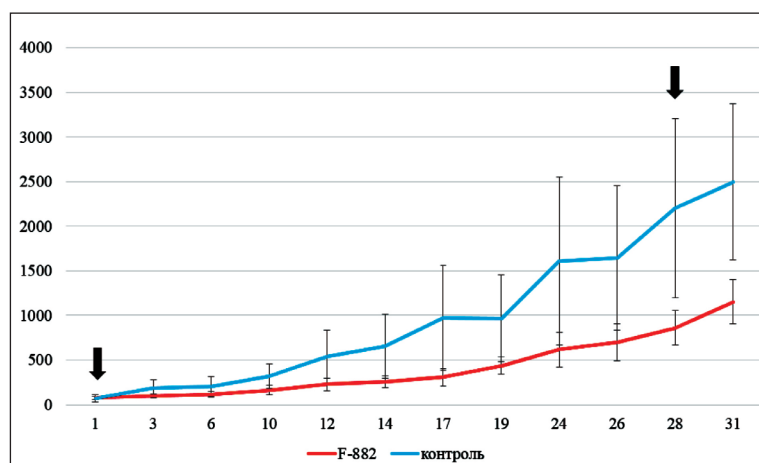


Рис. 1. Определение эффекта субстанции из мицелия F-882 на рост ксенографтов C33a у мышей SCID (подкожное введение). Примечание: по оси абсцисс представлены сут от начала инъекций, по оси ординат – средние объёмы ксенографтов в мм³; стрелками обозначены дни первой (1) и последней (28) инъекции препаратов; столбики представляют $\pm$ SE, n=3 (контроль), n=6 (F-882)

Fig. 1. Determination of the effects of the substance from mycelium F-882 on the growth of C33a xenografts in SCID mice (subcutaneous injection). Note: the abscissa axis represents the day after start of injections, and the ordinate axis represents the average xenograft volumes in mm³; the arrows indicate the days of the first (1) and last (28) days of injection of F-882 mycelium extract to animals; the bars represent $\pm$ SE, n=3 (control, blue curve), n=6 (experiment, red curve)

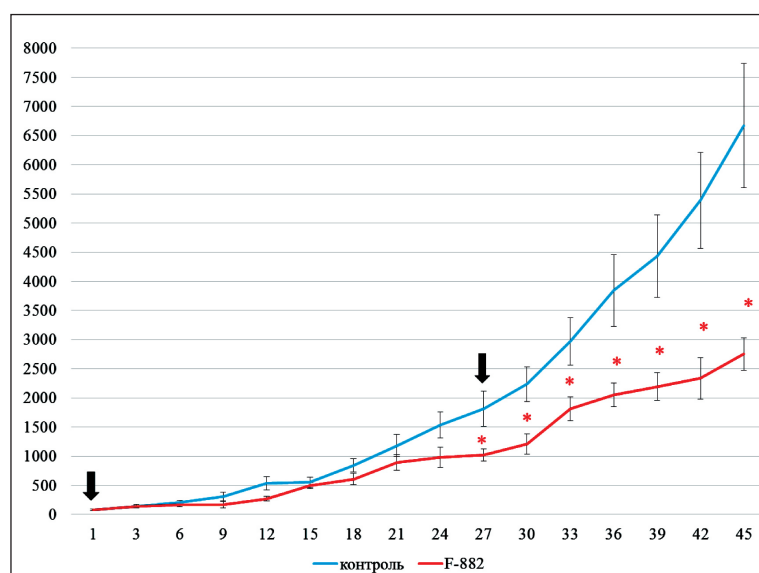


Рис. 2. Определение эффекта субстанции из мицелия F-882 на рост ксенографтов C33a у мышей SCID (комбинированное введение – подкожное и внутриопухолевое). Примечание: по оси абсцисс представлены сут от начала инъекций, по оси ординат – средние объёмы ксенографтов в мм³; стрелками обозначены дни первой (1) и последней (27) инъекции препаратов;

* – различия значимы по критерию Манна–Уитни при $p < 0,05$, столбики представляют $\pm$ SE, n=6 (контроль), n=6 (F-882)

Fig. 2. Determination of the effects of the substance from mycelium F-882 on the growth of C33a xenografts in SCID mice (combined injection – subcutaneous and intratumoral). Note: the abscissa axis represents the day after start of injections, and the ordinate axis represents the average xenograft volumes in mm³; the arrows indicate the days of the first (1) and last (27) days of injection of F-882 mycelium extract to animals; * – the differences are significant by the Man-Whitney at $p < 0.05$, bars represent $\pm$ SE, n=3 (control, blue curve), n=6 (experiment, red curve)

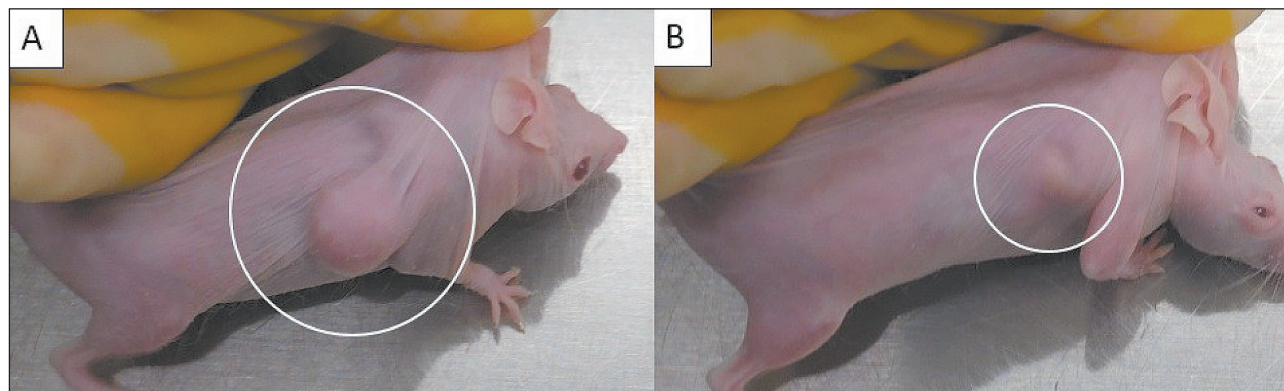


Рис. 3. Сравнение объёмов опухолей у животных из группы контроля (А) и группы «F-882» (В) на 27-е сут от начала инъекций, 40-е сут от инокуляции клеток C33a

Fig. 3. Comparison of tumor volumes in animals from the control (A) and «F-882» group (B) on the 27th day from the start of injection, 40 days from inoculation C33a

гриба на опухолевые клетки и вирусы. Наличие корреляции противоопухолевой и противовирусной активности соединений из грибов было показано в анализе исследований ГНЦ ВБ «Вектор» [9], а также публикаций российских и зарубежных авторов [17, 18]. Также предполагается влияние компонентов F-882 на уникальное метаболическое микроокружение опухолей, вносящее значительный вклад в процессы роста и метастазирования злокачественных образований [19, 20].

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Байрамова Г.Р., Файзуллин Л.З., Королькова А.И., Полозников А.А., Киселев В.И. Скрининг рака шейки матки: что нового в мировой практике. Акушерство и гинекология. 2016; 7: 17–21 [Bayramova G.R., Fayzullin L.Z., Korolkova A.I., Poloznikov A.A., Kiselev V.I. Cervical cancer screening: what's new in world practice. Obstetrics and Gynecology. 2016; 7: 17–21. (in Russian)].
2. World Health Organization. Global Health Observatory [Internet]. URL: https://www.who.int/health-topics/cancer#tab=tab_1. (cited 2020 May 03).
3. Ветчинкина Е.П., Широков А.А., Бучарская А.Б., Наволокин Н.А., Прилепский А.Ю., Буров А.М., Маслякова Г.Н., Никитина В.Е. Выявление противоопухолевой активности глубинного мицелия и плодовых тел базидиальных грибов. Успехи медицинской микологии. 2015; 14: 462–471. [Vetchinkina E.P., Shirokov A.A., Bucharskaya A.B., Navolokin N.A., Prilepsky A.Yu., Burov A.M., Maslyakova G.N., Nikitina V.E. Identification of antitumor activity of the deep mycelium and fruiting bodies of basidiomycetes. Successes of Medical Mycology. 2015; 14: 462–471. (in Russian)].
4. Liskova A., Kubatka P., Samec M., Zubor P., Mlynec M., Bielik T., Samuel S.M., Zulli A., Kwon T.K., Büsselberg D. Dietary Phytochemicals Targeting Cancer Stem Cells Molec. 2019; 24(5): 899. doi: 10.3390/molecules24050899.
5. Meng X., Liang H., Luo L. Antitumor polysaccharides from mushrooms: a review on the structural characteristics, antitumor mechanisms and immunomodulating activities. Carbohydrate Res. 2016; 424: 30–41. doi: 10.1016/j.carres.2016.02.008.
6. Chan J.S., Barseghyan G.S., Asatiani M.D., Wasser S.P. Chemical Composition and Medicinal Value of Fruiting Bodies and Submerged Cultured Mycelia of Caterpillar Medicinal Fungus *Cordyceps militaris* CBS-132098 (Ascomycetes). Int J Med Mushrooms. 2015; 17(7): 649–59. doi: 10.1615/intjmedmushrooms.v17.i7.50.
7. Sangdee K., Buranrat B., Jaihan P., Thongchai S., Sangdee A. Evaluation of Antibacterial and Anticancer Activities of the Medicinal Fungus *Ophiocordyceps sobolifera* (Ascomycetes) from Thailand. Int J Med Mushrooms. 2018; 20(5): 471–484. doi: 10.1615/IntJMedMushrooms.2018026247.
8. Wijesekara I., Zhang C., Van Ta Q., Vo T.S., Li Y.X., Kim S.K. Phytochemicals from marine-derived fungus *Microsporium* sp. induces apoptosis in human cervical carcinoma HeLa cells. Microbiol Res. 2014 Apr; 169(4): 255–61. doi: 10.1016/j.micres.2013.09.001.
9. Теплякова Т.В., Косогова Т.А., Бардашева А.В. Корреляция противовирусной и противоопухолевой активностей водных экстрактов из базидиальных грибов. Успехи медицинской микологии. 2014; 12: 348–352. [Teplyakova T.V., Kosogova T.A., Bardasheva A.V. Correlation of antiviral and antitumor activities of aqueous extracts of basidiomycetes. Successes of Medical Mycology. 2014; 12: 348–52. (in Russian)].
10. Buzatti A., de Paula Santos C., Fernandes M.A., Yoshitani U.Y., Sprenger L.K., dos Santos C.D., Molento M.B. Duddingtonia flagrans in the control of gastrointestinal nematodes of horses. Exp Parasitol. 2015 Dec; 159: 1–4. doi: 10.1016/j.exppara.2015.07.006.
11. Теплякова Т.В., Репин В.Е., Рябчикова Е.И., Свириденко А.Н. Штамм гриба *Duddingtonia flagrans*, проявляющий свойства против галловых нематод растений и паразитических нематод животных и стимулирующий рост и развитие растений. Патент № 2003114166/13. Дата регистрации: 13.05.2003. Дата публикации: 10.06.2005. [Teplyakova T.V., Repin V.E., Ryabchikova E.I., Sviridenko A.N. Fungi strain *Duddingtonia flagrans* with activity against plant gall nematode and

Заключение

Изучение свойств F-882 в отношении злокачественных опухолей человека представляется актуальным на основании полученных данных. Полученные результаты обуславливают необходимость дальнейших исследований роли компонентов F-882 в его фармакологической активности и выявления механизма противоопухолевого действия.

animal parasitic nematode, and stimulating of plant growth and development. Patent № 2003114166/13. Registration: 13.05.2003. Publication: 10.06.2005. (in Russian)].

12. Ибрагимова Ж.Б., Ананько Г.Г., Костина Н.Е., Теплякова Т.В., Мазуркова Н.А. Токсичность и противовирусная активность экстрактов глубинного мицелия нематофагового гриба *Duddingtonia flagrans* в культуре клеток Vero. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2015; 8: 212–14. [Ibragimova Zh.B., Ananko G.G., Kostina N.E., Teplyakova T.V., Mazurkova N.A. Toxicity and antiviral activity of deep mycelium extracts of the nematophagous fungus *Duddingtonia flagrans* in Vero cell culture. Bulletin of Experimental Biology and Medicine. 2015; 8: 212–14. (in Russian)].

13. Теплякова Т.В., Косогова Т.А., Мазуркова Н.А., Ибрагимова Ж.Б., Гашикова Н.М., Ананько Г.Г., Булычев Л.Е., Ставский Е.А. Противовирусное средство на основе штамма нематофагового гриба *Duddingtonia flagrans* F-882. Патент № 216.012.271В. Дата регистрации: 20.02.2013. Дата публикации: 20.02.2013. [Teplyakova T.V., Kosogova T.A., Mazurkova N.A., Ibragimova Zh.B., Gashnikova N.M., Ananko G.G., Bulychev L.E., Stavsky E.A. Antiviral agent based on a strain of the nematophagous fungus *Duddingtonia flagrans* F-882. Patent № 216.012.271B. Registration: 20.02.2013. Publication: 20.02.2013. (in Russian)].

14. Tomayko M.M., Reynolds C.P. Determination of subcutaneous tumor size in athymic (nude) mice. Cancer Chemother Pharmacol. 1989; 24(3): 148–54. doi: 10.1007/BF00300234.

15. Хабриев Р.У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. М., 2005. 832 с. [Khabriev R.U. Guidelines for experimental (preclinical) study of new pharmacological substances. Moscow, 2005. 832 p. (in Russian)].

16. Шамиян М.М., Галынкин В.А., Гарабаджия А.В., Петрищев Н.Н. Изучение иммуномодулирующей и противоопухолевой активности высших грибов. Российский биотерапевтический журнал. 2012; 11(2): 62. [Shamiyan M.M., Galynkin V.A., Garabadjia A.V., Petrishchev N.N. The study of immunomodulating and antitumor activity of higher fungi. Russian Biotherapeutic Journal. 2012; 11 (2): 62. (in Russian)].

17. Полковникова М.В., Носик Н.Н., Гараев Т.М., Кондрашина Н.Г., Финогенова М.П., Шибнев В.А. Изучение противогерпетических свойств экстрактов из березового гриба *Inonotus obliquus* (Противовирусная и противоопухолевая активность экстракта чаги). Вопросы вирусологии. 2014; 59(2): 45–48. [Polkovnikova M.V., Nosik N.N., Garaev T.M., Kondrashina N.G., Finogenova M.P., Shibnev V.A. The study of the antiherpetic properties of extracts from the birch fungus *Inonotus obliquus* (Antiviral and antitumor activity of chaga extract). Problems of Virology. 2014; 59(2): 45–48. (in Russian)].

18. Wasser S.P. Medicinal Mushrooms in Human Clinical Studies. Part I. Anticancer, Oncoimmunological, and Immunomodulatory Activities: A Review. Int J Med Mushrooms. 2017; 19(4): 279–317. doi: 10.1615/IntJMedMushrooms.v19.i4.10.

19. Зибиров Р.Ф., Мозеров С.А. Характеристика клеточного микроокружения опухоли. Онкология. Журнал им. П.А. Герцена. 2018; 7(2): 67–72. doi: 10.17116/onkolog20187267-72. [Zibirov R.F., Mozerov S.A. Characterization of the tumor cell microenvironment. P.A. Herzen. Journal of Oncology. 2018; 7 (2): 67–72. (in Russian)].

20. Микроокружение опухоли и его компоненты – новые терапевтические мишени в онкологии. Молекулярная медицина. 2016; 14(5): 48. [The microenvironment of the tumor and its components are new therapeutic targets in oncology. Molecular Medicine. 2016; 14(5): 48. (in Russian)].

Поступила/Received 17.02.2020
Принята в печать/Accepted 19.05.2020

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Соловьева Ольга Игоревна, старший лаборант ЦКП «SPF-виварий», ФИЦ ИЦиГ СО РАН (г. Новосибирск, Россия). E-mail: solovieva@bionet.nsc.ru. SPIN-код: 9746-5815. ORCID: 0000-0002-8218-2690.

Завьялов Евгений Леонидович, кандидат биологических наук, заведующий ЦКП «SPF-виварий», ФИЦ ИЦиГ СО РАН (г. Новосибирск, Россия). SPIN-код: 5251-0923. Researcher ID (WOS): X-2415-2019. Author ID (Scopus): 26321256500. ORCID: 0000-0002-9412-3874.

Теплякова Тамара Владимировна, доктор биологических наук, профессор, заведующая лабораторией микологии ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора (р.п. Кольцово, Россия). SPIN-код: 3901-9677. ORCID: 0000-0003-4754-5051.

Лебедев Леонид Рудольфович, доктор медицинских наук, заведующий лабораторией нуклеиновых кислот и рекомбинантных белков, ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора (р.п. Кольцово, Россия). SPIN-код: 4637-3440. AuthorID (ПИНЦ): 88247. ORCID: 0000-0001-9886-4939.

Разумов Иван Алексеевич, доктор биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории генетики лабораторных животных, ФИЦ ИЦиГ СО РАН (г. Новосибирск, Россия). SPIN-код: 6537-9019. Researcher ID (WOS): X-1783-2019. Author ID (Scopus): 7003465369. ORCID: 0000-0002-6756-1457.

ВКЛАД АВТОРОВ

Соловьева Ольга Игоревна: экспериментальная работа, статистическая обработка, составление черновика рукописи.

Завьялов Евгений Леонидович: анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Теплякова Тамара Владимировна: экспериментальная работа, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Лебедев Леонид Рудольфович: экспериментальная работа, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Разумов Иван Алексеевич: экспериментальная работа, разработка концепции научной работы, анализ научной работы, критический пересмотр и правка черновика рукописи с внесением ценного интеллектуального содержания.

Финансирование

Исследования поддержаны бюджетным проектом № 0324-2019-0041 и выполнены с использованием оборудования ЦКП «Центр генетических ресурсов лабораторных животных» ФИЦ ИЦиГ СО РАН, поддержанного Минобрнауки России (Уникальный идентификатор проекта RFMEFI62119X0023).

Конфликт интересов

Авторы объявляют, что у них нет конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Olga I. Solovieva, Laboratory Assistant at the SPF-Vivarium, Federal Research Center of Cytology and Genetics SB RAS (Novosibirsk, Russia). E-mail: solovieva@bionet.nsc.ru. ORCID: 0000-0002-8218-2690.

Eugene L. Zavjalov, PhD, Head of the SPF-Vivarium, Federal Research Center of Cytology and Genetics SB RAS (Novosibirsk, Russia). Researcher ID (WOS): X-2415-2019. Author ID (Scopus): 26321256500. ORCID: 0000-0002-9412-3874.

Tamara V. Teplyakova, DSc, Professor, Head of the Mycology Laboratory of the SSC VB «Vector» of the Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare (Koltsovo, Russia). ORCID: 0000-0003-4754-5051.

Leonid R. Lebedev, MD, DSc, Head of the Laboratory of Nucleic Acids and Recombinant Proteins of the State Research Center of the World Bank «Vector» of the Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare (Koltsovo, Russia). ORCID: 0000-0001-9886-4939.

Ivan A. Razumov, DSc, Senior Researcher at the Laboratory of Laboratory Animal Genetics, FIC Institute of Cytology and Genetics SB RAS (Novosibirsk, Russia). Researcher ID (WOS): X-1783-2019. Author ID (Scopus): 7003465369. ORCID: 0000-0002-6756-1457.

AUTHOR CONTRIBUTION

Olga I. Solovieva: experimental work, statistical analysis, drafting of the manuscript.

Eugene L. Zavjalov: study analysis, critical review for important intellectual content.

Tamara V. Teplyakova: experimental work, critical review for important intellectual content.

Leonid R. Lebedev: experimental work, critical review for important intellectual content.

Ivan A. Razumov: experimental work, study conception, critical review for important intellectual content.

Funding

The studies are supported by the budget project (№ 0324-2019-0041) and implemented using the equipment of the Center for Genetic Resources of Laboratory Animals at ICG SB RAS, supported by the Ministry of Education and Science of Russia (Unique identifier of the project RFMEFI62119X0023).

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

DOI: 10.21294/1814-4861-2020-19-6-99-105

УДК: 616.5-006.61-08

Для цитирования: Байкалова О.И., Беляев А.М., Прохоров Г.Г., Раджабова З.А. Лечение плоскоклеточного рака кожи с применением криогенных технологий. Сибирский онкологический журнал. 2020; 19(6): 99–105. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-6-99-105.

For citation: Baykalova O.I., Belyaev A.M., Prokhorov G.G., Radzhabova Z.A. Treatment of squamous cell carcinoma of the skin with the use of cryogenic technologies. Siberian Journal of Oncology. 2020; 19(6): 99–105. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-6-99-105.

ЛЕЧЕНИЕ ПЛОСКОКЛЕТОЧНОГО РАКА КОЖИ С ПРИМЕНЕНИЕМ КРИОГЕННЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

О.И. Байкалова, А.М. Беляев, Г.Г. Прохоров, З.А. Раджабова

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, г. Санкт-Петербург, Россия
Россия, г. Санкт-Петербург, 174644, п. Песочный, ул. Ленинградская, 68.
E-mail: oolgabajkalova@yandex.ru

Аннотация

Введение. Заболеваемость раком кожи растет повсеместно. Плоскоклеточный рак кожи занимает второе место по частоте среди эпителиальных опухолей. Существующие методы лечения больных с плоскоклеточным раком кожи нередко сопровождаются локальными рецидивами, при этом 10-летняя выживаемость при пораженных региональных лимфатических узлах не превышает 20 %, а при наличии отдаленных метастазов составляет менее 10 %. **Цель исследования** – оценить результаты лечения пациентов с плоскоклеточным раком кожи с применением современных криогенных технологий. **Материал и методы.** Исследование проводилось на базе ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России с 2013 по 2019 г. В исследование включены 64 пациента с диагнозом плоскоклеточный рак кожи, которые были разделены на две группы. Первая группа состояла из 32 больных, у которых основным методом лечения была криодеструкция опухоли. Вторая группа включала 32 человека, которым были выполнены различные виды хирургических вмешательств. **Результаты.** Сравнение результатов лечения больных с плоскоклеточным раком кожи при начальных стадиях заболевания при использовании криохирургического лечения не показало отличий от традиционного хирургического лечения. Применение криодеструкции имело ряд преимуществ. В частности, сократилась продолжительность операции в среднем на 54 %. Процедура может быть выполнена бескровно, а в сложных случаях объем кровопотери меньше, чем во время хирургического вмешательства. Пациенты легко перенесли процедуру криодеструкции, Интенсивность болевого синдрома после криодеструкции по показателям шкалы «ВАШ» в первые сутки ниже на 70 %, чем в хирургической группе. Срок пребывания в стационаре после криодеструкции опухоли может быть сокращен на 7–9 дней (57 %). Отдаленные косметические потери после криодеструкции опухоли менее выражены. Осложнений вследствие проведения криогенного лечения либо после него не отмечено. При хирургическом лечении локальные осложнения отмечены у 3 (9,4 %) человек, что укладывается в общеизвестную статистику. У 40,6 % пациентов старческого возраста с индексом коморбидности Чарлсон более 7 баллов, с тяжелыми сопутствующими заболеваниями, сочетающимися с местнораспространенными формами поражения, которым в большинстве случаев показана только паллиативная терапия, проведено эффективное криогенное лечение. **Выводы.** Криодеструкция в лечении больных плоскоклеточным раком кожи является безопасным методом, не ухудшает ближайшие и отдаленные результаты по сравнению с хирургическим вмешательством и может служить методом выбора для лечения больных с отягощенным коморбидным статусом.

Ключевые слова: плоскоклеточный рак кожи, криогенное лечение, криодеструкция, циторедукция.

TREATMENT OF SQUAMOUS CELL CARCINOMA OF THE SKIN WITH THE USE OF CRYOGENIC TECHNOLOGIES

O.I. Baykalova, A.M. Belyaev, G.G. Prokhorov, Z.A. Radzhabova

N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the Russian Federation, St. Petersburg, Russia
68, Leningradskaya Street, 174644, St. Petersburg, Russia.
E-mail: oolgabajkalova@yandex.ru

Abstract

Background. The incidence of skin cancer has been steadily increasing worldwide. Squamous cell skin carcinoma (SCSC) is the second most common form of epithelial cancer. Treatment of SCSC remains a challenge, and the 10-year survival rate does not exceed 20 % in patients with regional lymph node metastases and 10 % in patients with distant metastases. The aim of the study was to evaluate the treatment outcomes in SCSC patients using modern cryogenic technologies. **Material and Methods.** Between 2013 and 2019, 64 patients with SCSC were treated at N.N. Petrov Research Center for Oncology (St. Petersburg, Russia). All patients were divided into two groups. Group I consisted of 32 patients who underwent cryosurgery. Group II comprised 32 patients who underwent conventional surgery. **Results.** No significant differences in the treatment outcomes between Group I and Group II patients were found. Cryosurgery has several advantages over other surgical modalities. The duration of surgery was shortened by an average of 54 %. Cryosurgery is less invasive than surgery; therefore, pain and bleeding are minimized. The procedure was well tolerated by all patients. According to the «VAS» scale, the intensity of the pain syndrome in the first day after surgery was 70 % lower in Group I than in Group II. In Group I patients, the length of hospital stay was shortened by 7–9 days (57 %), and postoperative complications were not observed. In Group II, local complications were noted in 3 (9.4 %) patients. Cryosurgery was proven effective in 40.6% of elderly patients with the Charlson Comorbidity Index of more than 7 points, to whom palliative therapy is usually recommended. **Conclusion.** Cryosurgery for patients with SCSC was safe and did not cause any negative impact on the immediate and long-term treatment outcomes. Cryosurgery is a method of choice in the treatment of patients with a comorbidity.

Key words: squamous cell carcinoma of the skin, cryogenic treatment, cryodestruction, cytoreduction.

Введение

Заболеваемость раком кожи растет повсеместно. На долю плоскоклеточного рака кожи (ПКРК) приходится 20–25 % от всех эпителиальных злокачественных новообразований кожи [1, 2]. Выявленный на ранней стадии плоскоклеточный рак кожи имеет хороший прогноз и характеризуется 90 % пятилетней выживаемостью [3]. Несмотря на это, на долю ПКРК приходится 20 % смертей от рака кожи, а абсолютные значения смертности равны таковым при меланоме [4].

Согласно рекомендациям, хирургическое иссечение, дополненное при необходимости лучевой терапией, является основным методом лечения плоскоклеточного рака кожи [5]. Для начальных стадий заболевания возможно применение электрокоагуляции и кюретажа, лазерной вапоризации, криодеструкции [6].

Плоскоклеточный рак кожи часто развивается на рубцах и хронических язвах, а также имеет место у пациентов с иммуносупрессией, что обуславливает трудности его лечения. Средний возраст заболевших варьирует в диапазоне от 60 до 70 лет, что нередко сочетается с выраженной сопутствующей патологией и тоже ограничивает арсенал возможных вариантов лечения [6]. Все

перечисленные факторы ограничивают возможности радикального лечения. При невыполнимости хирургического и лучевого лечения возможно применение местной химиотерапии [6]. В системной химиотерапии ПКРК известно более 20 комбинаций, среди которых наиболее эффективно сочетание паклитаксела с карбоплатином [7]. Но химиотерапия обладает достаточно выраженным уровнем токсичности, особенно при сочетании нескольких препаратов, что может ограничивать ее применение у пожилых пациентов. Ингибиторы EGFR имеют меньшую токсичность, но невысокую (25–45 %) частоту ответа при ПКРК. Возможности ингибиторов контрольных точек пока исследуются, но уже опубликованы обнадеживающие данные, где общая частота ответов для распространенного и метастатического ПКРК составляет более 50 % [8]. Для пациентов с иммуносупрессией эта опция остается недоступной.

Существующие методы лечения больных с ПКРК нередко сопровождаются локальными рецидивами, 10-летняя выживаемость при пораженных региональных лимфатических узлах не превышает 20 %, а при наличии отдаленных метастазов составляет менее 10 % [4]. Криогенный метод применяется у пожилых пациентов с сопутствующей

соматической патологией, что не сопряжено с осложнениями [8–10].

Известно, что нет ни одного вида злокачественных клеток, которые были бы устойчивы к криогенному воздействию или приобретали бы к нему резистентность. Метод используется в лечении инфицированных опухолей [9]. Криогенное лечение вызывает минимальную общую реакцию организма, что позволяет проводить манипуляцию в амбулаторных условиях. В настоящее время нет единого мнения относительно показаний к криогенному лечению при плоскоклеточном раке кожи в зависимости от гистотипа, локализации и распространенности опухоли. Криохирургическое воздействие, как и иные методы лечения, не всегда дает ожидаемые результаты, но в настоящее время возможности метода увеличились за счет появления нового оборудования и совершенствования методов диагностики.

Цель исследования состояла в оценке результатов лечения пациентов с ПКРК с применением современных криогенных технологий.

Материал и методы

Исследование проведено в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н.Петрова» Минздрава России на базе хирургического отделения опухолей костей, мягких тканей и кожи, хирургического отделения опухолей головы и шеи. Проанализированы результаты лечения 64 пациентов с ПКРК различных локализаций, которые проходили лечение на базе ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н.Петрова» Минздрава России с 2013 по 2019 г. Период наблюдения составил от 3 мес до 5 лет.

Для достижения цели исследования больные были разделены на 2 группы. Первая группа (основная) состояла из 32 больных, у которых основным методом лечения была криодеструкция опухоли. Вторая группа (контрольная) включала 32 пациента, которым были выполнены различные виды хирургических вмешательств. Для проведения анализа группы были составлены методом «копи-пара» (формирование выборки путем подбора для каждой единицы наблюдения исследуемой группы «копи-пары» по нескольким признакам).

Критериями включения в исследование являлись наличие морфологически верифицированного ПКРК, отсутствие регионарных и отдаленных метастазов, наличие подробного анамнеза, сходство клинической картины, схожий объем клинкорентгенологических исследований, достаточный для статистической обработки. Из 32 пациентов основной группы было 15 (46,9 %) мужчин и 17 (53,1 %) женщин. Возраст пациентов в криогенной группе варьировал от 44 до 91 года. В контрольной группе – 18 (56,2 %) мужчин и 14 (43,8 %) женщин. Возраст пациентов находился в диапазоне от 31 до 92 лет. Статистических различий в соотношении пола пациентов в сравниваемых группах не по-

лучено. В связи с тем, что основной контингент пациентов с ПКРК составляли лица пожилого и старческого возраста, большинство из них имели сопутствующую патологию.

Стадирование опухолевого процесса осуществляли в соответствии с 8-й версией Международной классификации злокачественных опухолей 2017 г. По размеру опухоли в результате выделения категории «Т» каждая группа включала равное число больных с первичной опухолью Т1 – 20 (62,5 %) человек, с Т2 – 4 (12,5 %), с Т3 – 8 пациентов (25,0 %).

По локализации первичного очага также было соблюдено равенство групп. В каждой из сравниваемых групп опухоли кожи головы имели место у 24 (75 %) больных, в том числе в зоне высокого риска у 14 пациентов, в области среднего риска в 8 случаях; на коже туловища у 3 (9,4 %) больных; на коже верхних конечностей у 1 (3,1 %); на коже нижних конечностей у 2 (6,2 %); на коже промежности у 2 (6,2 %). Оценка локального статуса дополнительно включала ультразвуковое сканирование и МРТ зоны поражения.

Выбор способа криодеструкции зависел от локализации, формы, размера опухоли и глубины инвазии. Техника выполнения криодеструкции соответствовала методическим рекомендациям, разработанным в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России. Для процедуры криодеструкции применяли разные аппараты: криораспылитель (типа РА-01), криодеструктор «КРИОИНЕЙ» с плоскими и коническими аппликаторами, медицинскую криотерапевтическую систему (МКС), оснащенную вакуумными термоизолированными криозондами диаметром 1,5 и 3 мм. Размер и форму аппликатора подбирали индивидуально в зависимости от особенностей опухолевого процесса. Обязательным условием являлось достижение полной адгезии с распространением зоны оледенения не менее чем на 5 мм от видимой границы опухоли. Экспозиция на уровне -40°C по краю аппликатора составляла 5 мин. Пассивное оттаивание обычно занимало 10–15 мин, после чего цикл охлаждения повторяли еще дважды при тех же параметрах. Методика орошения опухоли спреем хладагента позволяла выполнить криодеструкцию при сложном рельефе экзофитной части опухоли, если аппликационный способ не обеспечивал надежной адгезии аппликатора с изъязвленной кожей. Пункционный способ с применением малоинвазивных криозондов отечественной криотерапевтической системы «МКС» применяли для криодеструкции опухолей, сложных по форме и значительных по объему и глубине распространения. Обезболивание включало проводниковую, регионарную, инфильтрационную анестезию, реже – комбинированный наркоз.

Мониторинг процесса криодеструкции осуществлялся при помощи физикальных методов и контроля зарегистрированных температурных

Таблица 1/Table 1

Интраоперационные показатели у больных ПКРК
Intraoperative parameters in patients with cutaneous squamous cell carcinoma

Показатели/ Parameters	Основная группа/ Study group	Контрольная группа/ Control group	p
Длительность операции, мин/ Duration of surgery, min	40,9 ± 1,7	89,4 ± 12,8	0,001
Кровопотеря, мл/Blood loss, ml	7,6 ± 2,1	37,5 ± 13,7	0,03
Гемотрансфузия/Blood transfusion	0	1	<0,05

параметров в зоне криодеструкции. Локальную температуру регистрировали многоканальным термоизмерительным комплексом «Термоскани» либо встроенной системой термоконтроля аппарата «МКС» с применением игольчатых термодатчиков.

Критериями сравнения криогенного и хирургического видов лечения являлись длительность операции или процедуры, объем кровопотери, болевой синдром, осложнения, функциональные и эстетические результаты, качество жизни, безрецидивный период.

Результаты и обсуждение

В группу криогенного лечения вошли 9 пациентов, которым отказано в проведении лечения в городских стационарах, что было связано с невозможностью проведения адекватного анестезиологического пособия либо с технической невыполнимостью. Четверем пациентам была предложена в качестве лечения только лучевая терапия, от которой они отказались. Таким образом, у 13 (40,6 %) пациентов криодеструкция оказалась единственным возможным вариантом лечения.

Длительность операции оказалась достоверно выше в контрольной группе. При криогенном лечении время манипуляции составило $41 \pm 1,7$ мин против $89 \pm 12,8$ мин в контрольной группе ($p < 0,05$). Кровопотеря при криодеструкции более чем в 5 раз ниже по сравнению с хирургическим методом: в основной группе кровопотеря колебалась от 5 до 70 мл и в среднем составила $7,6 \pm 2,1$ мл, а во время хирургического вмешательства – от 5 мл

до 400 мл, в среднем – $37,5 \pm 13,7$ мл ($p = 0,03$) (табл. 1).

В группе криогенного лечения длительность болевого синдрома составила $0,91 \pm 1,23$ дня, в контрольной группе $3,69 \pm 1,85$ дня ($p < 0,05$). Различия носят статистически значимый характер. При этом больные основной группы в первые дни послеоперационного периода не нуждались в анальгетической терапии, только в одном случае пациент принимал препарат из группы нестероидных противовоспалительных средств на протяжении 3 дней, в то время как в контрольной группе потребность в обезболивании составила $4,9 \pm 1,36$ дня.

Осложнений после криогенного лечения не выявлено, 2 пациента предъявляли жалобы на длительную лимфорею – характерную особенность криогенного лечения. В обоих случаях опухоль располагалась на коже промежности и соответствовала T2 и T3. В контрольной группе у 3 (9,4 %) больных зафиксированы осложнения после операции, которые представлены краевым некрозом лоскута в 2 (6,3 %) случаях, серомой значительных размеров – в 1 (3,1 %) случае. Все осложнения выявлены после лечения первичных опухолей с распространенностью T3.

Хорошие эстетические результаты упоминаются многими авторами как достоинство криогенного метода лечения. В нашем исследовании через 1–1,5 мес обычно наступала эпителизация раны и формировался рубец при поражениях, размерами не превышающих 3 см, кроме случаев многоэтап-

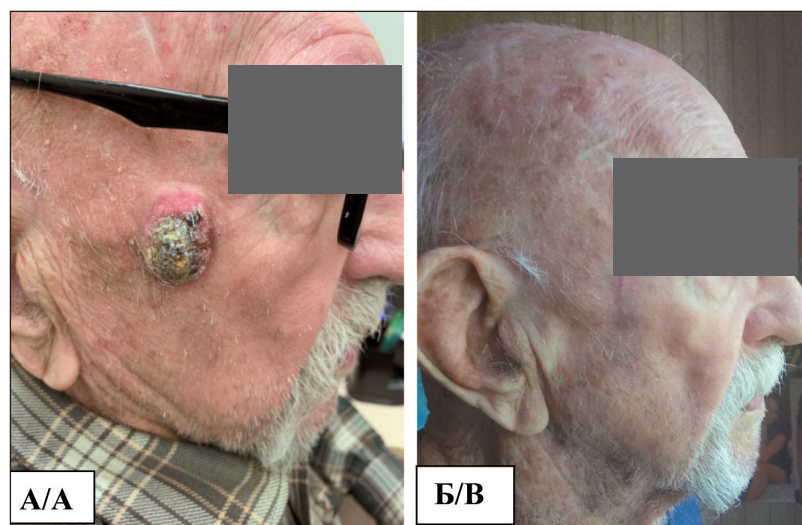


Рис. 1. А) Больной 87 лет. Плоскоклеточный рак кожи скуловой области T3N0M0. Б) Тот же больной через 6 мес после криогенного лечения. Полная регрессия опухоли и формирование малозаметного рубца

Fig. 1. A) An 87-year-old man. Cutaneous squamous cell carcinoma of the zygomatic region (T3N0M0). B) The same patient 6 months after cryosurgery. Complete tumor regression and the formation of a subtle scar

Таблица 2/Table 2

Распределение больных плоскоклеточным раком кожи по прогрессированию заболевания
Distribution of patients with squamous cell skin cancer according to disease progression

Прогрессирование/ Disease progression	Основная группа/ Study group	Контрольная группа/ Control group	p
Местный рецидив/ Local recurrence	5 (15,6 %)	5 (15,6 %)	>0,05
Метастатическое поражение регионарных лимфоузлов/ Lymph node metastases	1 (3,1 %)	5 (15,6 %)	>0,05
Всего/Total	6 (21,9 %)	10 (31,3 %)	>0,05

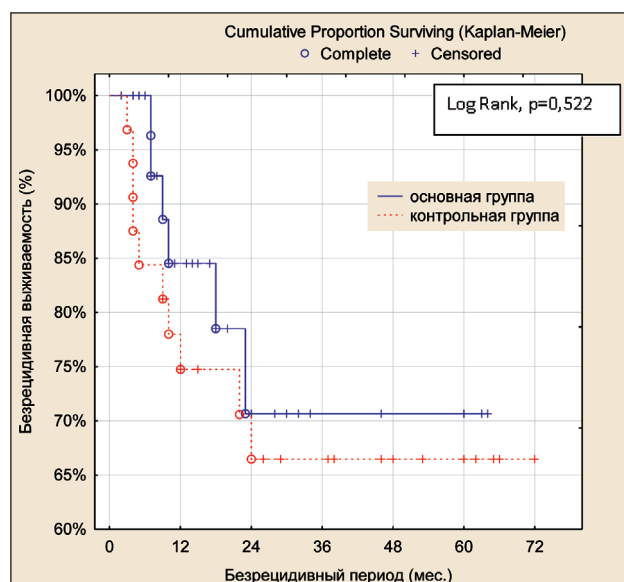


Рис. 2. Безрецидивная выживаемость больных плоскоклеточным раком кожи в зависимости от метода лечения

Fig. 2. Disease-free survival of patients with squamous cell skin cancer depending on the type of treatment

ного криогенного лечения у больных с первичной опухолью T3. Но в большинстве случаев, у 28 (87,5 %) пациентов, через 6–8 мес после криодеструкции рубец становился мягким и приобретал цвет окружающих тканей, при осмотре через 1 год и более визуально было трудно различить участок кожи, на котором ранее локализовалась злокачественная опухоль (рис. 1). Косметический дефект меньше тревожил пациентов из группы криогенного лечения по сравнению с группой прооперированных пациентов.

Общая трехлетняя выживаемость больных в группе криогенного лечения составила 67 %, в группе сравнения – 78 %, полученные различия статистически недостоверны ($p>0,05$). Скорректированная выживаемость больных в основной группе составила 97 %, в контрольной группе – 84 %, полученные различия статистически недостоверны ($p>0,05$). При оценке безрецидивной выживаемости медиана наблюдения не достигнута,

но достоверных различий также не получено. Трехлетняя безрецидивная выживаемость в основной группе составила 78 %, в контрольной группе – 69 % ($p>0,05$) (рис. 2).

Прогрессирование рака кожи после криодеструкции наблюдалось у 6 (19 %) больных, в том числе при опухолях, соответствующих T1 – у 1 (3,1 %), T2 – у 1 (3,1 %), T3 – у 4 (12,5 %) пациентов. В контрольной группе прогрессирование заболевания было отмечено у 10 пациентов (31 %), в том числе при T1 – у 5 (15,6 %); T2 – у 1 (3,1 %); T3 – у 4 (12,5 %) больных. При анализе сроков и структуры прогрессирования выявлено, что в обеих группах во всех случаях эти события произошли в первые два года после лечения, чаще всего наблюдались местные рецидивы (табл. 2).

После сравнительной оценки эффективности разных методов лечения выявленное преимущество одного из них не может служить поводом для императивных рекомендаций к его повсеместному применению. Метод криодеструкции опирается на результаты полноценного предоперационного обследования с применением современных методов локальной диагностики и мониторинга процедуры с использованием термометрии, ультразвукового сканирования и нередко – современных криотерапевтических систем. Сложность методики криодеструкции обусловлена объемом подготовки.

Заключение

По итогам проведенного анализа можно отметить, что криогенное лечение больных с плоскоклеточным раком кожи в начальных стадиях заболевания (T1) позволяет добиться стойкой ремиссии, хороших эстетических и функциональных результатов, равных последствиям радикальной операции. Использование криогенного метода у больных плоскоклеточным раком не ухудшает отдаленные результаты лечения, демонстрируя сопоставимые с хирургическим лечением показатели 3-летней общей и безрецидивной выживаемости. Криодеструкция является безопасным видом лечения и может быть методом выбора при лечении больных ПКРК с отягощенным коморбидным статусом.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Amaral T., Osewold M., Presser D., Meiwes A., Garbe C., Leiter U. Advanced cutaneous squamous cell carcinoma: real world data of patient profiles and treatment patterns. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2019; 33 Suppl 8: 44–51. doi: 10.1111/jdv.15845.
2. Saura E., Gargi E., Stratigos A. Advanced cutaneous squamous cell carcinoma: how is it defined and what new therapeutic approaches are available? *Curr Opin Oncol.* 2019 Sep; 31(5): 461–8. doi: 10.1097/CCO.0000000000000566.
3. Hollestein L.M., de Vries E., Nijsten T. Trends of cutaneous squamous cell carcinoma in the Netherlands: increased incidence rates, but stable relative survival and mortality 1989–2008. *Eur J Cancer.* 2012 Sep; 48(13): 2046–53. doi: 10.1016/j.ejca.2012.01.003.
4. Hillen U., Leiter U., Haase S., Kaufmann R., Becker J., Gutzmer R., Terheyden P., Krause-Bergmann A., Schulze H.J., Hassel J., Lahner N., Wollina U., Ziller F., Utikal J., Hafner C., Ulrich J., Machens H.G., Weishaupt C., Hauschild A., Mohr P., Pföhler C., Maurer J., Wolff P., Windemuth-Kieselbach C., Schadendorf D., Livingstone E.; *Dermatologic Cooperative Oncology Group (DeCOG)*. Advanced cutaneous squamous cell carcinoma: A retrospective analysis of patient profiles and treatment patterns - Results of a non-interventional study of the DeCOG. *Eur J Cancer.* 2018 Jun; 96: 34–43. doi: 10.1016/j.ejca.2018.01.075.
5. Heppt M.V., Steeb T., Berking C., Nast A. Comparison of guidelines for the management of patients with high-risk and advanced cutaneous

squamous cell carcinoma: a systematic review. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2019 Dec; 33 Suppl 8: 25–32. doi: 10.1111/jdv.15846.

6. National Comprehensive Cancer Center. NCCN clinical practice guidelines in oncology. Squamous Cell Skin Cancer [Internet]. URL: www.nccn.org (cited 27.02.2020).

7. Стуков А.Н., Бланка М.А., Семглазова Т.Ю., Беляев А.М. Фармакотерапия опухолей. Посвящается памяти М.Л. Гершановича. СПб., 2017. 512 с. [Stukov A.N., Blanka M.A., Semiglasova T.Yu., Belyaev A.M. Pharmacotherapy of tumors. Saint-Petersburg, 2017. 512 p. (in Russian)].

8. Gellrich F.F., Hüning S., Beisert S., Eigentler T., Stockfleth E., Gutzmer R., Meier F. Medical treatment of advanced cutaneous squamous-cell carcinoma. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2019 Dec; 33 Suppl 8: 38–43. doi: 10.1111/jdv.16024.

9. Прохоров Г.Г., Беляев А.М., Прохоров Д.Г. Основы клинической криомедицины. СПб.-М.; 2017. 608 с. [Prokhorov G.G., Belyaev A.M., Prokhorov G.G. The basics of clinical cryomedicine. Saint-Petersburg-Moscow, 2017. 608 p. (in Russian)].

10. Green A.C., Olsen C.M. Cutaneous squamous cell carcinoma: an epidemiological review. *Br J Dermatol.* 2017 Aug; 177(2): 373–381. doi: 10.1111/bjd.15324.

Поступила/Received 27.02.2020
Принята в печать/Accepted 22.05.2020

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Байкалова Ольга Игоревна, аспирант, врач-онколог, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). SPIN-код: 3811-3210. ORCID: 0000-0001-8225-5522.

Беляев Алексей Михайлович, доктор медицинских наук, профессор, директор ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). SPIN-код: 9445-9473. ORCID: 0000-0001-5580-4821.

Прохоров Георгий Георгиевич, доктор медицинских наук, профессор, ведущий научный сотрудник научного отделения онкоурологии и общей онкологии, врач-онколог, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). SPIN-код: 9166-4705. ORCID: 0000-0001-9015-3817.

Раджабова Замира Ахмед-Гаджиевна, кандидат медицинских наук, заведующая хирургическим отделением опухолей головы и шеи, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). SPIN-код: 5137-6393. Researcher ID (WOS): X-6941-2018. ORCID: 0000-0002-6895-0497.

ВКЛАД АВТОРОВ

Байкалова Ольга Игоревна: сбор и обработка материала, составление черновика рукописи, статистическая обработка.

Беляев Алексей Михайлович: разработка концепции научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Прохоров Георгий Георгиевич: разработка концепции научной работы, анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Раджабова Замира Ахмед-Гаджиевна: анализ научной работы, редактирование.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы объявляют, что у них нет конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Olga I. Baykalova, MD, Postgraduate, General Oncology Department of the NMRC Oncology named after N.N. Petrova, Ministry of Health of Russia (Saint-Petersburg, Russia). ORCID: 0000-0001-8225-5522.

Alexei M. Belyaev, MD, DSc, Director of the NMRC Oncology named after N.N. Petrova, Ministry of Health of Russia (Saint-Petersburg, Russia). ORCID: 0000-0001-5580-4821.

Georgii G. Prokhorov, MD, DSc, Professor, Leading Researcher of the NMRC Oncology named after N.N. Petrova, Ministry of Health of Russia (Saint-Petersburg, Russia). ORCID: 0000-0001-9015-3817.

Zamira A-G. Radzhabova, MD, PhD, Head of the Department of Head and Neck Tumor Surgery, N.N. Petrov National Medical Research Cancer Center (St. Petersburg, Russia). Researcher ID (WOS): X-6941-2018. ORCID: 0000-0002-6895-0497.

AUTHOR CONTRIBUTION

Olga I. Baykalova: data collection and analysis, drafting of the manuscript, statistical analysis.

Alexei M. Belyaev: study conception, critical review for important intellectual content.

Georgii G. Prokhorov: study conception, critical review for important intellectual content.

Zamira A.-G. Radzhabova: study analysis, editing.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

DOI: 10.21294/1814-4861-2020-19-6-106-118
УДК: 616.155.392-036.12-085.277.3

Для цитирования: Даниленко А.А., Шахтарина С.В., Фалалеева Н.А. Современные возможности лечения хронического лимфоцитарного лейкоза. Сибирский онкологический журнал. 2020; 19(6): 106–118. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-6-106-118.

For citation: Danilenko A.A., Shakhtarina S.V., Falaleeva N.A. Modern approaches to treatment of chronic lymphocytic leukemia. Siberian Journal of Oncology. 2020; 19(6): 106–118. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-6-106-118.

СОВРЕМЕННЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ЛЕЧЕНИЯ ХРОНИЧЕСКОГО ЛИМФОЦИТАРНОГО ЛЕЙКОЗА

А.А. Даниленко, С.В. Шахтарина, Н.А. Фалалеева

Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал
ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, г. Обнинск, Россия
Россия, г. Обнинск, 249036, ул. Королева, 4. E-mail: korneykova.e@mail.ru

Аннотация

Цель исследования – систематизировать опубликованные данные об эффективности препаратов, применяемых для лечения больных хроническим лимфоцитарным лейкозом. **Материал и методы.** Поиск информации проводился в библиотечных ресурсах Medline, Pubmed. В обзоре использованы материалы 93 статей, содержание которых в наибольшей мере соответствовало цели обзора. **Результаты.** Кратко представлены общие сведения о заболевании, его биологических особенностях, критериях установления диагноза, стадировании, основаниях для начала противоопухолевой терапии, критериях оценки ее эффективности. Основное внимание в обзоре уделено противоопухолевым препаратам, применяющимся для лечения больных хроническим лимфоцитарным лейкозом как в виде монотерапии, так и в комбинациях. Рассмотрены препараты, относящиеся к классам цитостатиков, моноклональных антител, а также препараты, воздействующие на сигнальные пути В-клеточного рецептора, ингибиторы BCL-2, иммуномодуляторы. Золотым стандартом терапии первой линии остается схема RFC. При положительном тесте Кумбса равноценной по эффективности альтернативой схеме FC является бендамустин. Использование хлорбутина ограничено ситуациями, при которых целью терапии является паллиативное лечение пожилых людей с серьезными сопутствующими заболеваниями. В последующих линиях терапии все большее место начинают занимать препараты молекулярного действия. **Заключение.** В течение последних двух десятилетий были достигнуты значительные успехи в понимании биологических особенностей хронического лимфоцитарного лейкоза, синтезировано несколько десятков новых лечебных препаратов таргетного действия, часть из которых проходит клиническое тестирование, что может существенно улучшить результаты лечения больных с неблагоприятными характеристиками хронического лимфоцитарного лейкоза и серьезными сопутствующими заболеваниями. В обзоре рассмотрены новые препараты, эффективность и безопасность которых уже апробирована в клинических условиях.

Ключевые слова: хронический лимфоцитарный лейкоз, офатумумаб, обинутузумаб, ибрутиниб, идемалисиб, венетоклакс, леналидомид, пембролизумаб.

MODERN APPROACHES TO TREATMENT OF CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKEMIA

A.A. Danilenko, S.V. Shakhtarina, N.A. Falaleeva

A.F. Tsyb Medical Radiological Research Center – Branch of National Medical Research Center
of Radiology of the Health Ministry of the Russian Federation, Obninsk, Russia
4, Koroliova Street, 249036-Obninsk, Russia. E-mail: korneykova.e@mail.ru

Abstract

Purpose of the study: to systematize published data on the effectiveness of drugs used to treat patients with chronic lymphocytic leukemia. **Material and Methods.** A literature search was conducted using Medline, Pubmed databases. 93 publications were selected to write this review. **Results.** General information about chronic lymphocytic leukemia (biological features, criteria for establishing diagnosis, staging, criteria for evaluating antitumor therapy response) was presented. The focus was made on antitumor drugs used as monotherapy and in combination with other anti-cancer agents. The use of drugs belonging to the classes of cytostatics, monoclonal antibodies, as well as drugs that affect the signaling pathways of the B-cell receptor, BCL-2 inhibitors, immunomodulators was discussed. The gold standard for first-line therapy remains the RFC scheme. With a positive Coombs test, bendamustine is an equivalent alternative to the FC regimen. The use of chlorambucil is limited in situations in which the goal of therapy is the palliative treatment of older people with serious comorbidity. In subsequent lines of therapy, molecular action drugs are beginning to take an increasingly important place. **Conclusion.** During the past twenty years, significant advances have been made in understanding biological features of chronic lymphocytic leukemia, the synthesis of several dozen new therapeutic drugs of targeted action, some of which are already undergoing clinical testing. These drugs may lead to serious complications. The review is devoted to new drugs, the efficacy and safety of which has already been tested in a clinical setting.

Key words: chronic lymphocytic leukemia, ofatumumab, obinutuzumab, ibrutinib, idelalisib, venetoclax, lenalidomide, pembrolizumab.

Общие сведения

Заболеваемость хроническим лимфоцитарным лейкозом (ХЛЛ) в странах Западной Европы и Северной Америки составляет около 4 случаев на 100 тыс. в год, в России – 2,91 случая на 100 тыс., в том числе в Центральной России – 3,48 на 100 тыс. за год [1]. Наибольший уровень заболеваемости наблюдается у мужчин Ирландии, Литвы, Канады (4,5 случая на 100 тыс. в год). Соотношение вновь диагностированных случаев к количеству летальных исходов составляет 3:1 [2]. Медиана возраста ко времени установления диагноза близка к 70 годам. Мужчины заболевают в 1,5–2 раза чаще [3]. ХЛЛ отличается чрезвычайным многообразием течения, вследствие чего продолжительность жизни после установления диагноза может насчитывать от нескольких месяцев до десятилетий.

Сущностью ХЛЛ является пролиферация клона зрелых В-лимфоцитов преимущественно в костном мозге, количество которых увеличивается также в крови, лимфатических узлах и селезенке [4]. Предполагается, что опухолевая трансформация может начинаться на уровне мультипотентных стволовых кроветворных клеток за счет потери или добавления хромосомного материала. При последующих мутациях течение ХЛЛ может приобретать более агрессивный характер и химиорезистентность [5, 6].

Биологические особенности

Генетический профиль. Секвенирование экзона при ХЛЛ позволило получить сведения о генотипе данного заболевания. Встречающиеся при ХЛЛ мутации затрагивают 44 гена, а также 11 вариантов соматических их копий. Кроме гена TP53, чаще всего мутациям подвержены гены ARID1A, ATM, CHD2, FBXW7, IKZF3, MYD88, NOTCH1, POT1, RPTN11, RPS15, SF3B1, ZNF292 [6, 7]. Мутациям могут подвергаться и гены бел-

ков, сигнализирующих о повреждениях ДНК и играющих основную роль в ее восстановлении [8]. Естественный процесс синтеза специфичных иммуноглобулинов обеспечивается мутациями генов вариабельного района тяжелых цепей иммуноглобулинов. В результате клональной селекции опухолевых лимфоцитов этот процесс может нарушаться, что приводит к уменьшению количества естественных мутаций. Этот фактор имеет прогностическое значение; известно, что время до начала терапии ХЛЛ и общая выживаемость прямо пропорциональны количеству этих мутаций [9].

Хромосомные aberrации. Среди клинически значимых цитогенетических aberrаций при ХЛЛ чаще всего (55 % случаев) встречается делеция на длинном плече хромосомы 13-del(13q14). При отсутствии других делеций наличие del(13q14) связывают с наименее агрессивным течением ХЛЛ [10]. Делеция на длинном плече хромосомы 11 – del(11q22) обнаруживается примерно у 25 % пациентов с поздними и у 10 % – с ранними стадиями ХЛЛ и сопряжена с массивной лимфаденопатией, быстрым прогрессированием заболевания и существенным снижением выживаемости [11]. Трисомия 12-й хромосомы регистрируется у 10–20 % больных ХЛЛ. Гены, вовлеченные в патогенез ХЛЛ с трисомией 12, мало изучены. Прогностическое значение этой трисомии остается предметом обсуждений [12]. Делеция на коротком плече хромосомы 17 – del(17p13) встречается у 5–8 % больных ХЛЛ. В полоске 17p13 находится ген опухолевого супрессора, белка TP53. Опухолевый процесс, связанный с наличием клона с del(17p13), отличается, прежде всего, резистентностью к химиотерапии, не преодолеваемой, в отличие от del(11q22), добавлением ритуксимаба [13]. В большинстве случаев этой делеции наблюдаются и мутации гена TP53 в обоих аллелях одновременно. Мутации гена TP53

могут происходить и без del(17p13), оказывая аналогичное негативное влияние на эффективность лечения и общую выживаемость больных [14].

Роль микроокружения. Выживание клеток ХЛЛ значительно зависит от микросреды, в первую очередь от макрофагов, Т-лимфоцитов и стромальных фолликулярных дендритных клеток, которые стимулируют активацию сигнальных путей, играющих основную роль в выживании и пролиферации опухолевых лимфоцитов. Кроме того, микросреда продуцирует цито-, хемокины, которые, взаимодействуя с опухолевыми клетками через соответствующие поверхностные рецепторы, поддерживают их жизнеспособность [15]. Противоопухолевый эффект ингибиторов некоторых тирозинкиназ (ибрутиниб, иделалисиб) обусловлен воздействием на микроокружение [16]. Тирозинкиназа Брутона является одной из ключевых киназ, участвующих в регулировании выживания, пролиферации, адгезии и миграции В-клеток. Мутации генов тирозинкиназы Брутона и фосфолипазы (PLC γ 2), играющей ключевую роль в сигнальных путях В-клеточного рецептора, могут приводить к развитию резистентности ХЛЛ к ибрутинибу; обнаружение этих мутаций является предиктором быстрого прогрессирования ХЛЛ в процессе лечения ибрутинибом [17].

Критерии установления диагноза

В большинстве случаев диагноз «хронический лимфоцитарный лейкоз» устанавливается на основании данных дифференцированного подсчета лейкоцитов и верификации опухолевых лимфоцитов путем их иммунофенотипирования. В соответствии с Руководством по установлению диагноза «хронический лимфоцитарный лейкоз», показанием к началу лечения, оценке его эффективности, поддерживающей терапии [18] для установления диагноза необходимо наличие не менее $5,0 \times 10^9/\text{л}$ В-лимфоцитов в крови, по меньшей мере, в течение 3 мес. Клоновая природа В-лимфоцитов должна быть подтверждена данными проточной цитофлюорометрии. Микроскопически опухолевые В-лимфоциты выглядят как мелкие зрелые лимфоциты с узкой каймой цитоплазмы и плотным ядром, с отсутствием ядрышек. Наряду с такими клетками часто встречаются атипичные пролимфоциты – более крупные, расщепленные клетки. Если количество этих клеток превышает 55 % всех лимфоцитов крови, это свидетельствует в пользу диагноза «В-пролимфоцитарный лейкоз» [19]. Характерным морфологическим признаком ХЛЛ являются часто встречающиеся тени Гумпрехта, представляющие собой фрагменты клеток.

Лимфома из малых лимфоцитов, имеющих такой же фенотип, как клетки ХЛЛ, характеризуется непрямым наличием лимфаденопатии, либо спленомегалии, либо цитопении, либо их сочетаний, при этом количество В-лимфоцитов

в крови не должно превышать $5,0 \times 10^9/\text{л}$. В отличие от ХЛЛ диагноз «лимфома из малых лимфоцитов» должен быть подтвержден морфо-иммуногистохимическим исследованием ткани лимфатического узла [18].

Лимфоцитоз менее $5,0 \times 10^9/\text{л}$ при отсутствии лимфаденопатии, спленомегалии или цитопении определяется как «моноклональный В-лимфоцитоз». Ежегодно около 2 % случаев моноклонального В-лимфоцитоза реализуются в ХЛЛ [20].

Стадирование

Существуют две общепринятые системы клинического стадирования, получившие названия по именам первых авторов оригинальных публикаций: Rai [21] и Binet [22]. В обеих классификациях выделены три основные группы пациентов, различающиеся клиническими исходами. Однако успехи, достигнутые в течение двух последних десятилетий в понимании биологической природы ХЛЛ и в его лечении, существенно превзошли возможности классификаций Rai и Binet [23]. Разработаны новые маркеры, дающие существенное прогностическое дополнение к клинической стадии, что привело к созданию новых моделей стратификации пациентов, объединяющих клиническую, биологическую и генетическую информацию. Наиболее эффективной является прогностическая система, разработанная международным консорциумом исследовательских групп под названием «CLL International Prognostic Index» (CLL-IP). В этом проекте были использованы данные 3472 нелеченых больных из Франции, Великобритании, Германии, США и Польши. Проведенный многофакторный анализ включал 27 базовых факторов, а в качестве конечного показателя – общую выживаемость. Было идентифицировано 5 независимых факторов, оказывающих влияние на прогноз: делеция 17p и/или мутация гена TP53, проявляющиеся дисфункцией белка TP53, отсутствие мутаций генов тяжелых цепей иммуноглобулина (IGHV), повышенный уровень β_2 -микроглобулина в сыворотке крови, клиническая стадия и возраст пациентов. На основании этих данных был выведен прогностический индекс (CLL-IPI), позволяющий выделять 4 группы пациентов со статистически значимым различием показателей общей 5-летней выживаемости [24, 25].

Основания для начала терапии

Больные в ранней стадии ХЛЛ (Rai 0, Binet A) подлежат наблюдению без терапии до тех пор, пока не появятся признаки быстро прогрессирующего заболевания. До настоящего времени исследования лечения заболевания в ранней стадии не показали преимущества ранней терапии. В Рекомендациях по диагностике и лечению ХЛЛ [18] дан перечень состояний, указывающих на активное течение

ХЛЛ: появление или усиление анемии и/или тромбоцитопении, обусловленных опухолевым поражением костного мозга (стадия Binet C, Rai II или IV); массивная (выступающая более чем на 6 см из-под реберной дуги) селезенка или нарастающее увеличение ее размеров; массивная (более 10 см по большому диаметру) или нарастающая лимфаденопатия; прогрессирующий лимфоцитоз с увеличением более чем на 50 % за 2 мес, или длительностью периода удвоения количества лимфоцитов менее 6 мес; наличие аутоиммунной анемии и/или тромбоцитопении, плохо поддающихся лечению кортикостероидами; появление одного или более из перечисленных симптомов интоксикации: непреднамеренное снижение массы тела более чем на 10 % в течение 6 мес, сильная общая слабость (статус ECOG $\geq$ 2), лихорадка выше 38 °C длительностью не менее 2 нед при отсутствии других признаков инфекционного процесса, ночная потливость продолжительностью более 1 мес при отсутствии инфекционного процесса. Наличие хотя бы одного из перечисленных состояний является основанием для начала терапии ХЛЛ.

Оценка эффективности лечения

В тех же Рекомендациях по диагностике и лечению ХЛЛ [18] предложены следующие критерии ответа на лечение: полная ремиссия, частичная ремиссия, общий ответ (полная и частичная ремиссия), стабилизация, прогрессирование, рецидив заболевания. Помимо этого, при полной или частичной ремиссии была предложена дополнительная категория оценки ответа, которая приобретает всё более важное значение – минимальная остаточная болезнь (МОБ).

Минимальная остаточная болезнь. Внедрение в клиническую практику проточной цитофлюорометрии и количественной оценки с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) позволило установить, что у пациентов, достигших полного клинического ответа, могут оставаться опухолевые клетки. Такое состояние обозначается как «минимальная остаточная болезнь» (МОБ). Появляется все больше сведений о том, что терапия, способная устранить МОБ, часто приводит к повышению уровня выживаемости больных [26]. К настоящему времени методики оценки МОБ хорошо отработаны. Как 4-цветная проточная цитофлюорометрия, так и аллель-специфичная ПЦР чувствительны вплоть до уровня менее одной опухолевой клетки на 10000 лейкоцитов. Если в крови или костном мозге присутствует менее одной опухолевой клетки на 10000 лейкоцитов, пациент относится к категории получивших ремиссию с отрицательной МОБ [27]. В случаях монотерапии моноклональными антителами необходимо учитывать, что антитела воздействуют на опухолевые клетки преимущественно в крови, в связи с чем у пациентов с отрицательной МОБ, определенной по

крови, целесообразно оценивать МОБ в костном мозге.

В двух крупных рандомизированных исследованиях, осуществленных Немецкой группой по изучению ХЛЛ (CLL8 и CLL10), проводилось сравнение результатов оценки МОБ с клиническим ответом на лечение 554 больных ХЛЛ. У больных, достигших полной и частичной ремиссии при отрицательной МОБ, медиана безрецидивной выживаемости составила 61 и 54 мес, с положительной МОБ – 35 и 21 мес соответственно, в то время как различие в безрецидивной выживаемости пациентов, достигших полной ремиссии при положительной МОБ и частичной ремиссии при отрицательной МОБ, оказалось незначительным [28].

Препараты, применяемые для лечения хронического лимфоцитарного лейкоза

Цитостатики. *Хлорбутин*, один из алкилирующих цитостатиков, эффективных при ХЛЛ, не обладает большой непосредственной токсичностью, применение его не требует госпитализации. До появления пуриновых аналогов хлорбутин являлся «золотым стандартом» терапии ХЛЛ. Однако применение хлорбутина крайне редко приводит к достижению полной ремиссии ХЛЛ. Кроме того, длительный прием этого препарата может вызвать продолжительную цитопению, развитие миелодиспластического синдрома и острого лейкоза. В настоящее время применение хлорбутина ограничено ситуациями, при которых целью терапии является паллиативное лечение пожилых людей с серьезными сопутствующими заболеваниями [29].

Флударабин является наиболее хорошо изученным из 3 аналогов пурина, применяемых для лечения ХЛЛ, – флударабина, пентостатина и кладрибина. Монотерапия флударабином обеспечивает более высокую частоту частичной и полной ремиссии по сравнению с другими алкилирующими препаратами, не улучшая, однако, общей выживаемости больных [30]. Флударабин способен вызывать аутоиммунные анемию и тромбоцитопению даже у больных с отрицательным тестом Кумбса. Вызываемая флударабином панцитопения является причиной прерывания терапии. Вследствие большой частоты инфекционных осложнений, обусловленных миелосупрессией, применение флударабина у пациентов старше 65 лет нецелесообразно [31].

Бендамустин – препарат, сочетающий эффект алкилирующего агента и пуринового аналога, был синтезирован в Восточной Германии в 1963 г. Рандомизированное исследование сравнительной эффективности бендамустина и хлорбутина показало, что бендамустин, обеспечивая более высокую частоту ремиссий, обладает более выраженной токсичностью и не улучшает общую выживаемость [32]. При сравнении эффективности бендамустина и флударабина бендамустин несколько

превосходил флударабин как по частоте полных и частичных ответов, так и по медиане безрецидивной выживаемости, однако общая выживаемость также была одинаковой [33]. Несмотря на схожесть профилей токсичности, частота инфекционных и гематологических осложнений при применении бендамустина существенно ниже по сравнению с флударабином [34]. Эффективность бендамустина при лечении ХЛЛ подтверждена и другими многочисленными исследованиями.

Моноклональные антитела

Белок CD20 экспрессируется на поверхности зрелых В-лимфоцитов. Его функция до сих пор остается неизвестной. Применение анти-CD20 ритуксимаба позволило улучшить результаты лечения большинства CD20+В-клеточных лимфом и ХЛЛ [35].

Ритуксимаб является генно-инженерным химерным моноклональным антителом, молекула которого содержит мышинные вариабельные фрагменты легких и тяжелых цепей и человеческий постоянный сегмент. При ХЛЛ ритуксимаб менее активен в режиме монотерапии, чем при фолликулярной лимфоме, если только не использовать очень большие дозы [36]. Однако комбинации ритуксимаба с цитостатиками показали себя как очень эффективные методы терапии ХЛЛ. Деплеция В-клеток даже при длительном применении ритуксимаба не приводит к существенному повышению частоты инфекционных осложнений [37].

Офатумумаб представляет собой уже полностью гуманизированное антитело, направленное на конкретный эпитоп на молекуле CD20, что ведет к усилению связывающей способности с CD20. В результате офатумумаб обладает большей противоопухолевой активностью, чем ритуксимаб, особенно в отношении клеток, экспрессирующих низкие уровни CD20 [38]. Наиболее часто встречающиеся осложнения терапии офатумумабом – инфузионные реакции, инфекции и нейтропения [39].

Обинутузумаб является рекомбинантным, гуманизированным, гликоинженерированным моноклональным антителом. Гуманизирование родительского антитела В-Ly1 мыши с последующим глико-инженерингом обеспечивают более высокий уровень связывания с эпитопом CD20 2-го типа, повышая зависимую от антитела цитотоксичность. В исследовании GAUGUIN была показана активность обинутузумаба у больных при рецидивах и рефрактерном ХЛЛ, обоснована целесообразность разработки комбинированных схем лечения [40]. При одинаковом с ритуксимабом профиле токсичности наличие тяжелых осложнений лечения обинутузумабом ($\geq$ III степени) встречается в два раза чаще, чем при применении ритуксимаба. Однако несмотря на то, что частота развития нейтропении при лечении обинутузумабом выше, чем ритуксимабом, уровень инфекционных осложнений одинаков [41].

Алемтузумаб также является рекомбинантным гуманизированным антителом, но направленным против антигена CD52. Монотерапия алемтузумабом оказалась эффективной у больных ХЛЛ, резистентных к алкилирующим препаратам, примененным в качестве терапии первой линии, и у больных с рецидивом ХЛЛ после терапии второй линии флударабином [42]. Алемтузумаб эффективен также у больных с генетическими маркерами высокого риска – del(11q22) и del(17p13), мутацией гена TP53 [43]. В связи с тем что алемтузумаб поражает В- и Т-лимфоциты, его применение отличается высокой частотой инфекций, включая пневмоцистную пневмонию. Это обстоятельство привело к существенному сокращению показаний к его применению, оставив небольшую нишу ХЛЛ, рефрактерного ко всем другим препаратам.

Препараты, воздействующие на сигнальные пути В-клеточного рецептора

Активация сигнального пути В-клеточного рецептора играет важную роль в выживании клеток ХЛЛ. Выживание клеток ХЛЛ поддерживается непрерывной сигнализацией, вследствие чего воздействие на сигнальные пути В-клеточного рецептора является новой эффективной стратегией в лечении ХЛЛ. Различные тирозинкиназы, такие как тирозинкиназа Брутона, селезеночная тирозинкиназа, ZAP 70 и др., являются компонентами сигнального пути В-клеточного рецептора [44].

Ибрутиниб. Тирозинкиназа Брутона производит активацию киназ NF- κ B и MAP через Src семейства киназ. Ибрутиниб ингибирует тирозинкиназу Брутона, индуцируя апоптоз опухолевых клеток В-клеточных лимфом и ХЛЛ [45, 46]. Наиболее частым осложнением лечения больных ХЛЛ ибрутинибом в I фазе исследований были вирусные инфекции [47], несколько реже – цитопения и фибрилляция предсердий [48]. К серьезным осложнениям терапии ибрутинибом относятся также клинически значимые кровотечения, цитопения $\geq$ III степени, артериальная гипертензия [49]. В исследовании эффективности ибрутиниба у 85 больных с рецидивом или резистентным ХЛЛ или лимфоцитарной лимфомой показатель общего ответа составил 71 % и не зависел от наличия таких факторов риска, как поздняя стадия заболевания, del(17p13), а также от количества предыдущих циклов терапии. На 26-м мес наблюдения безрецидивная и общая выживаемость составили 75 % и 83 % соответственно [50]. Ибрутиниб показал более высокую эффективность по сравнению с офатумумабом. В исследовании, включившем 391 больного ХЛЛ и лимфоцитарной лимфомой, общая выживаемость в течение 12 мес наблюдения у больных, получавших ибрутиниб и офатумумаб, составила 90 % и 81 % соответственно [51].

Акалабрутиниб – селективный ингибитор тирозинкиназы Брутона 2-го поколения, утвержденный

в 2017 г. в США для терапии рецидивирующей/рефрактерной мантийноклеточной лимфомы, исследован также для лечения ХЛЛ. Результаты I/II фазы исследования показали частоту общих ответов у 96 % пациентов с ХЛЛ, ранее не получавших химиотерапию, у 93 % – с рецидивирующим/рефрактерным процессом и у 76 % больных ХЛЛ с прогрессированием после применения ибрутиниба [52]. Спектр осложнений лечения акалобрутинибом совпадает с таковым при использовании ибрутиниба, однако частота их проявлений меньше, что делает возможным назначение акалобрутиниба в случаях вынужденного прекращения терапии ибрутинибом из-за развития серьезных осложнений [53].

Иделалисиб является дельта-изоформ-селективным ингибитором PI3K, стимулирующим апоптоз клеток ХЛЛ, не индуцируя при этом апоптоз нормальных Т-клеток или клеток – естественных киллеров [54]. Исследование I фазы, проведенное в группе из 54 больных с рецидивом или резистентным ХЛЛ, имевших интенсивную предшествовавшую терапию и такие неблагоприятные характеристики, как массивная лимфаденопатия, отсутствие мутации гена IGHV (91 %), del(17p13) и/или мутация гена TP53, показало 72 % общего ответа на терапию иделалисибом. Медиана безрецидивной выживаемости составила 15,8 мес [55]. Эти результаты послужили основой для разработки комбинированных схем терапии. Вместе с тем, терапия иделалисибом приводила к высокой частоте инфекционных осложнений, включая пневмонию, к существенному повышению уровня трансаминаз, вследствие чего применение препарата в первой линии терапии было отвергнуто [56].

Ингибиторы BCL-2

Белки семейства В-клеточной лимфомы-2 (BCL-2) являются ключевыми регуляторами процесса апоптоза. Семейство включает в себя проапоптотические белки и белки, способствующие выживанию клетки. Смещение баланса в сторону последних является механизмом, за счет которого опухолевые клетки избегают апоптоза [57]. Ингибирование способствующих выживанию клетки белков является мишенью для синтезируемых новых лечебных препаратов. В доклинических исследованиях было протестировано несколько антагонистов белков BCL-2, наиболее перспективным из которых показал себя венетоклак.

Венетоклак является препаратом, блокирующим функции белков семейства BCL-2, способствующих выживанию клетки [58]. В одном из исследований переносимости и эффективности венетоклакса, опубликованном в 2016 г., общий ответ на лечение был получен у 92 (79 %) из 116 больных ХЛЛ, получавших венетоклак. В подгруппах больных с резистентностью к флударабину, del(17p13) или отсутствием мутации IGHV частота общих ответов составляла от 71 до 79 %.

15-месячная безрецидивная выживаемость в группах, получавших максимально переносимую дозу венетоклакса (400 мг), составила 69 % [59]. Наиболее частыми осложнениями терапии венетоклаксом являются нейтропения, тромбоцитопения, однако их выраженность редко превышает III степень [60].

В настоящее время в доклинических и клинических испытаниях оценивается множество других синтетических ингибиторов тирозинкиназы Брутона, фосфатидилинозитол-3-киназы и белков BCL-2.

Иммуномодулирующие препараты

Леналидомид является аналогом талидомида, обладающим терапевтической эффективностью при множественной миеломе и миелодиспластическом синдроме. Была показана эффективность монотерапии леналидомидом у больных с рецидивом ХЛЛ, имевшим плохие прогностические характеристики [61]. В одном из исследований сообщены отдаленные результаты лечения 60 больных ХЛЛ леналидомидом в качестве терапии первой линии. При медиане наблюдения 4 года общая выживаемость составила 82 %. Продолжительность ремиссии у 35 (58 %) больных превышала 36 мес, но необходимо отметить, что наиболее длительный период ремиссии был характерен для больных с более низким исходным уровнем бета-2-микроглобулина, менее продолжительный – при наличии del(17p13) [62]. Леналидомид может быть использован для поддерживающей терапии больных ХЛЛ с высоким риском, не достигших в процессе терапии первой линии полной ремиссии или МОБ-отрицательного результата [63, 64]. Лечение леналидомидом может осложняться развитием нейтропении и тромбоцитопении III–IV степени. Негематологические осложнения встречаются реже и выражены в меньшей степени [65].

Еще одним иммуномодулирующим препаратом, эффективность которого изучается при ХЛЛ, является пембролизумаб – препарат из класса ингибиторов PD-1. *Пембролизумаб* – моноклональное антитело, блокирующее взаимодействие рецепторов PD-1 на Т-лимфоцитах иммунной системы и лигандов PD-L1 и PD-L2 на опухолевой клетке, вследствие чего происходит реактивация иммунной системы [66]. В одном из первых исследований эффективность пембролизумаба была оценена у 25 больных ХЛЛ с рецидивом заболевания или трансформацией Рихтера. Половина больных до этого получала ибрутиниб. Положительный эффект лечения наблюдался в половине случаев трансформации ХЛЛ в синдром Рихтера, но ни у одного пациента с рецидивом ХЛЛ. Результаты исследования показывают эффективность блокады PD-1 у больных ХЛЛ с трансформацией в синдром Рихтера [67].

Комбинированная терапия

Комбинации цитостатиков. Комбинирование препаратов с отличающимся механизмом действия и разнонаправленной токсичностью обеспечивает существенно лучшие результаты. Наиболее успешной оказалась комбинация флударабина и циклофосфана (схема FC). Сравнение эффективности терапии циклофосфаном или флударабином показало отсутствие преимущества каждого из этих препаратов, однако их комбинация улучшала частоту общего ответа до 60–100 %, полного – до 50 % [68].

Комбинации, включающие ритуксимаб. В наиболее крупном из представленных в литературе рандомизированном исследовании 817 первичных больных получили терапию либо по схеме FC, либо FC в комбинации с ритуксимабом (схема RFC). Схема RFC по сравнению со схемой FC показала более высокий уровень как общего (92,8 и 85,4 %), так и полного (44,5 и 22,9 %) ответов. Безрецидивная выживаемость в течение 2 лет составила 76,6 и 62,3 %, летальность, связанная с лечением, – 2,0 и 1,5 % соответственно. Исключение составили больные ХЛЛ с del(17p13), у которых добавление к FC ритуксимаба не улучшило выживаемость [69]. Более высокая эффективность схемы RFC по сравнению со схемой FC при равной токсичности явилась причиной того, что схема RFC стала «золотым стандартом» терапии первой линии большей части больных ХЛЛ.

Учитывая, что бендамустин обладает свойствами как алкилирующего агента, так и аналога пурина, активных в отношении ХЛЛ, была разработана схема BR, сочетающая ритуксимаб с бендамустином. Эффективность схемы BR сравнена со схемой RFC в крупном рандомизированном исследовании German Chronic Lymphocytic Leukemia Study Group (CLL10), в которое был включен 561 больной ХЛЛ. Медиана времени до развития рецидива ХЛЛ после лечения по схемам FCR или BR составила 55,2 и 41,7 мес соответственно, показав превосходство FCR над BR. Количество больных с отрицательной МОБ было также больше после FCR [70]. Таким образом, исследование CLL10 оставило приоритет за схемой RFC, до сих пор остающейся стандартом терапии первой линии больных ХЛЛ.

Комбинации, включающие обинутузумаб или офатумумаб. Как пожилые больные ХЛЛ, так и больные с выраженной коморбидностью при лечении по схеме RFC подвергаются существенному риску осложнений, в то время как более безопасная терапия хлорбутином обеспечивает лишь краткосрочную ремиссию. Вследствие этого внимание исследователей привлекла возможность повышения эффективности терапии хлорбутином добавлением ритуксимаба.

German Chronic Leukemia Study Group было проведено протокольное исследование этого аспекта, включившее 781 первичного больного ХЛЛ с

коморбидностью, оцененной по шкале Cumulative Illness Rating Scale (CIRS) выше 6 баллов. Лечение рандомизированно назначалось по одному из следующих трех вариантов: монокимioterapia хлорбутином, комбинация хлорбутина с обинутузумабом, хлорбутина с ритуксимабом. По сравнению с монотерапией хлорбутином комбинация обинутузумаба с хлорбутином значительно повышала частоту общего ответа и увеличивала время до наступления рецидива, медиана которого составила 26,7 мес, в то время как при терапии хлорбутином она равнялась 11,1 мес. Эффективность сочетания обинутузумаба с хлорбутином превосходила и комбинацию хлорбутина с ритуксимабом как по продолжительности времени до рецидива, так и по частоте полного ответа. Связанные с инфузией обинутузумаба реакции и нейтропения наблюдались чаще, чем при использовании ритуксимаба, однако риск развития инфекционного процесса был одинаковым [71].

Аналогичное крупное исследование было проведено по оценке эффективности комбинации офатумумаба и хлорбутина. Исследование представляло собой рандомизированное открытое испытание 3-й фазы, в которое было включено 447 ранее не леченных больных ХЛЛ с противопоказанием терапии флударабином. Медиана времени до наступления рецидива у больных после лечения офатумумабом в сочетании с хлорбутином составила 22,4 мес, в группе получивших хлорбутин – 13,1 мес. Осложнения несколько чаще встречались в группе комбинированного лечения – 50 и 43 % соответственно, однако, как и в предыдущем исследовании, частота инфекционных осложнений была одинаковой [72].

Таким образом, программой выбора лечения больных ХЛЛ с выраженной коморбидностью могут быть комбинации обинутузумаба либо офатумумаба с хлорбутином, отличающиеся высокой эффективностью и допустимой токсичностью.

Комбинации, включающие алемтузумаб. Комбинация флударабина и алемтузумаба (FA) была впервые исследована T. Elter et al. Лечение получили 36 больных ХЛЛ с рецидивом или химиорезистентным процессом. Частота общего ответа на лечение составила 83 % (полная ремиссия – 30 %, частичная – 53 %). Через 3 мес после лечения отсутствие МОБ зарегистрировано в 53 %. Отмечено только 2 случая субклинической реактивации цитомегаловирусной инфекции. Результаты этого исследования показали, что комбинация флударабина с алемтузумабом является эффективной и относительно безопасной при лечении больных ХЛЛ [73].

Гораздо более токсичной оказалась эта же комбинация при добавлении к ней циклофосфана. Исследование S. Repretre et al., в котором сравнивалась эффективность схем FCA (флударабин, циклофосфан, алемтузумаб) и RFC (ритуксимаб,

флударабин, циклофосфан), примененных в качестве терапии первого ряда, было досрочно закрыто из-за повышенной токсичности и летальности, связанной с лечением, у больных, получавших схему FCA [74].

Комбинирование с препаратами, воздействующими на сигнальные пути В-клеточного рецептора. Результаты доклинического исследования показали способность ибрутиниба ухудшать фагоцитоз макрофагами опухолевых лимфоцитов, пораженных ритуксимабом [75]. Тем не менее эффективность комбинации ибрутиниба с ритуксимабом (схема IR) была изучена в группе из 40 больных ХЛЛ, большинство из которых имели предшествующую терапию. У половины из них была del(17p13). Уровень общего ответа на терапию по схеме IR – 95%, частота полной ремиссии – 23 %. Медиана времени от начала лечения по схеме IR до прогрессирования составила 45 мес для всей группы, в то время как у больных с del(17p13) она была существенно меньше – 32,3 мес. Умерло 14 (35 %) больных: от прогрессирования опухоли – 5, от инфекционного процесса – 5, от других причин – 4 пациента. Авторы сделали вывод, что комбинация IR способна обеспечить продолжительную ремиссию у больных ХЛЛ высокого риска и может применяться в клинике [76].

В другом исследовании оценивалась комбинация ибрутиниба с офатумумабом у 66 больных ХЛЛ, имевших не менее 2 линий предшествующей терапии, из них у большинства отмечалось наличие del(11q22) или del(17p13). Больные были разделены на 3 группы: в 1-й лечение начиналось с ибрутиниба, во 2-й – препараты назначались одновременно, в 3-й – терапия начиналась с офатумумаба. Частота общего ответа на лечение составила 100, 79 и 71 %, 12-месячная безрецидивная выживаемость – 89, 85 и 75 % соответственно [77]. Таким образом, наиболее эффективной показала себя последовательность применения препаратов комбинации, которая начинается с ибрутиниба.

Эффективность более сложного сочетания ибрутиниба со схемой BR (ритуксимаб + бендамустин) была оценена в крупном исследовании HELIOS. Больные ХЛЛ с рецидивом заболевания или резистентностью к терапии (n=578) получали 6 циклов BR в сочетании либо с ибрутинибом, либо с плацебо. Безрецидивная выживаемость за 18 мес в группе ибрутиниба составила 79 %, в группе плацебо – 24 %. Негативные проявления III–IV степени (чаще всего нейтропения и тромбоцитопения) встречались в группах ибрутиниба и плацебо с частотой 77 и 74 % соответственно. Данные результаты показывают, что добавление ибрутиниба к схеме BR существенно повышает эффективность лечения больных ХЛЛ без усиления токсичности [78].

Ингибитор PI3K-дельта, иделалисиб, также оценивался в комбинациях с ритуксимабом либо с

офатумумабом. Эффективность сочетания иделалисиба с ритуксимабом была изучена у 220 больных ХЛЛ с серьезными сопутствующими заболеваниями и предшествовавшей терапией ХЛЛ. Больные получали ритуксимаб в сочетании либо с иделалисибом, либо с плацебо. Получавшие иделалисиб, по сравнению с плацебо, демонстрировали более высокие показатели как общего ответа (81 и 13 %), так и общей 12-месячной общей выживаемости (92 и 80 % соответственно). Существенного различия частоты серьезных осложнений лечения не было: в группе иделалисиба – у 40 % больных, в группе плацебо – у 35 % [79]. Исследование явилось основой для одобрения комбинации иделалисиба и ритуксимаба для лечения больных с рецидивом ХЛЛ, не подлежащих терапии цитостатиками.

Иделалисиб был тестируем в комбинации с офатумумабом в такой же когорте больных ХЛЛ с рецидивом заболевания после одной или нескольких линий терапии (n=261). Больные получали либо сочетание иделалисиба с офатумумабом, либо офатумумаб. Медиана времени до наступления рецидива составила 16 и 8 мес соответственно. Серьезные инфекционные осложнения чаще возникали в группе больных, получивших комбинацию иделалисиба и офатумумаба (пневмония – 13 %, сепсис – 6 %, пневмоцистная пневмония – 5 %). В этой группе было 22 летальных исхода, связанных с лечением (бактериальный и вирусный сепсисы), в то время как при лечении офатумумабом – 6 (мультифокальная лейкоэнцефалопатия, пневмония). Несмотря на высокую частоту осложнений в группе «иделалисиб + офатумумаб», авторы выразили мнение о возможности применения данной схемы для лечения больных с рецидивами ХЛЛ [80].

Комбинирование с антагонистами белков BCL-2. Комбинация венетоклакса и ритуксимаба была изучена в группе из 49 больных с рецидивом ХЛЛ или резистентным к терапии процессом. Целью этого исследования I фазы было определение максимально переносимой дозы венетоклакса. Венетоклаксы назначали ежедневно, постепенно увеличивая дозу с 200 мг/сут до намеченной дозы 600 мг/сут, затем ежемесячно вводился ритуксимаб в дозах 375 мг/м² в 1-й мес и 500 мг/м² – со 2-го по 6-й мес. Общий ответ на лечение был получен у 42 (86 %), в том числе полный – у 25 (51 %) больных. Двухлетняя безрецидивная выживаемость составила 82 %. Отрицательная МОБ, оцененная по костному мозгу, констатирована у 20 (80 %) из 25 больных с полной ремиссией. У 13 больных, ответивших на лечение, в том числе у 11 с отрицательной МОБ, не произошло прогрессирование заболевания в течение 2-летнего периода наблюдения. У 2 больных с полным ответом, но положительной МОБ заболевание прогрессировало после 24 мес без терапии, однако после возобновления лечения венетоклаксом вновь был получен положительный эффект [81]. Данное исследование иллю-

стрирует способность комбинации венетоклакса и ритуксимаба обеспечивать длительную ремиссию у существенной части больных опухолью, резистентной к предшествовавшей терапии.

Еще меньшее количество больных ХЛЛ ($n=12$) включено в исследование по оценке комбинации венетоклакса с обинутузумабом. У этих не леченных ранее больных с медианой возраста 75 лет были серьезные сопутствующие заболевания. Лечение начиналось с применения обинутузумаба (4 еженедельных введения) с последующим 6-месячным курсом комбинированной (венетоклак + обинутузумаб) терапии, за которой следовали 6 месячных циклов монотерапии венетоклаксом. Спустя 3 мес после окончания лечения частота общего ответа составила 100 %. Полная ремиссия констатирована у 7 из 12 больных. Отсутствие МОБ установлено у 11 больных. Безрецидивная выживаемость к 15 мес после лечения составила 100 % [82]. Если дальнейшее наблюдение покажет довольно длительный безрецидивный период ремиссии, то арсенал терапии первой линии может быть дополнен возможностью лечения пожилых больных с серьезной сопутствующей патологией комбинацией венетоклакса с обинутузумабом.

Комбинирование с иммуномодуляторами.

Хотя сочетание леналидомида с ритуксимабом обеспечило более высокую частоту частичных и полных ответов на лечение даже у больных с del(17p13) и немутировавшим геном IGHV при приемлемом уровне токсичности [83], попытки расширения этой комбинации оказались не столь удачными. Исследование I фазы эффективности и переносимости комбинации леналидомида с ритуксимабом и флударабином показало неприемлемо высокий уровень токсичности этой схемы, в связи с чем исследование было прекращено досрочно. У всех 9 больных ХЛЛ, вошедших в этот протокол, проявления лекарственной токсичности обнаруживались уже в начале терапии. Чаще всего встречались сыпь, миалгии, рабдомиолиз, цитопении, ладонно-подошвенный синдром. В двух случаях прерывание лечения ввиду длительной нейтропении привело к прогрессированию ХЛЛ [84].

F.R. Mauro et al. изучили эффективность комбинации леналидомида с цитостатиками (флударабин и циклофосфан) без включения в нее ритуксимаба. Максимальная приемлемая суточная доза леналидомида составила 5 мг. Результат терапии оценен у 40 больных ХЛЛ, из которых более половины имели неблагоприятные характеристики заболевания. Общий и полный ответы были получены в 62,5 и 22,5 % соответственно. Нейтропения наблюдалась у 65 %, инфекционные процессы – у 7,5 % больных. Авторы полагали, что такая схема лечения может быть приемлемой для клинической практики [85].

При комбинации леналидомида с ритуксимабом и бендамустином были продемонстрированы

низкий уровень частоты общего ответа (полной и частичной ремиссии), а также существенная токсичность. Большое количество осложнений лечения также привело к досрочному прекращению этого исследования. Частичный или гораздо реже полный курс лечения в рамках этого протокола получили 17 больных ХЛЛ. Медиана общей выживаемости ранее не леченных больных составила 22,9 мес, получавших предшествовавшую иммунохимиотерапию – 12,3 мес. Частота гематологической токсичности III–IV степени достигла 71,4 %, тяжелых инфекционных процессов – 47,6 % [86].

Трансплантация аллогенных стволовых клеток

Трансплантация аллогенных стволовых клеток, обладающая терапевтическим эффектом «трансплантат против лимфомы», является методом выбора для больных ХЛЛ высокого риска и единственной возможностью их излечения. Эта концепция нашла отражение в результатах работы консенсусной группы, в соответствии с которыми аллогенная трансплантация была показана пациентам не пожилого возраста при наличии del 17p13 и мутации гена P53, при неудаче химиотерапии по схеме FC и раннем рецидиве заболевания [87]. Аллогенная трансплантация применялась в течение последних двух десятилетий с возрастающей интенсивностью. Вместе с тем, внедрение в клинику ритуксимаба привело к сокращению пула пациентов с показаниями к аллогенной трансплантации, и эта тенденция усиливается по мере появления новых таргетных препаратов [88, 89].

CAR-T клеточная терапия

Этот метод лечения основан на использовании аутологических Т-клеток, перепрограммированных с помощью генной инженерии на образование на их поверхности химерного антигенного рецептора (chimeric antigen receptor, CAR). Для лечения В-клеточных опухолей применяются Т-клетки, перепрограммированные на образование CAR 19 (CART19), мишенью для которого является CD19, экспрессирующийся на поверхности всех зрелых В-клеток и некоторых их предшественников [90]. В 2011–18 гг. были опубликованы результаты применения CART19-терапии у 134 больных ХЛЛ, получивших прежде несколько линий лечения, включая ибрутиниб и венетоклак. К сожалению, эффективность CART19-терапии у больных ХЛЛ уступает результатам лечения у пациентов с острым лимфобластным лейкозом и диффузной крупноклеточной лимфомой (частота полных ремиссий не превышала 30 %). С целью уменьшения токсичности и повышения эффективности CART19-терапии продолжается совершенствование технологий создания CAR [91].

Заключение

В настоящее время проводятся доклинические испытания множества новых молекулярных препаратов таргетного действия [92]. Продолжение клинических исследований места новых препаратов в терапии ХЛЛ, ближайшая перспектива пополнения их арсенала позволяют с оптимизмом смотреть на возможность существенного увеличения продолжительности жизни больных ХЛЛ, особенно с неблагоприятными прогностическими

характеристиками заболевания и значительной коморбидностью.

Данная работа проводилась в рамках выполнения тем государственного задания МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиала ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России за 2015–16 гг. и первую половину 2017 г., промежуточные итоги выполнения которых нашли отражение в обобщающей публикации [93].

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2017 г. (заболеваемость и смертность). М., 2018. 250 с. [Kaprin A.D., Starinskiy V.V., Petrova G.V. Malignant neoplasms in Russia in 2017 (morbidity and mortality). Moscow, 2018. 250 p. (in Russian)].
2. Miranda-Filho A., Piñeros M., Ferlay J., Soerjomataram I., Monnereau A., Bray F. Epidemiological patterns of leukaemia in 184 countries: a population-based study. *Lancet Haematol.* 2018 Jan; 5(1): e14e24. doi: 10.1016/S2352-3026(17)30232-6.
3. Watson L., Wyld P., Catovsky D. Disease burden of chronic lymphocytic leukaemia within the European Union. *Eur J Haematol.* 2008 Oct; 81(4): 253–8. doi: 10.1111/j.1600-0609.2008.01114.x.
4. Dighiero G., Hamblin T.J. Chronic lymphocytic leukaemia. *Lancet.* 2008; 22: 1017–1029. doi: 10.1016/S0140-6736(08)60456-0.
5. Kikushige Y., Ishikawa F., Miyamoto T., Shima T., Urata S., Yoshimoto G., Mori Y., Iino T., Yamauchi T., Eto T., Niino H., Iwasaki H., Takenaka K., Akashi K. Self-renewing hematopoietic stem cell is the primary target in pathogenesis of human chronic lymphocytic leukemia. *Cancer Cell.* 2011 Aug 16; 20(2): 246–59. doi: 10.1016/j.ccr.2011.06.029.
6. Landau D.A., Tausch E., Taylor-Weiner A.N., Stewart C., Reiter J.G., Bahlo J., Kluth S., Bozic I., Lawrence M., Böttcher S., Carter S.L., Cibulskis K., Mertens D., Sougnez C.L., Rosenberg M., Hess J.M., Edelmann J., Kless S., Kneba M., Ritgen M., Fink A., Fischer K., Gabriel S., Lander E.S., Nowak M.A., Döhner H., Hallek M., Neuberg D., Getz G., Stilgenbauer S., Wu C.J. Mutations driving CLL and their evolution in progression and relapse. *Nature.* 2015 Oct 22; 526(7574): 525–30. doi: 10.1038/nature15395.
7. Bose P., Gandhi V. Recent therapeutic advances in chronic lymphocytic leukemia. *F1000Res.* 2017; 6: 1924. doi: 10.12688/f1000research.11618.1.
8. Jackson S.P., Bartek J. The DNA-damage response in human biology and disease. *Nature.* 2009 Oct 22; 461(7267): 1071–8. doi: 10.1038/nature08467.
9. Morabito F., Shanafelt T.D., Gentile M., Reda G., Mauro F.R., Rossi D., Di Renzo N., Molica S., Angrilli F., Chiarenza A., Cutrona G., Chaffee K.G., Parikh S.A., Tripepi G., D'Arrigo G., Vigna E., Recchia A.G., Cortelezzi A., Gaidano G., Di Raimondo F., Fais F., Foà R., Neri A., Ferrarini M. Immunoglobulin heavy chain variable region gene and prediction of time to first treatment in patients with chronic lymphocytic leukemia: Mutational load or mutational status? Analysis of 1003 cases. *Am J Hematol.* 2018 Sep; 93(9): E216E219. doi: 10.1002/ajh.25206.
10. Shanafelt T.D., Witzig T.E., Fink S.R., Jenkins R.B., Paternoster S.F., Smoley S.A., Stockero K.J., Nast D.M., Flynn H.C., Tschumper R.C., Geyer S., Zent C.S., Call T.G., Jelinek D.F., Kay N.E., Dewald G.W. Prospective evaluation of clonal evolution during long-term follow-up of patients with untreated early-stage chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol.* 2006 Oct; 24(28): 4634–41. doi: 10.1200/JCO.2006.06.9492.
11. Döhner H., Stilgenbauer S., James M.R., Benner A., Weilguni T., Bentz M., Fischer K., Hunstein W., Lichter P. 11q deletions identify a new subset of B-cell chronic lymphocytic leukemia characterized by extensive nodal involvement and inferior prognosis. *Blood.* 1997 Apr 1; 89(7): 2516–22.
12. Seiffert M., Dietrich S., Jethwa A., Glimm H., Lichter P., Zenz T. Exploiting biological diversity and genomic aberrations in chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Lymphoma.* 2012; 53(6): 1023–31. doi: 10.3109/10428194.2011.631638.
13. Byrd J.C., Gribben J.G., Peterson B.L., Grever M.R., Lozanski G., Lucas D.M., Lampon B., Larson R.A., Caligiuri M.A., Heerema N.A. Select high-risk genetic features predict earlier progression following chemoimmunotherapy with fludarabine and rituximab in chronic lymphocytic leukemia: justification for risk-adapted therapy. *J Clin Oncol.* 2006; 24(3): 437–43. doi: 10.1200/JCO.2005.03.1021.
14. Kadri S., Lee J., Fitzpatrick C., Galanina N., Sukhanova M., Venkataraman G., Sharma S., Long B., Petras K., Theissen M., Ming M., Kobzev Y., Kang W., Guo A., Wang W., Niu N., Weiner H., Thirman M., Stock W., Smith S.M., Nabhan C., Segal J.P., Lu P., Wang Y.L. Clonal evolution underlying leukemia progression and Richter transformation in patients with ibrutinib-relapsed CLL. *Blood Adv.* 2017 May 2; 1(12): 715–727. doi: 10.1182/bloodadvances.2016003632.
15. Burger J.A., Ghia P., Rosenwald A., Caligaris-Cappio F. The microenvironment in mature B-cell malignancies: a target for new treatment strategies. *Blood.* 2009; 114(16): 3367–75. doi: 10.1182/blood-2009-06-225326.
16. Maffei R., Fiorcari S., Martinelli S., Potenza L., Luppi M., Marsca R. Targeting neoplastic B cells and harnessing microenvironment: the «double face» of ibrutinib and idelalisib. *J Hematol Oncol.* 2015 May 29; 8: 60. doi: 10.1186/s13045-015-0157-x.
17. Quinquenel A., Fornecker L.M., Letestu R., Ysebaert L., Fleury C., Lazarian G., Dilhuyd M.S., Nollet D., Guezie R., Feugier P., Roos-Weil D., Willems L., Michallet A.S., Delmer A., Hormigos K., Levy V., Cymbalista F., Baran-Marszak F.; French Innovative Leukemia Organization (FILO) CLL Group. Prevalence of BTK and PLCG2 mutations in a real-life CLL cohort still on ibrutinib after 3 years: a FILO group study. *Blood.* 2019 Aug; 134(7): 641–4. doi: 10.1182/blood.2019000854.
18. Hallek M., Cheson B.D., Catovsky D., Caligaris-Cappio F., Dighiero G., Döhner H., Hillmen P., Keating M., Montserrat E., Chiorazzi N., Stilgenbauer S., Rai K.R., Byrd J.C., Eichhorst B., O'Brien S., Robak T., Seymour J.F., Kipps T.J. iwCLL guidelines for diagnosis, indications for treatment, response assessment, and supportive management of CLL. *Blood.* 2018 Jun 21; 131(25): 2745–60. doi: 10.1182/blood-2017-09-806398.
19. Melo J.V., Catovsky D., Galton D.A. Chronic lymphocytic leukemia and prolymphocytic leukemia: a clinicopathological reappraisal. *Blood Cells.* 1987; 12(2): 339–53.
20. Swerdlow S.H., Campo E., Harris N.L., Jaffe E.S., Pileri S.A., Stein H., Orazi A. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues (Revised 4th edition). IARC Press, Lyon, 2017. 586 p.
21. Rai K.R., Sawitsky A., Cronkite E.P., Chanana A.D., Levy R.N., Pasternack B.S. Clinical staging of chronic lymphocytic leukemia. *Blood.* 1975; 46(2): 219–34.
22. Binet J.L., Auquier A., Dighiero G., Chastang C., Pigué H., Goasguen J., Vaugier G., Potron G., Colona P., Oberling F., Thomas M., Tchernia G., Jacquillat C., Boivin P., Lesty C., Duault M.T., Monconduit M., Belabbes S., Gremy F. A new prognostic classification of chronic lymphocytic leukemia derived from a multivariate survival analysis. *Cancer.* 1981; 48(1): 198–206. doi: 10.1002/1097-0142(19810701)48:1<198::aid-cncr2820480131>3.0.co;2-v.
23. Pflug N., Bahlo J., Shanafelt T.D., Eichhorst B.F., Bergmann M.A., Elter T., Bauer K., Malchau G., Rabe K.G., Stilgenbauer S., Döhner H., Jäger U., Eckart M.J., Hopfinger G., Busch R., Fink A.M., Wendtner C.M., Fischer K., Kay N.E., Hallek M. Development of a comprehensive prognostic index for patients with chronic lymphocytic leukemia. *Blood.* 2014; 124(1): 49–62. doi: 10.1182/blood-2014-02-556399.
24. International CLL-IP1 working group. An international prognostic index for patients with chronic lymphocytic leukaemia (CLL-IP1): a meta-analysis of individual patient data. *Lancet Oncol.* 2016; 17(6): 779–90. doi: 10.1016/S1470-2045(16)30029-8.
25. Никитин Е.А., Судариков А.Б. Хронический лимфолейкоз высокого риска: история, определение, диагностика, лечение. Клиническая онкогематология. 2013; 6(1): 59–67. [Nikitin E.A., Sudarikov A.B. High-risk chronic lymphocytic leukemia: history, definition, diagnosis, and management. *Clinical Oncohematology.* 2013; 6(1): 59–67. (in Russian)].
26. Kovacs G., Robrecht S., Fink A.M., Bahlo J., Cramer P., von Tresckow J., Maurer C., Langerbeins P., Fingerle-Rowson G., Ritgen M., Kneba M., Döhner H., Stilgenbauer S., Klapper W., Wendtner C.M., Fischer K., Hallek M., Eichhorst B., Böttcher S. Minimal Residual Disease Assessment Improves Prediction of Outcome in Patients With Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL) Who Achieve Partial Response: Comprehensive Analysis of Two Phase III Studies of the German CLL Study

- Group. *J Clin Oncol*. 2016 Nov 1; 34(31): 3758–3765. doi: 10.1200/JCO.2016.67.1305.
27. Garcia Vela J.A., Garcia Marco J.A. Minimal residual disease in chronic lymphocytic leukaemia. *Med Clin (Barc)*. 2018 Feb 23; 150(4): 144–149. doi: 10.1016/j.medcli.2017.06.067.
28. Dimier N., Delmar P., Ward C., Morariu-Zamfir R., Fingerle-Rowson G., Bahlo J., Fischer K., Eichhorst B., Goede V., van Dongen J.J.M., Ritgen M., Böttcher S., Langerak A.W., Kneba M., Hallek M. A model for predicting effect of treatment on progression-free survival using MRD as a surrogate end point in CLL. *Blood*. 2018; 131(9): 955–62. doi: 10.1182/blood-2017-06-792333.
29. Innocenti I., Autore F., Pasquale R., Morelli F., Efremov D.G., Laurenti L. Treatment approach for elderly and unfit patients with chronic lymphocytic leukemia. *Expert Rev Hematol*. 2017; 10(12): 1069–76. doi: 10.1080/17474086.2017.1398642.
30. Steurer M., Pall G., Richards S., Schwarzer G., Bohlius J., Greil R.; Cochrane Haematologic Malignancies Group. Single-agent purine analogues for the treatment of chronic lymphocytic leukaemia: a systematic review and meta-analysis. *Cancer Treat Rev*. 2006; 32(5): 377–89. doi: 10.1016/j.ctrv.2006.05.002.
31. Eichhorst B., Fink A.M., Bahlo J., Busch R., Kovacs G., Maurer C., Lange E., Köppler H., Kiehl M., Sötker M., Schlag R., Vehlting-Kaiser U., Köchling G., Plöger C., Gregor M., Plesner T., Trneny M., Fischer K., Döhner H., Kneba M., Wendtner C.M., Klapper W., Kreuzer K.A., Stilgenbauer S., Böttcher S., Hallek M.; International group of investigators; German CLL Study Group (GCLLSG). First-line chemoimmunotherapy with bendamustine and rituximab versus fludarabine, cyclophosphamide, and rituximab in patients with advanced chronic lymphocytic leukaemia (CLL10): an international, open-label, randomised, phase 3, non-inferiority trial. *Lancet Oncol*. 2016; 17(7): 928–942. doi: 10.1016/S1470-2045(16)30051-1.
32. Knauf W.U., Lissichkov T., Aldaoud A., Liberati A., Loscertales J., Herbrecht R., Juliusson G., Postner G., Gercheva L., Goranov S., Becker M., Fricke H.J., Huguet F., Del Giudice I., Klein P., Tremmel L., Merkle K., Montillo M. Phase III randomized study of bendamustine compared with chlorambucil in previously untreated patients with chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol*. 2009 Sep 10; 27(26): 4378–84. doi: 10.1200/JCO.2008.20.8389.
33. Niederle N., Megdenberg D., Balleisen L., Heit W., Knauf W., Weiß J., Freier W., Hinke A., Ibach S., Eimermacher H. Bendamustine compared to fludarabine as second-line treatment in chronic lymphocytic leukemia. *Ann Hematol*. 2013 May; 92(5): 653–60. doi: 10.1007/s00277-012-1660-6.
34. Bogeljić Patekar M., Milunović V., Mišura Jakobac K., Perica D., Mandac Rogulj I., Kursar M., Planinc-Peraica A., Ostojić Kolonić S. Bendamustine: an old drug in the new era for patients with non-hodgkin lymphomas and chronic lymphocytic leukemia. *Acta Clin Croat*. 2018; 57(3): 542–53. doi: 10.20471/acc.2018.57.03.18.
35. Hagemeister F. Rituximab for the treatment of non-Hodgkin's lymphoma and chronic lymphocytic leukaemia. *Drugs*. 2010; 70(3): 261–72. doi: 10.2165/11532180-000000000-00000.
36. O'Brien S.M., Kantarjian H., Thomas D.A., Giles F.J., Freireich E.J., Cortes J., Lerner S., Keating M.J. Rituximab dose-escalation trial in chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol*. 2001; 19(8): 2165–70. doi: 10.1200/JCO.2001.19.8.2165.
37. Chen D.R., Cohen P.L. Living life without B cells: is repeated B-cell depletion a safe and effective long-term treatment plan for rheumatoid arthritis? *Int J Clin Rheumatol*. 2012 Apr 1; 7(2): 159–166. doi: 10.2217/ijr.12.7.
38. Soe Z.N., Allsup D. The use of ofatumumab in the treatment of B-cell malignancies. *Future Oncol*. 2017; 13(29): 2611–28. doi: 10.2217/fon-2017-0275.
39. Wu Y., Wang Y., Gu Y., Xia J., Kong X., Qian Q., Hong Y. Safety and efficacy of Ofatumumab in chronic lymphocytic leukemia: a systematic review and meta-analysis. *Hematology*. 2017; 22(10): 578–84. doi: 10.1080/10245332.2017.1333974.
40. Cartron G., de Guibert S., Dilhuydy M.S., Morschhauser F., Leblond V., Dupuis J., Mahe B., Bouabdallah R., Lei G., Wenger M., Wassner-Fritsch E., Hallek M. Obinutuzumab (GA101) in relapsed/refractory chronic lymphocytic leukemia: final data from the phase 1/2 GAUGUIN study. *Blood*. 2014 Oct 2; 124(14): 2196–202. doi: 10.1182/blood-2014-07-586610.
41. Freeman C.L., Sehn L.H. A tale of two antibodies: obinutuzumab versus rituximab. *Br J Haematol*. 2018 Jul; 182(1): 29–45. doi: 10.1111/bjh.15232.
42. Smolej L. Therapeutic Approach to Patients with Chronic Lymphocytic Leukemia and Significant Comorbid Conditions. *Curr Cancer Drug Targets*. 2016; 16(8): 710–720. doi: 10.2174/1568009616666160408145850.
43. Kaufman M., Rai K.R. Alemtuzumab in the up-front setting. *Ther Clin Risk Manag*. 2008 Apr; 4(2): 459–64. doi: 10.2147/tcrm.s1979.
44. Stevenson F.K., Krysov S., Davies A.J., Steele A.J., Packham G. B-cell receptor signaling in chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2011 Oct 20; 118(16): 4313–20. doi: 10.1182/blood-2011-06-338855.
45. Robak T., Robak E. Tyrosine kinase inhibitors as potential drugs for B-cell lymphoid malignancies and autoimmune disorders. *Expert Opin Investig Drugs*. 2012 Jul; 21(7): 921–47. doi: 10.1517/13543784.2012.685650.
46. Никитин Е.А., Воробьев В.И., Пантелеев М.А., Гендлин Г.Е., Птушкин В.В. Как применять ибрутиниб. *Онкогематология*. 2017; 12(1): 33–43. [Nikitin E.A., Vorobiev V.I., Panteleev M.A., Gendlin G.E., Ptushkin V.V. How to use ibrutinib. *Oncohematology*. 2017; 12(1): 33–43. (in Russian)]. doi: 10.17650/1818-8346-2017-12-1-33-43.
47. Brown J.R. Ibrutinib (PCI-32765), the first BTK (Bruton's tyrosine kinase) inhibitor in clinical trials. *Curr Hematol Malig Rep*. 2013 Mar; 8(1): 1–6. doi: 10.1007/s11899-012-0147-9.
48. Chen P.H., Ho C.L., Lin C., Wu Y.Y., Huang T.C., Tu Y.K., Lee C.H. Treatment Outcomes of Novel Targeted Agents in Relapse/Refractory Chronic Lymphocytic Leukemia: A Systematic Review and Network Meta-Analysis. *J Clin Med*. 2019 May 23; 8(5): 737. doi: 10.3390/jcm8050737.
49. de Weertdt I., Koopmans S.M., Kater A.P., van Gelder M. Incidence and management of toxicity associated with ibrutinib and idelalisib: a practical approach. *Haematologica*. 2017; 102(10): 1629–39. doi: 10.3324/haematol.2017.164103.
50. Byrd J.C., Furman R.R., Coutre S.E., Flinn I.W., Burger J.A., Blum K.A., Grant B., Sharman J.P., Coleman M., Wierda W.G., Jones J.A., Zhao W., Heerema N.A., Johnson A.J., Sukbunthorn J., Chang B.Y., Clow F., Hedrick E., Buggy J.J., James D.F., O'Brien S. Targeting BTK with ibrutinib in relapsed chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med*. 2013; 369(1): 32–42. doi: 10.1056/NEJMoa1215637.
51. Byrd J.C., Brown J.R., O'Brien S., Barrientos J.C., Kay N.E., Reddy N.M., Coutre S., Tam C.S., Mulligan S.P., Jaeger N., Devereux S., Barr P.M., Furman R.R., Kipps T.J., Cymbalista F., Pocock C., Thornton P., Caligaris-Cappio F., Robak T., Delgado J., Schuster S.J., Montillo M., Schuh A., de Vos S., Gill D., Bloor A., Dearn C., Moreno C., Jones J.J., Chu A.D., Fardis M., McGreivy J., Clow F., James D.F., Hillmen P.; RESONATE Investigators. Ibrutinib versus ofatumumab in previously treated chronic lymphoid leukemia. *N Engl J Med*. 2014 Jul 17; 371(3): 213–23. doi: 10.1056/NEJMoa1400376.
52. Khan Y., O'Brien S. Acalabrutinib and its use in treatment of chronic lymphocytic leukemia. *Future Oncol*. 2019; 15(6): 579–589. doi: 10.2217/fon-2018-0637.
53. Awan F.T., Schuh A., Brown J.R., Furman R.R., Pagel J.M., Hillmen P., Stephens D.M., Woyach J., Bibikova E., Charuwnorn P., Frigault M.M., Hamdy A., Izumi R., Linghu B., Patel P., Wang M.H., Byrd J.C. Acalabrutinib monotherapy in patients with chronic lymphocytic leukemia who are intolerant to ibrutinib. *Blood Adv*. 2019; 3(9): 1553–62. doi: 10.1182/bloodadvances.2018030007.
54. Burger J.A. Inhibiting B-cell receptor signaling pathways in chronic lymphocytic leukemia. *Curr Hematol Malig Rep*. 2012 Mar; 7(1): 26–33. doi: 10.1007/s11899-011-0104-z.
55. Brown J.R., Byrd J.C., Coutre S.E., Benson D.M., Flinn I.W., Wagner-Johnston N.D., Spurgeon S.E., Kahl B.S., Bello C., Webb H.K., Johnson D.M., Peterman S., Li D., Jahn T.M., Lannutti B.J., Ulrich R.G., Yu A.S., Miller L.L., Furman R.R. Idelalisib, an inhibitor of phosphatidylinositol 3-kinase p110δ, for relapsed/refractory chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2014 May 29; 123(22): 3390–7. doi: 10.1182/blood-2013-11-535047.
56. Davids M.S. How should we sequence and combine novel therapies in CLL? *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2017 Dec 8; 2017(1): 346–353. doi: 10.1182/asheducation-2017.1.346.
57. Roufayel R. Regulation of stressed-induced cell death by the Bcl-2 family of apoptotic proteins. *Mol Membr Biol*. 2016; 33(6–8): 89–99. doi: 10.1080/09687688.2017.1400600.
58. Roberts A.W. Venetoclax: a primer. *Blood Adv*. 2017 Feb 28; 1(7): 467. doi: 10.1182/bloodadvances.2017000547.
59. Roberts A.W., Davids M.S., Pagel J.M., Kahl B.S., Puvvada S.D., Gerecitano J.F., Kipps T.J., Anderson M.A., Brown J.R., Grzesick L., Wong S., Dunbar M., Zhu M., Desai M.B., Cerri E., Heitner Enschede S., Humerickhouse R.A., Wierda W.G., Seymour J.F. Targeting BCL2 with Venetoclax in Relapsed Chronic Lymphocytic Leukemia. *N Engl J Med*. 2016 Jan 28; 374(4): 311–22. doi: 10.1056/NEJMoa1513257.
60. Li Q., Cheng L., Shen K., Jin H., Li H., Cheng Y., Ma X. Efficacy and Safety of Bcl-2 Inhibitor Venetoclax in Hematological Malignancy: A Systematic Review and Meta-Analysis of Clinical Trials. *Front Pharmacol*. 2019 Jun 21; 10: 697. doi: 10.3389/fphar.2019.00697.
61. Sher T., Miller K.C., Lawrence D., Whitworth A., Hernandez-Ilizaliturri F., Czuczman M.S., Miller A., Lawrence W., Bilgrami S.A., Sood R., Wood M.T., Block A.W., Lee K., Chanan-Khan A.A. Efficacy of lenalidomide in patients with chronic lymphocytic leukemia with high-risk cytogenetics. *Leuk Lymphoma*. 2010 Jan; 51(1): 85–8. doi: 10.3109/10428190903406806.

62. Strati P, Keating M.J., Wierda W.G., Badoux X.C., Calin S., Reuben J.M., O'Brien S., Kornblau S.M., Kantarjian H.M., Gao H., Ferrajoli A. Lenalidomide induces long-lasting responses in elderly patients with chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2013; 122(5): 734–7. doi: 10.1182/blood-2013-04-495341.
63. Fink A.-M., Bahlo J., Robrecht S. Lenalidomide maintenance after frontline therapy of high-risk chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2017; 129: 3419–27.
64. Strati P, Keating M.J., Burger J.A., O'Brien S.M., Wierda W.G., Estrov Z., Zacharian G., Ferrajoli A. Consolidation treatment with lenalidomide following front-line or salvage chemoimmunotherapy in chronic lymphocytic leukemia. *Haematologica*. 2017; 102(12): e494e496. doi: 10.3324/haematol.2017.171561.
65. Blumel S., Broadway-Duren J. Approaches to Managing Safety With Lenalidomide in Hematologic Malignancies. *J Adv Pract Oncol*. 2014; 5(4): 269–79. doi: 10.6004/jadpro.2014.5.4.4.
66. Gong J., Chehrizi-Raffae A., Reddi S., Salgia R. Development of PD-1 and PD-L1 inhibitors as a form of cancer immunotherapy: a comprehensive review of registration trials and future considerations. *J Immunother Cancer*. 2018 Jan 23; 6(1): 8. doi: 10.1186/s40425-018-0316-z.
67. Ding W., LaPlant B.R., Call T.G., Parikh S.A., Leis J.F., He R., Shanafelt T.D., Sinha S., Le-Rademacher J., Feldman A.L., Habermann T.M., Witzig T.E., Wiseman G.A., Lin Y., Asmus E., Nowakowski G.S., Conte M.J., Bowen D.A., Aitken C.N., Van Dyke D.L., Greipp P.T., Liu X., Wu X., Zhang H., Secreto C.R., Tian S., Braggio E., Wellik L.E., Micallef I., Viswanatha D.S., Yan H., Chanan-Khan A.A., Kay N.E., Dong H., Ansell S.M. Pembrolizumab in patients with CLL and Richter transformation or with relapsed CLL. *Blood*. 2017 Jun 29; 129(26): 3419–3427. doi: 10.1182/blood-2017-02-765685.
68. Hallek M., Eichhorst B.F. Chemotherapy combination treatment regimens with fludarabine in chronic lymphocytic leukemia. *Hematology J*. 2004; 5: S20–30.
69. Hallek M., Fischer K., Fingerle-Rowson G., Fink A.M., Busch R., Mayer J., Hensel M., Hopfinger G., Hess G., von Grünhagen U., Bergmann M., Catalano J., Zinzani P.L., Caligaris-Cappio F., Seymour J.F., Berrebi A., Jäger U., Cazin B., Trneny M., Westermann A., Wendtner C.M., Eichhorst B.F., Staib P., Bühler A., Winkler D., Zenz T., Böttcher S., Ritgen M., Mendila M., Kneba M., Döhner H., Stilgenbauer S.; International Group of Investigators; German Chronic Lymphocytic Leukaemia Study Group. Addition of rituximab to fludarabine and cyclophosphamide in patients with chronic lymphocytic leukaemia: a randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet*. 2010 Oct 2; 376(9747): 1164–74. doi: 10.1016/S0140-6736(10)61381-5.
70. Eichhorst B., Fink A.M., Bahlo J., Busch R., Kovacs G., Maurer C., Lange E., Köppler H., Kiehl M., Söckler M., Schlag R., Vehlting-Kaiser U., Köchling G., Plöger C., Gregor M., Plesner T., Trneny M., Fischer K., Döhner H., Kneba M., Wendtner C.M., Klapper W., Kreuzer K.A., Stilgenbauer S., Böttcher S., Hallek M.; international group of investigators; German CLL Study Group (GCLLSG). First-line chemoimmunotherapy with bendamustine and rituximab versus fludarabine, cyclophosphamide, and rituximab in patients with advanced chronic lymphocytic leukaemia (CLL10): an international, open-label, randomised, phase 3, non-inferiority trial. *Lancet Oncol*. 2016; 17(7): 928–42. doi: 10.1016/S1470-2045(16)30051-1.
71. Goede V., Fischer K., Busch R., Engelke A., Eichhorst B., Wendtner C.M., Chagorova T., de la Serna J., Dillhuydy M.S., Illmer T., Opat S., Owen C.J., Samoylova O., Kreuzer K.A., Stilgenbauer S., Döhner H., Langerak A.W., Ritgen M., Kneba M., Asikani E., Humphrey K., Wenger M., Hallek M. Obinutuzumab plus chlorambucil in patients with CLL and co-existing conditions. *N Engl J Med*. 2014; 370(12): 1101–10. doi: 10.1056/NEJMoa1313984.
72. Hillmen P., Robak T., Janssens A., Babu K.G., Kloczko J., Grosicki S., Doubek M., Panagiotidis P., Kimby E., Schuh A., Pettitt A.R., Boyd T., Montillo M., Gupta I.V., Wright O., Dixon I., Carey J.L., Chang C.N., Lisby S., McKeown A., Offner F.; COMPLEMENT 1 Study Investigators. Chlorambucil plus ofatumumab versus chlorambucil alone in previously untreated patients with chronic lymphocytic leukaemia (COMPLEMENT 1): a randomised, multicentre, open-label phase 3 trial. *Lancet*. 2015 May 9; 385(9980): 1873–83. doi: 10.1016/S0140-6736(15)60027-7.
73. Elter T., Borchmann P., Schulz H., Reiser M., Trelle S., Schnell R., Jensen M., Staib P., Schinköthe T., Stützer H., Rech J., Gramatzki M., Aulitzky W., Hasan I., Josting A., Hallek M., Engert A. Fludarabine in combination with alemtuzumab is effective and feasible in patients with relapsed or refractory B-cell chronic lymphocytic leukemia: results of a phase II trial. *J Clin Oncol*. 2005 Oct 1; 23(28): 7024–31. doi: 10.1200/JCO.2005.01.9950.
74. Lepretre S., Aurran T., Mahé B., Cazin B., Tournilhac O., Maisonneuve H., Casasnovas O., Delmer A., Leblond V., Royer B., Corront B., Chevret S., Delépine R., Vaudaux S., Van Den Neste E., Béné M.C., Lestestu R., Cymbalista F., Feugier P. Excess mortality after treatment with fludarabine and cyclophosphamide in combination with alemtuzumab in previously untreated patients with chronic lymphocytic leukemia in a randomized phase 3 trial. *Blood*. 2012; 119(22): 5104–10. doi: 10.1182/blood-2011-07-365437.
75. Borge M., Belén Almeyda M., Podaza E., Colado A., Fernández Grecco H., Cabrejo M., Bezares R.F., Giordano M., Gamberale R. Ibrutinib impairs the phagocytosis of rituximab-coated leukemic cells from chronic lymphocytic leukemia patients by human macrophages. *Haematologica*. 2015 Apr; 100(4): e140–2. doi: 10.3324/haematol.2014.119669.
76. Jain P., Keating M.J., Wierda W.G., Sivina M., Thompson P.A., Ferrajoli A., Estrov Z., Kantarjian H., O'Brien S., Burger J.A. Long-term Follow-up of Treatment with Ibrutinib and Rituximab in Patients with High-Risk Chronic Lymphocytic Leukemia. *Clin Cancer Res*. 2017 May 1; 23(9): 2154–2158. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-16-1948.
77. Jaglowski S.M., Jones J.A., Nagar V., Flynn J.M., Andritsos L.A., Maddocks K.J., Woyach J.A., Blum K.A., Grever M.R., Smucker K., Ruppert A.S., Heerema N.A., Lozanski G., Stefanos M., Munneke B., West J.S., Neuenburg J.K., James D.F., Hall N., Johnson A.J., Byrd J.C. Safety and activity of BTK inhibitor ibrutinib combined with ofatumumab in chronic lymphocytic leukemia: a phase 1b/2 study. *Blood*. 2015; 126(7): 842–50. doi: 10.1182/blood-2014-12-617522.
78. Chanan-Khan A., Cramer P., Demirkan F., Fraser G., Silva R.S., Grosicki S., Pristupa A., Janssens A., Mayer J., Bartlett N.L., Dillhuydy M.S., Pylypenko H., Loscertales J., Avigdor A., Rule S., Villa D., Samoilo O., Panagiotidis P., Goy A., Mato A., Pavlovsky M.A., Karlsson C., Mahler M., Salman M., Sun S., Phelps C., Balasubramanian S., Howes A., Hallek M.; HELIOS investigators. Ibrutinib combined with bendamustine and rituximab compared with placebo, bendamustine, and rituximab for previously treated chronic lymphocytic leukaemia or small lymphocytic lymphoma (HELIOS): a randomised, double-blind, phase 3 study. *Lancet Oncol*. 2016; 17(2): 200–11. doi: 10.1016/S1470-2045(15)00465-9.
79. Furman R.R., Sharman J.P., Coutre S.E., Cheson B.D., Pagel J.M., Hillmen P., Barrientos J.C., Zelenetz A.D., Kipps T.J., Flinn I., Ghia P., Eradat H., Ervin T., Lamanna N., Coiffier B., Pettitt A.R., Ma S., Stilgenbauer S., Cramer P., Aiello M., Johnson D.M., Miller L.L., Li D., Jahn T.M., Dansey R.D., Hallek M., O'Brien S.M. Idelalisib and rituximab in relapsed chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med*. 2014; 370(11): 997–1007. doi: 10.1056/NEJMoa1315226.
80. Jones J.A., Robak T., Brown J.R., Awan F.T., Badoux X., Coutre S., Loscertales J., Taylor K., Vandenberghe E., Wach M., Wagner-Johnston N., Ysebaert L., Dreiling L., Dubowy R., Xing G., Flinn I.W., Owen C. Efficacy and safety of idelalisib in combination with ofatumumab for previously treated chronic lymphocytic leukaemia: an open-label, randomised phase 3 trial. *Lancet Haematol*. 2017 Mar; 4(3): e114e126. doi: 10.1016/S2352-3026(17)30019-4.
81. Seymour J.F., Kipps T.J., Eichhorst B., Hillmen P., D'Rozario J., Assouline S., Owen C., Gerecitano J., Robak T., De la Serna J., Jaeger U., Cartron G., Montillo M., Humerickhouse R., Punnoose E.A., Li Y., Boyer M., Humphrey K., Mobasher M., Kater A.P. Venetoclax-Rituximab in Relapsed or Refractory Chronic Lymphocytic Leukemia. *N Engl J Med*. 2018; 378(12): 1107–20. doi: 10.1056/NEJMoa1713976.
82. Fischer K., Al-Sawaf O., Fink A.M., Dixon M., Bahlo J., Warburton S., Kipps T.J., Weinkove R., Robinson S., Seiler T., Opat S., Owen C., López J., Humphrey K., Humerickhouse R., Tausch E., Frenzel L., Eichhorst B., Wendtner C.M., Stilgenbauer S., Langerak A.W., van Dongen J.J.M., Böttcher S., Ritgen M., Goede V., Mobasher M., Hallek M. Venetoclax and obinutuzumab in chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2017 May 11; 129(19): 2702–05. doi: 10.1182/blood-2017-01-761973.
83. Badoux X.C., Keating M.J., Wen S., Wierda W.G., O'Brien S.M., Faderl S., Ferrajoli A. Phase II study of lenalidomide and rituximab as salvage therapy for patients with relapsed or refractory chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol*. 2013; 31: 584–591.
84. Brown J.R., Abramson J., Hochberg E., Mikler E., Dalton V., Werner L., Reynolds H., Thompson C., McDonough S.M., Kuang Y., Ritz J., Neuberg D., Freedman A.S. A phase I study of lenalidomide in combination with fludarabine and rituximab in previously untreated CLL/SLL. *Leukemia*. 2010 Nov; 24(11): 1972–5. doi: 10.1038/leu.2010.199.
85. Mauro F.R., Carella A.M., Molica S., Paoloni F., Liberati A.M., Zaja F., Belsito V., Cortellezzi A., Rizzi R., Tosi P., Spriano M., Ferretti A., Nanni M., Marinelli M., De Propriis M.S., Orlando S.M., Vignetti M., Cuneo A., Guarini A.R., Foà R. Fludarabine, cyclophosphamide and lenalidomide in patients with relapsed/refractory chronic lymphocytic leukemia. A multicenter phase I-II GIMEMA trial. *Leuk Lymphoma*. 2017; 58(7): 164047. doi: 10.1080/10428194.2016.1258698.
86. Maurer C., Pflug N., Bahlo J., Kluth S., Rhein C., Cramer P., Gross-Ophoff C., Langerbeins P., Fink A.M., Eichhorst B., Kreuzer K.A., Fischer N., Tausch E., Stilgenbauer S., Böttcher S., Döhner H., Kneba M., Dreyling M., Binder M., Hallek M., Wendtner C.M., Bergmann M., Fischer K.; German CLL Study Group. Bendamustine and rituximab in combination with lenalidomide in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Eur J Haematol*. 2016 Sep; 97(3): 253–60. doi: 10.1111/ejh.12714.

87. Dreger P., Corradini P., Kimby E., Michallet M., Milligan D., Schetelig J., Wiktor-Jedrzejczak W., Niederwieser D., Hallek M., Montserrat E.; Chronic Leukemia Working Party of the EBMT. Indications for allogeneic stem cell transplantation in chronic lymphocytic leukemia: the EBMT transplant consensus. *Leukemia*. 2007 Jan; 21(1): 12–7. doi: 10.1038/sj.leu.2404441.

88. Dreger P., Schetelig J., Andersen N., Corradini P., van Gelder M., Gribben J., Kimby E., Michallet M., Moreno C., Stilgenbauer S., Montserrat E.; European Research Initiative on CLL (ERIC) and the European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). Managing high-risk CLL during transition to a new treatment era: stem cell transplantation or novel agents? *Blood*. 2014 Dec; 124(26): 3841–9. doi: 10.1182/blood-2014-07-586826.

89. Gribben J.G. How and when I do allogeneic transplant in CLL. *Blood*. 2018 Jul; 132(1): 31–39. doi: 10.1182/blood-2018-01-785998.

90. Porter D.L., Levine B.L., Kalos M., Bagg A., June C.H. Chimeric antigen receptor-modified T cells in chronic lymphoid leukemia. *N Engl J Med*. 2011 Aug 25; 365(8): 725–33. doi: 10.1056/NEJMoa1103849.

91. Lemal R., Tournilhac O. State-of-the-art for CAR T-cell therapy for chronic lymphocytic leukemia in 2019. *J Immunother Cancer*. 2019 Aug 1; 7(1): 202. doi: 10.1186/s40425-019-0686-x.

92. Robak P., Robak T. Novel synthetic drugs currently in clinical development for chronic lymphocytic leukemia. *Expert Opin Investig Drugs*. 2017 Nov; 26(11): 1249–1265. doi: 10.1080/13543784.2017.1384814.

93. Каприн А.Д., Галкин В.Н., Жаворонков Л.П., Иванов В.К., Иванов С.А., Романко Ю.С. Синтез фундаментальных и прикладных исследований - основа обеспечения высокого уровня научных результатов и внедрения их в медицинскую практику. Радиация и риск. 2017; 26(2): 26–40. [Kaprin A.D., Galkin V.N., Zhavoronkov L.P., Ivanov V.K., Ivanov S.A., Romanko Yu.S. The synthesis of fundamental and applied research is the basis for ensuring a high level of scientific results and their introduction into medical practice. *Radiation and risk*. 2017; 26(2): 26–40. (in Russian)].

Поступила/Received 01.08.2019
Принята в печать/Accepted 01.11.2019

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Даниленко Анатолий Александрович, доктор медицинских наук, старший научный сотрудник отделения лучевой и лекарственной терапии гемобластозов, Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России (г. Обнинск, Россия). E-mail: danilenkoanatol@mail.ru. ORCID: 0000-0002-6798-6076.

Шахтарина Светлана Васильевна, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник отделения лучевой и лекарственной терапии гемобластозов, Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России (г. Обнинск, Россия). ORCID: 0000-0002-7056-0527.

Фалалеева Наталья Александровна, доктор медицинских наук, заведующая отделом лекарственного лечения злокачественных новообразований, Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России (г. Обнинск, Россия). E-mail: danilenkoanatol@mail.ru. ORCID: 0000-0002-0023-4216.

ВКЛАД АВТОРОВ

Даниленко Анатолий Александрович: разработка структуры обзора литературы, отбор публикаций, составление черновика рукописи.

Шахтарина Светлана Васильевна: анализ обзора литературы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Фалалеева Наталья Александровна: анализ научной работы, стилистическая правка изложенного материала.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы объявляют, что у них нет конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Anatoly A. Danilenko, MD, DSc, Senior Researcher of the Department of Radiation and Drug Therapy for Hemoblastoses, A.F. Tsyb Medical Radiological Research Center – Branch of National Medical Research Center of Radiology of the Health Ministry of the Russian Federation (Obninsk, Russia). E-mail: danilenkoanatol@mail.ru. ORCID: 0000-0002-6798-6076.

Svetlana V. Shakhhtarina, MD, DSc, Leading Researcher, Department of Radiation and Drug Therapy for Hemoblastoses A.F. Tsyb Medical Radiological Research Center – Branch of National Medical Research Center of Radiology of the Health Ministry of the Russian Federation (Obninsk, Russia). ORCID: 0000-0002-7056-0527.

Natalya A. Falaleeva, MD, DSc, Head of the Department of Drug Treatment of Malignant Tumors, A.F. Tsyb Medical Radiological Research Center – Branch of National Medical Research Center of Radiology of the Health Ministry of the Russian Federation (Obninsk, Russia). ORCID: 0000-0002-0023-4216.

AUTHOR CONTRIBUTION

Anatoly A. Danilenko: development of a literature review form, literature review, drafting of the manuscript.

Svetlana V. Shakhhtarina: analysis of literature review, critical revision for the important intellectual content.

Natalya A. Falaleeva: study analysis, stylistic text editing.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

Для цитирования: Коломейцева А.А., Феденко А.А. Оптимальная последовательность применения ингибиторов рецептора эпидермального фактора роста у пациентов с распространенным немелкоклеточным раком легкого, имеющих в опухоли активирующие мутации гена *EGFR*. Сибирский онкологический журнал. 2020; 19(6): 119–125. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-6-119-125.

For citation: Kolomeytseva A.A., Fedenko A.A. Optimal sequence of application of epidermal growth factor receptor inhibitors in advanced non-small cell lung cancer patients with activating *EGFR* mutations. Siberian Journal of Oncology. 2020; 19(6): 119–125. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-6-119-125.

ОПТИМАЛЬНАЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ИНГИБИТОРОВ РЕЦЕПТОРА ЭПИДЕРМАЛЬНОГО ФАКТОРА РОСТА У ПАЦИЕНТОВ С РАСПРОСТРАНЕННЫМ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНЫМ РАКОМ ЛЕГКОГО, ИМЕЮЩИХ В ОПУХОЛИ АКТИВИРУЮЩИЕ МУТАЦИИ ГЕНА *EGFR*

А.А. Коломейцева, А.А. Феденко

МНИОИ им. П.А. Герцена – филиала ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России,
г. Москва, Россия
Россия, 125284, г. Москва, 2-й Боткинский пр., 3. E-mail: almed2002@mail.ru

Аннотация

Актуальность. Успехи лечения больных EGFR-позитивным немелкоклеточным раком легкого (НМРЛ) напрямую связаны с применением ингибиторов рецептора эпидермального фактора роста (EGFR). В настоящее время для лечения этой группы пациентов применяются три поколения ингибиторов EGFR. Актуальным представляется вопрос о том, какой препарат или какая последовательность их применения будет оптимальным вариантом лечения для конкретного пациента. **Цель исследования** – проанализировать современные данные о применении ингибиторов EGFR в терапии больных распространенным EGFR-позитивным НМРЛ, а также оценить возможные механизмы резистентности к ним и определить оптимальную терапевтическую последовательность ингибиторов EGFR различных поколений. **Материал и методы.** В обзор включены данные рандомизированных клинических исследований, а также результаты исследования, проведенного в условиях реальной клинической практики, изучающих эффективность ингибиторов EGFR и варианты последующей терапии в случае развития лекарственной резистентности к ним. **Результаты.** Выбор оптимального варианта терапии первой линии больных EGFR-позитивным НМРЛ зависит от множества факторов но, на наш взгляд, терапия афатинибом с последующим переходом на осимертиниб при появлении мутации T790M в опухоли позволяет максимально продлить малотоксичную таргетную терапию и отсрочить применение цитостатических препаратов. **Заключение.** Учитывая доминирующий механизм развития резистентности – появление мутации T790M гена *EGFR*, именно последовательное применение ингибиторов EGFR второго и третьего поколений, на наш взгляд, представляется оптимальным вариантом лечения больных EGFR-позитивным НМРЛ.

Ключевые слова: НМРЛ, ингибиторы EGFR, мутация T790M, gefitinib, erlotinib, afatinib, osimertinib, резистентность.

OPTIMAL SEQUENCE OF APPLICATION OF EPIDERMAL GROWTH FACTOR RECEPTOR INHIBITORS IN ADVANCED NON-SMALL CELL LUNG CANCER PATIENTS WITH ACTIVATING *EGFR* MUTATIONS

А.А. Kolomeytseva, A.A. Fedenko

P.A. Gertsen Moscow Research Cancer Institute- branch of the National Medical Research Radiology
Center, Moscow, Russia
3, 2-nd Botkinsky proezd, Moscow-125284, Russia. E-mail: almed2002@mail.ru

Abstract

Background. Successful treatment of patients with EGFR-positive non-small cell lung cancer (NSCLC) is directly related to epidermal growth factor receptor (EGFR) tyrosine kinase inhibitors (TKIs). Currently, three generations of EGFR TKIs are used for treatment of EGFR-positive NSCLC. The issue of what drug or what sequence of its administration will be the optimal treatment option for a particular patient seems relevant.

Purpose: To analyze available data on the use of TKIs for the treatment of advanced EGFR-positive NSCLC patients, as well as to assess the possible mechanisms of resistance to them and determine the optimal sequence of EGFR TKI therapy. **Material and Methods.** The review includes data from randomized controlled trials, as well as data from real-world studies on the efficacy of EGFR TKIs and subsequent therapy options in cases of drug resistance. **Results.** The choice of the optimal first-line treatment option for patients with EGFR-positive NSCLC depends on many factors. To our opinion, afatinib therapy with subsequent osimertinib therapy allows maximal prolongation of low-toxic targeted therapy and delayed administration of cytostatic drugs in patients with T790M mutation. **Conclusion.** Considering the dominant mechanism of resistance development (presence of EGFR -T790M mutation), the use of the second- and third-generation EGFR inhibitors seems to be an optimal treatment option for patients with activating EGFR mutations.

Key words: NSCLC, EGFR inhibitors, T790M mutation, gefitinib, erlotinib, afatinib, osimertinib, resistance.

Введение

Применение ингибиторов рецептора эпидермального фактора роста (EGFR) произвело настоящий прорыв в лечении пациентов с распространенным немелкоклеточным раком легкого (НМРЛ), имеющих в опухоли активирующие мутации гена *EGFR*. В настоящее время ингибиторы тирозинкиназы (ИТК) EGFR вытеснили классические цитостатические препараты и являются препаратами выбора для первой линии лечения этой группы больных.

Во многих странах мира, в том числе и в Российской Федерации, в арсенал онколога входит три поколения ИТК EGFR. К первому поколению относят обратимые ингибиторы EGFR – gefitinib и erlotinib; второе поколение включает необратимый блокатор семейства рецепторов ErbB – afatinib; к третьему поколению этой группы препаратов относится необратимый ингибитор осимертиниб, специфично блокирующий мутированный *EGFR*, в том числе при наличии мутации резистентности к ИТК EGFR T790M. В рандомизированных клинических исследованиях применение ИТК EGFR всех трех поколений статистически значимо улучшало медиану выживаемости без прогрессирования (мВБП) в сравнении со стандартной химиотерапией больных НМРЛ, чья опухоль несла частые мутации *EGFR* (Del19 или L858R) [1–8]. Помимо впечатляющей эффективности, ингибиторы EGFR обладают более совершенным профилем переносимости, чем традиционная платиносодержащая химиотерапия. Нежелательные явления предсказуемы, контролируемы и редко приводят к полной отмене препарата. Доступность трех поколений ИТК EGFR для лечения НМРЛ с мутациями *EGFR* поднимает закономерный вопрос о том, какой препарат или какая последовательность применения ИТК EGFR будет оптимальным вариантом лечения для конкретного пациента.

Различия в клинической эффективности ингибиторов EGFR в зависимости от поколения

Имея различные фармакологические характеристики и механизм действия, по-разному воздействуя на рецептор, ингибиторы EGFR проявляют и неодинаковую противоопухолевую активность. ИТК EGFR первого поколения, gefitinib и erlotinib, нековалентно и обратимо связываются с EGFR («дикого» типа и мутантными формами) [9, 10]. Исследования III фазы продемонстрировали, что медиана ВБП при применении ИТК первого поколения в первой линии в сравнении со стандартными платиносодержащими режимами химиотерапии составила 9,2–13,1 мес против 4,6–6,3 мес соответственно. При этом медиана продолжительности жизни в группах значимо не различалась [1–5].

Механизм действия ИТК EGFR второго поколения afatinib обусловлен ковалентным и необратимым связыванием со всеми возможными гомо- и гетеродимерами ErbB и их необратимым блокированием [11–13]. Преимущество afatinib над стандартными платиносодержащими режимами химиотерапии первой линии по показателю ВБП у больных НМРЛ с активирующими мутациями *EGFR* было продемонстрировано в двух исследованиях III фазы, LUX-Lung 3 и LUX-Lung 6–13,6 мес против 6,9 мес и 11 мес против 5,6 мес соответственно [6, 7]. По совокупным данным двух исследований, в отличие от ИТК EGFR первого поколения, результаты планового анализа пациентов с мутацией EGFR с делецией в экзоне 19 (Del19) показали, что применение afatinib приводило к статистически значимому улучшению общей выживаемости по сравнению с химиотерапией [14]. Кроме того, у пациентов с метастатическим поражением центральной нервной системы в комбинированном анализе исследований LUX-Lung 3 и LUX-Lung 6 afatinib также продемонстрировал

преимущество по ВБП по сравнению со стандартной платиносодержащей ПХТ (8,2 мес против 5,4 мес; отношение рисков (ОР) 0,50; $p=0,0297$) [15]. В исследовании LUX-Lung 7 афатиниб продемонстрировал статистически значимое улучшение мВБП (ОР: 0,73, 95 % ДИ: 0,57–0,95, $p=0,017$) и времени до прекращения лечения (ВПЛ; ОР: 0,73, 95 % ДИ: 0,58–0,92, $p=0,0073$) по сравнению с гефитинибом у пациентов с частыми мутациями *EGFR* (Del19/L858R) [16].

Кроме того, афатиниб оказался эффективным у пациентов, имеющих в опухоли легкого редкие мутации *EGFR*, такие как G719X, L861Q и S768I, инсерции в экзоне 20 и другие. Его активность была показана в объединенном анализе исследований LUX-Lung 2, 3 и 6, который включил 38 пациентов с редкими мутациями *EGFR*. Частота объективного ответа на афатиниб составила 71 %, медиана ВБП – 11 мес [17].

Ингибитор *EGFR* третьего поколения является специфическим ингибитором мутантного *EGFR*, вызывая необратимое ковалентное связывание с ним, при этом не действуя на «дикий» тип гена *EGFR*. Осимертиниб проявляет специфичность в отношении мутации *EGFR* T790M, появление которой обуславливает резистентность к ИТК *EGFR* [18]. В исследовании AURA3 осимертиниб продемонстрировал впечатляющую активность по сравнению с режимом химиотерапии пеметрексед + производные платины при применении в качестве второй линии лечения после прогрессирования на ингибиторах *EGFR* первого и второго поколений, обусловленного появлением мутации *EGFR* T790M, с частотой объективного ответа (71 % и 31 %, $p<0,001$) и медианой ВБП (10,1 мес и 4,4 мес, ОР 0,30; 95 % ДИ 0,23–0,41; $p<0,001$) соответственно. Следует отметить, что преимущество осимертиниба по показателю мВБП наблюдалось также и у пациентов с метастатическим поражением центральной нервной системы (8,5 мес и 4,2 мес; ОР 0,32; 95 % ДИ 0,21–0,49) [8, 19].

Применение осимертиниба в первой линии лечения у пациентов с активирующими мутациями *EGFR* (Del19 или L858R) в исследовании FLAURA показало существенное, статистически значимое улучшение ВБП по сравнению с ингибиторами *EGFR* первого поколения эрлотинибом и гефитинибом – 17,7 мес против 9,7 мес (ОР: 0,46, 95 % ДИ: 0,37–0,57, $p<0,001$), а также значимое улучшение показателя медианы общей выживаемости – 38,6 мес против 31,8 мес (ОР: 0,799, 95 % ДИ: 0,641–0,997, $p=0,0462$) [20,21].

Эффективность осимертиниба у пациентов, имеющих в опухоли редкие мутации *EGFR*, также активно изучается в настоящее время. В исследовании II фазы, проведенном в Корее, 37 пациентов с малораспространенными мутациями *EGFR* (G719X, L861Q, S768I и др.) получали терапию осимертинибом. ЧОО составила 50 % (95 % ДИ:

33–67 %), медиана длительности ответа – 11,2 мес (95 % ДИ: 7,7–14,7 мес) [22].

Резистентность к ингибиторам *EGFR*

Независимо от того, какой ингибитор *EGFR* будет выбран в качестве первой линии лечения и как долго будет длиться ответ на него, неизбежно развивается резистентность и, как следствие, прогрессирование болезни. Вероятно, это обусловлено тем, что опухоли с мутантным геном могут быть исходно крайне неоднородными. Понимание характера развития опухоли на клеточном уровне имеет решающее значение для рационального терапевтического подхода, направленного на задержку развития резистентности, и выбора оптимального лечения после появления резистентности у каждого отдельно взятого пациента.

В настоящее время определение механизма устойчивости к ингибиторам *EGFR* возможно с помощью проведения повторных биопсий опухоли или определения циркулирующей опухолевой ДНК в плазме крови [23, 24]. К наиболее частым механизмам развития резистентности к ИТК *EGFR* первого и второго поколений, который наблюдается примерно в 70 % случаев, относится появление клона опухолевых клеток, несущих мутацию T790M в экзоне 20 *EGFR* [25–28]. По данным исследований AURA2 и AURA extension, процент выявляемости T790M зависит от того, какая драйверная мутация определялась исходно. При делеции в 19 экзоне *EGFR* частота выявления мутации резистентности достигает 80 %, тогда как при мутации L858R не превышает 60 % [29, 30]. Еще в 20–40 % случаев резистентность обусловлена активацией дополнительных сигнальных путей в опухолевой клетке, таких как PI3KCA, амплификация *MET* и *HER2*. У части больных резистентность к ИТК *EGFR* обусловлена морфологической трансформацией аденокарциномы в мелкоклеточный рак, механизм подобной трансформации остается до конца не изученным.

В отличие от ИТК первого и второго поколений механизмы развития резистентности к осимертинибу в настоящее время не вполне изучены и представляются неоднородными. В когорте из 19 пациентов, получающих осимертиниб в первой линии лечения, предполагаемые механизмы резистентности были идентифицированы в 9 случаях и включали мутации генов *MEK1*, *KRAS*, *PI3KCA*, *HER2* или *JAK2* либо амплификацию генов *KRAS*, *MET* или *EGFR*. Двое пациентов приобрели третичную мутацию резистентности гена *EGFR*, C797S [31, 32]. Вследствие этого возможные варианты таргетной терапии после первой линии лечения осимертинибом по-прежнему неясны.

О резистентности к осимертинибу, применяемому во второй и последующих линиях лечения, известно чуть больше. Как правило, механизм развития резистентности зависит от того, сохра-

няет ли опухоль или утратила мутацию T790M. Мутация *EGFR* C797S встречается приблизительно в 20–40 % случаев, кроме того, наблюдаются трансформация в мелкоклеточную гистологию, амплификация *HER2*, *MET* или *FGFR* и мутации в гене *BRAF*. *EGFR*-опосредованная резистентность (C797S, L792X и L718Q) чаще возникает в случаях, когда мутация T790M сохранена [33–35].

Выбор последующей терапии после развития резистентности к ингибиторам *EGFR*

С учетом неизбежного развития резистентности на терапии ингибиторами *EGFR* последующий выбор варианта терапии приобретает первостепенное значение [36, 37]. Для пациентов, прогрессирующих на ИТК *EGFR* первого и второго поколений с положительной мутацией T790M, препаратом выбора является осимертиниб [8]. Если прогрессирование болезни произошло на осимертинибе, назначенном в первой линии лечения, и нет возможности включить пациента в клиническое исследование, единственным вариантом эффективного лечения остаются платиносодержащие режимы химиотерапии или их комбинация с атезолизумабом и бевацизумабом, которая в исследовании IMpower 150 показала свою активность, независимо от наличия активирующих мутаций *EGFR* [38].

В связи с этим, на наш взгляд, именно терапевтическая последовательность, предполагающая, что за ингибиторами *EGFR* первого или второго поколений следует осимертиниб, представляется оптимальным вариантом, позволяя увеличить продолжительность лечения препаратами направленного действия, отложить необходимость применения токсичных схем химиотерапии и достичь длительной выживаемости больных с драйверными мутациями *EGFR*.

На сегодняшний день имеются немногочисленные данные, оценивающие совокупный эффект последовательной терапии ингибиторами *EGFR* у пациентов с НМРЛ и положительной мутацией *EGFR*. Так, впечатляющие результаты получены при изучении последовательности назначения афатиниба в первой линии лечения и осимертиниба – после прогрессирования, обусловленного появлением мутации резистентности T790M, как в рамках анализов подгрупп в клинических исследованиях, так и в условиях реальной клинической практики. В ретроспективном объединенном анализе трех рандомизированных исследований LUX-Lung 3, 6, 7, включившем 37 пациентов, получавших последовательное лечение афатинибом и осимертинибом, медиана продолжительности терапии обоими препаратами составила 20,2 мес. Медиана продолжительности жизни на момент анализа не была достигнута [39].

В наблюдательном, глобальном, многоцентровом исследовании GioTag была проведена оценка общей продолжительности последовательного

лечения афатинибом и осимертинибом у больных НМРЛ с положительной мутацией *EGFR* с приобретенной резистентностью T790M, которые получали лечение в условиях реальной клинической практики [40]. В исследование было включено 204 пациента из 10 стран. Из характеристик следует отметить, что у ряда включенных в анализ больных были метастазы в головной мозг (10,3 %), а также были пациенты с соматическим статусом ECOG 2–3 (15,3 %). У подавляющего большинства пациентов (73,5 %) на момент начала терапии афатинибом в опухоли присутствовала мутация *EGFR* Del19. Перед началом терапии осимертинибом у всех пациентов было документально подтверждено наличие мутации T790M. Медиана продолжительности терапии для всей выборки последовательного лечения афатинибом и осимертинибом составила 28,1 мес (90 % ДИ: 25,9–31,3). Хотя клиническая эффективность последовательного лечения афатинибом и осимертинибом наблюдалась во всех подгруппах пациентов, максимальную выгоду от данной терапевтической последовательности получили пациенты с ECOG 0–1 по сравнению с ≥ 2 (31,3 мес в сравнении с 22,2 мес) и с сочетанием удовлетворительного соматического статуса ECOG 0–1 и наличием мутации *EGFR* Del19 (36,4 мес (29,2–46,7)). При медиане наблюдения 30,3 мес медиана общей выживаемости во всей популяции больных составила 41,3 мес (90 % ДИ: 36,8–46,3) и 45,7 мес (90 % ДИ: 45,3–51,5) у пациентов с делецией в 19 экзоне *EGFR* [40, 41].

Таким образом, полученные в наблюдательном исследовании GioTag результаты свидетельствуют о том, что последовательная терапия афатинибом и осимертинибом является высокоэффективным вариантом лечения, особенно для пациентов с делецией в 19 экзоне *EGFR*.

Недавно опубликованные данные доклинических исследований показали, что частота появления мутации T790M в клеточных линиях, обработанных афатинибом, была выше, чем при обработке эрлотинибом. Возможно, это связано с тем, что афатиниб подавляет большинство сопутствующих аберраций в клетках с мутацией Del19, при этом обладая минимальным воздействием на T790M [42].

В настоящее время нет данных об эффективности последовательной терапии ингибиторами *EGFR* первого поколения и осимертиниба. Продолжается исследование по применению осимертиниба после прогрессирования на гефитинибе у больных с приобретенной мутацией T790M в сравнении с осимертинибом в первой линии лечения [43].

Возможные доступные опции лекарственной терапии больных *EGFR*-позитивным НМРЛ представлены на рис. 1.

Учитывая доминирующий механизм развития резистентности – появление мутации T790M гена

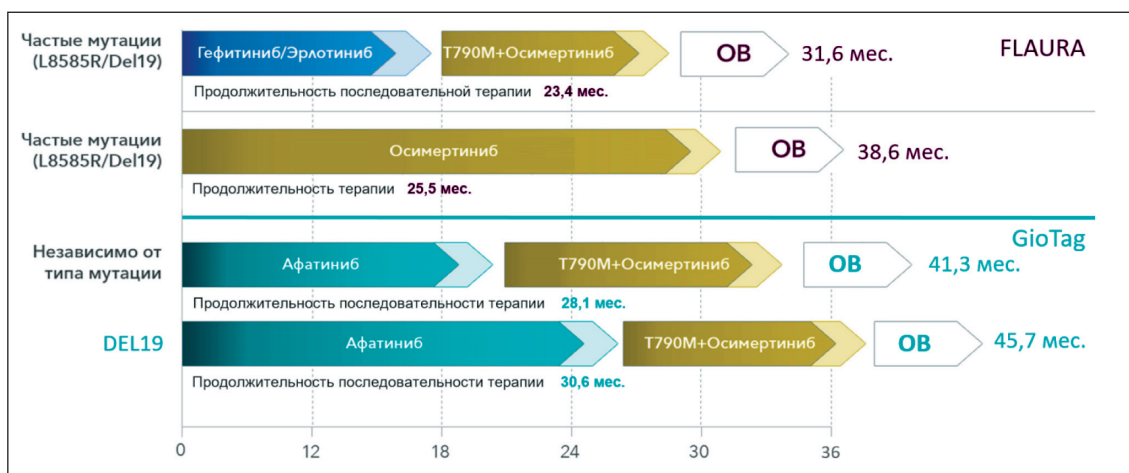


Рис. 1. Варианты последовательной терапии EGFR-положительного НМРЛ

Fig. 1. Sequential treatment options for EGFR-positive NSCLC

EGFR, именно последовательное применение ингибиторов EGFR второго и третьего поколений, на наш взгляд, представляется оптимальным вариантом лечения этой когорты пациентов. Такой подход позволяет максимально отсрочить применение цитостатических препаратов у больных EGFR-положительным НМРЛ.

Заключение

Наличие нескольких препаратов для таргетной анти-EGFR терапии коренным образом изменило лечение больных НМРЛ с мутациями EGFR. Однако перед клиницистом стоит непростая задача оптимального выбора имеющихся препаратов и последовательного их применения для того, чтобы извлечь максимальную клиническую пользу для пациента. Решение этой задачи зависит от множества факторов, таких как эффективность и переносимость препаратов, применяемых в первой линии лечения, их влияние на качество жизни, возможность выполнить жидкостную биопсию или повторно получить материал из ткани опухоли для

определения механизма резистентности, опыт и предпочтения лечащего врача, а также стоимость лечения и его доступность.

Прямые сравнительные клинические исследования продемонстрировали превосходство ИТК второго и третьего поколений над ИТК EGFR первого поколения. Непосредственное сравнение ИТК второго и третьего поколений не проводилось. На данный момент вопрос об оптимальной первой линии лечения пациентов с НМРЛ, несущими мутации EGFR, остается открытым.

Тем не менее имеющиеся результаты наблюдательного исследования G10Tag уже сейчас позволяют сделать вывод о том, что последовательная терапия афатиниб-осимертиниб у больных с приобретенной мутацией T790M позволяет получить стойкий и длительный ответ и надолго отложить необходимость применения химиотерапевтических препаратов. Необходимы проспективные исследования, чтобы полностью определить оптимальную стратегию лечения пациентов с распространенным НМРЛ и активирующими мутациями *EGFR*.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Zhou C., Wu Y.L., Chen G., Feng J., Liu X.Q., Wang C., Zhang S., Wang J., Zhou S., Ren S., Lu S., Zhang L., Hu C., Hu C., Luo Y., Chen L., Ye M., Huang J., Zhi X., Zhang Y., Xiu Q., Ma J., Zhang L., You C. Erlotinib versus chemotherapy as first-line treatment for patients with advanced EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer (OPTIMAL, CTONG-0802): a multicentre, open-label, randomised, phase 3 study. *Lancet Oncol.* 2011 Aug; 12(8): 735–42. doi: 10.1016/S1473-2445(11)70184-X.
2. Rosell R., Carcereny E., Gervais R., Vergnenegre A., Massuti B., Felip E., Palmero R., Garcia-Gomez R., Pallares C., Sanchez J.M., Porta R., Cobo M., Garrido P., Longo F., Moran T., Insa A., De Marinis F., Corre R., Bover I., Illiano A., Dansin E., de Castro J., Milella M., Reguart N., Altavilla G., Jimenez U., Provencio M., Moreno M.A., Terrasa J., Muñoz-Langa J., Valdivia J., Isla D., Domine M., Molinier O., Mazieres J., Baize N., Garcia-Campelo R., Robinet G., Rodriguez-Abreu D., Lopez-Vivanco G., Gebbia V., Ferrera-Delgado L., Bombardieri P., Bernabe R., Bearz A., Arta A., Cortesi E., Rolfo C., Sanchez-Ronco M., Drozdowskyj A., Queralt C., de Aguirre I., Ramirez J.L., Sanchez J.J., Molina M.A., Taron M., Paz-Ares L.; Spanish Lung Cancer Group in collaboration with Groupe Français de Pneumo-Cancérologie and Associazione Italiana Oncologia Toracica. Erlotinib versus standard chemotherapy as first-line treatment for European patients with advanced EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer (EORTC): a multicentre, open-label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2012 Mar; 13(3): 239–46. doi: 10.1016/S1473-2445(11)70393-X.
3. Wu Y.L., Zhou C., Liang C.K., Wu G., Liu X., Zhong Z., Lu S., Cheng Y., Han B., Chen L., Huang C., Qin S., Zhu Y., Pan H., Liang H., Li E., Jiang G., How S.H., Fernando M.C.L., Zhang Y., Xia F., Zuo Y. First-line erlotinib versus gemcitabine/cisplatin in patients with advanced EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer: analyses from the phase III, randomized, open-label, ENSURE study. *Ann Oncol.* 2015; 26(9): 1883–89. doi: 10.1093/annonc/mdv270.
4. Mok T.S., Wu Y.L., Thongprasert S., Yang C.H., Chu D.T., Saijo N., Sunpaweravong P., Han B., Margono B., Ichinose Y., Nishiwaki Y., Ohe Y., Yang J.J., Chewaskulyong B., Jiang H., Duffield E.L., Watkins C.L., Armour A.A., Fukuoka M. Gefitinib or carboplatin-paclitaxel in pulmonary adenocarcinoma. *N Engl J Med.* 2009 Sep 3; 361(10): 947–57. doi: 10.1056/NEJMoa0810699.
5. Maemondo M., Inoue A., Kobayashi K., Sugawara S., Oizumi S., Isobe H., Gemma A., Harada M., Yoshizawa H., Kinoshita I., Fujita Y., Okinaka S., Hirano H., Yoshimori K., Harada T., Ogura T., Ando M., Miyazawa H., Tanaka T., Saijo Y., Hagiwara K., Morita S., Nukiwa T.; North-East Japan Study Group. Gefitinib or chemotherapy for non-small-cell lung cancer with mutated EGFR. *N Engl J Med.* 2010 Jun 24; 362(25): 2380–8. doi: 10.1056/NEJMoa0909530.
6. Sequist L.V., Yang J.C., Yamamoto N., O'Byrne K., Hirsh V., Mok T., Geater S.L., Orlov S., Tsai C.M., Boyer M., Su W.C., Bannoun J., Kato T., Gorbunova V., Lee K.H., Shah R., Massey D., Zazulina V., Shahidi M., Schuler M. Phase III study of afatinib or cisplatin plus pemetrexed in pa-

tients with metastatic lung adenocarcinoma with EGFR mutations. *J Clin Oncol*. 2013 Sep 20; 31(27): 3327–34. doi: 10.1200/JCO.2012.44.2806.

7. Wu Y.L., Zhou C., Hu C.P., Feng J., Lu S., Huang Y., Li W., Hou M., Shi J.H., Lee K.Y., Xu C.R., Massey D., Kim M., Shi Y., Geater S.L. Afatinib versus cisplatin plus gemcitabine for first-line treatment of Asian patients with advanced non-small-cell lung cancer harbouring EGFR mutations (LUX-Lung 6): an open-label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2014 Feb; 15(2): 213–22. doi: 10.1016/S1470-2045(13)70604-1.

8. Pirker R., Pirker R., Buder A., Filipits M. Osimertinib in advanced EGFR T790M-positive non-small-cell lung cancer: the clinical impact of AURA3. *Translational Cancer Res*. 2017; 6: 265–9. doi: 10.21037/ter.2017.03.12.

9. Sharma S.V., Bell D.W., Settleman J., Haber D.A. Epidermal growth factor receptor mutations in lung cancer. *Nat Rev Cancer*. 2007 Mar; 7(3): 169–81. doi: 10.1038/nrc2088.

10. Spicer J.F., Rudman S.M. EGFR inhibitors in non-small cell lung cancer (NSCLC): the emerging role of the dual irreversible EGFR/HER2 inhibitor BIBW 2992. *Target Oncol*. 2010 Dec; 5(4): 245–55. doi: 10.1007/s11523-010-0140-y.

11. Solca F., Dahl G., Zoephel A., Bader G., Sanderson M., Klein C., Kraemer O., Himmelsbach F., Haaksma E., Adolf G.R. Target binding properties and cellular activity of afatinib (BIBW 2992), an irreversible ErbB family blocker. *J Pharmacol Exp Ther*. 2012 Nov; 343(2): 342–50. doi: 10.1124/jpet.112.197756.

12. Modjtahedi H., Cho B.C., Michel M.C., Solca F. A comprehensive review of the preclinical efficacy profile of the ErbB family blocker afatinib in cancer. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol*. 2014 Jun; 387(6): 505–21. doi: 10.1007/s00210-014-0967-3.

13. Li D., Ambrogio L., Shimamura T., Kubo S., Takahashi M., Chirieac L.R., Padera R.F., Shapiro G.I., Baum A., Himmelsbach F., Rettig W.J., Meyerson M., Solca F., Greulich H., Wong K.K. BIBW2992, an irreversible EGFR/HER2 inhibitor highly effective in preclinical lung cancer models. *Oncogene*. 2008 Aug 7; 27(34): 4702–11. doi: 10.1038/onc.2008.109.

14. Yang J.C., Wu Y.L., Schuler M., Sebastian M., Popat S., Yamamoto N., Zhou C., Hu C.P., O'Byrne K., Feng J., Lu S., Huang Y., Geater S.L., Lee K.Y., Tsai C.M., Gorbunova V., Hirsh V., Bannouna J., Orlov S., Mok T., Boyer M., Su W.C., Lee K.H., Kato T., Massey D., Shahidi M., Zazulina V., Sequist L.V. Afatinib versus cisplatin-based chemotherapy for EGFR mutation-positive lung adenocarcinoma (LUX-Lung 3 and LUX-Lung 6): analysis of overall survival data from two randomised, phase 3 trials. *Lancet Oncol*. 2015; 16(2): 141–51. doi: 10.1016/S1470-2045(14)71173-8.

15. Schuler M., Wu Y.L., Hirsh V., O'Byrne K., Yamamoto N., Mok T., Popat S., Sequist L.V., Massey D., Zazulina V., Yang J.C. First-Line Afatinib versus Chemotherapy in Patients with Non-Small Cell Lung Cancer and Common Epidermal Growth Factor Receptor Gene Mutations and Brain Metastases. *J Thorac Oncol*. 2016 Mar; 11(3): 380–90. doi: 10.1016/j.jtho.2015.11.014.

16. Park K., Tan E.H., O'Byrne K., Zhang L., Boyer M., Mok T., Hirsh V., Yang J.C., Lee K.H., Lu S., Shi Y., Kim S.W., Laskin J., Kim D.W., Arvis C.D., Kolbeck K., Laurie S.A., Tsai C.M., Shahidi M., Kim M., Massey D., Zazulina V., Paz-Ares L. Afatinib versus gefitinib as first-line treatment of patients with EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer (LUX-Lung 7): a phase 2B, open-label, randomised controlled trial. *Lancet Oncol*. 2016; 17(5): 577–89. doi: 10.1016/S1470-2045(16)30033-X.

17. Yang J.C., Sequist L.V., Geater S.L., Tsai C.M., Mok T.S., Schuler M., Yamamoto N., Yu C.J., Ou S.H., Zhou C., Massey D., Zazulina V., Wu Y.L. Clinical activity of afatinib in patients with advanced non-small-cell lung cancer harbouring uncommon EGFR mutations: a combined post-hoc analysis of LUX-Lung 2, LUX-Lung 3, and LUX-Lung 6. *Lancet Oncol*. 2015 Jul; 16(7): 830–8. doi: 10.1016/S1470-2045(15)00026-1.

18. Hirano T., Yasuda H., Tani T., Hamamoto J., Oishi A., Ishioka K., Arai D., Nukaga S., Miyawaki M., Kawada I., Naoki K., Costa D.B., Kobayashi S.S., Betsuyaku T., Soejima K. In vitro modeling to determine mutation specificity of EGFR tyrosine kinase inhibitors against clinically relevant EGFR mutants in non-small-cell lung cancer. *Oncotarget*. 2015 Nov 17; 6(36): 38789–803. doi: 10.18632/oncotarget.5887.

19. Mok T.S., Wu Y.L., Ahn M.-J., Garassino M.C., Kim H.R., Ramalingam S.S., Shepherd F.A., He Y., Akamatsu H., Theelen V.S., Lee C.K., Sebastian M., Templeton A., Mann H., Marotti M., Ghiorghiu S., Papadimitrakopoulou V.A.; AURA3 Investigators. Osimertinib or Platinum-Pemetrexed in EGFR T790M-Positive Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2017 Feb 16; 376(7): 629–640. doi: 10.1056/NEJMoa1612674.

20. Soria J.C., Ohe Y., Vansteenkiste J., Reungwetwattana T., Chewaskulyong B., Lee K.H., Dechaphunkul A., Imamura F., Nogami N., Kurata T., Okamoto I., Zhou C., Cho B.C., Cheng Y., Cho E.K., Voon P.J., Planchard D., Su W.C., Gray J.E., Lee S.M., Hodge R., Marotti M., Rukaznikov Y., Ramalingam S.S.; FLAURA Investigators. Osimertinib in Untreated EGFR-Mutated Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2018 Jan 11; 378(2): 113–125. doi: 10.1056/NEJMoa1713137.

21. Ohe Y., Imamura F., Nogami N., Okamoto I., Kurata T., Kato T., Sugawara S., Ramalingam S.S., Uchida H., Hodge R., Fowler S.L., Walding A.,

Nakagawa K. Osimertinib versus standard-of-care EGFR-TKI as first-line treatment for EGFRm advanced NSCLC: FLAURA Japanese subset. *Jpn J Clin Oncol*. 2019 Jan 1; 49(1): 29–36. doi: 10.1093/jco/hyy179.

22. Cho J.H., Lim S.H., An H.J., Kim K.H., Park K.U., Kang E.J., Choi Y.H., Ahn M.S., Lee M.H., Sun J.M., Lee S.H., Ahn J.S., Park K., Ahn M.J. Osimertinib for Patients With Non-Small-Cell Lung Cancer Harboring Uncommon EGFR Mutations: A Multicenter, Open-Label, Phase II Trial (KCSG-LU15-09). *J Clin Oncol*. 2020 Feb 10; 38(5): 488–495. doi: 10.1200/JCO.19.00931.

23. Gerlinger M., Rowan A.J., Horswell S., Math M., Larkin J., Endesfelder D., Gronroos E., Martinez P., Matthews N., Stewart A., Tarpey P., Varela I., Phillimore B., Begum S., McDonald N.O., Butler A., Jones D., Raine K., Latimer C., Santos C.R., Nohadani M., Eklund A.C., Spencer-Dene B., Clark G., Pickering L., Stamp G., Gore M., Szallasi Z., Downward J., Futreal P.A., Swanton C. Intratumor heterogeneity and branched evolution revealed by multiregion sequencing. *N Engl J Med*. 2012 Mar 8; 366(10): 883–892. doi: 10.1056/NEJMoa113205.

24. Murtaza M., Dawson S.J., Tsui D.W., Gale D., Forshew T., Piskorz A.M., Parkinson C., Chin S.F., Kingsbury Z., Wong A.S., Marass F., Humphray S., Hadfield J., Bentley D., Chin T.M., Brenton J.D., Caldas C., Rosenfeld N. Non-invasive analysis of acquired resistance to cancer therapy by sequencing of plasma DNA. *Nature*. 2013; 497(7447): 108–12. doi: 10.1038/nature12065.

25. Arcila M.E., Oxnard G.R., Nafa K., Riely G.J., Solomon S.B., Zakowski M.F., Kris M.G., Pao W., Miller V.A., Ladanyi M. Rebiopsy of lung cancer patients with acquired resistance to EGFR inhibitors and enhanced detection of the T790M mutation using a locked nucleic acid-based assay. *Clin Cancer Res*. 2011 Mar 1; 17(5): 1169–80. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-10-2277.

26. Sequist L.V., Waltman B.A., Dias-Santagata D., Digumarthy S., Turke A.B., Fidias P., Bergethon K., Shaw A.T., Gettinger S., Cosper A.K., Akhavanfar S., Heist R.S., Temel J., Christensen J.G., Wain J.C., Lynch T.J., Vernovsky K., Mark E.J., Lanuti M., Iafrate A.J., Mino-Kenudson M., Engelman J.A. Genotypic and histological evolution of lung cancers acquiring resistance to EGFR inhibitors. *Sci Transl Med*. 2011 Mar 23; 3(75): 75ra26. doi: 10.1126/scitranslmed.3002003.

27. Yu H.A., Arcila M.E., Rekhman N., Sima C.S., Zakowski M.F., Pao W., Kris M.G., Miller V.A., Ladanyi M., Riely G.J. Analysis of tumor specimens at the time of acquired resistance to EGFR-TKI therapy in 155 patients with EGFR-mutant lung cancers. *Clin Cancer Res*. 2013 Apr 15; 19(8): 2240–7. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-12-2246.

28. Yang J.C., Ahn M.J., Kim D.W., Ramalingam S.S., Sequist L.V., Su W.C., Kim S.W., Kim J.H., Planchard D., Felip E., Blackhall F., Haggstrom D., Yoh K., Novello S., Gold K., Hirashima T., Lin C.C., Mann H., Cantarini M., Ghiorghiu S., Jänne P.A. Osimertinib in Pretreated T790M-Positive Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer: AURA Study Phase II Extension Component. *J Clin Oncol*. 2017 Apr 20; 35(12): 1288–1296. doi: 10.1200/JCO.2016.70.3223.

29. Ahn M.J., Tsai C.M., Shepherd F.A., Bazhenova L., Sequist L.V., Hida T., Yang J.C.H., Ramalingam S.S., Mitsudomi T., Jänne P.A., Mann H., Cantarini M., Goss G. Osimertinib in patients with T790M mutation-positive, advanced non-small cell lung cancer: Long-term follow-up from a pooled analysis of 2 phase 2 studies. *Cancer*. 2019 Mar 15; 125(6): 892–901. doi: 10.1002/cncr.31891.

30. Le X., Puri S., Negrao M.V., Nilsson M.B., Robichaux J., Boyle T., Hicks J.K., Lovering K.L., Roarty E., Rinsurongkawong W., Tang M., Sun H., Elamin Y., Lacerda L.C., Lewis J., Roth J.A., Swisher S.G., Lee J.J., William W.N.Jr., Glisson B.S., Zhang J., Papadimitrakopoulou V.A., Gray J.E., Heymach J.V. Landscape of EGFR-Dependent and Independent Resistance Mechanisms to Osimertinib and Continuation Therapy Beyond Progression in EGFR-Mutant NSCLC. *Clin Cancer Res*. 2018 Dec 15; 24(24): 6195–6203. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-18-1542.

31. Piotrowska Z., Thress K., Mooradian M.J., Heist R.S., Azzoli C.G., Temel J.S., Evans T. MET amplification (amp) as a resistance mechanism to osimertinib. *Clin. Oncol*. 2017; 35: 9020.

32. Tan C.S., Kumarakulasinghe N.B., Huang Y.Q., Ang Y.L.E., Choo J.R., Goh B.C., Soo R.A. Third generation EGFR TKIs: current data and future directions. *Mol Cancer*. 2018 Feb 19; 17(1): 29. doi: 10.1186/s12943-018-0778-0.

33. Thress K.S., Pawletz C.P., Felip E., Cho B.C., Stetson D., Dougherty B., Lai Z., Markovets A., Vivancos A., Kuang Y., Ercan D., Matthews S.E., Cantarini M., Barrett J.C., Jänne P.A., Oxnard G.R. Acquired EGFR C797S mutation mediates resistance to AZD9291 in non-small cell lung cancer harboring EGFR T790M. *Nat Med*. 2015 Jun; 21(6): 560–2. doi: 10.1038/nm.3854.

34. Oxnard G.R., Hu Y., Mileham K.F., Husain H., Costa D.B., Tracy P., Feeney N., Sholl L.M., Dahlborg S.E., Redig A.J., Kwiatkowski D.J., Rabin M.S., Pawletz C.P., Thress K.S., Jänne P.A. Assessment of Resistance Mechanisms and Clinical Implications in Patients With EGFR T790M-Positive Lung Cancer and Acquired Resistance to Osimertinib. *JAMA Oncol*. 2018 Nov 1; 4(11): 1527–1534. doi: 10.1001/jamaoncol.2018.2969.

35. Yang Z., Yang N., Ou Q., Xiang Y., Jiang T., Wu X., Bao H., Tong X., Wang X., Shao Y.W., Liu Y., Wang Y., Zhou C. Investigating Novel Resistance Mechanisms to Third-Generation EGFR Tyrosine Kinase Inhibitor Osimertinib in Non-Small Cell Lung Cancer Patients. *Clin Cancer Res.* 2018 Jul 1; 24(13): 3097–3107. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-17-2310.
36. Girard N. Optimizing outcomes in EGFR mutation-positive NSCLC: which tyrosine kinase inhibitor and when? *Future Oncol.* 2018; 14(11): 1117–32. doi: 10.2217/fon-2017-0636.
37. Hirsh V. Turning EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer into a chronic disease: optimal sequential therapy with EGFR tyrosine kinase inhibitors. *Ther Adv Med Oncol.* 2018 Jan 22; 10: 1758834017753338. doi: 10.1177/1758834017753338.
38. Reck M., Mok T.S.K., Nishio M., Jotte R.M., Cappuzzo F., Orlandi F., Stroyakovskiy D., Nogami N., Rodríguez-Abreu D., Moro-Sibilot D., Thomas C.A., Barlesi F., Finley G., Lee A., Coleman S., Deng Y., Kowanz M., Shankar G., Lin W., Socinski M.A.; IMpower150 Study Group. Atezolizumab plus bevacizumab and chemotherapy in non-small-cell lung cancer (IMpower150): key subgroup analyses of patients with EGFR mutations or baseline liver metastases in a randomised, open-label phase 3 trial. *Lancet Respir Med.* 2019 May; 7(5): 387–401. doi: 10.1016/S2213-2600(19)30084-0.
39. Sequist L.V., Wu Y.L., Schuler M. Subsequent therapies post-afatinib among patients with EGFR mutation-positive NSCLC in LUX-Lung (LL) 3, 6 and 7. *Ann Oncol.* 2017; 28(suppl 2): doi: 10.1093/annonc/mdx380.051.
40. Hochmair M.J., Morabito A., Hao D., Yang C.T., Soo R.A., Yang J.C., Gucaip R., Halmos B., Wang L., Golembesky A., Märten A., Cufer T. Sequential treatment with afatinib and osimertinib in patients with EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer: an observational study. *Future Oncol.* 2018 Nov; 14(27): 2861–2874. doi: 10.2217/fon-2018-0711.
41. Hochmair M.J., Morabito A., Hao D., Yang C.T., Soo R.A., Yang J.C., Gucaip R., Halmos B., Wang L., Märten A., Cufer T. Sequential afatinib and osimertinib in patients with EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer: updated analysis of the observational GioTag study. *Future Oncol.* 2019 Sep; 15(25): 2905–2914. doi: 10.2217/fon-2019-0346.
42. Kohsaka S., Petronczki M., Solca F., Maemondo M. Tumor clonality and resistance mechanisms in EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer: implications for therapeutic sequencing. *Future Oncol.* 2019 Feb; 15(6): 637–52. doi: 10.2217/fon-2018-0736.
43. Osimertinib Treatment on EGFR T790M Plasma Positive NSCLC Patients (APPLE) [Internet]. URL: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02856893> (cited 14.11.2019).

Поступила/Received 14.11.2019
Принята в печать/Accepted 09.11.2020

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Коломейцева Алина Андреевна, кандидат медицинских наук, заведующая дневным стационаром поликлиники, МНИОИ им. П.А. Герцена – филиала ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России (г. Москва, Россия). E-mail: almed2002@mail.ru. SPIN-код: 1899-8316. ORCID: 0000-0002-6762-9511.

Феденко Александр Александрович, доктор медицинских наук, заведующий отделом лекарственного лечения опухолей, МНИОИ им. П.А. Герцена – филиала ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 9847-7668. ORCID: 0000-0003-4927-5585.

ВКЛАД АВТОРОВ

Коломейцева Алина Андреевна: разработка концепции научного труда, обзор литературы по данной проблеме, составление плана и черновика рукописи.

Феденко Александр Александрович: 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

Alina A. Kolomeytseva, MD, PhD, Head of Day Hospital, P.A. Herzen Moscow Research Oncology Institution – branch of National Medical Research Center of Radiology of Ministry of Healthcare of the Russian Federation (Moscow, Russia). E-mail: almed2002@mail.ru. ORCID: 0000-0002-6762-9511.

Alexandr A. Fedenko, MD, PhD, DSc, Head of Department of Drug Treatment of Tumors, P.A. Herzen Moscow Research Oncology Institution – branch of National Medical Research Center of Radiology of Ministry of Healthcare of the Russian Federation (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0003-4927-5585.

AUTHOR CONTRIBUTION

Alina A. Kolomeytseva: study conception, literature review, drafting of the manuscript.

Alexandr A. Fedenko: critical review 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: Парфирьева Е.М., Ивченко А.О., Ивченко О.А., Августинович А.В. Эволюция методов остановки кровотечения из пресакрального венозного сплетения в хирургии таза: обзор литературы. Сибирский онкологический журнал. 2020; 19(6): 126–132. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-6-126-132.

For citation: Parfireva E.M., Ivchenko A.O., Ivchenko O.A., Avgustinovich A.V. Evolution of methods of stopping bleeding from the presacral venous plexus in pelvic surgery: a review of the literature. Siberian Journal of Oncology. 2020; 19(6): 126–132. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-6-126-132.

ЭВОЛЮЦИЯ МЕТОДОВ ОСТАНОВКИ КРОВОТЕЧЕНИЯ ИЗ ПРЕСАКРАЛЬНОГО ВЕНОЗНОГО СПЛЕТЕНИЯ В ХИРУРГИИ ТАЗА: ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Е.М. Парфирьева¹, А.О. Ивченко², О.А. Ивченко², А.В. Августинович³

ОГАУЗ «Томский областной онкологический диспансер», г. Томск, Россия¹

Россия, 634050, г. Томск, пр. Ленина, 115. E-mail: forerunner@yandex.ru¹

ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Томск, Россия²

Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2²

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный

исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия³

Россия, г. Томск, 634009, пер. Кооперативный, 5³

Аннотация

Целью исследования является анализ литературы, посвященной проблеме остановки кровотечения из пресакрального венозного сплетения. **Материал и методы.** Поиск источников литературы осуществлялся по базам данных Elibrary, Medline, Embase с периодом охвата от января 1960 по ноябрь 2018 г. **Результаты.** Кровотечение из пресакрального венозного сплетения хоть и не частое, но потенциально летальное осложнение в хирургии таза. Нижняя полая вена, вены пресакрального и внутреннего позвоночного сплетений расширены под общим наркозом и действуют как крупный венозный «бассейн» в малом тазу из-за отсутствия функциональных клапанов. Гидростатическое давление в этом венозном бассейне может достигать два-три показателя давления нижней полой вены. Таким образом, разрыв даже небольшой пресакральной вены приводит к обильному кровотечению. Среди множества предложенных способов остановки такого рода кровотечений наиболее эффективными являются: механические тампонада; прижатие зоны; электрокоагуляция, наложение кровоостанавливающих швов как в монорежиме, так и в комбинации с биологическим материалом; применение гемостатических материалов. **Заключение.** Разнообразие используемых способов, публикации новых статей свидетельствуют не только об относительной их эффективности, но и о постоянном поиске более надежного метода.

Ключевые слова: кровотечение из пресакрального венозного сплетения, гемостаз, тугая тампонада, электрокоагуляция, пористый никелид титана.

EVOLUTION OF METHODS OF STOPPING BLEEDING FROM THE PRESACRAL VENOUS PLEXUS IN PELVIC SURGERY: A REVIEW OF THE LITERATURE

Е.М. Parfireva¹, А.О. Ivchenko², О.А. Ivchenko², А.В. Avgustinovich³

Tomsk Regional Cancer Center, Tomsk, Russia¹

115, Lenina Prospect, 634054, Tomsk, Russia. E-mail: Forerunner@yandex.ru¹

Siberian State Medical University, Tomsk, Russia²

2, Moskovskiy Trakt, 634050, Tomsk, Russia²

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center,

Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia³

5, Kooperativny Street, 634009, Tomsk, Russia³

Abstract

The purpose of the study was to analyze various methods of stopping bleeding from the presacral venous plexus. **Material and Methods.** Literature search was carried out using Elibrary, Medline, Embase databases from January 1960 to November 2018. **Results.** Bleeding from the presacral venous plexus is a rare but potentially life-threatening complication in pelvic surgery. The inferior vena cava, the veins of the presacral and internal spinal plexuses are dilated under general anesthesia, and act as a large venous "blood pool" in the pelvis because of the lack of functional valves. Hydrostatic pressure in this venous pool can reach two to three times the pressure of the inferior vena cava. Thus, rupture of even a small presacral vein may result in heavy bleeding. Among the many reported methods of stopping this bleeding, the most effective are as follows: mechanical tamponade; technique of pressing the bleeding site; electrocoagulation; the use of hemostatic materials. **Conclusion.** The variety of methods used for stopping bleeding from the presacral venous plexus indicate a need of searching for more effective methods.

Key words: bleeding from the presacral venous plexus, hemostasis, tamponade, electrocoagulation, porous titanium nickleide.

Частота интраоперационных кровотечений в онкохирургии таза невысока. Предыдущие оперативные вмешательства, большие размеры опухоли, проведенная химиолучевая терапия, инфильтрация ткани (опухолевая, воспалительная) затрудняют анатомическую диссекцию [1]. Применение надежных методов хирургического гемостаза минимизирует кровопотерю. Пресакральная область представляет собой забрюшинное пространство, расположенное между пресакральной фасцией и висцеральной фасцией прямой кишки [2]. По латеральным границам пресакральной области проходят внутренние подвздошные артерия и вена, латеральные крестцовые вены, симпатический ствол, нервы гипогастрия и нижнее сплетение гипогастрия. Данные структуры подвержены риску повреждения при проведении оперативного вмешательства, в том числе из-за анатомической вариабельности указанных структур. Также имеет значение передне-задний размер пресакральной области, который включает в себя расстояние между прямой кишкой и вентральной поверхностью крестца, который варьирует на уровне S1 – от 16,2 мм у мужчин до 11,9 мм у женщин), на уровне S2 – от 16,2 мм у мужчин до 14,9 мм у женщин, на уровне S3 – от 13,0 мм у мужчин до 10,6 мм у женщин [3].

Сосудистая анатомия пресакрального пространства образована, в первую очередь, анастомозами срединной и боковых сакральных вен на передней поверхности крестца. Срединная крестцовая вена представляет собой небольшой сосуд диаметром 2,3–2,8 мм и расположена как по срединной линии, так и с отклонением от нее до 4,7–9,0 мм. Боковые крестцовые вены прослеживаются на протяжении всех крестцовых позвонков. Расстояние от срединной линии до боковых крестцовых вен варьирует от $29,8 \pm 4,1$ мм справа до $33,2 \pm 4,1$ мм слева на уровне S2–3 крестцовых позвонков и от $10,6 \pm 3,5$ мм справа до $14,9 \pm 2,1$ мм слева на уровне S5 [4]. Показана большая вариабельность расположения коммуникантных вен с наличием небольшой бес-

сосудистой зоны только по передней поверхности между крестцовыми отверстиями S2–S3 [5, 6]. Срединная сакральная вена часто впадает в левую общую подвздошную вену, в то время как боковые сакральные вены открываются во внутренние подвздошные вены. Венозное сплетение также связано с поясничными венами задней брюшной стенки, базивертебральными венами, с прямокишечным и мочепузырным венозными сплетениями. Базивертебральные вены представляют собой тонкостенные сосуды, содержащиеся в больших, извилистых каналах губчатой ткани тел позвонков и сообщающиеся спереди и по бокам тела позвонка с передними внешними венами позвоночного сплетения. Данные вены совместно с боковыми и срединной крестцовыми венами образуют обширные анастомозы и формируют сакральное венозное сплетение по вентральной поверхности крестцовой кости. Таким образом, переднее крестцовое сплетение, являясь фрагментом позвоночного венозного бассейна, представляет собой широкий анастомоз между венами позвоночного канала с окружающими его сплетениями и нижней поллой веной.

Связь между венами позвоночного канала и пресакральным сплетением осуществляется через межкрестцовые вены, выходящие из крестцовых отверстий, а также множество мелких веточек, выходящих из губчатого вещества крестцовых позвонков через отверстия на передней поверхности крестца. Межкрестцовые вены выходят из каждого крестцового отверстия в виде 2–3 стволов, диаметром до 3,5 мм и, распадаясь на несколько дополнительных веточек, впадают в боковые крестцовые вены, что делает венозную сеть в области крестцовых отверстий более густой. Диаметр вен, входящих в переднее крестцовое сплетение, варьирует от 1 мм до 4 мм.

Кровотечения из пресакральных вен, как правило, обильные по нескольким причинам. Нижняя полая вена, вены пресакрального и внутреннего позвоночного сплетений при пребывании пациента под общим наркозом в литотомической позиции

обычно расширены и действуют как крупный венозный «бассейн» в малом тазу из-за отсутствия функциональных клапанов. Гидростатическое давление в этом венозном бассейне может в 2–3 раза превышать давление в нижней полой вене. Таким образом, разрыв даже небольшой пресакральной вены приводит к обильному кровотечению [5, 7, 8]. Данный факт подтверждает эксперимент, в ходе которого было показано, что потеря крови из срезанных концов вены пресакрального сплетения размером от 2 до 4 мм в диаметре может достигать 1000 миллилитров в мин, а расширение диаметра вены всего на 1 мм увеличивает кровопотерю в 3 раза [7, 9].

Для контроля кровотечения из пресакрального венозного сплетения предлагаются различные способы гемостаза и методы профилактики повреждения венозного сплетения. Однако каждый из них имеет определенные ограничения и обычно не обеспечивает полный гемостаз. В качестве профилактики травматизации вен переднего крестцового сплетения предпочтительно использовать острую диссекцию в плоскости между собственной фасцией прямой кишки и пресакральной фасцией. Это сохраняет неповрежденной фасцию крестца с меньшей травматизацией пресакральных сосудов. Также рекомендуются соблюдение принципа анатомической футлярности [10–12].

Техника тазовой тампонады является самой изученной и в ряде случаев наиболее надежной для предотвращения летальных исходов у пациентов с массивным кровотечением из крестцовых вен [13]. Именно «тампонадой отчаяния» зачастую заканчивается борьба хирурга с кровопотерей в хирургии таза. Явным недостатком методики является необходимость повторной операции через 24–48 ч для удаления материала с риском повторного кровотечения. Ряд авторов предлагает альтернативные варианты тугой тампонады, но без необходимости проведения повторных оперативных вмешательств. В частности, применяли тканевый эспандер Radovan® (Mentor, USA), раздутый до 450 мл, причем предварительно авторы использовали прошивание, коагуляцию и стерильные кнопки с неудовлетворительным эффектом гемостаза [14], трубу Блекмора, введенную через промежностную рану [15], баллон Бакри [16]. После опорожнения устройств, при отсутствии признаков кровотечения в зоне операции, они извлекались через промежностный доступ без повторной лапаротомии. X. Ng et al. упростили методику, используя для тампонады простой пакет с физраствором, в то время как порт пакета был выведен в перианальную область, который через 5 дней опорожнялся и удалялся через промежностный ход порта [17]. S.C. Braley et al. применили сайзер грудного импланта [18]. В 2013 г. были опубликованы результаты использования специального гемостатического баллона для ректаль-

ной полости. Разработка модели осуществлялась на основе анализов 3D-реконструкции полости малого таза [19].

Тугая тампонада возможна только при выполнении обструктивных резекций или экстирпаций прямой кишки. При низких передних резекциях, а также брюшно-анальных резекциях с низведением вышележащих отделов ободочной кишки тугая компрессия невозможна из-за угрозы несостоятельности анастомоза и/или некроза «придавленного» участка кишки. В качестве альтернативы тампонады алломатериалами используют фрагмент прямой мышцы живота в виде свободного лоскута, фиксированный над зоной кровотечения [20, 21].

Для минимальной травматизации переднего крестцового сплетения в так называемых аваскулярных зонах располагают хирургические скобы или швы – в углах квадрата на передней поверхности крестцовой кости, верхняя граница которого проходит в 3 см от мыса и параллельно ему, длина сторон квадрата при этом равна 3 см [5]. Кроме того, в различных операционных ситуациях предлагается использовать несколько методик профилактики большего объема кровопотери: при кровотечении из внутренних подвздошных сосудов применяют полное выделение опухолевого конгломерата с других сторон, что позволяет сделать контакт с сосудами последним этапом резекции, уменьшить время активного кровотечения и обеспечить лучшую экспозицию источника кровотечения сразу после удаления препарата из полости малого таза; при кровотечении во время резекции крестца предлагается выделение и пересечение крестцово-остистой и крестцово-седалищной связок до начала выделения крестца [22].

Прошивание может дать положительный результат при кровотечении вблизи мыса крестца и ближе к его срединной линии, иногда в зоне мелких межвенозных анастомозов по бокам крестцовой кости, но оно совершенно неэффективно в зоне крестцовых отверстий. Отсутствие мягких тканей около кровоточащих сосудов осложняет ситуацию и требует повышенной точности прошивания, что сложно обеспечить в условиях профузного кровотечения. Кроме того, наличие множества паравазальных соединительнотканых перепонок обуславливает зияние поврежденных вен.

Методика лигирования или эмболизации внутренних подвздошных артерий в случаях тазового кровотечения пришла из гинекологии, ее впервые применил сэр Хорвард Келли в 1893 г. при гистерэктомии по поводу рака тела матки [23]. Принцип перевязки внутренней подвздошной артерии для контроля тазового кровоизлияния заключается в преобразовании давления артериальной циркуляции в венозную. Односторонняя перевязка внутренней подвздошной артерии уменьшает пульсовое давление дистальнее точки лигирования на 77 %, в то время как двусторонняя пере-

вязка уменьшает пульсовое давление на 85 %. В результате снижения пульсового давления в месте кровотечения формируются и фиксируются сгустки. Кровоснабжение таза продолжается через обширное коллатеральное кровообращение с аортой и бедренной артерией, включая поясничную, илиолюмбарную, среднюю крестцовую, боковую крестцовую, верхнюю и среднюю ректальные и ягодичные артерии [24, 25]. Восстановление циркуляции крови наступает через 45–60 мин после перевязки [26]. В эксперименте на кроликах M. Nata et al. показали временную эффективность в снижении кровенаполнения венозного сплетения только при сочетании перевязки внутренних подвздошных артерий, позиционировании животного головой вниз и временного пережатия инфрэнального отдела аорты [27]. Поэтому изолированно данный метод для достижения гемостаза не используют.

При экстрасфасциальной резекции по поводу рака прямой кишки одним из методов остановки кровотечения в малом тазу является электрокоагуляция или тампонирование области кровотечения в продолжение 5–10 мин. Кроме того, в качестве контроля кровотечения из пресакрального сплетения предлагают использовать спрей-коагуляцию при настраиваемых параметрах частоты и объема электрического тока [28]. Следует отметить, что электрокоагуляция приемлема при небольшом диаметре сосудов (не более 2 мм), а также при хорошем визуальном контроле за зоной повреждения и скоростью кровотечения. При этом могут использоваться методики аргонплазменной и биполярной коагуляции [29–31].

Перечисленные выше методы в той или иной мере дают положительный результат, если поврежденный венозный ствол остается в пределах визуальной досягаемости. В случаях его дислокации в крестцовое отверстие они становятся неэффективны. Поэтому в таких случаях используют различные устройства из биологически инертных материалов. Например, существует метод с использованием стерильных металлических или титановых чертежных кнопок [7, 32–36]. Суть этого метода заключается в том, что при возникшем кровотечении поврежденное место на артерии прижимают пальцем, а затем вводят кнопку через заднюю стенку сосуда в костную ткань крестца в место повреждения. Кнопки имеют зазубренный шип с «заусенцем», длиной до 1 см, находящийся в центре и перпендикулярно шляпке, которая представляет собой диск толщиной 1 мм, диаметром 2–2,5 см. Подобные металлические кнопки из нержавеющей стали или титана разработали и описали авторы в 1984 г., способ отличался использованием свободного участка мышцы или сальника диаметром не менее 4 см, которые надевают на шип кнопки и прижимают к месту повреждения. Биологический материал использовали в качестве прокладки между шляпкой кнопки и

крестцом, что обеспечивало герметичность, равномерность прижатия сосудов и снижение травматизации тканей. Однако описанные методы не всегда эффективны, что связано со смещением кнопок с последующей их переустановкой при рецидиве кровотечения, а также технической сложностью установки кнопок на уровне S3 и S4 из-за анатомической кривизны крестца в этой зоне. Проблему доступности нижних отделов передней поверхности крестца частично решили T.J. van der Vurst et al., используя ProTack™ (Covidien, Ireland) – прибор для лапароскопической фиксации синтетического сетчатого имплантата при грыжесечении [37].

В качестве альтернативы металлическим кнопкам V.M. Stolfi et al. используют 7-мм титановые штифты со скошенным валом, которые называют «коньковыми». Их особенностью является наличие мононаправленных скошенных пазов, которые облегчают вкручивание при снижении риска их выпадения. После прижатия пальцем или тампоном в области кровотечения рекомендуется максимально очистить интересующую зону и вкрутить штифт так, чтобы его головка оказалась на уровне наружной костной пластинки. При рецидиве кровотечения авторы предполагают повторное вкручивание следующего штифта. У данного метода есть противопоказания: возможность контроля гемостаза путем лигирования или электрокоагуляции; диффузное кровотечение из пресакральных и ретросакральных областей, не поддающееся механическому сдавлению или связанное с системным расстройством свертывания крови; большая площадь кровотечения [38]. В литературе, однако, имеются данные о негативных последствиях такого метода остановки кровотечения [39, 40]. В частности, указывают на пресакральное скопление жидкости в области штифтов с последующей недостаточностью кишечного анастомоза [41].

J. Jiang et al. предлагают использовать метод лигирования круговым швом, который имеет два ключевых момента. Во-первых, в интактной части пресакральной фасции, окружающей зону кровотечения, должны быть лигированы пресакральные вены. Так как стенки данных вен слишком тонкие, обычно их перевязывают совместно с поверхностной пресакральной фасцией и глубокими подлежащими тканями, которые эффективно защищают стенки вен. Во-вторых, при рецидиве кровотечения повторный лигирующий круговой шов должен располагаться кнутри от предыдущего [42]. С данным методом имеет много общего методика наложения сосудистых клипс, при которой после прижатия тампона к области кровотечения накладывают сосудистые клипсы (Ligaclips) на венозные сосуды, расположенные дистальнее области кровотечения [43].

Достаточно эффективными способами контроля гемостаза остаются костный воск и костный цемент, в частности, отмечена их эффективность при

мобилизации забрюшинной опухоли с развитием кровотечения из пресакрального венозного сплетения, особенно при травмировании надкостницы крестца [44, 45]. Помимо этого, С.К. Wieslander et al. предлагают использование гемостатического вещества, состоящего из смеси желатина и компонентов тромбина, нанесенной на поверхность кровотечения, если его источником являются вены из крестцовых отверстий или костная ткань [46]. Использование клея в сочетании с другими гемостатическими материалами доказало свою эффективность в ряде исследований. S. Germanos et al. описали успешный гемостаз в 3 случаях при комбинированном применении гемостатического матрикса (FloSeal®; Baxter, USA) и абсорбируемого гемостатического материала (Surgicel® Fibrillar™; Ethicon, USA). Проводилась временная тугая тампонада для лучшей адгезии и предотвращения вымывания герметика. Через 3 мин гемостатические агенты извлекались и операция продолжалась [47].

Y. Chen et al. используют окисленную целлюлозу в сочетании с цианоакрилатным клеем. С помощью зажима патч окисленной целлюлозы прижимается к повреждению, на которую равномерно нанесен цианоакрилатный клей [48]. С.Н. Zhang et al. получили удовлетворительный гемостаз у 5 пациентов, используя рассасывающуюся гемостатическую марлю (химически обработанная целлюлоза с медицинским клеем на основе цианоакрилата) [49]. Успешно использовали цианоакрилатный клей J.E. Losanoff et al. [50]. Однако описаны случаи и осложнений при использовании медицинского клея на основе N-бутил-2-цианоакрилата (такие как кишечная непроходимость и перфорация кишки) из-за нерассосавшихся фрагментов клея, что было связано с его неправильным использованием без защиты окружающих органов и без контроля распределения тонкого слоя агента только на необходимой площади [51].

В литературе также описаны комбинированные методики. Ряд авторов используют мышечный лоскут с передней брюшной стенки, который прижимается к области кровотечения, а затем точно «приваривается» электрокоагулятором [52–57]. Другие авторы в качестве материала используют сальник и жировые подвески с последующим при-

вариванием электрокоагулятором в области зоны кровотечения [56]. По данным М. Ozsoy et al., для остановки кровотечения и воссоздания «новой» пресакральной фасции можно использовать GORE TEX® graft (фрагменты синтетического протеза аорты, фиксированные к крестцу с помощью лапароскопического инструмента Autosuture ProTack, используемого в хирургии грыж) [57].

Отдельного внимания заслуживают сообщения о применении в качестве гемостазирующего агента пластин пористого никелида титана, эффективность которого связана с уникальными свойствами [58, 59]. Материал является пористой проницаемой системой, имеет заданное распределение пор по размерам, поэтому хорошо смачивается жидкими средами организма, в частности кровью. Благодаря шероховатой поверхности NiTi обладает собственными адгезивными свойствами, поэтому не требуется фиксация импланта. Ретракция сгустка крови идет непосредственно в пористой структуре пластины, дополнительно фиксируя имплант, пломбуя зону кровотечения. Сплав деформируется в соответствии с закономерностями тканей организма, что важно на вогнутых поверхностях крестца. Методика применения NiTi проста: на максимально высушенную поверхность укладываются пластины среднепористого никелида титана, площадью не более 2,0 см², во избежание излома импланта. Осуществляется механическое давление с экспозицией 3–4 мин, что достаточно для образования сгустка. Авторы указанных публикаций приводят примеры успешного применения методики у пациентов с неорганными забрюшинными опухолями и раком прямой кишки, оперативное лечение которых осложнилось кровотечением из пресакрального венозного сплетения.

Заключение

Использование современного электрохирургического инструментария, комбинированных местных гемостатических, шовного и клиппирующего материалов снизило частоту интраоперационных кровотечений из вен крестцового сплетения. Разнообразие используемых способов свидетельствует не только об их относительной эффективности, но и поисках максимально надежного метода.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Johnstone C., Rich S.E. Bleeding in cancer patients and its treatment: a review. *Ann Palliat Med.* 2018 Apr; 7(2): 265–273. doi: 10.21037/apm.2017.11.01.
2. Jin Z.M., Peng J.Y., Zhu Q.C., Yin L. Waldeyer's fascia: anatomical location and relationship to neighboring fasciae in retrorectal space. *Surg Radiol Anat.* 2011 Dec; 33(10): 851–4. doi: 10.1007/s00276-011-0887-6.
3. Oto A., Peynircioglu B., Eryilmaz M., Besim A., Sürücü H.S., Celik H.H. Determination of the width of the presacral space on magnetic resonance imaging. *Clin Anat.* 2004 Jan; 17(1): 14–6. doi: 10.1002/ca.10129.
4. Güvencer M., Dalbayrak S., Tayefi H., Tetik S., Yilmaz M., Erginoğlu U., Baskan Ö., Güran S., Naderi S. Surgical anatomy of the presacral area. *Surg Radiol Anat.* 2009 Apr; 31(4): 251–7. doi: 10.1007/s00276-008-0435-1.

5. Baqué P., Karimjee B., Iannelli A., Benizri E., Rahili A., Benchi-mol D., Bernard J.L., Sejour E., Bailleux S., de Peretti F., Bourgeon A. Anatomy of the presacral venous plexus: implications for rectal surgery. *Surg Radiol Anat.* 2004 Oct; 26(5): 355–8. doi: 10.1007/s00276-004-0258-7.
6. Flynn M.K., Romero A.A., Amundsen C.L., Weidner A.C. Vascular anatomy of the presacral space: a fresh tissue cadaver dissection. *Am J Obstet Gynecol.* 2005 May; 192(5): 1501–5. doi: 10.1016/j.ajog.2004.11.019.
7. Wang Q.Y., Shi W.J., Zhao Y.R., Zhou W.Q., He Z.R. New concepts in severe presacral hemorrhage during proctectomy. *Arch Surg.* 1985; 120(9): 1013–20. doi: 10.1001/archsurg.1985.01390330025005.
8. Hill A.D., Menzies-Gow N., Darzi A. Methods of controlling presacral bleeding. *J Am Coll Surg.* 1994 Feb; 178(2): 183–4.

9. Casal Nuñez J.E., García Martínez M.T., Ruano Poblador A., Sánchez Conde J.A., Pampin Medela J.L., Moncada Iribarren E., De Sanildefonso Pereira A. Presacral haemorrhage during rectal cancer resection: morphological and hydrodynamic considerations. *Cir Esp.* 2012 Apr; 90(4): 243–7. doi: 10.1016/j.ciresp.2011.11.015.
10. Heald R.J., Husband E.M., Ryall R.D. The mesorectum in rectal cancer surgery—the clue to pelvic recurrence? *Br J Surg.* 1982; 69(10): 613–6. doi: 10.1002/bjs.1800691019.
11. Heald R.J. The 'Holy Plane' of rectal surgery. *J R Soc Med.* 1988; 81(9): 503–8.
12. Bacon H.E., Gutierrez R.R. Cancer of the rectum and colon. Review of 2,402 personal cases. *Dis Colon Rectum.* 1967 Jan-Feb; 10(1): 61–4. doi: 10.1007/BF02617391.
13. Zama N., Fazio V.W., Jagelman D.G., Lavery I.C., Weakley F.L., Church J.M. Efficacy of pelvic packing in maintaining hemostasis after rectal excision for cancer. *Dis Colon Rectum.* 1988; 31(12): 923–8. doi: 10.1007/BF02554887.
14. Cosman B.C., Lackides G.A., Fisher D.P., Eskenazi L.B. Use of tissue expander for tamponade of presacral hemorrhage. Report of a case. *Dis Colon Rectum.* 1994 Jul; 37(7): 723–6. doi: 10.1007/BF02054419.
15. McCourtney J.S., Hussain N., Mackenzie I. Balloon tamponade for control of massive presacral haemorrhage. *Br J Surg.* 1996 Feb; 83(2): 222.
16. Lopez-Lopez V., Abrisqueta J., Lujan J., Ferreras D., Parrilla P. Treatment of presacral bleeding after colorectal surgery with Bakri balloon. *Cir Esp.* 2016 May; 94(5): 303–5. doi: 10.1016/j.ciresp.2015.12.003.
17. Ng X., Chiou W., Chang S. Controlling a presacral hemorrhage by using a saline bag: report of a case. *Dis Colon Rectum.* 2008 Jun; 51(6): 972–4. doi: 10.1007/s10350-007-9189-9.
18. Bralley S.C., Schneider P.D., Bold R.J., Goodnight J.E.Jr., Khatri V.P. Controlled tamponade of severe presacral venous hemorrhage: use of a breast implant sizer. *Dis Colon Rectum.* 2002; 45(1): 140–2. doi: 10.1007/s10350-004-6130-3.
19. Holman F.A., van der Pant N., de Hingh I.H., Martijnse I., Jakimowicz J., Rutten H.J., Goossens R.H. Development and clinical implementation of a hemostatic balloon device for rectal cancer surgery. *Surg Innov.* 2014 Jun; 21(3): 297–302. doi: 10.1177/1553350613507145.
20. Remzi F.H., Oncel M., Fazio V.W. Muscle tamponade to control presacral venous bleeding: report of two cases. *Dis Colon Rectum.* 2002 Aug; 45(8): 1109–11. doi: 10.1007/s10350-004-6369-8.
21. Павленко С.Г., Агаджанян Д.З., Моргоев А.Э., Физулин М.М. Способ остановки кровотечения из вен крестцового сплетения. Патент № 2456939 C1 РФ, МПК A61B 17/00, №2011100322/14; Заявл. 01.11.2011.; Оpubл. 07.27.2012. [Pavlenko S.G., Agadzhanian D.Z., Morgoev A.E., Fizulin M.M. A method for stopping bleeding from the veins of the sacral plexus. Patent No. 2456939 C1 RF, IPC A61B 17/00, No. 2011100322/14; Appl. 01.11.2011; Publ. 07.27.2012. (in Russian)].
22. Тулина И.А., Царьков В.П., Комкова Н.Е. Оценка безопасности комбинированных вмешательств при местнораспространенном раке прямой кишки в зависимости от преимущественного направления опухолевого роста. Вестник хирургической гастроэнтерологии. 2010; 1: 11–22. [Tulina I.A., Tsarkov P.V., Komkova N.E. Feasibility evaluation of extended surgery for locally advanced rectal cancer depending on predominant direction of tumor invasion. *Herald of surgical gastroenterology.* 2010; 1: 11–22. (in Russian)].
23. Kelly H.A. Ligation of both internal iliac arteries for hemorrhage in hysterectomy for carcinoma uterus. *Bull. Johyn Hopkins Hospital.* 1893; 5: 53.
24. Binder S.S., Mitchell G.A. The control of intractable pelvic hemorrhage by ligation of the hypogastric artery. *South Med J.* 1960 Jul; 53: 837–43. doi: 10.1097/00007611-196007000-00003.
25. Bangal V., Kwatra A., Raghav S. Role of internal iliac artery ligation in control of pelvic hemorrhage. *Pravara Med Rev* 2009; 1(2): 23–25.
26. Selçuk İ., Uzun B., Boduç E., Baykuş Y., Akar B., Güngör T. Step-by-step ligation of the internal iliac artery. *J Turk Ger Gynecol Assoc.* 2019 May 28; 20(2): 123–128. doi: 10.4274/jtgga.galenos.2018.2018.0124.
27. Hata M., Kawahara N., Tomita K. Influence of ligation of the internal iliac veins on the venous plexuses around the sacrum. *J Orthop Sci.* 1998; 3(5): 264–71. doi: 10.1007/s007760050052.
28. Filippakis G.M., Leandros M., Albanopoulos K., Genetzakis M., Lagoudianakis E., Pararas N., Konstandoulakis M.M. The use of spray electrocautery to control presacral bleeding: a report of four cases. *Am Surg.* 2007; 73(4): 410–3.
29. Kandeel A., Meguid A., Hawasli A. Controlling difficult pelvic bleeding with argon beam coagulator during laparoscopic ultra low anterior resection. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech.* 2011; 21(1): e21–3. doi: 10.1097/SLE.0b013e3182054f13.
30. Saurabh S., Strobos E.H., Patankar S., Zinkin L., Kassir A., Snyder M. The argon beam coagulator: a more effective and expeditious way to address presacral bleeding. *Tech Coloproctol.* 2014; 18(1): 73–6. doi: 10.1007/s10151-012-0915-5.
31. Li Y.Y., Chen Y., Xu H.C., Wang D., Liang Z.Q. A new strategy for managing presacral venous hemorrhage: bipolar coagulation hemostasis. *Chin Med J (Engl).* 2010 Dec; 123(23): 3486–8.
32. Nivatvongs S., Fang D.T. The use of thumbtacks to stop massive presacral hemorrhage. *Dis Colon Rectum.* 1986; 29(9): 589–90. doi: 10.1007/BF02554267.
33. Sutton G.P., Addison W.A., Livengood C.H.3rd, Hammond C.B. Life-threatening hemorrhage complicating sacral colpopexy. *Am J Obstet Gynecol.* 1981 Aug 1; 140(7): 836–7. doi: 10.1016/0002-9378(81)90750-x.
34. Timmons M.C., Kohler M.F., Addison W.A. Thumbtack use for control of presacral bleeding, with description of an instrument for thumbtack application. *Obstet Gynecol.* 1991 Aug; 78(2): 313–5.
35. Patsner B., Orr J.W.Jr. Intractable venous sacral hemorrhage: use of stainless steel thumbtacks to obtain hemostasis. *Am J Obstet Gynecol.* 1990 Feb; 162(2): 452. doi: 10.1016/0002-9378(90)90405-v.
36. Lucarotti M.E., Armstrong C.P., Bartolo D.C. Control of presacral bleeding in rectal surgery. *Ann R Coll Surg Engl.* 1991 Sep; 73(5): 289–90.
37. van der Vurst T.J., Bodegom M.E., Rakic S. Tamponade of presacral hemorrhage with hemostatic sponges fixed to the sacrum with endoscopic helical tacks: report of two cases. *Dis Colon Rectum.* 2004; 47(9): 1550–3. doi: 10.1007/s10350-004-0614-2.
38. Stoffi V.M., Milsom J.W., Lavery I.C., Oakley J.R., Church J.M., Fazio V.W. Newly designed occluder pin for presacral hemorrhage. *Dis Colon Rectum.* 1992 Feb; 35(2): 166–9. doi: 10.1007/BF02050673.
39. Lacerda-Filho A., Duares L.C., Santos H.F. Displacement and per-anal extrusion of a hemostatic sacral thumbtack. *J Pelvic Med Surg* 2004; 10: 319–22.
40. Suh M., Shaikh J.R., Dixon A.M., Smialek J.E. Failure of thumbtacks used in control of presacral hemorrhage. *Am J Forensic Med Pathol.* 1992 Dec; 13(4): 324–5. doi: 10.1097/00004433-199212000-00011.
41. Mahmalji W., Mackenzie H., Chopada A., Raza A. A novel use for the rigid cystoscope: the removal of sacral tacks after a coloanal anastomosis dehiscence. *Adv Urol.* 2009; 2009: 978038. doi: 10.1155/2009/978038.
42. Jiang J., Li X., Wang Y., Qu H., Jin Z., Dai Y. Circular suture ligation of presacral venous plexus to control presacral venous bleeding during rectal mobilization. *J Gastrointest Surg.* 2013 Feb; 17(2): 416–20. doi: 10.1007/s11605-012-2028-x.
43. Jivapaisarnpong P. The Use of Ligating Clips (Liga Clips®) to Control Massive Presacral Venous Bleeding: Case Reports. *Thai J Surg* 2009; 30: 25–8.
44. Becker A., Koltun L., Shulman C., Sayfan J. Bone cement for control of massive presacral bleeding. *Colorectal Dis.* 2008 May; 10(4): 409–10. doi: 10.1111/j.1463-1318.2007.01373.x.
45. Civelek A., Yeğen C., Aktan A.O. The use of bonewax to control massive presacral bleeding. *Surg Today.* 2002; 32(10): 944–5. doi: 10.1007/s005950200189.
46. Wieslander C.K., Rahn D.D., McIntire D.D., Marinis S.I., Wai C.Y., Schaffer J.I., Corton M.M. Vascular anatomy of the presacral space in unembalmed female cadavers. *Am J Obstet Gynecol.* 2006 Dec; 195(6): 1736–41. doi: 10.1016/j.ajog.2006.07.045.
47. Germanos S., Bolanis I., Saedon M., Baratsis S. Control of presacral venous bleeding during rectal surgery. *Am J Surg.* 2010 Aug; 200(2): e33–5. doi: 10.1016/j.amjsurg.2009.11.011.
48. Chen Y., Chen F., Xie P., Qiu P., Zhou J., Deng Y. Combined oxidized cellulose and cyanoacrylate glue in the management of severe presacral bleeding. *Surg Today.* 2009; 39(11): 1016–7. doi: 10.1007/s00595-009-4012-y.
49. Zhang C.H., Song X.M., He Y.L., Han F., Wang L., Xu J.B., Chen C.Q., Cai S.R., Zhan W.H. Use of absorbable hemostatic gauze with medical adhesive is effective for achieving hemostasis in presacral hemorrhage. *Am J Surg.* 2012 Apr; 203(4): e5–8. doi: 10.1016/j.amjsurg.2010.06.026.
50. Losanoff J.E., Richman B.W., Jones J.W. Cyanoacrylate adhesive in management of severe presacral bleeding. *Dis Colon Rectum.* 2002 Aug; 45(8): 1118–9. doi: 10.1007/s10350-004-6372-0.
51. Li W., Xiao M., Chen Y., Yang J., Sun D., Suo J., Wang D. Serious postoperative complications induced by medical glue: three case reports. *BMC Gastroenterol.* 2019 Dec 21; 19(1): 224. doi: 10.1186/s12876-019-1142-6.
52. Harrison J.L., Hooks V.H., Pearl R.K., Cheape J.D., Lawrence M.A., Orsay C.P., Abcarian H. Muscle fragment welding for control of massive presacral bleeding during rectal mobilization: a review of eight cases. *Dis Colon Rectum.* 2003 Aug; 46(8): 1115–7. doi: 10.1007/s10350-004-7289-3.
53. Casal Nuñez J.E., Pérez Domínguez L., Vigorita V., Ruano Poblador A. Efficacy of rectus muscle fragment welding in the control of presacral venous bleeding. *ANZ J Surg.* 2018 Mar; 88(3): 182–4. doi: 10.1111/ans.13687.
54. Xu J., Lin J. Control of presacral hemorrhage with electrocautery through a muscle fragment pressed on the bleeding vein. *J Am Coll Surg.* 1994; 179(3): 351–2.

55. Ayuste E.Jr., Roxas M.F. Validating the use of rectus muscle fragment welding to control presacral bleeding during rectal mobilization. *Asian J Surg.* 2004 Jan; 27(1): 18–21. doi: 10.1016/S1015-9584(09)60238-4.

56. Lou Z., Zhang W., Meng R.G., Fu C.G. Massive presacral bleeding during rectal surgery: from anatomy to clinical practice. *World J Gastroenterol.* 2013 Jul 7; 19(25): 4039–44. doi: 10.3748/wjg.v19.i25.4039.

57. Ozsoy M., Ozsoy Z., Sahin S., Arikian Y. An Alternative Technique in the Control of Massive Presacral Rectal Bleeding: Fixation of GORE-TEX® Aortic Patch. *Niger J Surg.* 2018 Jan-Jun; 24(1): 60–62. doi: 10.4103/njs.NJS_36_17.

58. Парфирьева Е.А., Ивченко А.О., Ивченко О.А. Новый метод остановки кровотечения из пресакрального венозного сплетения при операции на прямой кишке по поводу рака (клиническое наблюдение).

Онкологическая колопроктология. 2018; 8(3): 42–45. [Parfireva E.M., Ivchenko A.O., Ivchenko O.A. New method of stopping bleeding from the presacral venous plexus during the rectal cancer operation: a case report. *Oncological coloproctology.* 2018; 8(3): 42–45. (in Russian)]. doi: 10.17650/2220-3478-2018-8-3-42-45.

59. Парфирьева Е.А., Ивченко А.О., Ивченко О.А. Альтернативный метод остановки кровотечения из пресакрального венозного сплетения у пациентов со шванномами тазовой локализации (клиническое наблюдение). *Хирург.* 2018; 11–12. [Parfireva E.M., Ivchenko A.O., Ivchenko O.A. Alternative method of stopping bleeding from presacral venous plexus in patients with pelvic schwannomas: case study. *Surgeon.* 2018; 11–12. (in Russian)].

Поступила/Received 28.10.2019
Принята в печать/Accepted 03.04.2020

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Парфирьева Екатерина Михайловна, врач-онколог, ОГАУЗ «Томский областной онкологический диспансер» (г. Томск, Россия). E-mail: Forerunner@yandex.ru. SPIN-код: 8603-6060. ORCID: 0000-0003-0379-0186. Researcher ID (WOS): B-5536-2018.

Ивченко Андрей Олегович, доктор медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой факультетской хирургии, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Томск, Россия). SPIN-код: 3979-6802. AuthorID (РИНЦ): 786688. ORCID: 0000-0002-3697-1816. Researcher ID (WOS): S-2704-2016.

Ивченко Олег Алексеевич, доктор медицинских наук, профессор кафедры факультетской хирургии, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Томск, Россия). SPIN-код: 6076-7090. AuthorID (РИНЦ): 785944. ORCID: 0000-0002-7686-3481. Researcher ID (WOS): S-5934-2016.

Августиневич Александра Владимировна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отделения абдоминальной онкологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 2952-6119. AuthorID (РИНЦ): 558788.

ВКЛАД АВТОРОВ

Парфирьева Екатерина Михайловна: разработка концепции научной работы, анализ баз данных, составление черновика рукописи.

Ивченко Андрей Олегович: анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценных замечаний, стилистическое рецензирование.

Ивченко Олег Алексеевич: анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Августиневич Александра Владимировна: 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

Ekaterina M. Parfireva, MD, Oncologist, Tomsk Regional Cancer Center (Tomsk, Russia). E-mail: Forerunner@yandex.ru. ORCID: 0000-0003-0379-0186. Researcher ID (WOS): B-5536-2018.

Andrey O. Ivchenko, MD, DSc, Assistant Professor, Head of the Department of Faculty Surgery, Siberian State Medical University (Tomsk, Russia). ORCID: 0000-0002-3697-1816. Researcher ID (WOS): S-2704-2016.

Oleg A. Ivchenko, MD, DSc, Professor, Department of Faculty Surgery, Siberian State Medical University (Tomsk, Russia). ORCID: 0000-0002-7686-3481. Researcher ID (WOS): S-5934-2016.

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

AUTHOR CONTRIBUTION

Ekaterina M. Parfireva: study conception, literature review, drafting of the manuscript.

Andrey O. Ivchenko: analysis of the study results, stylistic review, critical revision for the important intellectual content.

Oleg A. Ivchenko: analysis of the study results, critical revision for the important intellectual content.

Aleksandra V. Avgustinovich: critical revision for the important intellectual content.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

Для цитирования: Кит О.И., Игнатов С.Н., Златник Е.Ю., Солдаткина Н.В., Росторгуев Э.Е., Сагакянц А.Б., Бондаренко Е.С., Ситковская А.О. Онколитическая виротерапия в лечении глиобластомы: достижения и проблемы клинических исследований (обзор литературы). Сибирский онкологический журнал. 2020; 19(6): 133–140. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-6-133-140.

For citation: Kit O.I., Ignatov S.N., Zlatnik E.Yu., Soldatkina N.V., Rostorguev E.E., Sagakyants A.B., Bondarenko E.S., Sitkovskaya A.O. Oncolytic virotherapy in glioblastoma treatment: progress and challenges in clinical research (literature review). Siberian Journal of Oncology. 2020; 19(6): 133–140. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-6-133-140.

ОНКОЛИТИЧЕСКАЯ ВИРОТЕРАПИЯ В ЛЕЧЕНИИ ГЛИОБЛАСТОМЫ: ДОСТИЖЕНИЯ И ПРОБЛЕМЫ КЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

О.И. Кит, С.Н. Игнатов, Е.Ю. Златник, Н.В. Солдаткина, Э.Е. Росторгуев, А.Б. Сагакянц, Е.С. Бондаренко, А.О. Ситковская

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии Минздрава России», г. Ростов-на-Дону, Россия

Россия, г. Ростов-на-Дону, 344037, ул. 14-я линия, 63. E-mail: Ignatov_Sergey_@mail.ru

Аннотация

Глиальные опухоли составляют около 60 % от всех первичных опухолей головного мозга, при этом 70 % из них имеют морфологические признаки высокой степени злокачественности (High Grade Gliomas III, IVWHO 2016) [1, 2]. Значительный технический до- и интраоперационный прогресс, развитие методов лучевой и химиотерапии не изменили общую медиану выживаемости, которая составляет менее 20 мес [3], а при рецидиве – менее 12 мес [4]. По современным представлениям химио- и радиорезистентность обусловлены наличием опухолевых стволовых клеток [5, 6]. Неудовлетворительные результаты лечения обуславливают необходимость разработки и внедрения новых подходов в терапии глиом высокой степени злокачественности. В последние годы все большее внимание уделяется разработке иммунотерапевтических подходов к лечению, в том числе и разработке онколитической виротерапии. С помощью методов генной инженерии разрабатывается таргетная тропность к опухолевым клеткам, различные виральные векторы. Изучается синергизм вирусов и адъювантной терапии. Несмотря на перспективность данного направления и всестороннюю экспериментальную проработку механизмов онколизиса [1], анализ отечественной и зарубежной литературы показал, что лишь единичные сообщения о клинических исследованиях I–II фазы. В представленном обзоре рассмотрены наиболее успешные применения онколитических вирусов в отношении глиобластомы в моделях на животных и их трансляции в клинических условиях у пациентов.

Ключевые слова: онколитическая виротерапия, глиобластома, глиома высокой степени злокачественности.

ONCOLYTIC VIROTHERAPY IN GLIOBLASTOMA TREATMENT: PROGRESS AND CHALLENGES IN CLINICAL RESEARCH (LITERATURE REVIEW)

O.I. Kit, S.N. Ignatov, E.Yu. Zlatnik, N.V. Soldatkina, E.E. Rostorguev, A.B. Sagakyants, E.S. Bondarenko, A.O. Sitkovskaya

National Medical Research Center of Oncology of the Health Ministry of the Russian Federation, Rostov-on-Don, Russia

63, 14 Liniya str., 344037, Rostov-on-Don, Russia. E-mail: Ignatov_Sergey_@mail.ru

Abstract

Glial tumors comprise about 60 % of primary malignant brain tumors, and 70 % of them show morphological signs of high-grade cancer (High Grade Gliomas III, IV WHO 2016) [1, 2]. Despite a significant technical pre- and intraoperative progress as well as advances in radiotherapy and chemotherapy, the overall median survival is very low, being less than 20 months [3] and less than 12 months in patients with relapse [4]. Recent studies have shown that chemo- and radioresistance is due to the existence of cancer stem cells [5, 6]. Poor treatment outcomes require the development and implementation of new approaches to the treatment of high-grade gliomas. In recent years, increasing attention has been paid to the development of immunotherapeutic treatment approaches, including the development of oncolytic virotherapy. Tropism to target cancer cells, as well as various viral vectors, has been developed using methods of genetic engineering; synergism of viruses and adjuvant therapy has been studied. Despite extensive experimental studies of the mechanism of oncolysis [1], there are only a few reports on Phase I–II clinical trials. This review considers the most successful applications of oncolytic viruses in relation to glioblastoma in animal models and their translation into clinical practice in patients.

Key words: oncolytic virotherapy, glioblastoma, high grade gliomas.

Несмотря на улучшение диагностики и лечения онкологических заболеваний, смертность от них занимает 2-е место в мире в общей структуре летальных исходов. Согласно данным CBTRUS, частота выявляемости первичных злокачественных опухолей головного мозга в США в 2018 г. составила 121 277 случаев; в пересчете на 100 тыс. населения – 7,12 случая. В среднем в США регистрируется до 16 000 летальных исходов в год от первичных злокачественных опухолей головного мозга. В России частота встречаемости первичных злокачественных новообразований головного мозга в 2017 г. составила 6,02 на 100 тыс. населения [7].

Инфильтративный рост, локализация опухоли в функционально значимых областях головного мозга, резистентность опухоли к радио- и химиотерапии, вызванная, как считается в настоящее время, наличием опухолевых стволовых клеток, заставили разрабатывать виротерапевтические подходы к лечению. Глиобластома (ГБ) почти с самого начала развития концепции онколитической виротерапии рассматривалась в качестве основного кандидата для такого подхода ввиду неудовлетворительных результатов комплексного лечения, наличия гематоэнцефалического барьера, инфильтративного роста опухоли, наличия нейроспецифических маркерных белков опухолевых стволовых клеток [8–10].

Виротерапия базируется на 2 основных подходах: использовании цитолитического воздействия природных вирусов либо создании новых вирусных векторов с их последующим клиническим применением. Кроме того, виротерапия может рассматриваться в контексте иммунотерапии, поскольку вирусы являются экзогенными антигенами и могут проявлять адьювантный эффект [11]. Современная эра онколитической виротерапии глиальных опухолей началась в 90-х годах прошлого столетия, когда развитие генной инженерии сделало возможным конструирование вирусного генома, а понимание основных молекулярно-генетических механизмов канцерогенеза и вирусной инвазии

позволило определить мишени, обеспечивающие тропность вирусов к опухолевым клеткам. Её родоначальниками при ГБ можно считать R.L. Martuza et al., которые в 1991 г. сообщили об использовании тимидинкиназа-отрицательного вируса простого герпеса (herpes simplex virus-1) с ослабленной нейровирулентностью для лечения ГБ *in vivo* после того, как была показана онколитическая активность на культуре клеток человека *in vitro*. Бестимусным мышам пересаживалась культура клеток ГБ человека U87 подкожно, субренально, интракраниально. Интратуморальное введение тимидинкиназа-отрицательного вируса простого герпеса замедляло рост опухоли, что увеличивало медиану выживаемости [12].

В 2005 г. G. Wollmann et al. сообщили об изучении онколитических свойств в отношении глиобластом *in vitro* у 9 вирусов. В результате было установлено, что онколитической активностью обладают: вирус везикулярного стоматита, вирус Синдбис, мелкий мышинный вирус i-штамма и р-штамма. Онколитическая активность практически не отмечалась у цитомегаловируса человека и мышей, вируса болезни Ауески, вируса SV40 (simianvirus 40), аденоассоциированного вируса [13]. В настоящее время известны около 20 потенциальных онколитических вирусов, принадлежащих более чем к 10 различным вирусным семействам. В данной статье приведены наиболее успешные результаты исследования онколитической активности в отношении модели глиобластомы у животных и глиобластомы у людей.

Вирус болезни Ньюкасла

Данный вирус лидирует среди онколитических вирусов по числу испытаний на моделях животных. В 2006 г. A.I. Freeman et al. сообщили о результатах I–II фазы исследований онколитической активности вируса болезни Ньюкасла (NDV-HUJ) у 45 пациентов с рецидивом ГБ при внутривенном введении. Средняя выживаемость пациентов составила 45 нед. В данном исследовании было продемонстрировано не увеличение средней выжи-

ваемости, а наличие низкой токсичности данного вируса, что может служить основой для разработки вирусных векторов [14].

Герпес-вирусы

Все онколитические штаммы были получены путем генноинженерной модификации. Инактивация генов вирусной тимидинкиназы и рибонуклеотидредуктазы приводила к блокированию репликации вируса в нормальных медленно делящихся клетках, что обеспечивало селективность вируса в отношении быстро делящихся опухолевых клеток [15].

В 2012 г. R. Kanai et al. сообщили о результатах синергизма генетически модифицированного вируса простого герпеса и ингибиторов активации фермента фосфатидилинозитол-3-киназы (трицирибин). Данный путь активации является универсальным для большинства клеток и контролирует процессы пролиферации, метаболизма, роста, апоптоза. Гиперактивация данного сигнального пути в большинстве случаев сочетается с онкопатологией [16] и встречается до 80 % при ГБ [17]. Стволовые клетки ГБ также чувствительны к ингибиторам фосфатидилинозитол-3-киназы [18].

В исследовании использовался вирус простого герпеса 1-го типа (MG18L): с делецией гена Us3, продукт которого вызывал активацию фосфатидилинозитол-3-киназы и ингибировал вирус-индуцированный апоптоз. При исследовании *in vivo* на белых мышах (альбиносах) данный вирус показал свою безопасность при интрацеребральном введении, способность к репликации в стволовых клетках, а при одновременном введении ингибиторов фермента фосфатидилинозитол-3-киназа – способность усиливать апоптоз в опухолевых стволовых клетках. В результате данной комбинации выживаемость мышей увеличилась на 50 % по сравнению с монотерапией [19].

В 2015 г. T.R. Whisenhunt et al. сообщили о 6-летнем безрецидивном периоде у пациентки с верифицированной ГБ. У пациентки 52 лет по данным биопсии была верифицирована ГБ с индексом пролиферативной активности Ki67 – 33 %. Было выполнено удаление опухоли с последующей лучевой терапией 60 Гр. Через 3 мес после операции по данным МРТ отмечен рецидив ГБ. Был проведен курс химиотерапии (ломустин, темозоламид). Через 2 мес при выполнении МРТ отмечен продолженный рост. Пациентке интратуморально в рамках протокола Neugovir G207 был введен генетически измененный вирус простого герпеса G207. Через 1 мес отмечалось прогрессирование опухоли по данным МРТ, проведен курс прокарбазина. Через 2 мес ввиду нарастания неврологического дефицита и прогрессирования опухоли по данным МРТ выполнена повторная резекция опухоли, 4 курса химиотерапии иринотеканом. В дальнейшем отмечалась ремиссия в течение 6 лет [20].

В 2016 г. D. Patel et al. сообщили о начале I фазы клинических испытаний генетически модифицированного вируса простого герпеса M032, экспрессирующего IL-12, в лечении ГБ. Ранее противоопухолевый эффект и безопасность были продемонстрированы на моделях метастатического поражения головного мозга и первичных опухолях *in vivo* на иммунодефицитных мышах и обезьянах [21, 22]. IL-12 обладает выраженным противоопухолевым эффектом: индуцируя продукцию γ -интерферона, усиливает цитолитическую активность НК клеток и цитотоксичность Т-лимфоцитов, а также блокирует неоангиогенез [23, 24]. При исследовании на иммунодефицитных мышах интратуморальное введение вируса увеличивало выживаемость в 2 раза, а при завершении эксперимента на 150-е сут при гистологическом исследовании у 20 % мышей опухолевые клетки в головном мозге не были обнаружены. В рамках исследования планируется оценить безопасность, максимальную дозировку вируса M032 для интратуморального введения пациентам с нерезектабельной опухолью, определить локальный и системный иммунный ответ, оценить клинический эффект [25].

Аденовирус

Идентифицировано более 50 серотипов аденовируса человека, однако большинство онколитических аденовирусов сконструировано на основе вируса 5-го серотипа [26]. В. Geoerger et al. (2004) оценили онколитические свойства аденовируса с возможностью экспрессировать ген P53 (adenovirus AdDelta 24, adenovirus AdDelta 24-p53) и без. Исследование проводилось на бестимусных мышах, которым прививалась культура клеток ГБ человека, а затем пятикратно интратуморально вводился аденовирус. В дальнейшем 2–3 раза в нед проводилось измерение размеров опухоли путем нейровизуализации. Исследование продолжалось 120 дней. Результаты показали различный эффект исследованных вирусов. При введении adenovirus AdDelta 24 в среднем отмечалось 24-дневное отсутствие роста, в 30 % наблюдался регресс опухоли, а у 30 % мышей с выживаемостью более 120 дней определялся либо минимальный остаточный объем опухоли, либо опухоль не выявлялась. При введении такой же дозы adenovirus AdDelta 24-p53 в среднем отмечалась 113-дневная задержка в росте, в 70 % случаев – регресс опухоли, а у 60 % мышей с выживаемостью более 120 дней определялся либо минимальный оставшийся объем опухоли, либо опухоль не определялась. При патоморфологическом исследовании выявлены повышенная репликация вируса в опухолевых клетках, индукция апоптоза, воспалительная инфильтрация клеток опухоли, некроз [27].

Вирус миксомы

В 2013 г. F.J. Zemp et al. сообщили о результатах исследования онколитической активности вируса

миксомы при монотерапии и в комбинации с рапамицином *in vivo*, *in vitro*. В результате исследований *in vitro* была показана онколитическая активность как в отношении клеток ГБ вне зависимости от их чувствительности к темодалу, так и повышенная репликация вируса в них при терапии рапамицином [28–30]. *In vivo* исследования проводились на иммунодефицитных мышах SCID, которым интрацеребрально прививались клетки ГБ человека, чувствительной и нечувствительной к темодалу. Рост опухоли оценивался с помощью MPT. С 21-х сут после имплантации опухоли интратуморально вводили вирус миксомы и внутрибрюшинно рапамицин по отдельности и в комбинации. При имплантации темодал-нечувствительной ГБ введение комбинации вируса и рапамицина привело к увеличению выживаемости практически в 2 раза, а при темодал-чувствительной – на 30 % по сравнению с контролем. Кроме того, в обеих опытных группах отмечено уменьшение экспрессии маркеров стволовых клеток – Sox2, nestin, TuJ1, Musashi-1 [31].

Вирус кори

В 2008 г. С. Allen et al. сообщили об изучении онколитических свойств вируса кори, содержащего ген гемагглютинаина, обуславливающего связывание с клеточным рецептором CD46, экспрессия которого повышается в опухолевых клетках [32, 33], в частности в глиомах [34]. В исследовании оценивали онколитическую активность аттенуированного штамма вакцины Эдмонстона, способного экспрессировать карциноэмбрионный антиген MV-CEA [35, 36]. По экспрессии данного антигена в крови определялась активность репликации вируса. Показано отсутствие у данного вируса цитолитической активности по отношению к нормальным астроцитам. Его онколитическая активность была доказана *in vivo* на бестимусных мышах, которым прививалась ГБ человека [37]. Этими авторами также была доказана эффективность и безопасность применения вируса в отношении приматов с привитой ГБ человека [38]. Проведенные исследования послужили основой для начала I фазы клинических испытаний на пациентах с рецидивом ГБ, анамнестически привитых от кори. На момент выхода статьи в эксперименте приняли участие 3 человека. Токсических осложнений на интратуморальное введение MV-CEA не отмечено [39].

В 2013 г. Р. Bach et al. сообщили о результатах исследования онколитических свойств генетически модифицированных вирусов кори – MV-141.7 и MV-AC133, проявляющих свою активность в отношении опухолевых стволовых клеток, экспрессирующих антиген CD133. Экспрессия CD133 коррелирует с плохой выживаемостью у больных глиомами [40, 41]. *In vivo* исследования проводились на иммунодефицитных мышах линии NOD/SCID, которым интрацеребрально прививались CD133+ клетки ГБ человека. В группе без лечения средняя выживаемость составила 30 дней. В груп-

пах с интратуморальным введением вируса – 90 дней. При введении вируса MV-141.7 бессобытийный период составил 70 дней, а при введении вируса MV-AC133 – 50 дней [42].

Полиовирус

Единственным клеточным рецептором для полиовирусов является гликопротеин CD155, относящийся к суперсемейству иммуноглобулинов. Данный рецептор секретируется опухолевыми стволовыми клетками. В 2018 г. А. Desjardins et al. сообщили о результатах лечения 61 пациента с рецидивом ГБ путем интратуморального введения рекомбинантного полиовируса – PVSRIPO. Данный вирус продемонстрировал тропность к клеткам, экспрессирующим антиген CD155 [43]. Исследование проводилось с 2012 по 2017 г. с целью определения максимальной нетоксичной дозы вируса для интратуморального введения и оценки общей выживаемости в сравнении с ретроспективными данными. Был отмечен единичный эпизод кровоизлияния в ложе опухоли, что потребовало хирургического удаления внутримозговой гематомы. На момент выхода статьи послеоперационная выживаемость этого пациента составила 57,5 мес. Таких осложнений, как энцефалит, полиомиелит, менингит, системные аутоиммунные реакции, не отмечалось. Общая медиана выживаемости пациентов при лечении PVSRIPO составила 27,6 мес; 13 пациентов преодолели 5-летнюю выживаемость, а 2 больных пережили 69 мес [44].

Парвовирус

Репликация данного вируса возможна только в активно пролиферирующих клетках. В 2017 г. К. Geletneky et al. сообщили о результатах I и II фазы клинических испытаний онколитического препарата ParvOryx у 18 пациентов с впервые выявленной или рецидивной ГБ, которым было возможно выполнить суб- или тотальную резекцию опухоли. Всем пациентам проводилась лучевая и химиотерапия. В 1-ю группу было включено 12 пациентов, на 1-м этапе лечения им однократно интратуморально вводился ParvOryx, 2-м этапом на 10-е сут выполнялось удаление опухоли с одновременным введением в ложе препарата ParvOryx. Во 2-ю группу включено 6 пациентов, которым вначале внутривенно вводился ParvOryx с 1-х по 5-е сут, затем на 10-е сут выполнялось удаление опухоли с одновременным введением в ложе препарата ParvOryx. При молекулярно-генетическом исследовании мутация гена IDH1 не обнаружена. Метилирование промотора MGMT найдено у 2 пациентов. У 12 пациентов отмечен рост опухоли в течение 6 мес; 5 пациентов умерли в течение 6 мес. Общая медиана выживаемости составила 464 дня. Разница безрецидивного периода и общая выживаемость оказались незначительными в обеих группах.

В результате исследования доказана способность вируса проникать через гематоэнцефалический-опухолевый барьер, что делает возможным его внутривенное введение. При исследовании каловых

масс и биологических жидкостей не обнаружено инфекционных вирусных частиц, что доказывает безопасность применения ParvOgux для окружающих. При обоих способах введения не отмечено системного воспалительного ответа, токсического воздействия на системы организма. Способность вируса проникать через гематоэнцефалический-опухолевый барьер, отсутствие токсического воздействия создают предпосылки для дальнейших исследований [45].

Коронавирус

В 2009 г. M.H. Verheije et al. сообщили о результатах исследования онколитической активности коронавируса по отношению к культуре клеток ГБ *in vivo*. В качестве образца был взят наиболее изученный представитель данного семейства – вирус мышинного гепатита, не способный поражать неизмененные клетки человека [46, 47]. С помощью методов генной инженерии была выработана тропность вируса к клеткам, синтезирующим эпидермальный фактор роста. Бестимусным мышам интракраниально была имплантирована культура клеток ГБ человека U87ΔEGFR. Без лечения медиана выживаемости мышей составила 16 дней, при интратуморальном введении вируса – 41 день. Эта работа является первой, в которой продемонстрирована онколитическая активность коронавируса *in vivo*, что дает предпосылки для дальнейших клинических исследований [48].

Вирус Зика

В 2017 г. Z. Zhu et al. оценили онколитическую активность вируса Зика в отношении стволовых клеток ГБ. Инфицирование с последующим лизированием в основном проявлялось в отношении стволовых клеток ГБ и в меньшей степени для дифференцированных опухолевых клеток и неизмененных клеток нервной системы. Вирус Зика замедлял рост культуры клеток человеческой ГБ как *in vitro*, так и *in vivo* на модели бестимусных мышей [49]. Авторы указывают, что данный вирус является онколитическим с преимущественной направленностью на стволовые клетки ГБ, что делает его перспективным для дальнейших исследований.

Заключение

Развитие методов молекулярной диагностики, генной инженерии, клеточных технологий, точных систем визуализации в XXI веке заставило по-новому взглянуть на многие проблемы клинической медицины, включая проблему виротерапии злокачественных глиом. Известна онколитическая активность широкого спектра вирусов, патогенных и непатогенных для человека, что обусловлено та-

ким их биологическим свойством, как облигатное паразитирование в клетках, наблюдаемое при их культивировании *in vitro*. Исследования на моделях животных-опухоленосителей также демонстрируют эффект в виде торможения или регрессии эктопически или ортотопически перевитой глиомы человека. Показана возможность создания генетически модифицированных вирусов, обладающих тропностью к ткани мозга, способных преодолеть гематоэнцефалический барьер и вмешиваться в процессы метаболизма, пролиферации, дифференцировки клеток-мишеней. Однако даже при успешных доклинических испытаниях, выполненных на высоком методическом уровне и подтвержденных современными методами, трансляция результатов в клинику оказалась значительно менее успешной, и многие исследования не приобрели клинического продолжения. Количество выполняемых в настоящее время клинических испытаний немногочисленно, как и число больных в каждом из них, вследствие чего индивидуальная вариабельность эффекта не дает возможности объективной оценки. Несмотря на представления об иммунодепрессии, развивающейся у онкологических больных, их иммунная система проявляет активность, приводящую как к элиминации вируса, так и к формированию благоприятного для опухоли иммунологического микроокружения [50, 51]. Целый комплекс иммунологических клеточных и гуморальных факторов с тонкими и сложными взаимодействиями между ними невоспроизводим на иммунодефицитных животных. Кроме того, человеческая глиома, растущая в организме мыши, может менять свои молекулярно-биологические характеристики. Развитие вследствие таких изменений у опухолевых клеток резистентности к вирусам по типу химиорезистентности – еще одна возможная причина скромных клинических результатов виротерапии глиом. Несмотря на развитие данного направления, на данный момент нет универсального онколитического вируса, способного инфицировать и убивать все опухолевые клетки, не повреждая здоровые; перспективы его создания пока неясны.

На основании проведенного анализа литературы наиболее многообещающим представляется создание онколитических вирусов, тропных к опухолевым стволовым клеткам глиом. Для успешного решения этой задачи необходимы разработка и использование широкой панели онколитических вирусов, нацеленных на различные опухолевые маркеры, а также предварительное тестирование пациентов по данным маркерам, что позволит индивидуально подбирать оптимальную терапию.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Бахлаушев В.П., Горяйнов С.А., Павлова Г.В., Потанов А.А., Чехонин В.П. Онколитические вирусы в лечении низкодифференцированных глиом. Клиническая практика. 2015; 2: 46–59. [Baklaushhev V.P., Gorjajnov S.A., Pavlova G.V., Potanov A.A., Chehonin V.P. Oncolytic viruses in high-grade gliomas treatment. Clinical Practice. 2015; 2: 46–59. (in Russian)].

2. Foreman P.M., Friedman G.K., Cassady K.A., Markert J.M. Oncolytic Virotherapy for the Treatment of Malignant Glioma. Neurotherapeutics. 2017 Apr; 14(2): 333–344. doi: 10.1007/s13311-017-0516-0.

3. Gilbert M.R., Dignam J.J., Armstrong T.S., Wefel J.S., Blumenthal D.T., Vogelbaum M.A., Colman H., Chakravarti A., Pugh S., Won M., Jeraj R., Brown P.D., Jaeckle K.A., Schiff D., Stieber V.W., Brachman D.G., Werner-Wasik M., Tremont-Lukats I.W., Sulman E.P., Aldape K.D., Cur-

- ran W.J. Jr., Mehta M.P. A randomized trial of bevacizumab for newly diagnosed glioblastoma. *N Engl J Med*. 2014; 370(8): 699–708. doi: 10.1056/NEJMoa1308573.
4. Taal W., Oosterkamp H.M., Walenkamp A.M., Dubbink H.J., Beer-epoot L.V., Hanse M.C., Buter J., Honkoop A.H., Boerman D., de Vos F.Y., Dinjens W.N., Enting R.H., Taphoorn M.J., van den Berkmortel F.W., Jansen R.L., Brandsma D., Bromberg J.E., van Heuvel I., Vernhout R.M., van der Holt B., van den Bent M.J. Single-agent bevacizumab or lomustine versus a combination of bevacizumab plus lomustine in patients with recurrent glioblastoma (BELOB trial): a randomised controlled phase 2 trial. *Lancet Oncol*. 2014 Aug; 15(9): 943–53. doi: 10.1016/S1470-2045(14)70314-6.
5. Batlle E., Clevers H. Cancer stem cells revisited. *Nat Med*. 2017 Oct 6; 23(10): 1124–1134. doi: 10.1038/nm.4409.
6. Bischof J., Westhoff M.A., Wagner J.E., Halatsch M.E., Trentmann S., Knippschild U., Wirtz C.R., Burster T. Cancer stem cells: The potential role of autophagy, proteolysis, and cathepsins in glioblastoma stem cells. *Tumour Biol*. 2017 Mar; 39(3): 1010428317692227. doi: 10.1177/1010428317692227.
7. 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., Starinskij V.V., Petrova G.V. Malignant neoplasms in Russia in 2017 (morbidity and mortality). Moscow, 2018. 250 p. (in Russian)].
8. Hulou M.M., Cho C.F., Chiocia E.A., Bjerkvig R. Experimental therapies: gene therapies and oncolytic viruses. *Handb Clin Neurol*. 2016; 134: 183–97. doi: 10.1016/B978-0-12-802997-8.00011-6.
9. Bao S., Wu Q., McLendon R.E., Hao Y., Shi Q., Hjelmeland A.B., Dewhirst M.W., Bigner D.D., Rich J.N. Glioma stem cells promote radioresistance by preferential activation of the DNA damage response. *Nature*. 2006 Dec 7; 444(7120): 756–60. doi: 10.1038/nature05236.
10. Singh S.K., Hawkins C., Clarke I.D., Squire J.A., Bayani J., Hide T., Henkelman R.M., Cusimano M.D., Dirks P.B. Identification of human brain tumour initiating cells. *Nature*. 2004 Nov 18; 432(7015): 396–401. doi: 10.1038/nature03128.
11. Kaufmann J.K., Chiocia E.A. Glioma virus therapies between bench and bedside. *Neuro Oncol*. 2014 Mar; 16(3): 334–51. doi: 10.1093/neuonc/nt0310.
12. Martuza R.L., Malick A., Markert J.M., Ruffner K.L., Coen D.M. Experimental therapy of human glioma by means of a genetically engineered virus mutant. *Science*. 1991 May 10; 252(5007): 854–6. doi: 10.1126/science.1851332.
13. Wollmann G., Tattersall P., van den Pol A.N. Targeting human glioblastoma cells: comparison of nine viruses with oncolytic potential. *J Virol*. 2005 May; 79(10): 6005–22. doi: 10.1128/JVI.79.10.6005-6022.2005.
14. Freeman A.I., Zakay-Rones Z., Gomori J.M., Linetsky E., Rasooly L., Greenbaum E., Rozenman-Yair S., Panet A., Libson E., Irving C.S., Galun E., Siegal T. Phase I/II trial of intravenous NDV-HUJ oncolytic virus in recurrent glioblastoma multiforme. *Mol Ther*. 2006; 13(1): 221–8. doi: 10.1016/j.ymthe.2005.08.016.
15. Manservigi R., Argnani R., Marconi P. HSV Recombinant Vectors for Gene Therapy. *Open Virol J*. 2010; 4: 123–56. doi: 10.2174/1874357901004030123.
16. McCubrey J.A., Steelman L.S., Chappell W.H., Abrams S.L., Montalto G., Cervello M., Nicoletti F., Fagone P., Malaponte G., Mazzarino M.C., Candido S., Libra M., Bäscke J., Mijatovic S., Maksimovic-Ivanic D., Milella M., Tafuri A., Cocco L., Evangelisti C., Chiarini F., Martelli A.M. Mutations and deregulation of Ras/Raf/MEK/ERK and PI3K/PTEN/Akt/mTOR cascades which alter therapy response. *Oncotarget*. 2012 Sep; 3(9): 954–87. doi: 10.18632/oncotarget.652.
17. Parsons D.W., Jones S., Zhang X., Lin J.C., Leary R.J., Angenendt P., Mankoo P., Carter H., Siu I.M., Gallia G.L., Olivi A., McLendon R., Rasheed B.A., Keir S., Nikolskaya T., Nikolsky Y., Busam D.A., Tekleab H., Diaz L.A. Jr., Hartigan J., Smith D.R., Strausberg R.L., Marie S.K., Shinjo S.M., Yan H., Riggins G.J., Bigner D.D., Karchin R., Papadopoulos N., Parmigiani G., Vogelstein B., Velculescu V.E., Kinzler K.W. An integrated genomic analysis of human glioblastoma multiforme. *Science*. 2008 Sep 26; 321(5897): 1807–12. doi: 10.1126/science.1164382.
18. Gallia G.L., Tyler B.M., Hann C.L., Siu I.M., Giranda V.L., Vescovi A.L., Brem H., Riggins G.J. Inhibition of Akt inhibits growth of glioblastoma and glioblastoma stem-like cells. *Mol Cancer Ther*. 2009 Feb; 8(2): 386–93. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-08-0680.
19. Kanai R., Wakimoto H., Martuza R.L., Rabkin S.D. A novel oncolytic herpes simplex virus that synergizes with phosphoinositide 3-kinase/Akt pathway inhibitors to target glioblastoma stem cells. *Clin Cancer Res*. 2011 Jun 1; 17(11): 3686–96. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-10-3142.
20. Whisenhunt T.R. Jr., Rajneesh K.F., Hackney J.R., Markert J.M. Extended disease-free interval of 6 years in a recurrent glioblastoma multiforme patient treated with G207 oncolytic viral therapy. *Oncolytic Virother*. 2015 Jan 30; 4: 33–8. doi: 10.2147/OV.S62461.
21. Parker J.N., Bauer D.F., Cody J.J., Markert J.M. Oncolytic viral therapy of malignant glioma. *Neurotherapeutics*. 2009; 6(3): 558–69. doi: 10.1016/j.nurt.2009.04.011.
22. Friedman G.K., Pressey J.G., Reddy A.T., Markert J.M., Gillespie G.Y. Herpes simplex virus oncolytic therapy for pediatric malignancies. *Mol Ther*. 2009 Jul; 17(7): 1125–35. doi: 10.1038/mt.2009.73.
23. Lu X. Impact of IL-12 in Cancer. *Curr Cancer Drug Targets*. 2017; 17(8): 682–697. doi: 10.2174/1568009617666170427102729.
24. Chiu T.L., Wang M.J., Su C.C. The treatment of glioblastoma multiforme through activation of microglia and TRAIL induced by rAAV2-mediated IL-12 in a syngeneic rat model. *J Biomed Sci*. 2012; 19(1): 45. doi: 10.1186/1423-0127-19-45.
25. Patel D.M., Foreman P.M., Nabors L.B., Riley K.O., Gillespie G.Y., Markert J.M. Design of a Phase I Clinical Trial to Evaluate M032, a Genetically Engineered HSV-1 Expressing IL-12, in Patients with Recurrent/Progressive Glioblastoma Multiforme, Anaplastic Astrocytoma, or Gliosarcoma. *Hum Gene Ther Clin Dev*. 2016 Jun; 27(2): 69–78. doi: 10.1089/humc.2016.031.
26. Shirakawa T. The current status of adenovirus-based cancer gene therapy. *Mol Cells*. 2008 Jun 30; 25(4): 462–6.
27. Georger B., Vassal G., Opolon P., Dirven C.M., Morizet J., Laudani L., Grill J., Giaccone G., Vandertop W.P., Gerritsen W.R., van Beusechem V.W. Oncolytic activity of p53-expressing conditionally replicative adenovirus AdDelta24-p53 against human malignant glioma. *Cancer Res*. 2004 Aug 15; 64(16): 5753–9. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-04-0499.
28. Lun X., Yang W., Alain T., Shi Z.Q., Muzik H., Barrett J.W., McFadden G., Bell J., Hamilton M.G., Senger D.L., Forsyth P.A. Myxoma virus is a novel oncolytic virus with significant antitumor activity against experimental human gliomas. *Cancer Res*. 2005; 65(21): 9982–90. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-05-1201.
29. Lun X., Alain T., Zemp F.J., Zhou H., Rahman M.M., Hamilton M.G., McFadden G., Bell J., Senger D.L., Forsyth P.A. Myxoma virus virotherapy for glioma in immunocompetent animal models: optimizing administration routes and synergy with rapamycin. *Cancer Res*. 2010 Jan 15; 70(2): 598–608. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-09-1510.
30. Lun X.Q., Zhou H., Alain T., Sun B., Wang L., Barrett J.W., Stanford M.M., McFadden G., Bell J., Senger D.L., Forsyth P.A. Targeting human medulloblastoma: oncolytic virotherapy with myxoma virus is enhanced by rapamycin. *Cancer Res*. 2007 Sep 15; 67(18): 8818–27. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-07-1214.
31. Zemp F.J., Lun X., McKenzie B.A., Zhou H., Maxwell L., Sun B., Kelly J.J., Stechishin O., Luchman A., Weiss S., Cairncross J.G., Hamilton M.G., Rabinovich B.A., Rahman M.M., Mohamed M.R., Smallwood S., Senger D.L., Bell J., McFadden G., Forsyth P.A. Treating brain tumor-initiating cells using a combination of myxoma virus and rapamycin. *Neuro Oncol*. 2013 Jul; 15(7): 904–20. doi: 10.1093/neuonc/nt035.
32. Naaman H., Rabinski T., Yizhak A., Mizrahi S., Avni Y.S., Taube R., Rager B., Weinstein Y., Rall G., Gopas J., Ofir R. Measles Virus Persistent Infection of Human Induced Pluripotent Stem Cells. *Cell Reprogram*. 2018; 20(1): 17–26. doi: 10.1089/cell.2017.0034.
33. Yanagi Y., Takeda M., Ohno S., Hashiguchi T. Measles virus receptors. *Curr Microbiol Immunol*. 2009; 329: 13–30. doi: 10.1007/978-3-540-70523-9_2.
34. Ulasov I.V., Tyler M.A., Zheng S., Han Y., Lesniak M.S. CD46 represents a target for adenoviral gene therapy of malignant glioma. *Hum Gene Ther*. 2006 May; 17(5): 556–64. doi: 10.1089/hum.2006.17.556.
35. Peng K.W., TenEyck C.J., Galanis E., Kalli K.R., Hartmann L.C., Russell S.J. Intraperitoneal therapy of ovarian cancer using an engineered measles virus. *Cancer Res*. 2002 Aug 15; 62(16): 4656–62.
36. Peng K.W., Fecteau S., Wegman T., O’Kane D., Russell S.J. Non-invasive in vivo monitoring of trackable viruses expressing soluble marker peptides. *Nat Med*. 2002 May; 8(5): 527–31. doi: 10.1038/nm0502-527.
37. Giannini C., Sarkaria J.N., Saito A., Uhm J.H., Galanis E., Carlson B.L., Schroeder M.A., James C.D. Patient tumor EGFR and PDGFRA gene amplifications retained in an invasive intracranial xenograft model of glioblastoma multiforme. *Neuro Oncol*. 2005; 7(2): 164–76. doi: 10.1215/S1152851704000821.
38. Myers R., Harvey M., Kaufmann T.J., Greiner S.M., Krempski J.W., Raffel C., Shelton S.E., Soeffker D., Zollman P., Federspiel M.J., Blanco M., Galanis E. Toxicology study of repeat intracerebral administration of a measles virus derivative producing carcinoembryonic antigen in rhesus macaques in support of a phase I/II clinical trial for patients with recurrent gliomas. *Hum Gene Ther*. 2008 Jul; 19(7): 690–8. doi: 10.1089/hum.2008.035.
39. Allen C., Paraskevaku G., Liu C., Iankov I.D., Msaouel P., Zollman P., Myers R., Peng K.W., Russell S.J., Galanis E. Oncolytic measles virus strains in the treatment of gliomas. *Expert Opin Biol Ther*. 2008 Feb; 8(2): 213–20. doi: 10.1517/14712598.8.2.213.
40. Singh S.K., Clarke I.D., Hide T., Dirks P.B. Cancer stem cells in nervous system tumors. *Oncogene*. 2004; 23(43): 7267–73. doi: 10.1038/sj.onc.1207946.

41. Zeppernick F., Ahmadi R., Campos B., Dictus C., Helmke B.M., Becker N., Lichter P., Unterberg A., Radlwimmer B., Herold-Mende C.C. Stem cell marker CD133 affects clinical outcome in glioma patients. *Clin Cancer Res.* 2008 Jan 1; 14(1): 123–9. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-07-0932.
42. Bach P., Abel T., Hoffmann C., Gal Z., Braun G., Voelker I., Ball C.R., Johnston I.C., Lauer U.M., Herold-Mende C., Mühlebach M.D., Glimm H., Buchholz C.J. Specific elimination of CD133+ tumor cells with targeted oncolytic measles virus. *Cancer Res.* 2013 Jan 15; 73(2): 865–74. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-12-2221.
43. Chinot O.L., Wick W., Mason W., Henriksson R., Saran F., Nishikawa R., Carpentier A.F., Hoang-Xuan K., Kavan P., Cernea D., Brandes A.A., Hilton M., Abrey L., Cloughesy T. Bevacizumab plus radiotherapy-temozolomide for newly diagnosed glioblastoma. *N Engl J Med.* 2014 Feb 20; 370(8): 709–22. doi: 10.1056/NEJMoa1308345.
44. Desjardins A., Gromeier M., Herndon J.E. 2nd, Beaubien N., Bolognesi D.P., Friedman A.H., Friedman H.S., McSherry F., Muscat A.M., Nair S., Peters K.B., Randazzo D., Sampson J.H., Vlahovic G., Harrison W.T., McLendon R.E., Ashley D., Bigner D.D. Recurrent Glioblastoma Treated with Recombinant Poliovirus. *N Engl J Med.* 2018; 379(2): 150–161. doi: 10.1056/NEJMoa1716435.
45. Geletneky K., Hajda J., Angelova A.L., Leuchs B., Capper D., Bartsch A.J., Neumann J.O., Schöning T., Hüsing J., Beelte B., Kiprianova I., Roscher M., Bhat R., von Deimling A., Brück W., Just A., Frehtman V., Löbhard S., Terletskaia-Ladwig E., Fry J., Jochims K., Daniel V., Krebs O., Dahm M., Huber B., Unterberg A., Rommelaere J. Oncolytic H-1 Parvovirus Shows Safety and Signs of Immunogenic Activity in a First Phase I/II Glioblastoma Trial. *Mol Ther.* 2017; 25(12): 2620–34. doi: 10.1016/j.yimthe.2017.08.016.
46. Kuo L., Godeke G.J., Raamsman M.J., Masters P.S., Rottier P.J. Retargeting of coronavirus by substitution of the spike glycoprotein ectodomain: crossing the host cell species barrier. *J Virol.* 2000 Feb; 74(3): 1393–406. doi: 10.1128/jvi.74.3.1393-1406.2000.
47. Yount B., Denison M.R., Weiss S.R., Baric R.S. Systematic assembly of a full-length infectious cDNA of mouse hepatitis virus strain A59. *J Virol.* 2002 Nov; 76(21): 11065–78. doi: 10.1128/jvi.76.21.11065-11078.2002.
48. Verheije M.H., Lamfers M.L., Würdinger T., Grinwis G.C., Geritsen W.R., van Beusechem V.W., Rottier P.J. Coronavirus genetically redirected to the epidermal growth factor receptor exhibits effective antitumor activity against a malignant glioblastoma. *J Virol.* 2009; 83(15): 7507–16. doi: 10.1128/JVI.00495-09.
49. Zhu Z., Gorman M.J., McKenzie L.D., Chai J.N., Hubert C.G., Prager B.C., Fernandez E., Richner J.M., Zhang R., Shan C., Tycksen E., Wang X., Shi P.Y., Diamond M.S., Rich J.N., Chheda M.G. Correction: Zika virus has oncolytic activity against glioblastoma stem cells. *J Exp Med.* 2017; 214(10): 3145. doi: 10.1084/jem.2017109309122017c.
50. Сосновцева А.О., Гриненко Н.Ф., Липатова А.В., Чумаков П.М., Чехонин В.П. Онколитические вирусы в терапии злокачественных глиом. *Биомедицинская химия.* 2016; 62 (4): 376–390. [Sosnovceva A.O., Grinenko N.F., Lipatova A.V., Chumakov P.M., Chehonin V.P. Oncolytic viruses in the therapy of malignant gliomas. *Biomedical Chemistry.* 2016; 2 (4): 373–390. (In Russian)].
51. Губанова Н.В., Гайтан А.С., Разумов И.А., Мордвинов В.А., Кривошапкин А.Л., Нетесов С.В., Чумаков П.М. Онколитические вирусы в терапии глиом. *Молекулярная биология.* 2012; 46(6): 874–886. [Gubanova N.V., Gajtan A.S., Razumov I.A., Mordvinov V.A., Krivoschapkin A.L., Netesov S.V., Chumakov P.M. Oncolytic viruses in the therapy of gliomas. *Molecular biology.* 2012; 46 (6): 874–886. (in Russian)].

Поступила/Received 27.05.2019
Принята в печать/Accepted 26.07.2019

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Кит Олег Иванович, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, генеральный директор ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии Минздрава России» (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 1728-0329. Researcher ID (WOS): U-2241-2017. Author ID (Scopus): 55994103100. ORCID: 0000-0003-3061-6108.

Игнатов Сергей Николаевич, врач-нейрохирург, аспирант, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии Минздрава России» (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 1734-0303. ORCID: 0000-0001-8250-9617. E-mail: Ignatov_Sergey@mail.ru.

Златник Елена Юрьевна, доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории иммунофенотипирования опухолей, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии Минздрава России» (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 4137-7410. Author ID (Scopus): 6603160432.

Солдаткина Наталья Васильевна, доктор медицинских наук, старший научный сотрудник отделения общей онкологии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии Минздрава России» (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN: 8392-6679. ORCID: 0000-0002-0118-4935.

Росторгуев Эдуард Евгеньевич, кандидат медицинских наук, заведующий отделением нейроонкологии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии Минздрава России» (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 8487-9157. Author ID (Scopus): 57196005138. ORCID: 0000-0003-2937-0470.

Сагакянц Александр Борисович, кандидат биологических наук, доцент, руководитель лаборатории иммунофенотипирования опухолей, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии Минздрава России» (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 7272-1408. ORCID: 0000-0003-0874-5261.

Бондаренко Елена Сергеевна, младший научный сотрудник лаборатории иммунофенотипирования опухолей, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии Минздрава России» (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 3117-4040. ORCID: 0000-0002-8522-1026.

Ситковская Анастасия Олеговна, заведующая лабораторией клеточных технологий, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии Минздрава России» (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 1659-6976. Researcher ID: E-7496-2018. Author ID (Scopus): 56381527400. ORCID: 0000-0002-6035-1756.

ВКЛАД АВТОРОВ

Кит Олег Иванович: редактирование окончательного варианта статьи с внесением ценного интеллектуального содержания, окончательное утверждение рукописи для публикации.

Игнатов Сергей Николаевич: разработка концепции научной работы, сбор и обработка данных, составление черновика рукописи.

Златник Елена Юрьевна: разработка концепции научной работы, редактирование окончательного варианта статьи с внесением ценного интеллектуального содержания.

Солдаткина Наталья Васильевна: редактирование окончательного варианта статьи с внесением ценного интеллектуального содержания.

Росторгуев Эдуард Евгеньевич: редактирование окончательного варианта статьи с внесением ценного интеллектуального содержания.

Сагакянц Александр Борисович: редактирование окончательного варианта статьи с внесением ценного интеллектуального содержания.

Бондаренко Елена Сергеевна: редактирование окончательного варианта статьи с внесением ценного интеллектуального содержания.

Ситковская Анастасия Олеговна: редактирование окончательного варианта статьи 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

Oleg I. Kit, MD, PhD, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, General Director of National Medical Research Center of Oncology (Rostov-on-Don, Russia). Researcher ID (WOS): U-2241-2017. Author ID (Scopus): 55994103100. ORCID: 0000-0003-3061-6108.

Sergey N. Ignatov, Postgraduate, Oncology Department, National Medical Research Center of Oncology (Rostov-on-Don, Russia). ORCID: 0000-0001-8250-9617. E-mail: Ignatov_Sergey_@mail.ru.

Elena Yu. Zlatnik, MD, DSc, Professor, Chief Researcher, Immunophenotyping Laboratory of Tumors, National Medical Research Center of Oncology (Rostov-on-Don, Russia). Author ID (Scopus) 6603160432.

Natalia V. Soldatkina, MD, DSc, Senior Researcher, Department of General Oncology, National Medical Research Center of Oncology (Rostov-on-Don, Russia). ORCID: 0000-0002-0118-4935.

Eduard E. Rostorguev, MD, PhD, Head of the Department of Neurooncology, National Medical Research Center of Oncology (Rostov-on-Don, Russia). Author ID (Scopus): 57196005138. ORCID: 0000-0003-2937-0470.

Alexander B. Sagakyants, PhD, Associate Professor, Head of Immunophenotyping Laboratory of Tumors, National Medical Research Center of Oncology (Rostov-on-Don, Russia). ORCID: 0000-0003-0874-5261.

Elena S. Bondarenko, Junior Researcher, Immunophenotyping Laboratory of Tumors, National Medical Research Center of Oncology (Rostov-on-Don, Russia). ORCID: 0000-0002-8522-1026.

Anastasiya O. Sitkovskaya, Head of the Laboratory of Cell Technologies, National Medical Research Center of Oncology (Rostov-on-Don, Russia). Researcher ID: E-7496-2018. Author ID (Scopus): 56381527400. ORCID: 0000-0002-6035-1756.

AUTHOR CONTRIBUTION

Oleg I. Kit: critical revision for the important intellectual content, approval of the final version of the manuscript.

Sergey N. Ignatov: study conception, data collection, drafting of the manuscript.

Elena Yu. Zlatnik: study conception, critical revision for the important intellectual content.

Natalia V. Soldatkina: critical revision for the important intellectual content.

Eduard E. Rostorguev: critical revision for the important intellectual content.

Alexander B. Sagakyants: critical revision for the important intellectual content.

Elena S. Bondarenko: critical revision for the important intellectual content.

Anastasiya O. Sitkovskaya: critical revision for the important intellectual content.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

Для цитирования: Сеньчукова М.А., Макарова Е.В., Калинин Е.А., Ткачев В.В., Зубарева Е.Ю. Современные представления о роли гипоксии в развитии радиорезистентности злокачественных опухолей. Сибирский онкологический журнал. 2020; 19(6): 141–147. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-6-141-147.

For citation: Senchukova M.A., Makarova E.V., Kalinin E.A., Tkachev V.V., Zubareva E.Yu. Modern concepts on the role of hypoxia in the development of tumor radioresistance. Siberian Journal of Oncology. 2020; 19(6): 141–147. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-6-141-147.

СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О РОЛИ ГИПОКСИИ В РАЗВИТИИ РАДИОРЕЗИСТЕНТНОСТИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ

М.А. Сеньчукова^{1,2}, Е.В. Макарова^{1,2}, Е.А. Калинин²,
В.В. Ткачев², Е.Ю. Зубарева^{1,2}

ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет», г. Оренбург, Россия¹

Россия, 460000, г. Оренбург, ул. Советская, 6. E-mail: malena2419@yandex.ru¹

ГБУЗ «Оренбургский областной клинический онкологический диспансер», г. Оренбург, Россия²

Россия, 460021, г. Оренбург, пр. Гагарина, 11²

Аннотация

Цель исследования – систематизировать и обобщить современные представления о роли гипоксии в развитии радиорезистентности злокачественных опухолей. **Материал и методы.** Для поиска научных источников использовались базы PubMed, eLibrary.Ru и Springer. Проведен анализ публикаций с 1953 по 2020 г., 57 из которых были использованы для написания данного обзора. **Результаты.** Лучевая терапия является одним из важнейших методов лечения злокачественных новообразований. Основной причиной неудовлетворительных результатов лечения пациентов, перенесших лучевую терапию, является развитие рецидива заболевания на фоне радиорезистентности опухолевых клеток. Механизмы радиорезистентности рака очень сложны и зависят от многих факторов, из которых гипоксия является наиболее важным. Под влиянием гипоксии происходит активация механизмов ангиогенеза, эпителиально-мезенхимальной трансформации, формируется пул раковых стволовых клеток, отличающихся химио- и радиорезистентностью. В свою очередь, выраженность гипоксии во многом зависит от особенностей кровоснабжения опухоли. При этом не только количество, но и качественные характеристики сосудов могут влиять на развитие тканевой гипоксии в опухоли. **Заключение.** Таким образом, комплексная оценка выраженности гипоксии, особенностей ангиогенеза и эпителиально-мезенхимальной трансформации может способствовать лучшему пониманию механизмов развития радиорезистентности злокачественных новообразований.

Ключевые слова: злокачественные опухоли, лучевая терапия, радиорезистентность, гипоксия, эпителиально-мезенхимальная трансформация, ангиогенез.

MODERN CONCEPTS ON THE ROLE OF HYPOXIA IN THE DEVELOPMENT OF TUMOR RADIORESISTANCE

M.A. Senchukova^{1,2}, E.V. Makarova^{1,2}, E.A. Kalinin²,
V.V. Tkachev², E.Yu. Zubareva^{1,2}

Orenburg State Medical University, Orenburg, Russia¹

6, Sovetskaya Street, 460000, Orenburg, Russia. E-mail: malena2419@yandex.ru¹

Orenburg Regional Oncology Clinic, Orenburg, Russia²

11, Gagarina Street, 460021, Orenburg, Russia²

Abstract

The purpose of the study was to systematize and summarize modern ideas about the role of hypoxia in the development of tumor radioresistance. **Material and Methods.** PubMed, eLibrary and Springer databases were used to identify reviews published from 1953 to 2020, of which 57 were selected to write our review. **Results.** Radiation therapy is one of the most important components in cancer treatment. The major drawback of radiation therapy is the development radiation resistance in cancerous cells and secondary malignancies. The mechanisms of cancer radioresistance are very complicated and affected by many factors, of which hypoxia is the most important. Hypoxia is able to activate the mechanisms of angiogenesis, epithelial-mesenchymal transformation and contribute to the formation of the pool of cancer stem cell, which are characterized by chemo- and radioresistance. In turn, the severity of hypoxia largely dependent on tumor blood flow. Moreover, not only the quantitative but also the qualitative characteristics of blood vessels can affect the development of tissue hypoxia in the tumor. **Conclusion.** A comprehensive assessment of the severity of hypoxia, as well as characteristics of angiogenesis and EMT can contribute to a better understanding of the mechanisms of development of cancer radioresistance.

Key words: malignant tumors, radiation therapy, radioresistance, hypoxia, epithelial-mesenchymal transformation, angiogenesis.

Более половины пациентов со злокачественными новообразованиями получают лучевую терапию (ЛТ) в монорежиме, в сочетании с хирургическим вмешательством и/или химиотерапией. Облучение и химиотерапия широко используются как один из этапов комбинированного лечения, а также как методы паллиативной терапии при первично неоперабельных или диссеминированных злокачественных новообразованиях (ЗНО) [1–3]. При ряде локализаций ЛТ, не уступая хирургическому методу в эффективности, является более функциональным и косметически щадящим методом.

Установлено, что эффективность ЛТ непосредственно связана с радиочувствительностью опухоли. Термин «радиочувствительность» означает относительную восприимчивость клеток к необратимым повреждениям, индуцированным ЛТ, таким как хромосомная нестабильность и гибель клеток [4]. При этом важно понимать, что эффективность ЛТ определяется не только степенью повреждения опухолевых клеток, но и активацией под влиянием облучения иммунного ответа, получившего название «вакцинация *in situ*» [5]. Вызывая повреждение опухолевых клеток, ЛТ приводит к высвобождению и презентации антигенов, примированию и активации Т-лимфоцитов, рекрутированию и накоплению Т-клеток в опухоли, распознаванию и уничтожению опухолевых клеток Т-лимфоцитами [6].

Следует отметить, что радиочувствительность опухоли зависит от многих факторов, таких как фаза клеточного цикла, кислородное насыщение клетки, ее способность к восстановлению, гистогенез и степень дифференцировки опухоли, ее размер, особенности метаболизма, а также экспрессия генов, регулирующих митохондриальные функции, аутофагию и лизосомальную деградацию [7, 8]. В настоящее время определен ряд маркеров, которые могут быть использованы для оценки чувствительности опухоли к проводимой ЛТ [9].

К таким маркерам можно отнести наличие аберрации p53 [10], уровни галектин-1 [11], кавеоллин 1 [12], P16, PD-L1, сурвивин и c-Met [13] и другие. Однако следует отметить, что в настоящее время в клинической практике ЛТ назначается с учетом гистологии, стадии заболевания и локализации процесса. При этом у части пациентов ЛТ оказывается не только неэффективной, но и приводит к развитию тяжелых постлучевых осложнений [14]. Все вышесказанное свидетельствует об актуальности исследований, направленных на поиск индивидуальных предикторов ответа опухоли на проводимое лечение и изучение механизмов радиорезистентности, что позволило бы избегать назначения неэффективных схем, корректировать индивидуальные планы терапии пациентов и тем самым способствовать улучшению результатов лечения.

Согласно современным представлениям, одним из ключевых факторов, связанных с формированием радиорезистентности ЗНО, является гипоксия [15, 16]. Установлено, что реакция опухолевых клеток на ЛТ в условиях нормоксии и гипоксии различна. При нормоксии кислород реагирует со свободными радикалами, образовавшимися под влиянием ЛТ, с формированием новых радикальных групп, которые усиливают лучевые повреждения. Однако в условиях гипоксии радиационные повреждения ДНК быстро восстанавливаются за счет сульфгидрильных групп, что предупреждает гибель опухолевых клеток [17]. Более того, образование под влиянием гипоксии активных форм кислорода повышает активность пути синтеза серина и путей пентозофосфата и запускает по механизму обратной связи выработку антиоксидантов, которые их нейтрализуют, усиливая радиорезистентность [18, 19].

Установлено, что развитие химио- и радиорезистентности под влиянием гипоксии опосредуется через следующие механизмы:

– индукцию остановки клеточного цикла в фазе покоя, что защищает клетки от внешнего стресса [20, 21];

– ингибирование апоптоза и старения клеток. В опухолевых клетках гипоксия увеличивает экспрессию изоформы гексокиназы 2, которая транслоцируется в митохондрии, способствуя производству глюкозо-6-фосфата для гликолиза и предотвращению высвобождения цитохрома С из митохондрий, тем самым ингибируя апоптоз [22];

– активацию аутофагии и митохондриальной активности [20, 21];

– индукцию механизмов иммунологической толерантности, способствующей выживанию опухолевых клеток после ЛТ [23, 24].

Так, гипоксия ингибирует пролиферацию, дифференцировку и созревание дендритных клеток и цитотоксичных натуральных киллеров (NK-клеток), участвующих в противоопухолевом иммунном ответе, нарушает презентацию антигена и рецепторную передачу сигналов Т-клеток [25], подавляет экспрессию молекул гистосовместимости 1-го класса [26], активирует программный рецептор смерти-1 (PD-1) и его лиганд (PDL-1) [27], способствует рекрутированию Tregs и M2 макрофагов в опухоль [28], индуцирует выработку иммуносупрессивных цитокинов IL-10 и TGF- β [23, 29]. Кроме того, аномальные сосуды и повышенное интерстициальное давление блокируют инфильтрацию опухоли CD8⁺Т-лимфоцитами, что также способствует выживанию опухолевых клеток после ЛТ [5].

Определение выраженности тканевой гипоксии имеет значение для прогноза эффективности проводимой ЛТ. Первые попытки ее определения были связаны с оценкой кровоснабжения опухоли. Для этих целей определяли плотность сосудов в опухоли, расстояние от опухолевых клеток до ближайшего кровеносного сосуда, исследовали насыщение крови оксигемоглобином. Позднее были разработаны методы оценки кровоснабжения опухоли с использованием МРТ, КТ или позитронно-эмиссионной томографии [15, 30], определения уровня гипоксии в тканях с помощью фосфоресцентного нанозонда [31]. Учитывая, что гипоксия усиливает экспрессию ряда генов/белков, их определение также используют для оценки выраженности тканевой гипоксии. К наиболее значимым эндогенным маркерам гипоксии относят индуцируемый гипоксией фактор-1 (HIF-1), карбоангидразу IX, транспортеры глюкозы GLUT-1 и GLUT-3, остеопонтин и др. [15, 32].

Как было отмечено выше, одним из ключевых транскрипционных факторов, отвечающих за регуляцию экспрессии генов при гипоксии и ишемии, является индуцируемый гипоксией фактор-1 (HIF-1). Этот белок состоит из 2 субъединиц: альфа и бета. Экспрессия HIF-1 α регулируется уровнем

кислорода в тканях, HIF-1 β – экспрессируется постоянно. При нормальной концентрации кислорода субъединица HIF-1 α подвергается протеасомной деградации, тогда как при гипоксии остается стабильной и накапливается [33]. Повышение уровня экспрессии HIF-1 α приводит к метаболическому перепрограммированию опухолевых клеток, к появлению у них способности избегать гипоксические состояния, т. е. к инвазии и метастазированию, а также к способности улучшить доступность кислорода, т. е. к ангиогенезу и неоваскуляризации [33, 34]. В частности, установлено, что HIF-1 α активирует экспрессию целого ряда кислород-чувствительных генов, участвующих в регуляции ангиогенеза, эпителиально-мезенхимальной трансформации (ЭМТ) и иммунологической толерантности [22, 35], а также генов, отвечающих за пролиферацию, выживание и миграцию опухолевых клеток [36–38]. Однако важно отметить, что уровень HIF- α может повышаться не только при гипоксии, но и в ответ на повышение уровня цитокинов, липополисахаридов и факторов роста, опосредованное путями PI3K/AKT/mTOR, MAPK, NF κ B и оксида азота [20].

Один из механизмов, связанных с развитием радиорезистентности в условиях гипоксии, обусловлен тем, что при гипоксии опухолевые клетки начинают экспрессировать маркеры ЭМТ (Snail, E-кадгерин и Виментин) и демонстрируют характеристики, подобные раковым стволовым клеткам [39, 40]. Последние представляют основной пул химио- и радиорезистентных клеток, и их высокий уровень в опухоли ассоциирован с неблагоприятным исходом лечения [41]. Показано, что под воздействием ЛТ популяция стволовых раковых клеток может резко возрастать, и, вероятнее всего, именно эта популяция клеток обеспечивает не только радиорезистентность опухоли, но и высокий риск рецидива заболевания [40, 42].

В прогнозе эффективности ЛТ важно учитывать тот факт, что радиорезистентность может формироваться в процессе облучения. В связи с этим различают первичную и вторичную радиорезистентность, которая формируется в ходе ЛТ в результате следующих процессов [23, 43]:

– в процессе ЛТ происходит повреждение эндотелиальных клеток, что приводит к формированию микротромбов, повышению сосудистой проницаемости и пропотеванию жидкости в межклеточное пространство; отек увеличивает внутритканевое давление и еще в большей степени усиливает гипоксию;

– гипоксия увеличивает выработку VEGF-A, способствуя образованию аномальных сосудов, также усиливающих гипоксию, которая, в свою очередь, приводит к гиперэкспрессии HIF-1 α и TGF- β , вызывающих активацию экспрессии PD-1 и PDL-1, рекрутирование миелоидных супрессорных клеток костного мозга (BMDC) и увеличение попу-

ляции T-reg лимфоцитов, которые ассоциируются с развитием иммунологической толерантности, выживанием опухолевых клеток после ЛТ и рецидивом заболевания;

– повреждение эндотелиальных клеток также приводит к увеличению экспрессии молекул адгезии: молекул межклеточной адгезии 1-го типа (ICAM-1) и молекул адгезии сосудистого эндотелия 1-го типа (VCAM-1), а также к повышению экспрессии и аффинности интегринов, которые являются их лигандами. Повышение экспрессии интегринов приводит к потере способности опухоль-ассоциированных фибробластов к инвазии за счет стабилизации фокальных контактов [44], а гиперэкспрессия HIF-1 α и TGF- β способствует развитию постлучевого фиброза за счет активации механизмов ЭМТ. Полагают, что опухоли с выраженной десмопластической реакцией благодаря интегрин-опосредованным взаимодействиям между раковыми клетками, стромальными клетками и окружающим экстрацеллюлярным матриксом являются по своей природе радиорезистентными и подавление лучевого фиброза может способствовать повышению радиочувствительности злокачественных новообразований.

Таким образом, ключевым фактором развития вторичной радиорезистентности также является гипоксия. Экспериментально показано, что острая гипоксия, развивающаяся при ЛТ крупными фракциями, вызывает формирование пула наиболее устойчивых опухолевых клеток, а большие промежутки времени между сеансами способствуют восстановлению опухолевых сосудов и предупреждают вторичную гибель клеток [45]. Предполагается, что решение данной проблемы лежит в плоскости подбора оптимального режима фракционирования дозы облучения [46].

При изучении причин опухолевой гипоксии важно учитывать два момента: основной, хотя и не

единственной причиной развития гипоксии является структурно-функциональная неполноценность сосудов опухоли, приводящая к нарушению перфузии кислорода сквозь их стенку [47, 48]; сосуды в опухоли гетерогенны по своему происхождению, морфологии, степени зрелости и чувствительности к применению лекарственных препаратов [49–51]. Логично предположить, что качественные и количественные особенности сосудов могут непосредственным образом влиять на выраженность гипоксии опухоли и, следовательно, на ее химио- и радиорезистентность. Следует отметить, что актуальность комплексного изучения механизмов тканевой гипоксии и ангиогенеза при ЗНО обусловлена тем, что они могут являться важной мишенью в противоопухолевой терапии, в том числе и для преодоления химио- и радиорезистентности [52]. С этой целью активно исследуются препараты: нормализующие сосудистую сеть, например нацеленные на VEGF [15, 53, 54]; улучшающие доставку кислорода [55]; изменяющие передачу сигналов HIF-1 α , например ингибитор HIF-1 α акрифлавин [56]; нацеленные на интегрины и влияющие на выживание эндотелиальных клеток [57].

Таким образом, гипоксия опухоли является основным фактором, инициирующим механизмы ангиогенеза и ЭМТ, а также химио- и радиорезистентности. Выраженность гипоксии во многом зависит от особенностей кровоснабжения опухоли. Принимая во внимание тот факт, что сосуды в опухоли гетерогенны и отличаются по морфологии и функциональным характеристикам, исследования, направленные на комплексную оценку выраженности гипоксии, особенностей ангиогенеза и ЭМТ, представляются весьма актуальными. Полученные результаты позволят глубже понять механизмы радиорезистентности и разработать новые подходы не только к прогнозированию чувствительности опухоли к ЛТ, но и к индивидуализации лечения.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Iyer N.G., Tan D.S., Tan V.K., Wang W., Hwang J., Tan N.C., Sivaranandan R., Tan H.K., Lim W.T., Ang M.K., Wee J., Soo K.C., Tan E.H. Randomized trial comparing surgery and adjuvant radiotherapy versus concurrent chemoradiotherapy in patients with advanced, nonmetastatic squamous cell carcinoma of the head and neck: 10-year update and subset analysis. *Cancer*. 2015 May 15; 121(10): 1599–607. doi: 10.1002/cncr.29251.
- Roxburgh C.S., Weiser M.R. Selective use of radiation for locally advanced rectal cancer: one size does not fit all. *Minerva Chir*. 2018 Dec; 73(6): 592–600. doi: 10.23736/S0026-4733.18.07791-X.
- Baskar R., Itahana K. Radiation therapy and cancer control in developing countries: Can we save more lives? *Int J Med Sci*. 2017 Jan 1; 14(1): 13–17. doi: 10.7150/ijms.17288.
- Hekim N., Cetin Z., Nikitaki Z., Cort A., Saygili E.I. Radiation triggering immune response and inflammation. *Cancer Lett*. 2015 Nov 28; 368(2): 156–63. doi: 10.1016/j.canlet.2015.04.016.
- Wennerberg E., Lhuillier C., Vanpouille-Box C., Pilones K.A., Garcia-Martinez E., Rudqvist N.P., Formenti S.C., Demaria S. Barriers to Radiation-Induced In Situ Tumor Vaccination. *Front Immunol*. 2017 Mar 13; 8: 229. doi: 10.3389/fimmu.2017.00229.
- Tsoutsou P.G., Zaman K., Martin Lluessa S., Cagnon L., Kandalafi L., Vozenin M.C. Emerging Opportunities of Radiotherapy Combined With Immunotherapy in the Era of Breast Cancer Heterogeneity. *Front Oncol*. 2018 Dec 12; 8: 609. doi: 10.3389/fonc.2018.00609.
- Rachmadi L., Siregar N.C., Kanoko M., Andrijono A., Bardosono S., Suryandari D.A., Sekarutami S.M., Hernowo B.S. Role of Cancer Stem Cell, Apoptotic Factor, DNA Repair, and Telomerase Toward Radiation Therapy Response in Stage IIIB Cervical Cancer. *Oman Med J*. 2019; 34(3): 224–30. doi: 10.5001/omj.2019.43.
- Tang L., Wei F., Wu Y., He Y., Shi L., Xiong F., Gong Z., Guo C., Li X., Deng H., Cao K., Zhou M., Xiang B., Li X., Li Y., Li G., Xiong W., Zeng Z. Role of metabolism in cancer cell radioresistance and radiosensitization methods. *J Exp Clin Cancer Res*. 2018 Apr 23; 37(1): 87. doi: 10.1186/s13046-018-0758-7.
- Васильченко Н.Г., Кутилин Д.С., Тимошкина Н.Н., Потемкин Д.С., Полуэктов С.И., Гусарева М.А., Кошелева Н.Г., Солдатова К.И., Максимов А.Ю., Кут О.И., Сидоренко Ю.С. Современные схемы лучевой терапии и биомаркеры радиорезистентности опухолевых клеток прямой кишки. *Сибирский онкологический журнал*. 2019; 18(6): 105–113. [Vasilchenko N.G., Kutilin D.S., Timoshkina N.N., Potomkin D.S., Poluektov S.I., Gusareva M.A., Kosheleva N.G., Soldatova K.I., Maksimov A.Y., Kut O.I., Sidorenko Yu.S. Modern radiotherapy regimens and biomarkers of radioresistant rectal tumor cells. *Siberian Journal of Oncology*. 2019; 18(6): 105–113. (in Russian)]. doi: 10.21294/1814-4861-2019-18-6-105-113.
- Akiyama A., Minaguchi T., Fujieda K., Hosokawa Y., Nishida K., Shikama A., Tasaka N., Sakurai M., Ochi H., Satoh T. Abnormal accumulation of p53 predicts radioresistance leading to poor survival in patients with endometrial carcinoma. *Oncol Lett*. 2019; 18(6): 5952–58. doi: 10.3892/ol.2019.10940.

11. Chou S.Y., Yen S.L., Huang C.C., Huang E.Y. Galectin-1 is a poor prognostic factor in patients with glioblastoma multiforme after radiotherapy. *BMC Cancer*. 2018 Jan 30; 18(1): 105. doi: 10.1186/s12885-018-4025-2.
12. Duregon E., Senetta R., Pittaro A., Verdun di Cantogno L., Stella G., De Blasi P., Zorzetto M., Mantovani C., Papotti M., Cassoni P. CAVEOLIN-1 expression in brain metastasis from lung cancer predicts worse outcome and radioresistance, irrespective of tumor histotype. *Oncotarget*. 2015 Oct 6; 6(30): 29626–36. doi: 10.18632/oncotarget.4988.
13. Fiedler M., Weber F., Hautmann M.G., Haubner F., Reichert T.E., Klingelhöffer C., Schreml S., Meier J.K., Hartmann A., Ettl T. Biological predictors of radiosensitivity in head and neck squamous cell carcinoma. *Clin Oral Investig*. 2018 Jan; 22(1): 189–200. doi: 10.1007/s00784-017-2099-x.
14. Чернышова А.Л., Старцева Ж.А., Затолокина А.А. Оптимизация выбора адъювантной лучевой терапии у больных раком тела матки I стадии. *Сибирский онкологический журнал*. 2014; (6): 54–59. [Chernyshova A.L., Startseva Z.A., Zatolokina A.A. Optimization of the choice of adjuvant therapy in patients with uterine corpus cancer. *Siberian Journal of Oncology*. 2014; (6): 54–59. (in Russian)].
15. Horsman M.R., Overgaard J. The impact of hypoxia and its modification of the outcome of radiotherapy. *J Radiat Res*. 2016 Aug; 57 Suppl 1(Suppl 1): i90198. doi: 10.1093/jrr/rrw007.
16. Span P.N., Bussink J. The Role of Hypoxia and the Immune System in Tumor Radioresistance. *Cancers (Basel)*. 2019 Oct 14; 11(10): 1555. doi: 10.3390/cancers11101555.
17. Brown J.M., Wilson W.R. Exploiting tumour hypoxia in cancer treatment. *Nat Rev Cancer*. 2004 Jun; 4(6): 437–47. doi: 10.1038/nrc1367.
18. Eales K.L., Hollinshead K.E., Tennant D.A. Hypoxia and metabolic adaptation of cancer cells. *Oncogenesis*. 2016; 5(1): e190. doi: 10.1038/oncsis.2015.50.
19. Wang H., Jiang H., Van De Gucht M., De Ridder M. Hypoxic Radioresistance: Can ROS Be the Key to Overcome It? *Cancers (Basel)*. 2019 Jan 18; 11(1): 112. doi: 10.3390/cancers11010112.
20. Muz B., de la Puente P., Azab F., Azab A.K. The role of hypoxia in cancer progression, angiogenesis, metastasis, and resistance to therapy. *Hypoxia (Auckl)*. 2015 Dec 11; 3: 83–92. doi: 10.2147/HP.S93413.
21. Rohwer N., Cramer T. Hypoxia-mediated drug resistance: novel insights on the functional interaction of HIFs and cell death pathways. *Drug Resist Updat*. 2011 Jun; 14(3): 191–201. doi: 10.1016/j.drup.2011.03.001.
22. Fu Z., Chen D., Cheng H., Wang F. Hypoxia-inducible factor-1 α protects cervical carcinoma cells from apoptosis induced by radiation via modulation of vascular endothelial growth factor and p53 under hypoxia. *Med Sci Monit*. 2015 Jan 27; 21: 318–25. doi: 10.12659/MSM.893265.
23. Ebner D.K., Tinganelli W., Helm A., Bisio A., Yamada S., Kamada T., Shimokawa T., Durante M. The Immunoregulatory Potential of Particle Radiation in Cancer Therapy. *Front Immunol*. 2017 Feb 6; 8: 99. doi: 10.3389/fimmu.2017.00099.
24. Menon H., Ramapriyan R., Cushman T.R., Verma V., Kim H.H., Schoenhals J.E., Atalar C., Selek U., Chun S.G., Chang J.Y., Barsoumian H.B., Nguyen Q.N., Altan M., Cortez M.A., Hahn S.M., Welsh J.W. Role of Radiation Therapy in Modulation of the Tumor Stroma and Microenvironment. *Front Immunol*. 2019 Feb 15; 10: 193. doi: 10.3389/fimmu.2019.00193.
25. Shevtsov M., Sato H., Multhoff G., Shibata A. Novel Approaches to Improve the Efficacy of Immuno-Radiotherapy. *Front Oncol*. 2019 Mar 19; 9: 156. doi: 10.3389/fonc.2019.00156.
26. Sethumadhavan S., Silva M., Philbrook P., Nguyen T., Hatfield S.M., Ohta A., Sitkovsky M.V. Hypoxia and hypoxia-inducible factor (HIF) downregulate antigen-presenting MHC class I molecules limiting tumor cell recognition by T cells. *PLoS One*. 2017; 12(11): e0187314. doi: 10.1371/journal.pone.0187314.
27. Noman M.Z., Hasim M., Lequeux A., Xiao M., Duhem C., Chouaib S., Berchem G., Janji B. Improving Cancer Immunotherapy by Targeting the Hypoxic Tumor Microenvironment: New Opportunities and Challenges. *Cells*. 2019 Sep 14; 8(9): 1083. doi: 10.3390/cells8091083.
28. Smolarczyk R., Cichon T., Pilny E., Jarosz-Biej M., Poczekaj A., Kulach N., Szala S. Combination of anti-vascular agent DMXAA and HIF-1 α inhibitor digoxin inhibits the growth of melanoma tumors. *Sci Rep*. 2018 May 9; 8(1): 7355. doi: 10.1038/s41598-018-25688-y.
29. Vanpouille-Box C., Diamond J.M., Pilonis K.A., Zavadi J., Babb J.S., Formenti S.C., Barcellos-Hoff M.H., Demaria S. TGF β Is a Master Regulator of Radiation Therapy-Induced Antitumor Immunity. *Cancer Res*. 2015 Jun 1; 75(11): 2232–42. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-14-3511.
30. Horsman M.R. Measurement of Tumor Oxygenation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 1998 Nov 1; 42 (4): 701–4. doi: 10.1016/s0360-3016(98)00332-0.
31. Cao X., Rao Allu S., Jiang S., Jia M., Gunn J.R., Yao C., LaRochelle E.P., Shell J.R., Bruza P., Gladstone D.J., Jarvis L.A., Tian J., Vinogradov S.A., Pogue B.W. Tissue pO₂ distributions in xenograft tumors dynamically imaged by Cherenkov-excited phosphorescence during fractionated radiation therapy. *Nat Commun*. 2020 Jan 29; 11(1): 573. doi: 10.1038/s41467-020-14415-9.
32. Peerlings J., Van De Voorde L., Mitea C., Larue R., Yarovina A., Sandeleanu S., Spiegelberg L., Dubois L., Lambin P., Mottaghy F.M. Hypoxia and hypoxia response-associated molecular markers in esophageal cancer: A systematic review. *Methods*. 2017 Nov; 130: 51–62. doi: 10.1016/j.ymeth.2017.07.002.
33. Harada H. Hypoxia-inducible factor 1-mediated characteristic features of cancer cells for tumor radioresistance. *J Radiat Res*. 2016 Aug; 57 Suppl 1(Suppl 1): 99–105. doi: 10.1093/jrr/rrw012.
34. Zeng L., Morinibu A., Kobayashi M., Zhu Y., Wang X., Goto Y., Yeom C.J., Zhao T., Hirota K., Shinomiya K., Itasaka S., Yoshimura M., Guo G., Hammond E.M., Hiraoka M., Harada H. Aberrant IDH3 α Expression Promotes Malignant Tumor Growth by Inducing HIF-1-mediated Metabolic Reprogramming and Angiogenesis. *Oncogene*. 2015; 34(36): 4758–66. doi: 10.1038/nc.2014.411.
35. Yeo C.D., Kang N., Choi S.Y., Kim B.N., Park C.K., Kim J.W., Kim Y.K., Kim S.J. The role of hypoxia on the acquisition of epithelial-mesenchymal transition and cancer stemness: a possible link to epigenetic regulation. *Korean J Intern Med*. 2017 Jul; 32(4): 589–599. doi: 10.3904/kjim.2016.302.
36. Kakurina G.V., Kondakova I.V., Spirina L.V., Kolegova E.S., Shashova E.E., Cheremisina O.V., Novikov V.A., Choinzonov E.L. Expression of genes encoding cell motility proteins during progression of head and neck squamous cell carcinoma. *Bull Exp Biol Med*. 2018; 166(2): 250–252. doi: 10.1007/S10517-018-4325-1.
37. Liu Z.J., Semenza G.L., Zhang H.F. Hypoxia-inducible factor 1 and breast cancer metastasis. *J Zhejiang Univ Sci B*. 2015 Jan; 16(1): 32–43. doi: 10.1631/jzus.B1400221.
38. Luo Y., Li M., Zuo X., Basourakos S.P., Zhang J., Zhao J., Han Y., Lin Y., Wang Y., Jiang Y., Lan L. β -catenin nuclear translocation induced by HIF1 α overexpression leads to the radioresistance of prostate cancer. *Int J Oncol*. 2018 Jun; 52(6): 1827–1840. doi: 10.3892/ijo.2018.4368.
39. Koukourakis M., Kakouratos C., Kalamida D., Bampali Z., Mavropoulou S., Sivridis E., Giatromanolaki A. Hypoxia-inducible proteins HIF1 α and lactate dehydrogenase LDH5, key markers of anaerobic metabolism, relate with stem cell markers and poor post-radiotherapy outcome in bladder cancer. *Int J Radiat Biol*. 2016 Jul; 92(7): 353–63. doi: 10.3109/09553002.2016.1162921.
40. Lee S.Y., Jeong E.K., Ju M.K., Jeon H.M., Kim M.Y., Kim C.H., Park H.G., Han S.I., Kang H.S. Induction of metastasis, cancer stem cell phenotype, and oncogenic metabolism in cancer cells by ionizing radiation. *Mol Cancer*. 2017 Jan 30; 16(1): 10. doi: 10.1186/s12943-016-0577-4.
41. Rycak K., Tang D.G. Cancer stem cells and radioresistance. *International journal of radiation biology*. 2014; 90: 615–21. doi: 10.3109/09553002.2014.892227.
42. Gomez-Casal R., Bhattacharya C., Ganesh N., Bailey L., Basse P., Gibson M., Epperly M., Levina V. Non-small cell lung cancer cells survived ionizing radiation treatment display cancer stem cell and epithelial-mesenchymal transition phenotypes. *Mol Cancer*. 2013; 12(1): 94. doi: 10.1186/1476-4598-12-94.
43. Barker H.E., Paget J.T., Khan A.A., Harrington K.J. The tumour microenvironment after radiotherapy: mechanisms of resistance and recurrence. *Nat Rev Cancer*. 2015 Jul; 15(7): 409–25. doi: 10.1038/nrc3958.
44. Hellevik T., Pettersen L., Berg V., Winberg J.O., Moe B.T., Barnes K., Paulsen R.H., Busund L.T., Bremnes R., Chalmers A., Martinez-Zubiaurre I. Cancer-associated fibroblasts from human NSCLC survive ablative doses of radiation but their invasive capacity is reduced. *Radiat Oncol*. 2012 Apr 13; 7: 59. doi: 10.1186/1748-717X-7-59.
45. Lindblom E.K., Dasu A., Toma-Dasu I. Hypoxia Induced by Vascular Damage at High Doses Could Compromise the Outcome of Radiotherapy. *Anticancer Res*. 2019 May; 39(5): 2337–2340. doi: 10.21873/anticancer.13350.
46. Lindblom E., Toma-Dasu I., Dasu A. Accounting for Two Forms of Hypoxia for Predicting Tumour Control Probability in Radiotherapy: An In Silico Study. *Adv Exp Med Biol*. 2018; 1072: 183–87. doi: 10.1007/978-3-319-91287-5_29.
47. Vaupel P., Mayer A. Hypoxia in Tumors: Pathogenesis-Related Classification, Characterization of Hypoxia Subtypes, and Associated Biological and Clinical Implications. *Adv Exp Med Biol*. 2014; 812: 19–24. doi: 10.1007/978-1-4939-0620-8_3.
48. Orel V.B., Zabolotny M.A., Orel V.E. Heterogeneity of hypoxia in solid tumours and mechanochemical reactions with oxygen nanobubbles. *Med Hypotheses*. 2017 May; 102: 82–86. doi: 10.1016/j.mehy.2017.03.006.
49. Birau A., Ceausu R.A., Cimpean A.M., Gaje P., Raica M., Olariu T. Assessment of angiogenesis reveals blood vessel heterogeneity in lung carcinoma. *Oncol Lett*. 2012 Dec; 4(6): 1183–86. doi: 10.3892/ol.2012.893.

50. Nagy J.A., Dvorak H.F. Heterogeneity of the tumor vasculature: the need for new tumor blood vessel type-specific targets. Clin Exp Metastasis. 2012 Oct; 29(7): 657–62. doi: 10.1007/s10585-012-9500-6.

51. Senchukova M.A., Nikitenko N.V., Tomchuk O.N., Zaitsev N.V., Stadnikov A.A. Different types of tumor vessels in breast cancer: morphology and clinical value. Springerplus. 2015 Sep 17; 4: 512. doi: 10.1186/s40064-015-1293-z.

52. Zhou X., Liu H., Zheng Y., Han Y., Wang T., Zhang H., Sun Q., Li Z. Overcoming Radioresistance in Tumor Therapy by Alleviating Hypoxia and Using the HIF-1 Inhibitor. ACS Appl Mater Interfaces. 2020 Jan 29; 12(4): 4231–4240. doi: 10.1021/acsami.9b18633.

53. Siemann D.W., Horsman M.R. Modulation of the tumor vasculature and oxygenation to improve therapy. Pharmacol Ther. 2015 Sep; 153: 107–24. doi: 10.1016/j.pharmthera.2015.06.006.

54. Liu S., Wu F., Zhang Y., Qin R., Zhu N., Li Y., Wang M., Zeng Q., Xie D., Li Y., Fan J., Han Y. Apatinib Combined With Radiotherapy Enhances Antitumor Effects in an In Vivo Nasopharyngeal Carcinoma Model. Cancer Control. 2020 Jan-Dec; 27(1): 1073274820922553. doi: 10.1177/1073274820922553.

55. Janssens G.O., Rademakers S.E., Terhaard C.H., Doornaert P.A., Bijl H.P., van den Ende E., Chin A., Takes R.P., de Bree R., Hoogsteen I.J., Bussink J., Span P.N., Kaanders J.H. Improved Recurrence-Free Survival with ARCON for Anemic Patients with Laryngeal Cancer. Clinical Cancer Research. 2014; 20(5): 1345–54. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-13-1730.

56. Akanji M.A., Rotimi D., Adeyemi O.S. Hypoxia-Inducible Factors as an Alternative Source of Treatment Strategy for Cancer. Oxid Med Cell Longev. 2019 Aug 14; 2019: 8547846. doi: 10.1155/2019/8547846.

57. Nabors L.B., Mikkelsen T., Hegi M.E., Ye X., Batchelor T., Lesser G., Peereboom D., Rosenfeld M.R., Olsen J., Brem S., Fisher J.D., Grossman S.A.; New Approaches to Brain Tumor Therapy (NABTT) Central Nervous System Consortium. A safety run-in and randomized phase 2 study of cilengitide combined with chemoradiation for newly diagnosed glioblastoma (NABTT 0306). Cancer. 2012 Nov 15; 118(22): 5601–7. doi: 10.1002/cncr.27585.

Поступила/Received 18.02.2020
Принята в печать/Accepted 14.09.2020

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Сеньчукова Марина Алексеевна, доктор медицинских наук, профессор кафедры лучевой диагностики, лучевой терапии, онкологии, ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» МЗ РФ; врач-онколог хирургического торакального отделения, ГБУЗ «Оренбургский областной клинический онкологический диспансер» (г. Оренбург, Россия). ORCID: 0000-0001-8371-740X.

Макарова Елена Викторовна, аспирант кафедры лучевой диагностики, лучевой терапии, онкологии, ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» МЗ РФ; врач, ГБУЗ «Оренбургский областной клинический онкологический диспансер» (г. Оренбург, Россия). ORCID: 0000-0002-5796-3719.

Калинин Евгений Анатольевич, врач-онколог хирургического торакального отделения, ГБУЗ «Оренбургский областной клинический онкологический диспансер» (г. Оренбург, Россия). ORCID: 0000-0001-5329-3589.

Ткачев Владислав Владимирович, врач-онколог, заведующий хирургическим отделением № 2, ГБУЗ «Оренбургский областной клинический онкологический диспансер» (г. Оренбург, Россия). ORCID: 0000-0002-8733-2205.

Зубарева Евгения Юрьевна, аспирант кафедры лучевой диагностики, лучевой терапии, онкологии, ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» МЗ РФ; врач-онколог, ГБУЗ «Оренбургский областной клинический онкологический диспансер» (г. Оренбург, Россия). ORCID 0000-0001-7025-0206

ВКЛАД АВТОРОВ

Сеньчукова Марина Алексеевна: разработка концепции статьи, редактирование статьи, утверждение окончательного варианта.

Макарова Елена Викторовна: анализ литературы, написание раздела обзора, редактирование статьи.

Калинин Евгений Анатольевич: анализ литературы, написание раздела обзора.

Ткачев Владислав Владимирович: анализ литературы, написание раздела обзора.

Зубарева Евгения Юрьевна: анализ литературы, написание раздела обзора.

Финансирование

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ и субъекта РФ в рамках научных проектов № 18-415-560005 и 19-415-560004.

Конфликт интересов

Авторы объявляют, что у них нет конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Marina A. Senchukova, MD, DSc, Professor of the Radiation Diagnostics, Radiation Therapy, Oncology Department, Orenburg State Medical University; Oncologist, Surgical Thoracic Department, Orenburg Regional Oncology Clinic (Orenburg, Russia). ORCID: 0000-0001-8371-740X.

Elena V. Makarova, MD, Postgraduate, Radiation Diagnostics, Radiation Therapy, Oncology Department, Orenburg State Medical University; Oncologist, Orenburg Regional Oncology Clinic (Orenburg, Russia). ORCID: 0000-0002-5796-3719. E-mail: malena2419@yandex.ru.

Evgeny A. Kalinin, MD, Oncologist, Surgical Thoracic Department, Orenburg Regional Oncology Clinic (Orenburg, Russia). ORCID: 0000-0001-5329-3589.

Vladislav V. Tkachev, MD, Head of the Surgery Department No. 2, Orenburg Regional Oncology Clinic (Orenburg, Russia). ORCID: 0000-0002-8733-2205.

Evgenia Y. Zubareva, MD, Postgraduate, Radiation Diagnostics, Radiation Therapy, Oncology Department, Orenburg State Medical University; Oncologist, Orenburg Regional Oncology Clinic (Orenburg, Russia). ORCID: 0000-0001-7025-0206.

AUTHOR CONTRIBUTION

Marina A. Senchukova: study conception and design, editing of the manuscript, approval of the final version of the manuscript.

Elena V. Makarova: data analysis, writing of the review section, editing of the manuscript.

Evgeny A. Kalinin: data analysis, writing of the manuscript.

Vladislav V. Tkachev: data analysis, writing of the manuscript.

Evgenia Y. Zubareva: data analysis, writing of the manuscript.

Funding

The study was funded by Russian Foundation for Basic Research, grant No 18-415-560005 and No.19-415-560004.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

DOI: 10.21294/1814-4861-2020-19-6-148-154
УДК: 616.33/.34-006-08:618.2

Для цитирования: Абдуллаев А.Г., Курбанов А.А. Ведение беременности при диссеминированной гастроинтестинальной стромальной опухоли. Случай из практики. Сибирский онкологический журнал. 2020; 19(6): 148–154. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-6-148-154.

For citation: Abdullaev A.G., Kurbanov A.A. Disseminated gastrointestinal stromal tumor in pregnancy. A case report. Siberian Journal of Oncology. 2020; 19(6): 148–154. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-6-148-154.

ВЕДЕНИЕ БЕРЕМЕННОСТИ ПРИ ДИССЕМИНИРОВАННОЙ ГАСТРОИНТЕСТИНАЛЬНОЙ СТРОМАЛЬНОЙ ОПУХОЛИ. СЛУЧАЙ ИЗ ПРАКТИКИ

А.Г. Абдуллаев^{1,2}, А.А. Курбанов²

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, г. Москва, Россия¹
Россия, 115478, г. Москва, Каширское шоссе, 24. E-mail: amird@mail.ru¹
ФГАОУ ВО МЗ РФ Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, г. Москва, Россия²
Россия, 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, 8/2. E-mail: asadulla10@mail.ru²

Аннотация

Актуальность. Гастроинтестинальные стромальные опухоли встречаются редко, составляя 10–20 случаев на 1 млн населения в год. Все желудочно-кишечные новообразования – это потенциально злокачественные опухоли, имеющие в основном спорадический характер. Желудочно-кишечные стромальные опухоли во время беременности – крайне редкое явление, с которым сложно справиться с этической, хирургической и онкологической точек зрения. **Описание клинического случая.** В статье описан клинический случай ведения беременности на фоне асцита и канцероматоза брюшины, который был выявлен на 16–17-й нед. Пациентка находилась под наблюдением врачей акушеров-гинекологов, онкологов и неонатологов, проводился еженедельный УЗИ мониторинг. На 26-й неделе беременности, учитывая признаки прогрессирования болезни, было произведено родоразрешение (корпоральное кесарево сечение) с целью скорейшего назначения противоопухолевого лечения и постнатальной адаптации новорожденного. **Заключение.** Представлен первый, зарегистрированный в литературе случай успешного комбинированного лечения – корпоральное кесарево сечение и резекция опухоли у 31-летней беременной пациентки с гастроинтестинальной стромальной опухолью тонкой кишки, осложненной канцероматозом брюшины и асцитом. Нет никаких рекомендаций по оптимальному сроку резекции опухоли во время беременности, и поэтому ключевые решения должны приниматься в условиях мультидисциплинарной команды с учетом пожеланий пациентки. Представленный нами клинический случай демонстрирует возможность изменения в исключительных случаях подходов в ведении и лечении пациентов с интраперитонеальной диссеминацией, а также подчеркивает важность долгосрочного междисциплинарного подхода при участии онкологов, акушеров и гинекологов, неонатологов и других специалистов, что ведет к благополучному родоразрешению и проведению всего необходимого спектра лечения.

Ключевые слова: гастроинтестинальная стромальная опухоль и беременность, таргетная терапия.

DISSEMINATED GASTROINTESTINAL STROMAL TUMOR IN PREGNANCY. A CASE REPORT

A.G. Abdullaev^{1,2}, A.A. Kurbanov²

N.N. Blokhin National Medical Research Oncology Center of the Ministry of Health
of the Russian Federation, Moscow, Russia¹

24, Kashirskoye Shosse, 115478, Moscow, Russia. E-mail: amirido@mail.ru¹

I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow Russia²

8/2, Trubetskaya Street, 119991, Moscow, Russia. E-mail: asadulla10@mail.ru²

Abstract

Background. Gastrointestinal stromal tumor (GIST) is a rare neoplasm with an incidence of only 10–20 cases per million population. All gastrointestinal neoplasms may have malignant potential and most of them are sporadic tumors. GIST occurring during pregnancy is extremely rare, therefore, surgeons face challenging ethical, surgical and oncological issues. **Case.** We describe a clinical cause of GIST found at the 16–17-th week of pregnancy in a 31-year-old woman. The patient was under the supervision of obstetricians-gynecologists, radiologists and oncologists, and a weekly ultrasound examination was performed. Caesarean delivery was performed at the 26th week of pregnancy due to disease progression and in order to start anticancer therapy as soon as possible. **Conclusion.** We described the first reported case of a successful treatment in a 31-year-old pregnant patient with GIST of the small intestine complicated by peritoneal carcinomatosis and ascites. We compared our case with other reported cases of GIST during pregnancy and discussed the problems faced by both patients and surgeons. There are no recommendations on the optimal timing of tumor resection during pregnancy, and therefore key decisions must be made in a multidisciplinary team (MDT), taking into account the wishes of the patient. Our clinical case demonstrates the feasibility of changing the approaches to the management and treatment of patients with intraperitoneal dissemination, as well as emphasizes the importance of interdisciplinary team including oncologists, obstetricians, gynecologists, neonatologists and other specialists.

Key words: gastrointestinal stromal tumor and pregnancy, targeted therapy.

Введение

Гастроинтестинальная стромальная опухоль (ГИСО) – злокачественная мезенхимальная опухоль, исходящая из клеток Кахала (синонимы: тельциты, интерстициальные пейсмекерные клетки желудочно-кишечного тракта, интерстициальные пейсмекерные клетки) [1]. Среди опухолей желудочно-кишечного тракта стромальные мезенхимальные (неэпителиальные) новообразования составляют, по данным литературы, около 1 %. Случаи стромальных мезенхимальных опухолей впервые описаны в 1984 г., методы гистохимической верификации разработаны в конце XX века. Наиболее частой локализацией таких новообразований являются желудок (более 50 %) и тонкая кишка (25–30 %), преобладает экстраорганный вариант роста, что обуславливает длительное скрытое течение процесса. Как минимум в половине случаев стромальные мезенхимальные опухоли проявляются острыми осложнениями, среди которых доминируют желудочно-кишечные кровотечения. Методы визуализации далеко не всегда помогают своевременно выявить опухоль, и она диагностируется в качестве находки во время операции. Окончательный диагноз устанавливают при комплексном морфологическом исследовании операционного (или секционного) препарата.

Клинические рекомендации не требуют при стромальных мезенхимальных опухолях выполнения объёмных операций, как при раке. При высоком индексе пролиферации применяют таргетную терапию.

Все гастроинтестинальные новообразования – это потенциально злокачественные опухоли, имеющие в основном спорадический характер. Средний показатель заболеваемости в мире составляет 1,0–1,5 случая на 100 тыс. человек в год. Ежегодная заболеваемость на 1 млн населения составляет в Гонконге 16,8–19,6 случая, в Исландии – 11 случаев. В США ежегодно выявляются 5000–6000 новых случаев ГИСО. Заболеваемость в России неизвестна [2]. Наибольшая заболеваемость отмечается среди пациентов в возрасте 50–65 лет. Различий в уровнях заболеваемости между мужчинами и женщинами не отмечено [3].

До 1983 г. неэпителиальные опухоли желудочно-кишечного тракта, развивающиеся из стромы, гладкомышечных структур и нервных элементов, иммунофенотипически отличающихся от обычных опухолей с гладкомышечной или нейрогенной дифференцировкой, традиционно диагностировались как лейомиосаркомы, лейомиомы, лейомиобластомы, неврилеммы (шванномы) [4–6]. В 1983 г. M.T. Mazur и H.B. Clark внесли существенный

вклад в уточнение классификации и понимание патогенеза ГИСО, открыв молекулярный механизм развития этих опухолей, основанный на мутации генов, кодирующих рецептор тирозинкиназы и свойственных для интерстициальных мезенхимальных клеток Кахала. Это позволило доказать особую природу ГИСО, внести их отдельной нозологической единицей в международную классификацию опухолей и открыть путь для разработки таргетной терапии этих опухолей [7–9].

В 1998 г. иммуногистохимическими исследованиями был уточнён гистогенез ГИСО: в 85 % опухолей была обнаружена мутация в гене *KIT* и в 3–18 % – в гене *PDGFRA*. В 10–15 % случаев не выявляются мутации в генах *KIT* и *PDGFRA* – дикий тип, WT (Wild type). При исследовании более широких профилей генов выявлено, что стромальные опухоли с WT являются разнородной группой с активирующими мутациями *BRAF*, *RAS*, *SDH*, *NF1* и др. Наследственный тип ГИСО встречается крайне редко [10–14]. В итоге М.Т. Mazur и Н.В. Clark, описавшие и выделившие эти опухоли как уникальную разновидность стромальных опухолей, дали им такое название, которое признано во всём мире [15].

Опухоль исходит из мышечного слоя стенки органа инкапсулированным узлом, иногда несколькими узлами. Характерен экстраорганный рост, в связи с чем опухоль локализуется в брюшной полости, брыжейке или забрюшинном пространстве. Также были описаны случаи инвазии в слизистую оболочку с изъязвлением [16–17]. Среди гистологических форм преобладает веретенчатый вариант, который встречается в 71 % случаев, эпителиоидно-клеточный – в 8 %, смешанный – в 21 %. Критериями злокачественности ГИСО являются: размер опухоли более 5 см; высокая клеточность; атипия ядер; наличие более 5 фигур митоза на 50 репрезентативных полей зрения при $\times 400$; индекс пролиферации по экспрессии Ki67 более 10 %; инвазия в сосуды; наличие очагов некроза. По системе FNCLCC выделяют три степени злокачественности ГИСО (Grade I, II, III). Подобно саркомам, ГИСО в основном метастазирует гематогенным путём, причём до 90 % метастазов образуется в печени. Возможны имплантационные метастазы по брюшине и сальнику, лимфоузлы поражаются редко. Вероятность осложнений и злокачественного течения возрастает по мере увеличения размеров опухоли [4–8, 17–19].

Хирургическому лечению подлежат опухоли диаметром 2 см и более, при меньших размерах рекомендуется наблюдать пациентов в динамике. При хирургическом лечении допускается использование органосохраняющих операций. Лимфаденэктомия не показана. Применяется таргетная терапия ингибиторами тирозинкиназ: иматинибом, сунитинибом, нилотинибом и др. До появления иматиниба 5-летняя выживаемость после резекции

опухоли составляла менее 50 %, при этом ГИСО были невосприимчивы ко всем традиционным системным методам лечения [4–8]. В 2000 г. иматиниб был впервые использован для лечения пациентов с прогрессирующей ГИСО, что в дальнейшем позволило значительно улучшить 5-летнюю выживаемость [20].

Проанализировав данные мировой литературы, мы не обнаружили случаев описания наблюдений клинически проявляющейся гастроинтестинальной стромальной опухоли в сочетании с беременностью. Именно такое клиническое наблюдение представлено нами.

Клинический случай

Пациентка И., 31 год. На базе ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России проведён ретроспективный анализ истории болезни пациентки с беременностью в сочетании с гастроинтестинальной опухолью.

Из анамнеза известно, что в декабре 2017 г. пациентка была экстренно госпитализирована в стационар по месту жительства с острыми болями в эпигастральной области. При обследовании обнаружен выпот в брюшной полости неясного генеза, произведен лапароцентез, патологии не выявлено.

В июле 2018 г. отмечено ухудшение состояния, острые боли в эпигастральной области. По данным УЗИ обнаружена свободная жидкость в брюшной полости неясного генеза, была установлена беременность, 8 нед. В сентябре 2018 г. во втором триместре при плановом УЗИ плода было выявлено образование тонкой кишки и метастазы по брюшине, направлена в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова». Консилиумом врачей было принято решение о сохранении беременности при условии тщательного динамического УЗИ-контроля за состоянием плода с определением последующей лечебной тактики после родоразрешения.

МРТ брюшной полости (1.11.18): в печени 2 очага (вероятно, метастазы), множественные образования преимущественно в проекции большого сальника и брыжейки.

Учитывая признаки прогрессирования опухоли, принято решение о родоразрешении на раннем сроке с целью скорейшего назначения противоопухолевого лечения и постнатальной адаптации новорожденного. 6.11.18 в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова» на 26-й нед хирургической бригадой в составе врачей акушеров-гинекологов и онкологов было произведено родоразрешение (корпоральное кесарево сечение). Была извлечена живая девочка массой 900 г при росте 39 см с оценкой по шкале Апгар 6/8 баллов. При интраоперационной ревизии также был выявлен распространенный канцеро-

матоз, в стенке тощей кишки было обнаружено опухолевое образование диаметром до 7 см, метастазы по париетальной брюшине.

УЗИ брюшной полости (11.11.18): в левой доле печени определяются два образования пониженной эхогенности 2,5 см и 2,3 см. Расширение петель кишечника до 4 см за счет жидкостного содержимого. Свободной жидкости в брюшной полости не обнаружено.

На 6-е сут после операции, 12.11.18, появились жалобы на кровь в стуле, боль внизу живота. При общем анализе крови – анемия тяжелой степени, заподозрено желудочно-кишечное кровотечение. Пациентка экстренно переведена в торакоабдоминальное отделение НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина для дообследования и комбинированного лечения.

При поступлении состояние тяжелое. Периферические лимфатические узлы пальпаторно не увеличены. Живот нормальной формы, симметричен. На передней брюшной стенке – «свежий» послеоперационный рубец от срединной лапаротомии, без признаков воспаления. Тургор кожных покровов снижен. При перкуссии живота отмечается тимпанит различной степени выраженности. При поверхностной пальпации – боль внизу живота. Стул нерегулярный, испражнения оформленной консистенции, темно-серого цвета, без патологических примесей. Пациентка находилась под динамическим контролем, проводилась консервативная терапия.

При контрольном общем анализе крови (16.11.18) отмечено снижение гемоглобина до 7,8 г/дл, наблюдалось нарастание ЧСС до 120 уд/мин, вздутие живота. Учитывая клинические признаки высокой тонкокишечной непроходимости и желудочно-кишечного кровотечения, принято решение об экстренной операции. При интраоперационной ревизии – выраженный спаечный процесс с фиксацией нескольких петель тонкой кишки между собой за счет спаек и опухолевой инфильтрации. Адгезиолизис. В брюшной полости около 300 мл асцитической жидкости, которая была эвакуирована. В корне брыжейки тонкой кишки определялся опухолевый конгломерат кистозно-солидной структуры, диаметром до 10 см, новообразование инфильтрировало стенки кишки с сужением её просвета. В большом сальнике – 2 опухолевых конгломерата такой же структуры, диаметром до 1,5 см. В проекции III сегмента печени пальпировалось субкапсулярное образование до 2 см в диаметре. Выполнена циторедуктивная операция в объеме резекции тонкой кишки с опухолью, удаления малого сальника, резекции III сегмента печени, удаления двух опухолевых конгломератов с брыжейки поперечной ободочной кишки (рис. 1–3).

На 4-е сут после операции с признаками перфорации кишечника пациентка была повторно взята

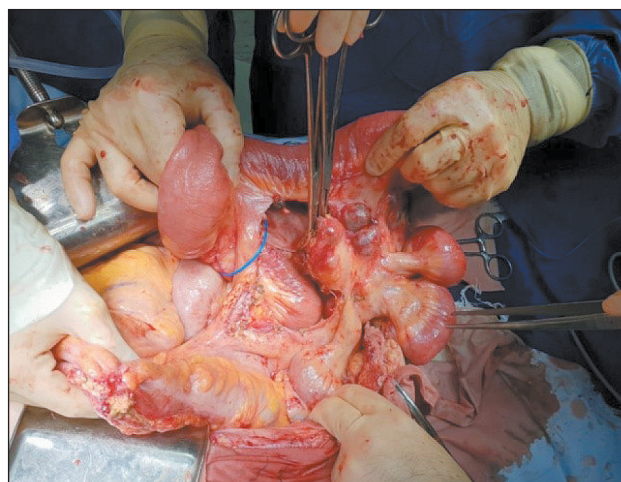


Рис. 1. Удаление опухоли с резекцией брыжейки тонкой кишки

Fig. 1. Removal of a tumor with resection of the small bowel mesentery

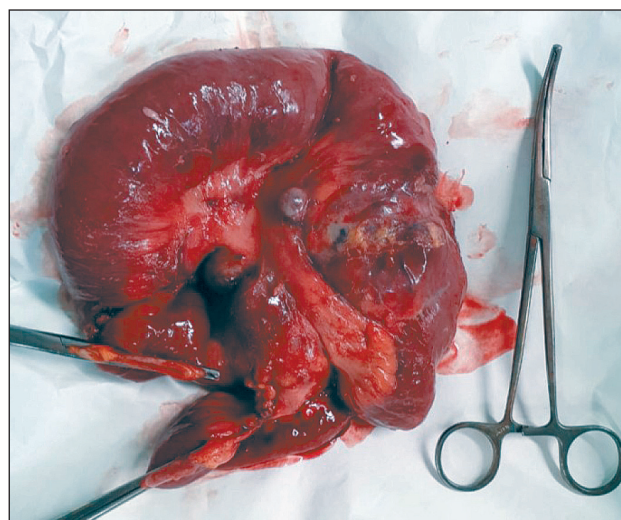


Рис. 2. Операционный макропрепарат

Fig. 2. Surgical specimen

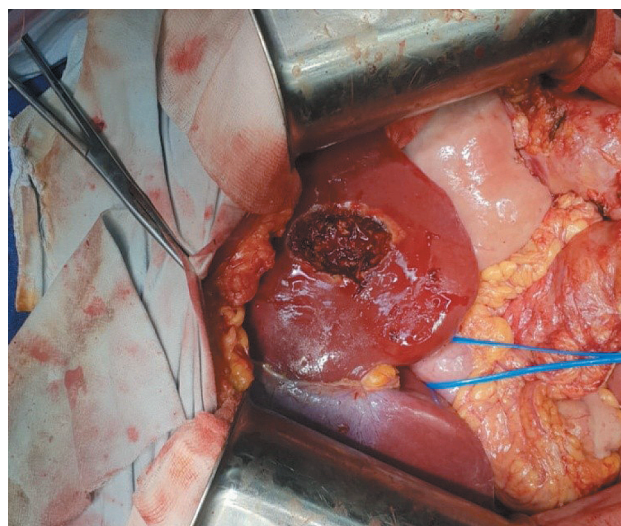


Рис. 3. Зона резекции III сегмента печени

Fig. 3. Resection area of segment III of the liver

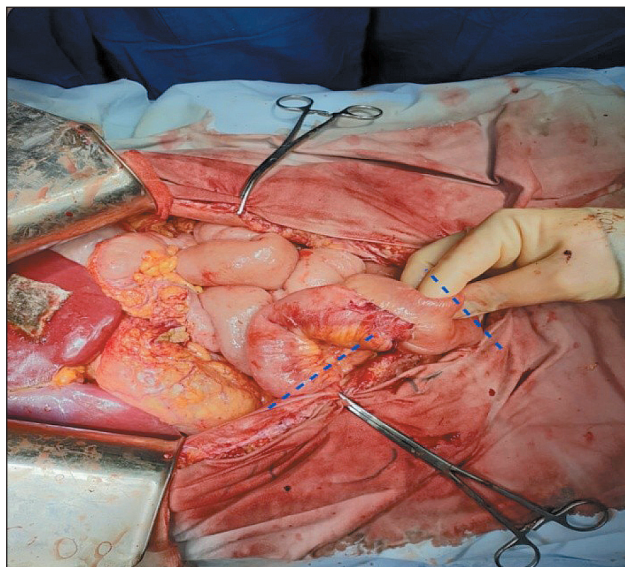


Рис. 4. Зона резекции тонко-тонкокишечного анастомоза с участком перфорации в приводящей петле
Fig. 4. Resection area of the small bowel anastomosis with perforated blind loop

в экстренную операцию. При интраоперационной ревизии обнаружена перфорация тонкой кишки в месте ранее ушитого десерозированного участка. Выполнена резекция тонкой кишки с формированием двухрядного межтонкокишечного анастомоза по типу «бок в бок», санация и дренирование брюшной полости (рис. 4).

В послеоперационном периоде наблюдалось нагноение послеоперационной раны, проводилась антибактериальная терапия. Пациентка выписана из стационара на 28-е сут после операции в удовлетворительном состоянии, послеоперационная рана – без признаков воспаления, заживление вторичным натяжением.

При иммуногистохимическом исследовании операционного материал, с 2 блоков с использованием антител к CD117, Dog1, S100 протеину, SOX10, HMB45, Melan A, MITF, CD99, панцитокератину AE1/AE3, EMA, синаптофизину, хромогранину A, D1-40, TTF3, CD31, CD34, WT1, десмину, aSMA, миогенину, рецепторам эстрогенов и рецепторам прогестерона. Выявлена диффузная экспрессия в крупных опухолевых клетках эпителиоидного типа, формирующих солидно-альвеолярные очаги, – EMA и SOX10, в части клеток опухоли выявляется экспрессия Dog1(+) и панцитокератин AE1/AE3, что при отсутствии экспрессии опухолевыми клетками остальных иммуногистохимических маркеров, включая рецепторы эстрогенов и

прогестерона, с учетом гистологического строения, свидетельствует в пользу злокачественной гастроинтестинальной стромальной опухоли, эпителиоидно-клеточного варианта.

С учетом данных гистологического и иммуногистохимического исследования (№ 47533/2018) новообразование тонкой кишки следует классифицировать как злокачественную гастроинтестинальную стромальную опухоль, эпителиоидно-клеточный вариант с 54 митозами в 50 полях зрения, при $\times 400$, со смешанным характером роста, с прорастанием всех слоев тонкой кишки и врастанием в окружающую жировую ткань, метастазы в 6 лимфатических узлах, в брюшине левого латерального канала, в малом и большом сальниках и в печени. Окончательный диагноз: Гастроинтестинальная стромальная опухоль тонкой кишки IV (T3N2M1) стадия, карциноматоз брюшины, Метастаз в III сегмент печени.

Больная консультирована химиотерапевтом, назначена этиотропная лекарственная терапия. При контрольном обследовании через 6 мес после выписки пациентка жива без признаков прогрессирования, в течение указанного срока наблюдения получает иматиниб (гливек) по 400 мг в сут.

Заключение

Представленный клинический случай описывает наблюдение беременности в сочетании с гастроинтестинальной стромальной опухолью и демонстрирует возможность изменения в исключительных случаях подходов в лечении пациентов с интраперитонеальной диссеминацией. Для этого необходимо иметь полную информацию о болезни: анамнез, гистотип опухоли, ее распространенность, возможность развития ближайших осложнений при росте опухоли, возможность выполнения оптимальной циторедуктивной операции при первичном обследовании и при динамическом наблюдении. Кроме того, данное наблюдение подчеркивает важность долгосрочного междисциплинарного подхода при ведении таких пациентов при участии онкологов, акушеров-гинекологов, неонатологов и других специалистов, что ведет к благополучному родоразрешению и проведению всего необходимого спектра лечения. Определяющим фактором успеха в данной ситуации являются своевременная диагностика, эффективная коммуникация между специалистами и проведенное комбинированное лечение. На данный момент по результатам контрольного обследования рецидива болезни у больной не обнаружено. Ребенок здоров, развивается соответственно возрасту.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Miettinen M., Lasota J. Gastrointestinal stromal tumors--definition, clinical, histological, immunohistochemical, and molecular genetic features and differential diagnosis. Virchows Arch. 2001 Jan; 438(1): 1–12. doi: 10.1007/s004280000338.
2. Никулин М.П., Стилиди И.С. Гастроинтестинальные стромальные опухоли (ГИСО). Эпидемиология, диагностика,

современные подходы к лечению. Современная онкология. Экстравыпуск. 2007. 350. [Nikulin M.P., Stilidi I.S. Gastrointestinal stromal tumors (GIST). Epidemiology, diagnostics, modern approaches to treatment. Modern oncology. Extra release. 2007. 3–50. (in Russian)].

3. Королева И.А., Королева А.М. Новые возможности терапии распространенных и метастатических гастроинтестинальных стромальных опухолей. Медицинский алфавит. 2016; 25(288): 7–15.

[Koroleva I.A., Koroleva A.M. New possibilities of advanced and metastatic gastrointestinal stromal tumors therapy. Medical alphabet. 2016; 25(288): 7–15. (in Russian)].

4. Егоров В.И., Кармазановский Г.Г., Щеголев В.А., Дубова Е.А., Яшина Н.И., Осипова Н.Ю., Степанова Ю.А., Солодинина Е.Н. Значение предоперационной визуализации для выбора хирургической тактики при гастроинтестинальных стромальных опухолях двенадцатиперстной кишки. Медицинская визуализация. 2017; 2: 34–43. [Egorov V.I., Karmazanovsky G.G., Shchegolev A.I., Dubova E.A., Yashina N.I., Osipova N.Yu., Stepanova Yu.A., Solodina E.N. A Significance of a Preoperative Diagnostic Imaging for Selection of a Tactic of Surgical Treatment of Stromal Gastrointestinal Tumors. Medical Visualization. 2017; 2: 34–43. (in Russian)].

5. Егоров В.И., Кубышкин В.А., Вишневецкий В.А., Щеголев А.И., Кармазановский Г.Г., Яшина Н.И., Степанова Ю.А., Солодинина Е.Н., Дубова Е.А. Гастроинтестинальные стромальные опухоли двенадцатиперстной кишки. Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. 2017; 10: 66–72. [Egorov V.I., Kubyshev V.A., Vishnevskiy V.A., Shchegolev A.I., Karmazanovskiy G.G., Iashina N.I., Stepanova Yu. A., Solodina E.N., Dubova E.A. Gastrointestinal stromal tumors of duodenum. Pirogov Russian Journal of Surgery. 2017; 10: 66–72. (in Russian)].

6. Кригер А.Г., Старков Ю.Г., Кармазановский Г.Г., Берелавичус С.В., Горин Д.С., Солодкий А.В., Ветшева Н.Н., Куришкина Н.А. Диагностика и тактика хирургического лечения гастроинтестинальной стромальной опухоли. Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. 2014; 1: 15–20. [Krieger A.G., Starkov Yu.G., Karmazanovskiy G.G., Berelavichus S.V., Gorin D.S., Solodkiy A.V., Vetsheva N.N., Kurushkina N.A. Diagnostics and tactics of gastrointestinal stromal tumor surgical treatment. Pirogov Russian Journal of Surgery. 2014; 1: 15–20. (in Russian)].

7. Пальцев М.А., Кактурский Л.В., Зайратьянц О.В. Патологическая анатомия: национальное руководство. М., 2011. 1264 с. [Fingers M.A., Kaktursky L.V., Zayratyants O.V. Pathological Anatomy: A National Guide. Moscow, 2011. 1264 p. (in Russian)].

8. Стромальные опухоли желудочно-кишечного тракта (GIST). Клиническая монография. Тверь, 2006. 40 с. [Stromal tumors of the gastrointestinal tract (GIST). Clinical monograph. Tver, 2006. 40 p. (in Russian)].

9. Hamilton S.R., Aaltonen L.A. World Health Organization classification of tumors. Tumors of the digestive system. Lyon: 2002. 314 p.

10. Hirota S., Isozaki K., Moriyama Y., Hashimoto K., Nishida T., Ishiguro S., Tunio G.M. Gain-of-function mutations of c-kit in human gastrointestinal stromal tumors. Science. 1998; 279: 577–580.

11. Miettinen M., Lasota J. Gastrointestinal stromal tumors (GISTs): definition, occurrence, pathology, differential diagnosis and molecular genetics. Pol J Pathol. 2003; 54: 3–24.

12. Архири П.П., Цымжитова Н.Ц., Стилиди И.С., Поддубная И.В., Никулин М.П., Цыганова И.В., Мазуренко Н.Н. Клиническое и прогностическое значение мутационного статуса у больных гастроинтестинальными стромальными опухолями. Саркомы костей,

мягких тканей и опухоли кожи. 2003; 1: 42–46. [Arkhir P.P., Tsyngitova N.T., Stilidi I.S., Poddubnaya I.V., Nikulin M.P., Tsyganova I.V., Anurova O.A., Mazurenko N.N. Clinical and prognostic value of mutational status in patients with gastrointestinal stromal tumors. Sarcomas of Bones, Soft Tissues and Skin Tumors. 2003; 1: 42–46. (in Russian)].

13. Corless C.L., Barnett C.M., Heinrich M.C. Gastrointestinal stromal tumours: origin and molecular oncology. Nat Rev Cancer. 2011 Nov 17; 11(12): 865–78. doi: 10.1038/nrc3143.

14. Lasota J., Miettinen M. KIT and PDGFRA mutations in gastrointestinal stromal tumors (GISTs). Semin Diagn Pathol. 2006 May; 23(2): 91–102. doi: 10.1053/j.semdp.2006.08.006.

15. Mazur M.T., Clark H.B. Gastric stromal tumors. Reappraisal of histogenesis. Am J Surg Pathol. 1983 Sep; 7(6): 507–19. doi: 10.1097/0000478-198309000-00001.

16. Богомолов Н.И., Кузнецова И.А., Чарторижская Н.Н., Прохоров Н.Б., Пахольчук П.П., Орлов А.А., Мартыросян Г.Ч., Синицын А.С., Скажутина Л.Н., Мусорина В.П., Курносов В.Д. GIST – гастроинтестинальные стромальные опухоли: опыт диагностики и лечения. Забайкальский медицинский вестник. 2010; 2: 32–5. [Bogomolov N.I., Kuznetsova I.A., Chartorizhskaya N.N., Prokhorov N.B., Pakholchuk P.P., Orlov A.A., Martirosyan G. Ch., Sinitsyn A.S., Skazhutina L.N., Musorina V.P., Kurnosov V.D. GIST – gastrointestinal stromal tumors: experience of diagnosis and treatment. Transbaikalian Medical Bulletin. 2010; 2: 32–5. (in Russian)].

17. Дубова Е.А., Щеголев А.И., Мишнев О.Д., Кармазановский Г.Г. Гастроинтестинальные стромальные опухоли (лекция). Медицинская визуализация. 2007; 1: 25–31. [Dubova E.A., Shchegolev A.I., Mishnev O.D., Karmazanovsky G.G. Nonepithelial gastrointestinal tumors (lecture). Medical Visualization. 2007; 1: 25–31. (in Russian)].

18. Маландин А.Г., Меркулов И.А., Иванов Ю.В., Пастухов А.И. Гастроинтестинальные стромальные опухоли (GIST): особенности диагностики и лечения. Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. 2012; 3: 32–41. [Malandin A.G., Merkulov I.A., Ivanov Yu. V., Pastukhov A.I. Gastrointestinal stromal tumours: features of diagnostics and treatment. Pirogov Russian Journal of Surgery. 2012; 3: 32–41. (in Russian)].

19. Овчинников В.А., Абеlevich А.И., Володин А.Н., Артифексова А.А., Кузнецов С.С. Гастроинтестинальные стромальные опухоли: клинические маски, диагностика, лечение. Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. 2009; 7: 63–65. [Ovchinnikov V.A., Abelevich A.I., Volodin A.N., Artifeksova A.A., Kuznetsov S.S. Gastrointestinal stromal tumors: clinical masks, diagnostics, treatment. Pirogov Russian Journal of Surgery. 2009; 7: 63–65. (in Russian)].

20. Joensuu H., Roberts P.J., Sarlomo-Rikala M., Andersson L.C., Tervahartia P., Tuveson D., Silberman S., Capdeville R., Dimitrijevic S., Druker B., Demetri G.D. Effect of the tyrosine kinase inhibitor STI571 in a patient with a metastatic gastrointestinal stromal tumor. N Engl J Med. 2001 Apr 5; 344(14): 1052–6. doi: 10.1056/NEJM200104053441404.

Поступила/Received 25.12.2019
Принята в печать/Accepted 11.02.2020

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Абдуллаев Амир Гусейнович, доктор медицинских наук, профессор, Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова (Сеченовский университет); ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). E-mail: amirido@mail.ru. SPIN-код: 5178-8384. AuthorID (РИНЦ): 874927.

Курбанов Асадулла Асадуллаевич, студент 5 курса, Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова (Сеченовский университет) (г. Москва, Россия). E-mail: asadulla10@mail.ru.

ВКЛАД АВТОРОВ

Абдуллаев Амир Гусейнович: разработка концепции научной работы, анализ данных, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Курбанов Асадулла Асадуллаевич: написание текста, анализ данных, 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

Amir G. Abdullaev, MD, DSc, Professor, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University); (Moscow, Russia). E-mail: amirido@mail.ru.

Asadulla A. Kurbanov, Student, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University) (Moscow, Russia). E-mail: asadulla10@mail.ru.

AUTHOR CONTRIBUTION

Amir G. Abdullaev: study conception, data analysis, critical revision for the important intellectual content.

Asadulla A. Kurbanov: writing of the manuscript, data analysis, drafting of the manuscript, critical revision for the important intellectual content.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

Для цитирования: Костромицкий Д.Н., Добродеев А.Ю., Афанасьев С.Г., Ли Н.А., Васильев Н.В., Подъяблонский А.С. Метастатическая первично-множественная меланома слизистой оболочки желудка и толстой кишки. Редкий клинический случай. Сибирский онкологический журнал. 2020; 19(6): 155–160. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-6-155-160.

For citation: Kostromitsky D.N., Dobrodeev A.Yu., Afanasyev S.G., Li N.A., Vasilyev N.V., Podyablonsky A.S. Metastatic multiple primary gastrointestinal melanoma: a case report. Siberian Journal of Oncology. 2020; 19(6): 155–160. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-6-155-160.

МЕТАСТАТИЧЕСКАЯ ПЕРВИЧНО-МНОЖЕСТВЕННАЯ МЕЛАНОМА СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ЖЕЛУДКА И ТОЛСТОЙ КИШКИ. РЕДКИЙ КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

Д.Н. Костромицкий^{1,2}, А.Ю. Добродеев¹, С.Г. Афанасьев¹, Н.А. Ли²,
Н.В. Васильев¹, А.С. Подъяблонский²

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

Россия, 634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5. E-mail: d.n.kostromitsky@tomonco.ru¹

ОГАУЗ «Томский областной онкологический диспансер», г. Томск, Россия²

Россия, 634050, г. Томск, пр. Ленина, 115²

Аннотация

Введение. Первичная меланома желудочно-кишечного тракта является редкой опухолью с частотой встречаемости 1 случай в 5–7 лет. За последние 100 лет в литературе описано не более 25 случаев первичной меланомы желудка и толстой кишки. Редкость данной патологии и стертая клиническая картина определяют трудности диагностики. Опухоль характеризуется агрессивным течением и ранним метастазированием. **Описание клинического случая.** Представлено редкое клиническое наблюдение пациента 65 лет с первичной меланомой желудка и толстой кишки с метастатическим поражением надпочечников, печени и забрюшинных лимфатических узлов. **Заключение.** Стандарты лечения первичной меланомы желудочно-кишечного тракта не разработаны и являются предметом научных дискуссий. Однако возможно добиться стабилизации опухолевого процесса при назначении схем паллиативной химиотерапии, используемой для лечения первичной меланомы кожи.

Ключевые слова: меланома, желудочно-кишечный тракт, метастазы, химиотерапия.

METASTATIC MULTIPLE PRIMARY GASTROINTESTINAL MELANOMA: A CASE REPORT

D.N. Kostromitsky^{1,2}, A.Yu. Dobrodeev¹, S.G. Afanasyev¹, N.A. Li²,
N.V. Vasilyev¹, A.S. Podyablonsky²

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center,

Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia¹

5, Kooperativny per., 634009, Tomsk, Russia, E-mail: d.n.kostromitsky@tomonco.ru¹

Tomsk Regional Oncology Center, Tomsk, Russia²

115, Lenina Prospekt, 634050, Tomsk, Russia²



Abstract

Primary gastrointestinal melanoma is a rare tumor with a frequency of 1 new case per 5–7 years. Over the past 100 years, there have been no more than 25 reported cases of primary melanoma of the stomach and colon. The rarity of the disease and nonspecific clinical features pose diagnostic challenges. The tumor is characterized by an aggressive growth and early metastasis. **Case description.** We present a rare clinical case of primary gastrointestinal melanoma with metastatic involvement of the adrenal glands, liver and retroperitoneal lymph nodes. **Conclusion.** To date, treatment standards for primary gastrointestinal melanoma have not been developed and are the subject of debate. However, palliative chemotherapy used for the treatment of primary skin melanoma may lead to disease stabilization in patients with gastrointestinal melanoma.

Key words: melanoma, gastrointestinal tract, metastases, chemotherapy.

Введение

Меланома является одной из наиболее агрессивных опухолей, обладающей высоким потенциалом злокачественности и способностью к раннему лимфогенному и гематогенному метастазированию [1]. Чаще всего меланоцитарные опухоли образуются из меланоцитов, расположенных в дерме, слизистых и мозговых оболочках, анальном канале [2]. Первичные меланомы верхних отделов пищеварительной трубки встречаются исключительно редко, поскольку нормальная слизистая оболочка желудка и пищевода не содержит в своей структуре меланоцитов. Меланома гастроинтестинальной зоны составляет 1–3 % всех карцином желудочно-кишечного тракта, однако в большинстве случаев это проявление метастатической меланомы кожи и хориоидеи [3].

Частота встречаемости истинной меланомы желудочно-кишечного тракта составляет 0,000004 случая/год. Пик заболеваемости первичной меланомой ЖКТ приходится на возраст 75 лет [4]. Этиология данной патологии ввиду орфанности остается малоизученной, предполагается, что развитие меланомы в слизистой оболочке пищеварительного тракта за пределами анального канала обусловлено эмбриональной эктопией предшественников меланоцитов либо трансформацией клеток APUD-системы в меланоциты под воздействием различных факторов [1, 5].

Бессимптомное течение, отсутствие патогномичной клинической картины и раннее метастазирование определяют сложности своевременной диагностики данной патологии [6]. Чаще всего заболевание манифестирует болями в брюшной полости, желудочно-кишечными кровотечениями и обтурационным синдромом, что свидетельствует о местнораспространенном процессе [7]. Кроме того, сложности эндоскопической диагностики связаны с неравномерным распределением меланина в первичном очаге, что затрудняет интерпретацию выявленных изменений и выбор оптимальной зоны для биопсии. Дифференциальная диагностика первичной и метастатической меланомы заключается в тщательном сборе анамнеза, осмотре кожных покровов, сетчатки глаза, анального канала [1]. На практике лечение больных данной категории

схоже с лечением больных с меланомой кожи (при операбельном процессе проводится хирургическое лечение, при метастатических формах – химиотерапия и иммунотерапия) [8]. Первичная меланома желудочно-кишечного тракта отличается агрессивным характером течения заболевания, что обуславливает более неудовлетворительные отдаленные результаты, чем при первичном раке желудка или толстой кишки. Данное обстоятельство многие авторы объясняют быстрым метастазированием за счет выраженной лимфоваскулярной сети в стенке ЖКТ [9]. Медиана общей выживаемости пациентов с первичной гастроинтестинальной меланомой не превышает 6 мес. Выживаемость без прогрессирования при меланоме желудка составляет 12 мес, а 5-летний срок переживают не более 10 % больных [10, 11].

Первый случай меланомы желудочно-кишечного тракта был описан Е.Н. Вав в 1906 г. [12]. С того времени в мировой литературе описано не более 370 случаев первичной меланомы пищевода и около 25 наблюдений первичной меланомы желудка [13, 14], при этом на долю отечественных авторов приходится только 1 сообщение [15]. Меланома толстой кишки – еще более редкая опухоль. В доступной литературе нам не встретилось описания первично-множественной метастатической меланомы желудка и толстой кишки.

В данном сообщении представлен случай первично-множественной меланомы слизистой желудка и восходящего отдела толстой кишки с метастатическим поражением печени, надпочечников и забрюшинных лимфатических узлов.

Клинический случай

Больной Л., 65 лет, в апреле 2016 г. отметил появление тяжести в эпигастрии после приема пищи. Терапевтом поликлиники по месту жительства были назначены блокаторы протонной помпы с положительным эффектом. В мае 2016 г. явления дискомфорта усилились, что заставило больного самостоятельно обратиться в одно из лечебных учреждений г. Томска для ЭГДС, где при эндоскопическом исследовании в желудке были выявлены 4 полиповидных образования субкардиального отдела. При гистологическом исследовании биопсийного материала диагностирован перстневидноклеточный рак желудка.

С этим диагнозом больной был направлен на консультацию в ОГАУЗ «Томский областной онкологический диспансер», где повторно проведена видеогастроскопия высокого разрешения с осмотром в режиме «узкого спектра» (NBI), хромо스코пией с индигокармином и биопсией, по данным которой во всех отделах желудка выявлено 11 образований, размером от 5 до 8 мм, как на возвышенном основании, так и уплощенные, полигональной и округлой формы, с умбиликацией в центре, гребневидным нерегулярным рисунком ямок и неоангиогенезом у части образований. Наиболее мелкие из выявленных образований отличались гиперпигментацией (рис. 1, 2). В плане дообследования проведена эндоскопическая ультрасонография, при которой установлено, что гипоехогенные образования с четкими и ровными контурами расположены в мышечной пластинке слизистой оболочки желудка (рис. 3).



Рис. 1. Видеогастроскопия в режиме «белого света» с окраской индигокармином. Полиповидные образования тела желудка с умбиликацией в центре, пигментация верхушки
Fig. 1. White light gastroscopy with indigo carmine staining. Polypoid lesion with central umbilication in the gastric body, pigmentation of the apex

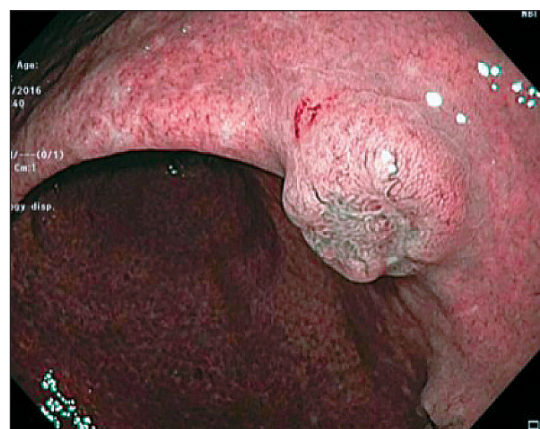


Рис. 2. Видеогастроскопия в режиме NBI. Полиповидное образование тела желудка, гребневидный нерегулярный рисунок ямок с признаками неоангиогенеза
Fig. 2. Narrow-band imaging gastroscopy. Polypoid lesion in the gastric body, ridge-shaped irregular pit pattern with signs of neoangioneogenesis

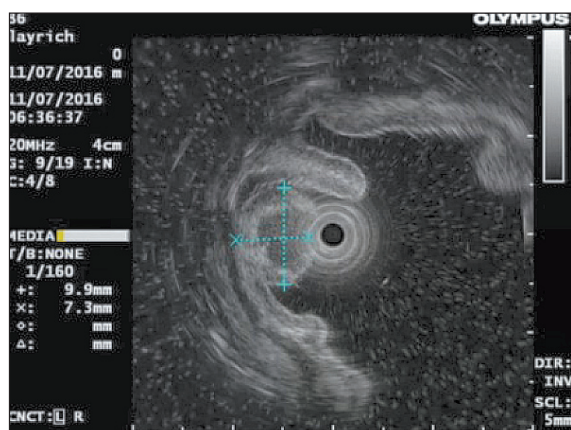


Рис. 3. Эндосонография. Гипоехогенное образование в мышечной пластинке слизистой оболочки желудка
Fig. 3. Endosonography. Hypoechoic lesion in the muscle plate of the gastric mucosa

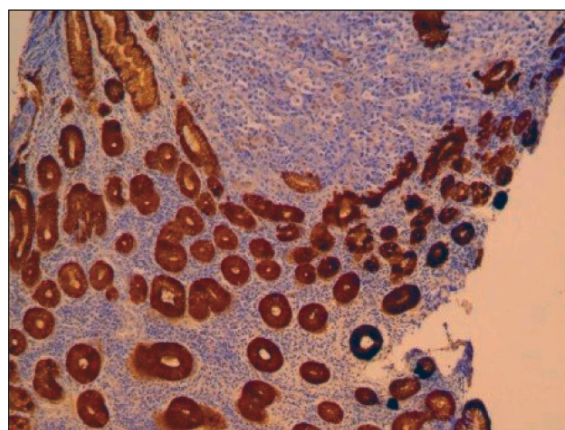


Рис. 4. Микрофото. Иммуногистохимическое исследование. Отрицательная экспрессия мультицитокератина, $\times 200$
Fig. 4. Microphoto. Immunohistochemical study. Negative expression of multicytokeratin, $\times 200$

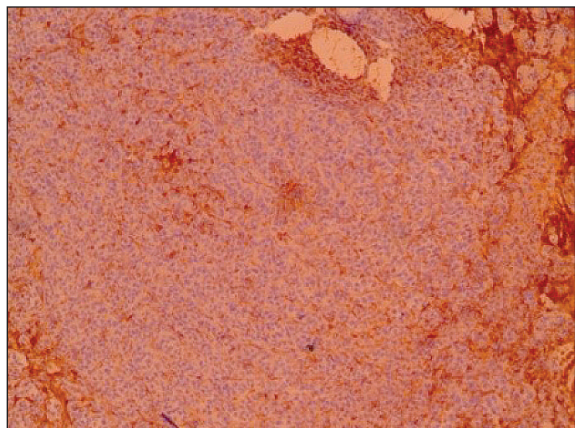


Рис. 5. Микрофото. Иммуногистохимическое исследование. Отрицательная экспрессия CD45, $\times 200$
Fig. 5. Microphoto. Immunohistochemical study. Negative expression of CD45, $\times 200$

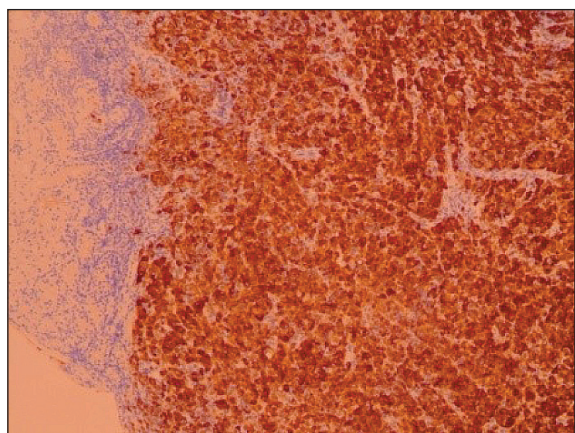


Рис. 6. Микрофото. Иммуногистохимическое исследование. Мелан-А: мембранная и ядерная экспрессия опухолевыми клетками, $\times 200$
Fig. 6. Microphoto. Immunohistochemical study. Melan-A: membrane and nuclear expression by tumor cells, $\times 200$

лимфатических узлов (рис. 8). По данным МРТ органов грудной полости, головного мозга, УЗИ паховых, аксиллярных и шейных лимфатических узлов данных за наличие отдаленных метастазов не получено.

В анамнезе у больного не было удаления доброкачественных или злокачественных новообразований кожи. В целях поиска возможного первичного очага и исключения метастатического характера опухоли желудка больной был осмотрен онкодерматологом и офтальмологом. Признаков «типичной» меланомы и другой опухолевой патологии кожи, глазного яблока не выявлено.

На основании проведенного обследования установлен окончательный клинический диагноз: первично-множественная меланома желудка и слепой кишки IV стадии с метастатическим поражением печени, надпочечников и забрюшинных лимфатических узлов.

По решению мультидисциплинарного консилиума в связи с диссеминацией опухолевого процесса

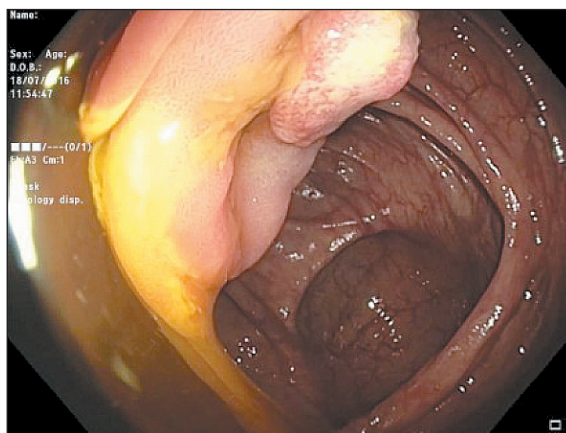


Рис. 7. Видеоколоноскопия в режиме «белого света». Полиповидное образование области илеоцекального клапана
Fig. 7. White light colonoscopy. Polypoid lesion of the ileocecal valve

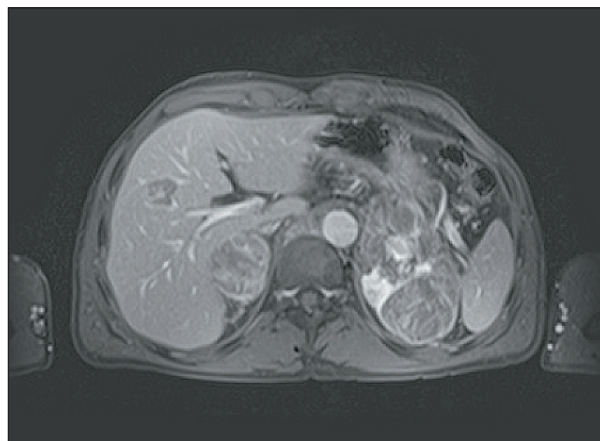


Рис. 8. МРТ органов брюшной полости и забрюшинного пространства. Метастатическое поражение правой доли печени (S5) и обоих надпочечников

Fig. 8. MRI of the abdominal and retroperitoneal organs. Metastatic lesion of the right lobe of the liver (S5) and both adrenal glands

было рекомендовано проведение паллиативной химиотерапии. В условиях ОГАУЗ «Томский областной онкологический диспансер» пациенту проведено 6 курсов химиотерапии дакарбазином в дозе 250 мг/м², внутривенно с 1-го по 5-й дни. Пациент удовлетворительно перенес лечение, субъективно отмечалось улучшение состояния в виде отсутствия дискомфорта и болей в брюшной полости. При контрольном обследовании через 1 год после окончания курсов химиотерапии отмечена стабилизация процесса. При контрольном обследовании через 1,5 года после окончания лечения отмечалось ухудшение состояния, по данным инструментальных методов обследования выявлено обширное метастатическое поражение забрюшинных лимфатических узлов. В связи с обширной распространенностью процесса и неудовлетворительным общим состоянием паци-

ента рекомендовано симптоматическое лечение по месту жительства. Больной скончался от прогрессирования заболевания через 23 мес после установки диагноза.

Заключение

Данный клинический случай свидетельствует о том, что меланома желудочно-кишечного тракта отличается крайне агрессивным течением и неблагоприятным прогнозом и даже при малых размерах первичного очага способна к обширному отдаленному метастазированию. Стандарты лечения метастатической меланомы слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта не разработаны, однако возможно добиться стабилизации опухолевого процесса при назначении схем паллиативной химиотерапии, используемой для лечения первичной меланомы кожи.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Khaliq A., Siddappa P.K., Thandassery R.B., Kochhar R., Bhattacharya A., Vaiphei K., Singh K. Melanoma of stomach. *J Gastrointest Cancer*. 2012 Dec; 43(4): 630–3. doi: 10.1007/s12029-011-9342-5.
2. Li H., Fan Q., Wang Z., Xu H., Li X., Zhang W., Zhang Z. Primary malignant melanoma of the duodenum without visible melanin pigment: a mimic of lymphoma or carcinoma. *Diagn Pathol*. 2012 Jun 26; 7: 74. doi: 10.1186/1746-1596-7-74.
3. Тутов К.С., Долгопятов И.А., Аскерова З.М., Атрошенко А.О. Первичная меланома желудочно-кишечного тракта (обзор литературы). *Колопроктология*. 2017; (2): 94–99. [Titov K.S., Dolgopyatov I.A., Askerova Z.M., Atroshchenko A.O. Gastro-intestinal melanoma (review). *Coloproctology*. 2017; (2): 94–99. (in Russian)].
4. Ahn J.Y., Hwang H.S., Park Y.S., Kim H.R., Jung H.Y., Kim J.H., Lee S.E., Kim M.A. Endoscopic and pathologic findings associated with clinical outcomes of melanoma in the upper gastrointestinal tract. *Ann Surg Oncol*. 2014; 21(8): 2532–9. doi: 10.1245/s10434-014-3637-2.
5. Blecker D., Abraham S., Furth E.E., Kochman M.L. Melanoma in the gastrointestinal tract. *Am J Gastroenterol*. 1999 Dec; 94(12): 3427–33. doi: 10.1111/j.1572-0241.1999.01604.x.
6. Kotschade L.A., Grotz T.E., Dronca R.S., Salomao D.R., Pulido J.S., Wasif N., Jakub J.W., Bagaria S.P., Kumar R., Kaur J.S., Morita S.Y., Moran S.L., Nguyen J.T., Nguyen E.C., Hand J.L., Erickson L.A., Brewer J.D., Baum C.L., Miller R.C., Swanson D.L., Lowe V., Markovic S.N. Rare presentations of primary melanoma and special populations: a systematic review. *Am J Clin Oncol*. 2014 Dec; 37(6): 635–41. doi: 10.1097/COC.0b013e3182868e82.
7. Idir B.A., Riany A., Jahid A., Chad B. Primary melanoma of the small bowel revealed by gastrointestinal bleeding: a case report. *J Med Case Rep*. 2016 Dec 1; 10(1): 335. doi: 10.1186/s13256-016-1119-9.
8. Deutsch G.B., Flaherty D.C., Kirchoff D.D., Bailey M., Vitug S., Foshag L.J., Faries M.B., Bilchik A.J. Association of Surgical Treatment, systemic therapy, and survival in patients with abdominal visceral melanoma metastases, 1965–2014: relevance of surgical cure in the era of

modern systemic therapy. *JAMA Surg*. 2017 Jul 1; 152(7): 672–678. doi: 10.1001/jamasurg.2017.0459.

9. Sachs D.L., Lowe L., Chang A.E., Carson E., Johnson T.M. Do primary small intestinal melanomas exist Report of a case. *J Am Acad Dermatol*. 1999; 41: 1042–44. doi: https://doi.org/10.1016/S0190-9622(99)70273-2.

10. Giannini I., Cutrignelli D.A., Resta L., Gentile A., Vincenti L. Metastatic melanoma of the gallbladder: report of two cases and a review of the literature. *Clin Exp Med*. 2016 Aug; 16(3): 295–300. doi: 10.1007/s10238-015-0353-6.

11. Shustef E., Torres-Cabala C.A., Curry J.L., Tetzlaff M.T., Nagarajan P., Ivan D., Prieto V.G., Aung P.P. Intraepithelial melanoma in the stomach after treatment with immune checkpoint blockade therapy. *Am J Dermatopathol*. 2017 Aug; 39(8): e116e118. doi: 10.1097/DAD.0000000000000859.

12. Baur E.H. Ein Fall von primärem melanom des esophagus. *Arch Pathol Anat Inst Tubingen*. 1906; 5: 343–354.

13. Tacastacas J.D., Bray J., Cohen Y.K., Arbesman J., Kim J., Koon H.B., Honda K., Cooper K.D., Gerstenblith M.R. Update on primary mucosal melanoma. *J Am Acad Dermatol*. 2014 Aug; 71(2): 366–75. doi: 10.1016/j.jaad.2014.03.031.

14. Wang L., Zong L., Nakazato H., Wang W.-Y., Li C.-F., Shi Y.-F., Zhang G.-C., Tang T. Primary advanced esophago-gastric melanoma: A rare case. *World J Gastroenterol*. 2016 Mar; 22(11): 3296–301. doi: 10.3748/wjg.v22.i11.3296.

15. Тонеев Е.А., Чарышкин А.Л., Деньгина Н.В., Жинов А.В., Мартынов А.А., Горднов С.В., Лазаревский М.М. Случай первичной меланомы желудка. Злокачественные опухоли. 2020; 10(1): 35–40. [Toneev E.A., Charyshkin A.L., Dengina N.V., Zhinov A.V., Martynov A.A., Gordonov S.V., Lazarevskiy M.M. A case of primary gastric melanoma. *Malignant Tumours*. 2020; 10(1): 35–40. (in Russian)]. doi: 10.18027/2224-5057-2020-10-35-40.

Поступила/Received 02.12.2019
Принята в печать/Accepted 20.05.2020

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Костромицкий Дмитрий Николаевич, кандидат медицинских наук, младший научный сотрудник отделения абдоминальной онкологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук; врач-онколог, Томский областной онкологический диспансер (г. Томск, Россия). E-mail: d.n.kostromitsky@tomonco.ru. SPIN-код: 9466-6641. AuthorID (РИНЦ): 916654. ORCID: 0000-0001-5691-2349.

Добродеев Алексей Юрьевич, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник отделения абдоминальной онкологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). E-mail: dobrodeev@oncology.tomsk.ru. SPIN-код: 5510-4043. AuthorID (РИНЦ): 312703. ORCID: 0000-0002-2748-0644. Researcher ID (WOS): B-5644-2017. Author ID (Scopus): 24832974200.

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). E-mail: afanasievsg@oncology.tomsk.ru. SPIN-код: 9206-3037. ORCID: 0000-0002-4701-0375. Researcher ID (WOS): D-2084-2012. Author ID (Scopus): 21333316900.

Ли Наталья Анатольевна, заведующая отделением внутрисветовой эндоскопической диагностики, Томский областной онкологический диспансер (г. Томск, Россия). E-mail: nat.an.li@mail.ru. SPIN-код: 9591-8111. AuthorID (HBYW): 809767. ORCID: 0000-0001-5733-8561.

Васильев Николай Вольтович, кандидат медицинских наук, врач-патологоанатом, отделение общей и молекулярной патологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 1627-5226. AuthorID (РИНЦ): 560293. Researcher ID (WOS): D-1144-2012. Author ID (Scopus): 57192110276. ORCID: 0000-0002-4066-2688.

Подьяблонский Андрей Сергеевич, врач-рентгенолог, отделение МРТ, Томский областной онкологический диспансер (г. Томск, Россия). E-mail: uapple92@gmail.com. SPIN-код: 5634-6339. AuthorID (РИНЦ): 910126. ORCID: 0000-0001-8922-5342.

ВКЛАД АВТОРОВ

Костромницкий Дмитрий Николаевич: разработка концепции научной работы, анализ научной работы, иллюстрации, составление черновика рукописи.

Добродеев Алексей Юрьевич: разработка концепции научной работы, анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Афанасьев Сергей Геннадьевич: анализ научной работы, рецензирование, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Ли Наталья Анатольевна: получение и анализ данных.

Васильев Николай Вольтович: анализ научной работы, подготовка иллюстраций.

Подьяблонский Андрей Сергеевич: проведение МРТ, анализ данных МРТ, составление черновика рукописи.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы объявляют, что у них нет конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Dmitry N. Kostromitsky, MD, PhD, Junior Researcher, Department of Abdominal Oncology, Oncology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences; Physician, Tomsk Regional Oncology Center (Tomsk, Russia). E-mail: d.n.kostromitsky@tomonco.ru. ORCID: 0000-0001-5691-2349.

Alexey Yu. Dobrodeev, MD, DSc, Leading Researcher, Department of Abdominal Oncology, Oncology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). E-mail: dobrodeev@oncology.tomsk.ru. ORCID: 0000-0002-2748-0644. Researcher ID (WOS): B-5644-2017. Author ID (Scopus): 24832974200.

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.

Natalya A. Li, MD, Head of Intraluminal Endoscopic Diagnostic Department, Tomsk Regional Oncology Center (Tomsk, Russia). E-mail: nat.an.li@mail.ru. ORCID: 0000-0001-5733-8561.

Nikolay V. Vasilyev, MD, PhD, Pathologist, Department of General and Molecular Pathology, Oncology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): D-1144-2012. Author ID (Scopus): 57192110276. ORCID: 0000-0002-4066-2688.

Andrey S. Podyablonsky, MD, Roentgenologist, MRI Department, Tomsk Regional Oncology Center (Tomsk, Russia). Email: uapple92@gmail.com. ORCID: 0000-0001-8922-5342.

AUTHOR CONTRIBUTION

Dmitry N. Kostromitsky: study conception and design, data analysis, statistical processing, illustrations, drafting of the manuscript.

Alexey Yu. Dobrodeev: study conception and design, data analysis, critical review for important intellectual content.

Sergey G. Afanasyev: data analysis, peer review, critical review for important intellectual content.

Natalya A. Li: data collection and analysis.

Nikolay V. Vasilyev: data analysis, picture making

Andrey S. Podyablonsky: analysis of MRI data, drafting of the manuscript.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

ПАМЯТИ ПРОФЕССОРА АНДРЕЯ ПЕТРОВИЧА КОШЕЛЯ



26 ноября 2020 г. после тяжелой болезни на 55-м году жизни скончался доктор медицинских наук, профессор, главный врач Томской городской клинической больницы № 3 им. Б.И. Альперовича Андрей Петрович Кошель.

Андрей Петрович Кошель родился 2 августа 1966 г. в селе Первомайском Томской области. В 1989 г. окончил Томский медицинский институт по специальности «лечебное дело», работал врачом-интерном, а по окончании интернатуры – врачом-хирургом в городской больнице № 3.

В 1992 г. защитил кандидатскую диссертацию «Ошибки, опасности и осложнения резекции печени», в 1999 г. – докторскую «Новые технологии формирования «искусственного желудка» с арефлюксными анастомозами: экспериментально-клиническое исследование». По результатам работы получено 2 патента РФ.

С 1994 г. он был ассистентом кафедры хирургии факультета повышения квалификации Сибирского государственного медицинского университета, с 2000 г. – профессором этой же кафедры, где читал курс лекций и вел практические занятия с врачами по ряду циклов тематического и общего усовершенствования: абдоминальная хирургия; неотложная хирургия с курсом урологии; амбулаторная хирургия, клиническая анатомия и оперативная хирургия органов брюшной полости; онкология и онкогастроэнтерология и других. Под его руководством защищены 3 кандидатские и 1 докторская диссертация.

С 2002 г. Андрей Петрович Кошель занимал пост заместителя директора по научно-исследовательской работе НИИ гастроэнтерологии Сибирского государственного медицинского уни-

верситета. В 2014 г. возглавил областное государственное учреждение здравоохранения «Медицинский центр им. Г.К. Жерлова», оказывающее специализированную и высокотехнологичную медицинскую помощь жителям Томской области и Сибирского региона. С 2008 г. был заведующим кафедрой хирургии факультета повышения квалификации и профессиональной переподготовки специалистов Сибирского государственного медицинского университета. С 2013 по 2018 г. являлся главным внештатным онкологом Томской области. На должность главного врача Томской городской клинической больницы № 3 им. Б.И. Альперовича профессор А.П. Кошель был назначен в июне 2016 г.

В Андрее Петровиче Кошеле гармонично сочетались увлеченность преподавателя, врачебный талант и мастерство руководителя. Он активно занимался разработкой, изучением и внедрением в клиническую практику новых, наукоемких органосохраняющих, органовосстанавливающих и органомоделирующих технологий хирургического лечения сложных и тяжелых заболеваний органов пищеварения, в том числе онкологических и предраковых. Им была составлена шкала оценки степени операционного риска при хирургическом лечении пациентов с заболеваниями печени, по которой можно еще до операции с большой долей вероятности предвидеть развитие осложнений.

Андрей Петрович Кошель занимался проблемой улучшения качества жизни пациентов после хирургического лечения заболеваний пищеварительного тракта, а также вопросами диагностики и лечения гастроэнтерологической патологии. Он разработал и внедрил в клиническую практику

методику формирования «искусственного желудка» с рефлюксными анастомозами, что позволило значительно уменьшить частоту и тяжесть постгастрорезекционных и постгастрэктомических расстройств.

Многогранной была и научно-общественная деятельность профессора А.П. Кошеля. Он неоднократно выступал с докладами на международных и всероссийских конференциях, съездах, в их числе на X и XI съездах хирургов России (Волгоград, 2000, 2011); Российско-китайской конференции по проблемам традиционной и нетрадиционной

медицины (Маньчжурия, 2007); III съезде хирургов Сибири и Дальнего Востока (Томск, 2009); XIX Международном конгрессе хирургов-гепатологов стран СНГ (Иркутск, 2012) и др. Под его авторством опубликовано более 100 научных работ, 6 монографий, 4 учебно-методических пособия для врачей-курсантов, получено 16 патентов на изобретения, 1 авторское свидетельство.

Коллеги и пациенты знали Андрея Петровича Кошеля как грамотного руководителя, ответственного и высококомпетентного врача, отзывчивого, внимательного и тактичного человека.

*Коллектив НИИ онкологии Томского НИМЦ,
редакционная коллегия «Сибирского онкологического журнала»,
коллеги, друзья и однокурсники выражают
глубочайшие соболезнования родным и близким.*
