

Учредитель:  
Федеральное государственное бюджетное  
научное учреждение  
«Томский научно-исследовательский  
институт онкологии»

*Founder of the journal:*  
*Tomsk Cancer Research Institute*

Издается с мая 2002 г.  
Founded in 2002

Индекс по каталогу «Роспечать» – 46827

Адрес редакции:  
634050, г. Томск, пер. Кооперативный, 5  
e-mail: AfanasievSG@oncology.tomsk.ru  
тел.: (3822) 418089, 513269  
факс: (3822) 514097  
www.oncology.tomsk.ru/nii/journal/

Электронная версия журнала  
также представлена на сайтах:  
www.rosoncweb.ru/journals/sib\_oncology/  
http://elibrary.ru/

*Address of the Editorial Office:*  
*5, Kooperativny Str., 634050, Tomsk, Russia*  
*e-mail: AfanasievSG@oncology.tomsk.ru*  
*telephone: +7(3822) 418089, 513269*  
*fax: +7 (3822) 514097*  
*www.oncology.tomsk.ru/nii/journal/*

Редакторы:  
В.С. Сумарокова, Е.В. Лукина  
*Editors: Sumarokova V.S., Lukina E.S.*  
Верстка:



Подписано в печать 30.10.2015 г.  
Формат 60x84<sup>1/8</sup>.

Бумага офсетная №1. Печать офсетная.  
Гарнитура Times New Roman Cyr  
Печ. л. 14,5; усл. печ. л. 13,5; уч.-изд. л. 13,9.  
Тираж 1000 экз. Заказ .

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

# СИБИРСКИЙ ОНКОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

## SIBERIAN JOURNAL OF ONCOLOGY

## SIBIRSKIY ONCOLOGICHESKIY ZHURNAL

*SCIENTIFIC PRACTICAL JOURNAL  
ISSUED ONCE IN TWO MONTHS*

Двухмесячный научно-практический журнал

**№ 5**

**2015**

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

*The journal is registered by the Federal Service for Supervision of Communications, Information Technology and Mass Media 20.03.2003 № 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

*The journal is included in the list of Russian peer-reviewed scientific journals in which major scientific results of dissertations for the degree of doctor and candidate of sciences should be published.*

Журнал включен в Реферативный журнал и базы данных ВИНТИ, БД «Российский индекс научного цитирования». Сведения о журнале ежегодно публикуются в международной справочной системе по периодическим и продолжающимся изданиям «Ulrich's Periodicals Directory»  
*The journal is indexed in the database of RSCI (Russian Science Citation Index), Ulrich's Periodicals Directory*

При перепечатке ссылка на «Сибирский онкологический журнал» обязательна

<b>Главный редактор –</b>	<b>Editor-in-chief –</b>
Е.Л. Чойнзонов, <i>д.м.н., академик РАН, профессор</i>	E.L. Choynzonov, <i>DSc, Academician of RAS, Professor</i>
<b>Заместители главного редактора –</b>	<b>Deputy Editor-in-chief –</b>
В.Е. Гольдберг, <i>д.м.н., профессор</i> Н.В. Чердынцева, <i>д.б.н., профессор</i>	V.E. Goldberg, <i>DSc, Professor</i> N.V. Cherdyntseva, <i>DSc, Professor</i>
<b>Отв. секретарь –</b>	<b>Executive secretary –</b>
С.Г. Афанасьев, <i>д.м.н., профессор</i>	S.G. Afanasyev, <i>DSc, Professor</i>
<b>Члены редколлегии:</b>	<b>Editorial members:</b>
М.И. Давыдов, <i>академик РАН, д.м.н., профессор</i>	M.I. Davydov, <i>DSc, DSc, Academician of RAS, Professor</i>
Е.Н. Имянитов, <i>д.м.н., профессор</i>	Ye.N. Imyanitov <i>DSc, Professor</i>
Л.А. Коломиец, <i>д.м.н., профессор</i>	L.A. Kolomiets, <i>DSc, Professor</i>
И.В. Кондакова, <i>д.м.н., профессор</i>	I.V. Kodakova, <i>DSc, Professor</i>
С.А. Некрылов, <i>д.и.н., профессор</i>	S.A. Nekrylov, <i>DSc, Professor</i>
В.А. Новиков, <i>д.м.н.</i>	V.A. Novikov, <i>DSc</i>
И.Н. Одинцова, <i>д.м.н.</i>	I.N. Odintsova, <i>DSc</i>
В.М. Перельмутер, <i>д.м.н., профессор</i>	V.M. Perelmuter, <i>DSc, Professor</i>
Е.М. Слонимская, <i>д.м.н., профессор</i>	E.M. Slonimskaya, <i>DSc, Professor</i>
Ж.А. Старцева, <i>д.м.н.</i>	Zh.A. Startseva, <i>DSc</i>
С.А. Тузиков, <i>д.м.н., профессор</i>	S.A. Tuzikov, <i>DSc, Professor</i>
В.В. Удут, <i>д.м.н., член-корр. РАН, профессор</i>	V.V. Udut, <i>DSc, Associate Member of RAMS, Professor</i>
И.Г. Фролова, <i>д.м.н., профессор</i>	I.G. Frolova, <i>DSc, Professor</i>
О.В. Черемисина, <i>д.м.н.</i>	O.V. Cheremisina <i>DSc</i> ,
Е.Р. Черных, <i>д.м.н., член-корр. РАН, профессор</i>	E.R. Chernykh, <i>DSc, Associate Member of RAMS, Professor</i>
С. Айер ( <i>Индия</i> )	S. Iyer ( <i>India</i> )
М. Джугашвили ( <i>Испания</i> )	M. Dzhugashvili ( <i>Spain</i> )
В. Кесик ( <i>Хорватия</i> )	V. Kesic ( <i>Croatia</i> )
Ю. Кжышковска ( <i>Германия</i> )	Yu. G. Kzhyshkovska ( <i>Germany</i> )
Т. Кондо ( <i>Япония</i> )	T. Kondo ( <i>Japan</i> )
Г. Марголин ( <i>Швеция</i> )	G. Margolin ( <i>Sweden</i> )
Л. Унгар ( <i>Венгрия</i> )	L. Ungar ( <i>Hungary</i> )
М.Б. Фрейдин ( <i>Великобритания</i> )	M. Freidin ( <i>UK</i> )
Т.-Х. Чунг ( <i>Гонконг, Китай</i> )	Cheung Tak-Hong ( <i>Hong-Kong, China</i> )
Дж. Ша ( <i>США</i> )	J. Shah ( <i>USA</i> )
И.Б. Шчепотин ( <i>Украина</i> )	I.B. Shchepotin ( <i>Ukraine</i> )
А. Ю ( <i>Тайвань</i> )	A. Yu ( <i>Taiwan</i> )
<b>Редакционный совет:</b>	<b>Editorial committee:</b>
А.В. Важенин ( <i>Челябинск</i> )	A.V. Vazhenin ( <i>Chelyabinsk</i> )
М.В. Волков ( <i>Владивосток</i> )	M.V. Volkov ( <i>Vladivostok</i> )
В.В. Дворниченко ( <i>Иркутск</i> )	V.V. Dvornichenko ( <i>Irkutsk</i> )
Ю.А. Дыхно ( <i>Красноярск</i> )	Yu.A. Dykhno ( <i>Krasnoyarsk</i> )
П.Д. Каратаев ( <i>Якутск</i> )	P.D. Karataev ( <i>Yakutsk</i> )
В.Л. Коваленко ( <i>Хабаровск</i> )	V.L. Kovalenko ( <i>Khabarovsk</i> )
С.А. Коломиец ( <i>Кемерово</i> )	S.A. Kolomiets ( <i>Kemerovo</i> )
В.К. Косенок ( <i>Омск</i> )	V.K. Kosenok ( <i>Omsk</i> )
А.Ф. Лазарев ( <i>Барнаул</i> )	A.F. Lazarev ( <i>Barnaul</i> )
С.В. Лесков ( <i>Чита</i> )	S.V. Leskov ( <i>Chita</i> )
А.А. Модестов ( <i>Красноярск</i> )	A.A. Modestov ( <i>Krasnoyarsk</i> )
А.П. Перинов ( <i>Улан-Удэ</i> )	A.P. Perinov ( <i>Ulan-Ude</i> )
С.В. Сидоров ( <i>Новосибирск</i> )	S.V. Sidorov ( <i>Novosibirsk</i> )
С.Н. Тараканов ( <i>Магадан</i> )	S.N. Tarakanov ( <i>Magadan</i> )

## СОДЕРЖАНИЕ

### КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

<i>Силантьева Н.К., Агабабян Т.А., Скоропад В.Ю., Гришина О.Г.</i> Задачи компьютерной томографии при обследовании больных раком желудка в онкордиологической клинике .....	5
<i>Гулидов И.А., Иванова И.Н., Гоголин Д.В., Горский А.И., Курсова Л.В., Букша А.Ю., Рагулин Ю.А.</i> Сравнительный анализ лучевой нагрузки на мишень и критические органы при 2D и 3D планировании лучевой терапии рака легкого .....	14
<i>Черниковский И.Л.</i> Ручной колоанальный или аппаратный колоректальный анастомоз? Сравнительный анализ лапароскопических низких резекций прямой кишки .....	21
<i>Ульянин М.Ю., Басиашвили Г.Т., Хасанов Р.Ш., Бурмистров М.В., Гатауллин И.Г.</i> Трансуретральная резекция стенки мочевого пузыря с опухолью единым блоком .....	30
<i>Шильникова И.И., Дмитриева Н.В.</i> Оценка чувствительности к антибиотикам анаэробных возбудителей <i>Bacteroides</i> , <i>Prevotella</i> и <i>Fusobacterium</i> , выделенных от онкологических больных .....	37

### ЛАБОРАТОРНЫЕ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

<i>Юрмазов З.А., Усынин Е.А., Спирина Л.В., Кондакова И.В., Слонимская Е.М.</i> Прогностическое значение экспрессии транскрипционных факторов, фактора роста VEGF, его рецептора, протеинкиназы m-TOR и активности внутриклеточных протеиназ у больных диссеминированным раком почки .....	44
<i>Тыринова Т.В., Леплина О.Ю., Тихонова М.А., Баторова Д.С., Ушакова Г.Ю., Сергеевичева В.В., Сизикова С.А., Крючкова И.В., Останин А.А., Черных Е.Р.</i> Угнетение противоопухолевой цитотоксической активности дендритных клеток у больных злокачественными лимфомами, обусловленное измененной экспрессией фактора некроза опухоли альфа .....	51
<i>Цыганов М.М., Ибрагимова М.К., Слонимская Е.М., Чердынцева Н.В., Литвяков Н.В.</i> Однонуклеотидный полиморфизм опухоли молочной железы и экспрессия ABC-транспортеров после неоадьювантной химиотерапии .....	59
<i>Комина А.В., Аксененко М.Б., Палкина Н.В., Артемьев С.А., Рукша Т.Г.</i> Особенности экспрессионного профиля микроРНК в клетках меланомы и опухолевом микроокружении .....	67
<i>Черемисина О.В., Панкова О.В., Меньшиков К.Ю., Чойнзонов Е.Л.</i> Характер экспрессии маркеров пролиферативной активности, апоптоза и клеточной дифференцировки при предраке и раке гортани .....	74
<i>Раскин Г.А., Петров С.В., Орлова Р.В.</i> Иммуногистохимическое исследование MSH2, MSH6, PMS2, MLH1 в определении степени злокачественности аденокарциномы толстой кишки .....	80

### ОПЫТ РАБОТЫ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ УЧРЕЖДЕНИЙ

<i>Трухачёва Н.Г., Фролова И.Г., Коломиец Л.А., Усова А.В., Григорьев Е.Г., Величко С.А., Чуруксаева О.Н., Шпилёва О.В.</i> МРТ в оценке эффективности химиолучевого лечения местнораспространенного рака шейки матки .....	84
<i>Зайков А.А., Важенин И.А., Чайченко Д.В., Галямова Ю.В.</i> Опыт использования комбинации радиохирургии и резекции печени при обширном метастатическом поражении .....	92

### ОБЗОРЫ

<i>Одинцова И.Н., Писарева Л.Ф., Хряпенов А.В.</i> Эпидемиология злокачественных новообразований в мире .....	95
<i>Родионова М.В., Воронников И.К., Родионов В.В., Дудко Е.А., Чхиквадзе Н.В., Кометова В.В., Рябчиков Д.А., Ошкина Е.В., Ожерельев А.С., Богуш Т.А.</i> Прогностическая и предиктивная значимость динамики изменения индекса пролиферации Ki67 в модели предоперационной гормонотерапии больных раком молочной железы .....	102

### ЮБИЛЕИ

Академик В.А. Козлов (к 75-летию со дня рождения) .....	110
Профессор Ю.А. Дыхно (к 75-летию со дня рождения) .....	112
П.Г. Байдале – 80 лет .....	114

### НЕКРОЛОГИ

Памяти Л.М. Непомнящих .....	115
------------------------------	-----

# CONTENTS

## CLINICAL STUDIES

<b>Silanteva N.K., Agababian T.A., Skoropad V.Yu., Grishina O.G.</b> The role of computed tomography in patients with gastric cancer in radio-oncological hospital .....	5
<b>Gulidov I.A., Ivanova I.N., Gogolin D.V., Gorsky A.I., Kursova L.V., Bouksha A.Ju., Ragulin Yu.A.</b> Comparative analysis of the radiation exposure on the target and critical organs with 2d and 3d planning of radiation therapy for lung cancer .....	14
<b>Chernikovskiy I.L.</b> Manual colon-anal or mechanical colorectal anastomosis? Comparative analysis of laparoscopic low resections of the rectum .....	21
<b>Ulyanin M.Yu., Basiashvili G.T., Khasanov R.Sh., Burmistrov M.V., Gataullin I.G.</b> Transurethral en block resection of the bladder wall tumor .....	30
<b>Shilnikova I.I., Dmitrieva N.V.</b> Evaluation of antibiotic susceptibility of anaerobic pathogens <i>bacteroides</i> , <i>prevotella</i> and <i>fusobacterium</i> isolated from cancer patients .....	37

## LABORATORY AND EXPERIMENTAL STUDIES

<b>Yurmazov Z.A., Usynin E.A., Spirina L.V., Kondakova I.V., Slonimskaya E.M.</b> Prognostic significance of expression of transcription factors, vegf growth factor and its receptor, m-tor protein kinase and the activity of intracellular proteinases in patients with disseminated renal cell carcinoma .....	44
<b>Tyrinova T.V., Leplina O.Yu., Tikhonova M.A., Batorova D.S., Ushakova G.Yu., Sergeevicheva V.V., Sizikova S.A., Kryuchkova I.V., Ostanin A.A., Chernykh E.R.</b> The impairment of antitumor cytotoxic activity of dendritic cells in patients with malignant lymphoma due to the altered expression of tumor necrosis factor alpha .....	51
<b>Tsyganov M.M., Ibragimova M.K., Slonimskaya E.M., Cherdyntseva N.V., Litviakov N.V.</b> Single nucleotide polymorphisms in breast tumor and expression of abc-transporters after neoadjuvant chemotherapy .....	59
<b>Komina A.V., Aksenenko M.B., Palkina N.V., Artemiev S.A., Ruksha T.G.</b> MicroRNA expression profile alterations in melanoma and melanoma microenvironment .....	67
<b>Cheremisina O.V., Pankova O.V., Menshikov K.Yu., Choinzonov E.L.</b> Expression characteristics of markers of proliferative activity, apoptosis and cell differentiation in patients with premalignant lesions and cancer of the larynx .....	74
<b>Raskin G.A., Petrov S.V., Orlova R.V.</b> Immunohistochemical study of MSH2, MSH6, PMS2, MLH1 in evaluation of differentiation grade of colon adenocarcinoma .....	80

## PRACTICE OF ONCOLOGY

<b>Trukhacheva N.G., Frolova I.G., Kolomiets L.A., Usova A.V., Grigorjev E.G., Velichko S.A., Churuksaeva O.N., Shpileva O.V.</b> MRI in the assessment of tumor response to chemoradiotherapy in patients with locally advanced cervical cancer .....	84
<b>Zaykov A.A., Vazhenin I.A., Chaychenko D.V., Galyamova Yu.V.</b> Experience of using combination of radiosurgery and resection of the liver in patients with extensive metastatic disease .....	92

## REVIEWS

<b>Odintsova I.N., Pisareva L.F., Khryapenkov A.V.</b> Worldwide cancer epidemiology .....	95
<b>Rodionova M.V., Vorotnikov I.K., Rodionov V.V., Dudko E.A., Chkhivadze N.V., Kometova V.V., Ryabchikov D.A., Oshkina E.V., Ozherelyev A.S., Bogush T.A.</b> Prognostic and predictive significance of Ki67 dynamic change during preoperative endocrine therapy in breast cancer patients .....	102

## ANNIVERSARIES

Academician V.A. Kozlov (the 75 <sup>th</sup> anniversary) .....	110
Professor Yu.A. Dykhno (the 75 <sup>th</sup> anniversary) .....	113
P.G. Baydala (the 80 <sup>th</sup> anniversary) .....	114

## NECROLOGIES

Memory of L.M. Nepomnyatschih .....	115
-------------------------------------	-----

## ЗАДАЧИ КОМПЬЮТЕРНОЙ ТОМОГРАФИИ ПРИ ОБСЛЕДОВАНИИ БОЛЬНЫХ РАКОМ ЖЕЛУДКА В ОНКОРАДИОЛОГИЧЕСКОЙ КЛИНИКЕ

Н.К. Силантьева, Т.А. Агабабян, В.Ю. Скоропад, О.Г. Гришина

Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский радиологический центр» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Обнинск 249031, ул. Королева, 4, Калужская область, г. Обнинск, e-mail: tatevik.05@mail.ru

### Аннотация

**Введение.** В специализированное онкологическое лечебное учреждение пациент поступает уже с установленным диагнозом рака желудка, и в этих условиях важно определить клинические задачи, в решении которых КТ играет определяющую роль. **Целью работы** явилась систематизация основных клинических задач, которые призвана решить КТ у больных раком желудка в условиях онкорadiологической клиники. **Методы.** Работа основана на нашем опыте применения КТ при обследовании 120 больных раком желудка на различных этапах комбинированного лечения. КТ-уточнение стадии злокачественной опухоли было проведено у 91 больного. КТ-топометрия с целью подготовки к лучевой терапии выполнена у 70 больных. КТ-мониторинг после комбинированного лечения проведен 40 больным. Статистическую обработку полученных данных провели с использованием статистического пакета SPSS 13.0. Различия считались статистически достоверными при значениях  $p < 0,05$ . **Результаты.** Основными задачами, которые решает лучевой диагност при обследовании больных раком желудка, являются: уточнение стадии рака желудка по системе TNM; топографо-анатомическая подготовка в случаях проведения предоперационной лучевой терапии; оценка эффектов предоперационной пролонгированной химиолучевой терапии; диагностика послеоперационных осложнений; наблюдение за больными после комбинированного лечения. **Заключение.** В условиях специализированной клиники КТ имеет важное значение, так как на каждом этапе комплексного и комбинированного лечения больных раком желудка использование компьютерной томографии позволяет решать конкретные клинические задачи.

**Ключевые слова:** компьютерная томография, рак желудка, стадирование, КТ-топометрия, оценка эффектов, наблюдение за больными после лечения.

Рак желудка является четвертым из наиболее распространенных злокачественных новообразований, на его долю в мировой структуре онкологической заболеваемости приходится около 8 %. Ежегодно во всем мире раком желудка заболевают более 900 000 человек, а среди причин смерти от онкологических заболеваний он занимает второе место. В Российской Федерации в 2013 г. рак желудка был впервые диагностирован у 37 293 человек (25,99 на 100 000 населения), что составило 7 % в структуре онкологической заболеваемости населения. По показателю смертности населения России от злокачественных новообразований рак желудка занимает общее 2-е место – 10,9 %. Летальность в течение года с момента установления диагноза составила 49,8 % [5, 6]. Рак желудка, по мнению большинства авторов, до настоящего времени остается «фатальным» заболеванием. По данным Калифорнийского канцер-регистра,

5-летняя выживаемость не превышает 25 % [20]. Аналогичные цифры общей 5-летней стандартизированной по возрасту выживаемости (25,1 %) приводят европейские исследователи [12].

В диагностике рака желудка, как первичной, так и уточняющей, ключевую роль играют инструментальные методы исследования: эндоскопический с морфологическим исследованием биоптата; рентгенологический; ультразвуковой; компьютерная, магнитно-резонансная и позитронно-эмиссионная томографии; лапароскопия. Одно из ведущих мест в этом арсенале занимает компьютерная томография (КТ), по праву считающаяся «золотым стандартом», а, по мнению ряда авторов, и «методом выбора» [8, 17, 22]. В специализированное онкологическое лечебное учреждение пациент, как правило, поступает уже с установленным диагнозом рака желудка, данными о локализации, размерах, макроскопической форме роста и мор-

фологическом строении опухоли. В этих условиях важно определить клинические задачи, в решении которых КТ играет определяющую роль.

**Целью исследования** явилась систематизация основных клинических задач, которые призвана решить КТ у больных раком желудка в условиях онкорадиологической клиники.

### Материал и методы

Мы располагаем опытом применения КТ при обследовании 120 больных раком желудка на различных этапах хирургического и комбинированного лечения. Больные были в возрасте от 32 до 77 лет, из них 69 мужчин и 51 женщина.

Компьютерно-томографическое уточнение стадии злокачественной опухоли было проведено у 91 больного, из них оперированы 74 пациента, 69 – выполнены радикальные операции (гастрэктомия – 41, субтотальная резекция желудка – 28), 5 – диагностическая лапаротомия; 17 больных не были оперированы из-за выявленного обширного метастазирования. Стадирование злокачественного процесса проводили в соответствии с Международной классификацией TNM 7-й редакции (2009). Результаты КТ-исследований были верифицированы данными морфологического исследования удаленной опухоли (n=69) и операционной ревизии (n=5), результатами других клиничко-инструментальных методов (n=17). У 2 больных КТ была проведена в раннем послеоперационном периоде для диагностики осложнений.

КТ-топометрия с целью подготовки к лучевой терапии выполнена у 70 больных. Предоперационный курс интенсивной лучевой терапии в СОД 25 Гр с дневным дроблением дозы на две фракции 2,5 + 2,5 Гр был проведен 41 пациенту. Пролонгированный курс неoadъювантной химиолучевой терапии (лучевая терапия в СОД 45 Гр с дневным дроблением дозы на две фракции 1 + 1,5 Гр на фоне модифицированной схемы XELOX) – 29, в том числе 24 больным с местнораспространенным раком желудка, 5 – с рецидивным раком желудка. Во всех случаях КТ-исследование выполнялось до и после окончания курса лечения с целью оценки его эффекта.

КТ-мониторинг после хирургического и комбинированного лечения проведен 40 больным: 29 – обследованы в течение года после операции, 8 – в течение первых трех лет, 3 – в сроки более 5 лет с целью исключения локо-регионарного рецидива и отдаленного метастазирования.

Подготовка к КТ включала в себя: очистительные клизмы вечером накануне и утром в день исследования; пероральный прием 200 мл 2 % раствора водорастворимого контрастного вещества за 3,5 ч до проведения КТ, что обеспечивало хорошую визуализацию тонкой и начальных отделов толстой кишки; пероральный прием 200–1000 мл теплой

воды непосредственно перед исследованием для адекватного растяжения желудка.

КТ-исследование для планирования лучевой терапии проводили в положении больного лежа на спине с вытянутыми над головой руками. При необходимости применяли полипозиционное исследование с целью улучшения визуализации опухоли. Сначала выполняли нативное (бесконтрастное) исследование; затем сканирование с внутривенным болюсным введением контрастного вещества (Ультравист 370) в объеме 100–150 мл, со скоростью 3–4 мл/с в артериальную, портальную и венозную фазы контрастирования (с задержкой 25–30, 45–50 и 77–80 сек соответственно) с последующей постпроцессорной обработкой данных КТ.

Все статистические расчеты проводили с использованием пакета SPSS 13.0. Для оценки эффективности диагностических тестов выполняли анализ операционной характеристической кривой (ROC – Receiver Operating Characteristic curve). Различия считали статистически достоверными при значениях  $p < 0,05$ .

### Результаты исследования и обсуждение

*Уточнение стадии рака желудка в соответствии с классификацией TNM*

**Оценка местного распространения рака желудка (категория T).** В основе КТ-диагностики категории T лежат следующие симптомы, характеризующие опухолевое поражение: 1) состояние наружного контура желудка в зоне поражения, связочного аппарата желудка и клеточных пространств между органами, т. е. признаки распространения опухоли за пределы органа; 2) структура стенки желудка и степень ее дезорганизации (симптом неоднородности за счет хаотично расположенных участков различной плотности); 3) состояние магистральных сосудов, их соотношения с опухолевым процессом, что может помочь в определении резектабельности рака желудка. Все эти КТ-симптомы были положены в основу симптомокомплекса для стандартизации подходов к диагностике категории T у больных раком желудка [1].

Данные различных авторов относительно диагностической эффективности КТ при оценке категории T у больных раком желудка достаточно противоречивы (табл. 1). Наши исследования показали, что чувствительность КТ при распространении опухоли на серозную оболочку была равна 80 %, специфичность – 100 %, точность – 81 %, прогностичность положительного результата – 100 %, прогностичность отрицательного результата – 88 %; при распространении процесса на окружающие органы чувствительность КТ составила 100 %, специфичность – 94 %, точность – 94 %, прогностичность положительного результата – 50 %, прогностичность отрицательного результата – 100 %. Таким образом, мы, как и большинство авторов, считаем, что КТ является

Таблица 1

**Данные литературы о диагностической эффективности КТ в оценке категории Т  
у больных раком желудка**

Авторы, год	Показатели диагностической эффективности				
	Точность	Чувствительность	Специфичность	Прогностичность положительного результата	Прогностичность отрицательного результата
Горшков А.Н. и др., 2001 [4]	75 %	75 %	75 %	–	–
Kim H.J. et al., 2005 [17]	Axial: 77 % Volume: 84 %	–	–	–	–
Chen C.Y. et al., 2007 [9]	Axial: 73 % MPR: 89 %	–	–	–	–
Cidon E.U. et al., 2009 [11]	62 %	T <sub>1-3</sub> : 70 %	61 %	22 %	92 %
		T <sub>4a-4b</sub> : 61 %	70 %	92 %	22 %
Makino T. et al., 2011 [22]	90,9 %	–	–	–	–

Примечание: Axial – аксиальные изображения; Volume – объемные изображения; MPR – мультипланарные изображения.

высокоинформативным методом оценки местного распространения рака желудка (T<sub>4a-4b</sub>).

Нами проанализированы 9 случаев расхождения результатов КТ и морфологических заключений. Оказалось, что все случаи гипердиагностики (n=4) были связаны с низким контрастным разрешением мягких тканей на КТ и возникали у пациентов с хроническим панкреатитом, облитерацией жировой клетчатки в результате фиброза и воспалительных реакций. Причиной гиподиагностики опухолевого поражения серозной оболочки (n=5) было слабое накопление контрастного вещества стенкой желудка в зоне поражения, что наблюдалось в тех случаях, когда опухоль имела строение низко- и недифференцированного, а также перстневидно-клеточного рака. По данным С.У. Chen et al. [9], также была отмечена зависимость ошибочных заключений КТ от гистологического типа опухоли, это обстоятельство авторы связывали со сниженной контрастностью опухолевой ткани в случае перстневидно-клеточного рака желудка.

*Оценка статуса регионарных лимфатических узлов (категория N).* Лучевой диагност должен

четко представлять как анатомическую, так и КТ-топологию регионарных лимфатических узлов. На наш взгляд, с практической точки зрения наиболее целесообразно придерживаться Японской классификации [16]. Безусловно, одним из наиболее сложных и практически не разрешимых при КТ вопросов является дифференциальная диагностика реактивно увеличенных и метастатически пораженных лимфатических узлов. По данным литературы, КТ при определении метастазов в лимфоузлы имеет невысокие показатели диагностической эффективности (табл. 2).

По нашим данным, КТ-критериями метастатического поражения лимфатических узлов у больных раком желудка следует считать наличие множественных лимфатических узлов или единичных лимфатических узлов размером 10 мм и более, имеющих округлую форму (соотношение длинного к короткому размеру лимфоузла  $\leq 1,5$ ). По нашим данным, диагностическая эффективность КТ при определении метастазов в регионарные лимфатические узлы составила: чувствительность – 86 %, специфичность – 89 %, точность – 88 %, прогно-

Таблица 2

**Данные литературы о диагностической эффективности КТ в оценке категории N  
у больных раком желудка**

Авторы, год	Показатели диагностической эффективности		
	Точность	Чувствительность	Специфичность
Араблинский В.М. и др., 1991 [3]	90,3 %	93 %	85 %
Polkowski M. et al., 2004 [24]	46,7 %	82,6 %	50 %
Kim H.J. et al., 2005 [17]	Axial: 62 % Volume: 64 %	–	–
Chen B.B. et al., 2007 [9]	68,8 %	88,2 %	80
Ahn H.S. et al., 2009 [7]	83,6 %	17 %	91,7 %
Cidón E.U. et al., 2009 [11]	80 %	49 %	53 %

Примечание: Axial – аксиальные изображения; Volume – объемные изображения; MPR – мультипланарные изображения.

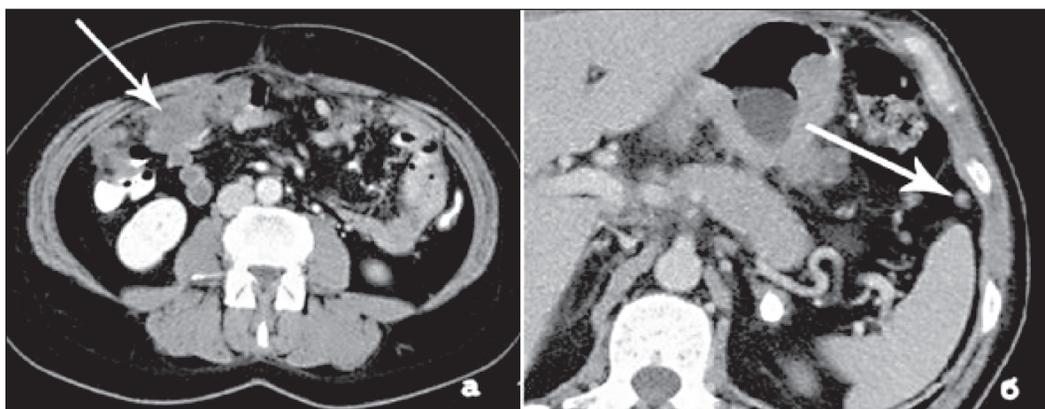


Рис. 1. КТ органов брюшной полости. Рак желудка. Канцероматоз брюшины:

а – очагово-инфильтративные образования неправильной формы, с неровными, нечеткими контурами по ходу париетальной брюшины (стрелка); б – единичное мелкое узловое уплотнение по ходу брюшины (стрелка)

стичность положительного результата – 79 %, прогностичность отрицательного результата – 93 %, что в целом соответствует данным литературы.

Мы проанализировали 8 случаев расхождения данных КТ и морфологических заключений относительно категории N. Ложноотрицательных результатов было три, два из них были связаны с наличием микрометастазов в неувеличенных лимфатических узлах, и в одном случае лимфатические узлы визуально не дифференцировались на фоне обширной опухолевой инфильтрации в области малого сальника. Во всех 5 случаях с ложноположительными результатами на КТ-изображениях визуализировались единичные регионарные лимфатические узлы размером более 10 мм, но при морфологическом исследовании метастазы в них обнаружены не были; гиперплазия носила реактивный характер.

*Отдаленные метастазы (категория M).* По данным нашего исследования, отдаленные метастазы были диагностированы у 17 больных: по брюшине – в 10 случаях, в печень – в 5 случаях, в забрюшинные лимфоузлы – в 2 случаях.

Компьютерная диагностика метастатического поражения печени и лимфатических узлов достаточно освещена в литературе. Гораздо более проблематичной остается возможность КТ-диагностики метастатического поражения брюшины, в то время как оно является наиболее неблагоприятным прогностическим фактором и в большинстве случаев служит основной причиной летальных исходов у больных раком желудка. По нашему опыту, такие КТ-симптомы канцероматоза брюшины, как наличие крупных очагово-инфильтративных образований по ходу брюшины и асцит, являются специфичными и достаточными для постановки диагноза (рис. 1а). Сложнее выявить и интерпретировать такие КТ-изменения, как диффузное повышение плотности клетчатки брюшной полости и/или наличие мелких бесформенных узелковых уплотнений по ходу брюшины (рис. 1б). Выявление этих симптомов требует от лучевого диагноста опыта, повышенного внимания и тщательности при анализе КТ-картины.

*КТ-топометрия (топографо-анатомическая подготовка с применением компьютерной томо-*

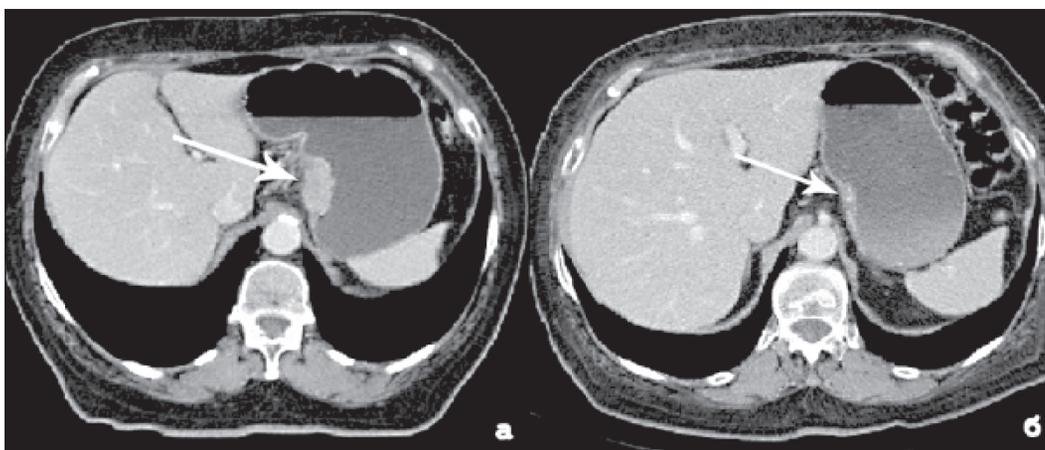


Рис. 2. КТ органов брюшной полости. КТ-симптомы регрессии опухоли:

а – рак кардиального отдела желудка до химиолучевого лечения (стрелка); б – после химиолучевого лечения отмечается уменьшение линейных размеров опухоли, исчезновение экзофитного и внеорганного компонентов опухоли, появление четкости наружного контура желудка, исчезновение неоднородности структуры опухоли и появление слоистого строения стенки желудка (стрелка)

графии) в случаях проведения предоперационной лучевой терапии

Для планирования лучевой терапии КТ-сканирование выполнялось в положении больного на спине на специальной подставке для топометрической подготовки, что обеспечивало те же условия, в которых будет проводиться лучевая терапия. Все количественные измерения опухоли производились на КТ-срезах в зоне наибольшей площади поражения. Так как желудок является подвижным органом, при выборе полей облучения зона мишени увеличивалась на 2–3 см в трех измерениях и на 4–5 см от видимых краев опухоли при ее локализации в кардиальном отделе желудка или распространении на пищевод. Размеры полей облучения варьировали в зависимости от локализации опухоли и ее размеров и составляли от 12×14 см до 14×16 см.

*Оценка эффектов предоперационной пролонгированной химиолучевой терапии у больных местнораспространенным раком желудка*

Последние годы характеризуются поисками оптимальных схем комбинированного лечения рака желудка. Один из таких методов – неоадьювантная химиолучевая терапия, применение которой вызывает уменьшение объема опухоли, создавая благоприятные условия для выполнения радикальной операции. Учитывая методологические и технические сложности данного вида комбинированного лечения (длительность проведения, возможные осложнения, высокая стоимость, необходимость решения вопроса о возможности выполнения радикальной операции), актуальной является разработка объективных критериев для оценки характера изменений первичной опухоли и регионарных метастазов под воздействием предоперационной терапии.

Основываясь на данных литературы [10, 13, 15, 25], мы разработали методологические подходы к такой оценке, включающей три показателя: линейные размеры новообразования и регионар-

ных лимфатических узлов; структура опухоли и денситометрические показатели ткани опухоли. КТ позволяла провести точные линейные измерения максимальной толщины стенки желудка в зоне опухоли, площади опухолевого поражения и площади просвета желудка; наглядно «увидеть» динамику симптомов опухоли под влиянием лечения и оценить изменения ее структуры. При положительной динамике структура опухоли становилась более однородной, с появлением подобия «слоистости», особенно в ее периферических отделах, денситометрическая плотность опухоли снижалась (рис. 2).

При анализе полученных нами данных было отмечено статистически значимое уменьшение количественных параметров первичной опухоли после неоадьювантного химиолучевого лечения: максимальной толщины стенки желудка ( $p < 0,001$ ); площади опухоли ( $p < 0,001$ ); денситометрической плотности опухоли в нативную ( $p = 0,02$ ) и постконтрастную ( $p = 0,01$ ) фазы исследования. Главным визуальным КТ-критерием «ответа» при лечении регионарных рецидивов являлось уменьшение линейных размеров опухоли, что дало возможность оценить эффективность терапии по критериям RECIST.

*Диагностика послеоперационных осложнений*

Безусловно, ведущими методами диагностики послеоперационных осложнений являются классическое рентгенологическое (при диагностике несостоятельности анастомозов) и ультразвуковое (при выявлении абсцессов) исследования. Однако в ряде сложных случаев или при получении неоднозначных результатов с помощью традиционных методов используют КТ [19]. Послеоперационные осложнения нами были диагностированы у 2 больных в раннем послеоперационном периоде: у одного больного имела место несостоятельность анастомоза (рис. 3а), у другого – формирование абсцесса в левом поддиафрагмальном пространстве (рис. 3б).

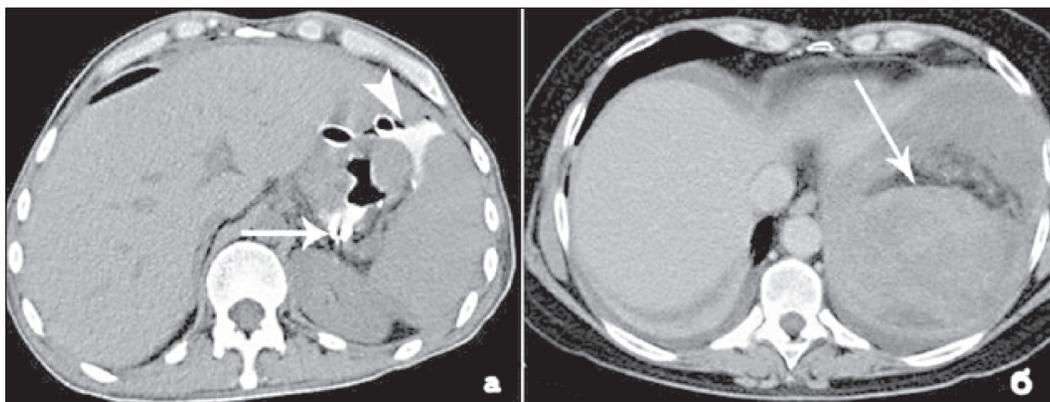


Рис. 3. КТ органов брюшной полости. Послеоперационные осложнения:

- а – несостоятельность желудочно-тонкокишечного анастомоза (стрелка) после субтотальной резекции желудка; перигастрально визуализируется контрастное вещество, принятое больным перорально (головка стрелки);  
б – абсцесс в левом поддиафрагмальном пространстве (стрелка) после гастрэктомии

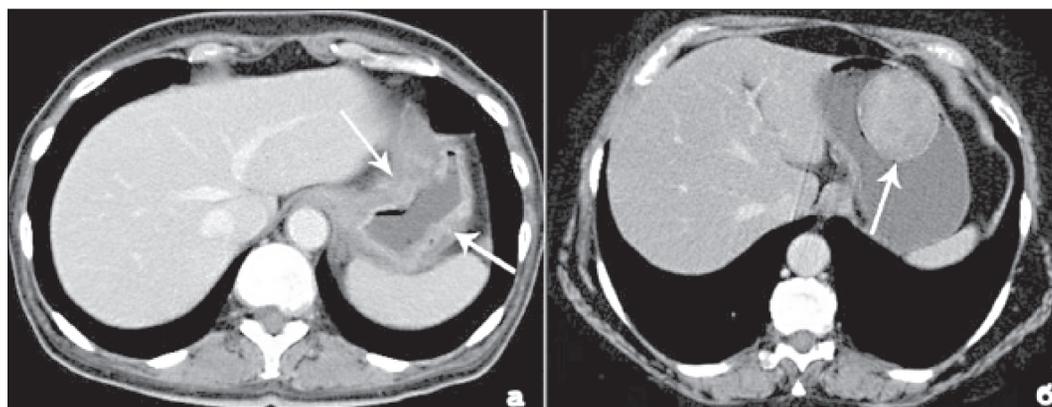


Рис. 4. КТ органов брюшной полости. КТ-диагностика неэпителиальных опухолей желудка:

а – лимфома желудка (стрелки). Отмечается диффузное утолщение стенок желудка на всем протяжении, структура стенки достаточно однородная, пониженной плотности; слизистая оболочка стенок желудка активно накапливает контрастное вещество; б – GIST желудка (стрелка). По большой кривизне желудка определяется экзофитное образование неомогенной плотности, неравномерно накапливающее контрастное вещество

*Наблюдение за больными после проведения хирургического и комбинированного лечения (КТ-мониторинг, «follow up»)*

Динамическое наблюдение за больными раком желудка проводится с целью подтверждения или исключения локо-регионарных рецидивов и отдаленного метастазирования. Из 40 обследованных нами больных у 14 (35 %) данных за рецидив и отдаленные метастазы не было получено, у 9 (22,5 %) был выявлен локо-регионарный рецидив опухоли желудка, у 14 (35 %) – отдаленные метастазы (канцероматоз брюшины – 6; метастазы в печень – 1, в забрюшинные лимфоузлы – 3, в кости – 2, в печень и легкие – 1, канцероматоз брюшины и метастазы в кости, забрюшинные лимфоузлы и легкие – 1), а у 3 больных (7,5 %) было выявлено

сочетание локо-регионарного рецидива и отдаленных метастазов.

Традиционное рентгенологическое и эндоскопическое исследования остаются ведущими методами диагностики рака желудка, позволяющими выявить опухоль, уточнить локализацию и определить ее гистологическую принадлежность. Эти два метода являются определяющими на поликлиническом этапе. Существует большой круг исследований, в которых изучались возможности проведения первичной диагностики с помощью КТ [14, 21, 23]. Конечно, следует понимать, что для проведения диагностики с помощью КТ требуются материальные затраты, специально подготовленные специалисты, и включать этот метод в алгоритм диагностики у всех больных раком

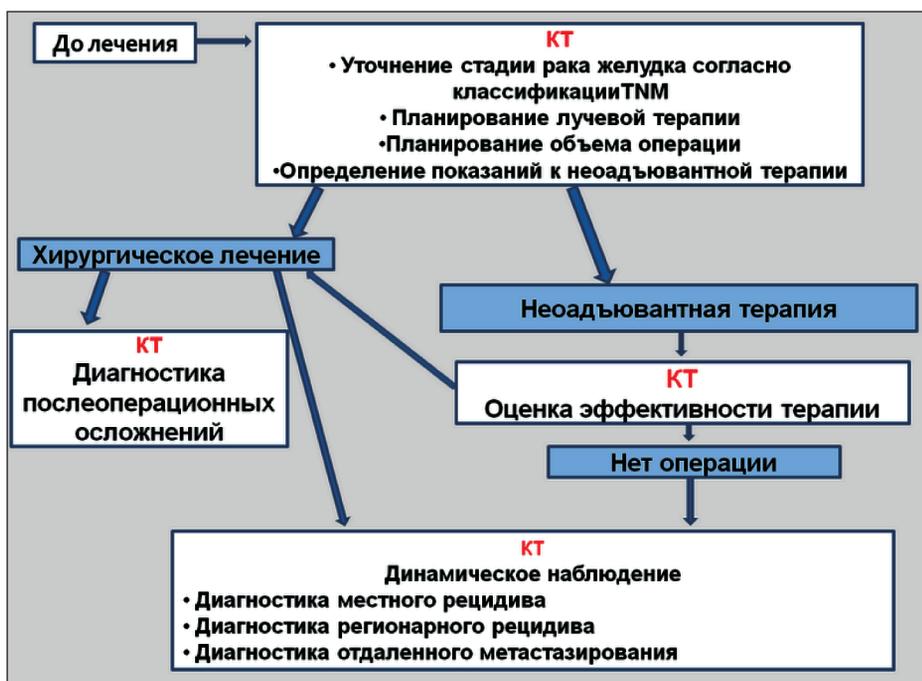


Рис. 5. Алгоритм задач компьютерной томографии на различных этапах комбинированного лечения больных раком желудка

желудка нецелесообразно [2, 18]. Однако в ряде случаев КТ может оказать неоценимую помощь в сложных с дифференциально-диагностической точки зрения клинических ситуациях [14]. Например, при дифференциальной диагностике с лимфомами, когда получение морфологического заключения затруднено. Ряд КТ-симптомов позволяет с большой долей вероятности заподозрить лимфому желудка (рис. 4а). Такая же ситуация может быть и при дифференциальной диагностике рака желудка и неэпителиальных опухолей, в частности GIST (рис. 4б).

### Заключение

В условиях специализированной клиники КТ имеет важное значение, так как на каждом этапе комплексного и комбинированного лечения больных раком желудка использование компьютерной томографии позволяет решать конкретные клинические задачи (рис. 5).

До начала лечения – это уточнение стадии и планирование лучевой терапии с целью оптимизации лечения. На этом этапе КТ у больных раком желудка дает возможность оценить распространенность злокачественного процесса (состояние первичной опухоли, внутри- и внеорганные распространение рака желудка, наличие метастазов в регионарные лимфатические узлы и отдаленные метастазы). На

основе данных КТ с постпроцессорной обработкой решается широкий спектр задач, крайне важных для клинической практики: оценивается резектабельность рака желудка с исключением ненужных лапаротомий; определяются показания к проведению неоадьювантной терапии; планируется объем оперативного вмешательства при отсутствии критериев нерезектабельности. На основании полученной целостной КТ-информации клиницисты формируют группу пациентов, которым показаны хирургическое или комбинированное лечение, в том числе с неоадьювантной терапией. В случае хирургического лечения задачи КТ заключаются в диагностике послеоперационных осложнений (при наличии показаний), а также в динамическом наблюдении. У больных, которым показана неоадьювантная терапия, с помощью КТ проводится оценка ее эффективности. В дальнейшем проводится динамическое наблюдение, в процессе которого также возможны коррекция и оптимизация методов лечения.

Таким образом, знание возможностей компьютерной томографии у больных раком желудка и систематизация основных клинических задач, решаемых с помощью этого высокотехнологичного метода, повышают эффективность лечения больных и влияют на прогноз заболевания.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Агабабян Т.А., Силантьева Н.К., Скоропад В.Ю. Диагностика внеорганного распространения рака желудка методом мультиспиральной компьютерной томографии // Медицинская визуализация. 2011. № 6. С. 21–29.
2. Алгоритмы диагностики и лечения злокачественных новообразований / Под ред. В.И. Чиссова. М., 2010. 543 с.
3. Араблинский В.М., Седых С.А., Мамонтов А.С. Роль компьютерной томографии в диагностике регионарных метастазов рака пищевода и проксимального отдела желудка // Советская медицина. 1991. № 9. С. 26–29.
4. Горшков А.Н., Мешков В.М., Грачева Н.И., Зарицкая В.А. Возможности лучевых методов исследования (УЗИ, КТ) в предоперационной оценке внутристеночной инвазии рака желудка // Вестник рентгенологии и радиологии. 2001. № 2. С. 27–34.
5. Злокачественные новообразования в России в 2013 году (заболеваемость и смертность) / Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, Г.В. Петровой. М., 2015. 250 с.
6. Парис С.А., Тузиков С.А., Лесков С.В., Кузьмина Е.С., Афанасьев С.Г., Волков М.Ю. Ближайшие и отдаленные результаты комбинированного лечения больных кардиальным раком желудка с использованием предоперационной лучевой терапии // Сибирский онкологический журнал. 2011. № 2. С. 67–71.
7. Ahn H.S., Lee H.J., Yoo M.W., Kim S.G., Im J.P., Kim S.H., Kim W.H., Lee K.U., Yang H.K. Diagnostic accuracy of T and N stages with endoscopy, stomach protocol CT, and endoscopic ultrasonography in early gastric cancer // J. Surg. Oncol. 2009. Vol. 99 (1). P. 20–27. doi: 10.1002/jso.21170.
8. Anzidei M., Napoli A., Zaccagna F., Di Paolo P., Zini C., Cavallo Marincola B., Geiger D., Catalano C., Passariello R. Diagnostic performance of 64-MDCT and 1.5-T MRI with high-resolution sequences in the T staging of gastric cancer: a comparative analysis with histopathology // Radiol. Med. 2009. Vol. 114 (7). P. 1065–1079. doi: 10.1007/s11547-009-0455-x.
9. Chen C.Y., Hsu J.S., Wu D.C., Kang W.Y., Hsieh J.S., Jaw T.S., Wu M.T., Liu G.C. Gastric cancer: preoperative local staging with 3D multi-detector row CT-correlation with surgical and histopathologic results // Radiology. 2007. Vol. 242 (2). P. 472–482.
10. Choi H. Response evaluation of gastrointestinal stromal tumors // Oncologist. 2008. Vol. 13. Suppl. 2. P. 4–7. doi: 10.1634/theoncologist.13-S2-4.
11. Cidón E.U., Cuenca I.J. Gastric adenocarcinoma: is computed tomography useful in preoperative staging? // Clinical Medicine: Oncology. 2009. Vol. 3. P. 91–97.
12. De Angelis R., Sant M., Coleman M.P., Francisci S., Baili P., Pierannunzio D., Trama A., Visser O., Brenner H., Ardanaz E., Bielska-Lasota M., Engholm G., Nennecke A., Siesling S., Berrino F., Capocaccia R; EUROCARE-5 Working Group. Cancer survival in Europe 1999–2007 by country and age: results of EUROCARE-5—a population-based study // Lancet Oncol. 2014. Vol. 15 (1). P. 23–34. doi: 10.1016/S1470-2045(13)70546-1.
13. Eisenhauer E.A., Therasse P., Bogaerts J., Schwartz L.H., Sargent D., Ford R., Dancey J., Arbuck S., Gwyther S., Mooney M., Rubinstein L., Shankar L., Dodd L., Kaplan R., Lacombe D., Verweij J. New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1) // Eur. J. Cancer. 2009. Vol. 45 (2). P. 228–247. doi: 10.1016/j.ejca.2008.10.026.
14. Horton K.M., Fishman E.K. Current role of CT in imaging of the stomach // Radiographics. 2003. Vol. 23 (1). P. 75–87.
15. Japan esophageal society. Japanese classification of esophageal cancer, tenth edition: parts II and III // Esophagus. 2009. Vol. 6. P. 71–94.
16. Japanese gastric cancer association. Japanese classification of gastric carcinoma: 3<sup>rd</sup> English edition // Gastric Cancer. 2011. Vol. 14. P. 101–112. doi: 10.1007/s10120-011-0041-5.
17. Kim H.J., Kim A.Y., Oh S.T., Kim J.S., Kim K.W., Kim P.N., Lee M.G., Ha H.K. Gastric cancer staging at multi-detector row CT gastrography: comparison of transverse and volumetric CT scanning // Radiology. 2005. Vol. 236 (3). P. 879–885.
18. Kim H.S., Han H.Y., Choi J.A., Park C.M., Cha I.H., Chung K.B., Mok Y.J. Preoperative evaluation of gastric cancer: value of spiral CT during gastric arteriography (CTGA) // Abdom. Imaging. 2001. Vol. 26 (2). P. 123–130.
19. Kim K.W., Choi B.I., Han J.K., Kim T.K., Kim A.Y., Lee H.J., Kim Y.H., Choi J.I., Do K.H., Kim H.C., Lee M.W. Postoperative anatomic and pathologic findings at CT following gastrectomy // Radiographics. 2002. Vol. 22 (2). P. 323–336.
20. Kunz P.L., Gubens M., Fisher G.A., Ford J.M., Lichtensztajn D.Y., Clarke C.A. Long-term survivors of gastric cancer: a California population-based study // J. Clin. Oncol. 2012. Vol. 30 (28). P. 3507–3515.
21. Lee J.H., Jeong Y.K., Kim D.H., Go B.K., Woo Y.J., Ham S.Y., Yang S.O. Two-phase helical CT for detection of early gastric carcinoma: im-

portance of the mucosal phase for analysis of the abnormal mucosal layer // J. Comput. Assist. Tomogr. 2000. Vol. 24 (5). P. 777–782.

22. Makino T., Fujiwara Y., Takiguchi S., Tsuboyama T., Kim T., Nishijima Y., Yamasaki M., Miyata H., Nakajima K., Mori M., Doki Y. Preoperative T staging of gastric cancer by multi-detector row computed tomography // Surgery. 2011. Vol. 149 (5). P. 672–679. doi: 10.1016/j.surg.2010.12.003.

23. Ogata I., Komohara Y., Yamashita Y., Mitsuzaki K., Takahashi M., Ogawa M. CT evaluation of gastric lesions with three-dimensional display and interactive virtual endoscopy: comparison with conventional barium study and endoscopy // AJR. 1999. Vol. 172 (5). P. 1263–1270.

24. Polkowski M., Palucki J., Wronska E., Szawlowski A., Nasierowska-Guttmejer A., Butruk E. Endosonography versus helical computed tomography for locoregional staging of gastric cancer // Endoscopy. 2004. Vol. 36 (7). P. 617–623.

25. Vallböhmer D., Hölscher A.H., Schneider P.M., Schmidt M., Dietlein M., Bollschweiler E., Baldus S., Alakus H., Brabender J., Metzger R., Mönig S.P. [18F]-fluorodeoxyglucose-positron emission tomography for the assessment of histopathologic response and prognosis after completion of neoadjuvant chemotherapy in gastric cancer // J. Surg. Oncol. 2010. Vol. 102 (2). P. 135–140. doi: 10.1002/jso.21592.

Поступила 29.05.15

#### СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**Силантьева Наталья Константиновна**, доктор медицинских наук, заведующая отделением компьютерной томографии, Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский радиологический центр» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Обнинск), Российская Федерация. Тел.: +7 (484) 399-30-67. E-mail: nks07@mail.ru. SPIN-код: 3312-4117

**Агабабян Татев Артаковна**, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отделения компьютерной томографии, Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский радиологический центр» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Обнинск), Российская Федерация. Тел.: +7 (484) 399-33-03. E-mail: tatevik.05@mail.ru. SPIN-код: 5752-3393

**Скоропад Виталий Юрьевич**, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник отделения лучевого и хирургического лечения заболеваний абдоминальной области, Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский радиологический центр» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Обнинск), Российская Федерация. Тел.: +7 (484) 399-31-65. E-mail: skoropad@mrcc.obninsk.ru. SPIN-код: 2283-1111

**Гришина Ольга Геннадьевна**, научный сотрудник отделения компьютерной томографии, Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский радиологический центр» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Обнинск), Российская Федерация. Тел.: +7 (484) 399-33-03. E-mail: life0813@mail.ru. SPIN-код: 3062-6508

**Авторы данной статьи подтвердили отсутствие финансовой поддержки / конфликта интересов, о котором необходимо сообщить**

## THE ROLE OF COMPUTED TOMOGRAPHY IN PATIENTS WITH GASTRIC CANCER IN RADIO-ONCOLOGICAL HOSPITAL

**N.K. Silanteva, T.A. Agababian, V.Yu. Skoropad, O.G. Grishina**

A. Tsyb Medical Radiological Research Centre – branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation, Obninsk  
4, Korolev Street, 249031-Obninsk, Kaluga region, Russian Federation, e-mail: tatevik.05@mail.ru

#### Abstract

**Background.** Patients are referred to a specialized oncologic hospital with diagnosis of gastric cancer, which has been already established. Under this condition it is important to determine the clinical problems in which CT plays a crucial role. The aim of the study is the systematization of the major clinical challenges being addressed by CT in patients with gastric cancer treated at the radio-oncological hospital. **Methods.** A total 120 patients with gastric cancer at the different phases of combination therapy were included in our study: 91 patients underwent preoperative CT for the tumor staging; 70 patients underwent CT topometry; 40 patients were examined with CT in order to the post-therapy control. **Results.** The role of computed tomography in the study of gastric carcinoma is mainly represented by the staging of tumor according to the TNM system; CT topometry; assessment of response to neoadjuvant therapy; evaluation of postoperative complications and the post-therapy control. **Conclusion.** In a specialized hospital, CT plays a key role in the management of gastric cancer. CT has important impacts on clinical decisions and allows solving specific clinical problems.

**Key words:** Computed tomography, gastric cancer, staging, CT topometry, response assessment, post-therapy control.

## REFERENCES

1. *Agababian T.A., Silanteva N.K., Skoropad V.Yu.* Evaluation of local spread of gastric cancer with multidetector computed tomography // *Meditsinskaya vizualizatsiya*. 2011. № 6. P. 21–29. [in Russian]
2. *Algorithms* for diagnosis and treatment of malignant neoplasms / ed. by V.I. Chissov. M., 2010. 543 p. [in Russian]
3. *Arablinskij V.M., Sedyh S.A., Mamontov A.S.* Computed tomography in the diagnosis of regional metastases in esophageal and proximal gastric cancer patients // *Sovetskaja Medicina*. 1991. № 9. P. 26–29. [in Russian]
4. *Gorshkov A.N., Meshkov V.M., Gracheva N.I., Zaritskaya V.A.* Potentialities of radiation techniques (ultrasonography, computed tomography) in the preoperative evaluation of intramural invasion of gastric carcinoma // *Vestnik rentgenologii i radiologii*. 2001. № 2. P. 27–34. [in Russian]
5. *Malignancies in Russia in 2013 (morbidity and mortality)* / Ed. by A.D. Kaprin, V.V. Starinskij, G.V. Petrova. M., 2015. 250 p. [in Russian]
6. *Parts S.A., Tuzikov S.A., Leskov S.V., Kuzmina E.S., Afanasyev S.G., Volkov M.Yu.* Short- and long-term results of combined modality treatment with the use of preoperative radiation therapy for cardiac gastric cancer // *Sibirskij onkologicheskij zhurnal*. 2011. № 2. P. 67–71. [in Russian]
7. *Ahn H.S., Lee H.J., Yoo M.W., Kim S.G., Im J.P., Kim S.H., Kim W.H., Lee K.U., Yang H.K.* Diagnostic accuracy of T and N stages with endoscopy, stomach protocol CT, and endoscopic ultrasonography in early gastric cancer // *J. Surg. Oncol.* 2009. Vol. 99 (1). P. 20–27. doi: 10.1002/jso.21170.
8. *Anzidei M., Napoli A., Zaccagna F., Di Paolo P., Zini C., Cavallo Marincola B., Geiger D., Catalano C., Passariello R.* Diagnostic performance of 64-MDCT and 1.5-T MRI with high-resolution sequences in the T staging of gastric cancer: a comparative analysis with histopathology // *Radiol. Med.* 2009. Vol. 114 (7). P. 1065–1079. doi: 10.1007/s11547-009-0455-x.
9. *Chen C.Y., Hsu J.S., Wu D.C., Kang W.Y., Hsieh J.S., Jaw T.S., Wu M.T., Liu G.C.* Gastric cancer: preoperative local staging with 3D multi-detector row CT-correlation with surgical and histopathologic results // *Radiology*. 2007. Vol. 242 (2). P. 472–482.
10. *Choi H.* Response evaluation of gastrointestinal stromal tumors // *Oncologist*. 2008. Vol. 13. Suppl. 2. P. 4–7. doi: 10.1634/theoncologist.13-S2-4.
11. *Cidón E.U., Cuenca I.J.* Gastric adenocarcinoma: is computed tomography useful in preoperative staging? // *Clinical Medicine: Oncology*. 2009. Vol. 3. P. 91–97.
12. *De Angelis R., Sant M., Coleman M.P., Francisci S., Baili P., Pierannunzio D., Trama A., Visser O., Brenner H., Ardanaz E., Bielska-Lasota M., Engholm G., Nennecke A., Siesling S., Berrino F., Capocaccia R; EUROCARE-5 Working Group.* Cancer survival in Europe 1999–2007 by country and age: results of EUROCARE-5-a population-based study // *Lancet Oncol.* 2014. Vol. 15 (1). P. 23–34. doi: 10.1016/S1470-2045(13)70546-1.
13. *Eisenhauer E.A., Therasse P., Bogaerts J., Schwartz L.H., Sargent D., Ford R., Dancey J., Arbuck S., Gwyther S., Mooney M., Rubinstein L., Shankar L., Dodd L., Kaplan R., Lacombe D., Verweij J.* New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1) // *Eur. J. Cancer*. 2009. Vol. 45 (2). P. 228–247. doi: 10.1016/j.ejca.2008.10.026.
14. *Horton K.M., Fishman E.K.* Current role of CT in imaging of the stomach // *Radiographics*. 2003. Vol. 23 (1). P. 75–87.
15. *Japan esophageal society.* Japanese classification of esophageal cancer, tenth edition: parts II and III // *Esophagus*. 2009. Vol. 6. P. 71–94.
16. *Japanese gastric cancer association.* Japanese classification of gastric carcinoma: 3<sup>rd</sup> English edition // *Gastric Cancer*. 2011. Vol. 14. P. 101–112. doi: 10.1007/s10120-011-0041-5.
17. *Kim H.J., Kim A.Y., Oh S.T., Kim J.S., Kim K.W., Kim P.N., Lee M.G., Ha H.K.* Gastric cancer staging at multi-detector row CT gastrography: comparison of transverse and volumetric CT scanning // *Radiology*. 2005. Vol. 236 (3). P. 879–885.
18. *Kim H.S., Han H.Y., Choi J.A., Park C.M., Cha I.H., Chung K.B., Mok Y.J.* Preoperative evaluation of gastric cancer: value of spiral CT during gastric arteriography (CTGA) // *Abdom. Imaging*. 2001. Vol. 26 (2). P. 123–130.
19. *Kim K.W., Choi B.I., Han J.K., Kim T.K., Kim A.Y., Lee H.J., Kim Y.H., Choi J.I., Do K.H., Kim H.C., Lee M.W.* Postoperative anatomic and pathologic findings at CT following gastrectomy // *Radiographics*. 2002. Vol. 22 (2). P. 323–336.
20. *Kunz P.L., Gubens M., Fisher G.A., Ford J.M., Lichtensztajn D.Y., Clarke C.A.* Long-term survivors of gastric cancer: a California population-based study // *J. Clin. Oncol.* 2012. Vol. 30 (28). P. 3507–3515.
21. *Lee J.H., Jeong Y.K., Kim D.H., Go B.K., Woo Y.J., Ham S.Y., Yang S.O.* Two-phase helical CT for detection of early gastric carcinoma: importance of the mucosal phase for analysis of the abnormal mucosal layer // *J. Comput. Assist. Tomogr.* 2000. Vol. 24 (5). P. 777–782.
22. *Makino T., Fujiwara Y., Takiguchi S., Tsuboyama T., Kim T., Nishijima Y., Yamasaki M., Miyata H., Nakajima K., Mori M., Doki Y.* Preoperative T staging of gastric cancer by multi-detector row computed tomography // *Surgery*. 2011. Vol. 149 (5). P. 672–679. doi: 10.1016/j.surg.2010.12.003.
23. *Ogata I., Komohara Y., Yamashita Y., Mitsuzaki K., Takahashi M., Ogawa M.* CT evaluation of gastric lesions with three-dimensional display and interactive virtual endoscopy: comparison with conventional barium study and endoscopy // *AJR*. 1999. Vol. 172 (5). P. 1263–1270.
24. *Polkowski M., Palucki J., Wronska E., Szawlowski A., Nasierowska-Guttmejer A., Butruk E.* Endosonography versus helical computed tomography for locoregional staging of gastric cancer // *Endoscopy*. 2004. Vol. 36 (7). P. 617–623.
25. *Vallböhmer D., Hölscher A.H., Schneider P.M., Schmidt M., Dietlein M., Bollscheuiler E., Baldus S., Alakus H., Brabender J., Metzger R., Möning S.P.* [18F]-fluorodeoxyglucose-positron emission tomography for the assessment of histopathologic response and prognosis after completion of neoadjuvant chemotherapy in gastric cancer // *J. Surg. Oncol.* 2010. Vol. 102 (2). P. 135–140. doi: 10.1002/jso.21592.

## ABOUT THE AUTHORS

**Silanteva Natalia Konstantinovna**, MD, DSc, Head of the Department of Computed Tomography of A. Tsyb Medical Radiological Research Centre – branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation (Obninsk), Russian Federation. Phone: +7 (484) 399-30-67. E-mail: nks07@mail.ru. SPIN-code: 3312-4117

**Agababian Tatev Artakovna**, MD, PhD, Senior Research Associate of the Department of Computed Tomography of A. Tsyb Medical Radiological Research Centre – branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation (Obninsk), Russian Federation. Phone: +7 (484) 399-33-03. E-mail: tatevik.05@mail.ru. SPIN-code: 5752-3393

**Skoropad Vitaliy Yurievich**, MD, DSc, Leading Research Associate of the Department of Abdominal Oncology of A. Tsyb Medical Radiological Research Centre – branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation (Obninsk), Russian Federation. Phone: +7 (484) 399-31-65. E-mail: skoropad@mrrc.obninsk.ru. SPIN-code: 2283-1111

**Grishina Olga Gennadievna**, MD, Research Associate of the Department of Computed Tomography of A. Tsyb Medical Radiological Research Centre – branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation (Obninsk), Russian Federation. Phone: +7 (484) 399-33-03. E-mail: life0813@mail.ru. SPIN-code: 3062-6508

## СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЛУЧЕВОЙ НАГРУЗКИ НА МИШЕНЬ И КРИТИЧЕСКИЕ ОРГАНЫ ПРИ 2D И 3D ПЛАНИРОВАНИИ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ РАКА ЛЁГКОГО

И.А. Гулидов, И.Н. Иванова, Д.В. Гоголин, А.И. Горский,  
Л.В. Курсова, А.Ю. Букша, Ю.А. Рагулин

Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский радиологический центр» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Обнинск 249036, г. Обнинск, ул. Королева, 4, e-mail: mrrc@mrrc.obninsk.ru

### Аннотация

**Целью исследования** является оценка переносимости, безопасности и эффективности лучевой терапии у больных неоперабельным немелкоклеточным раком легкого (НМРЛ). Проведено сравнение 2D и 3D планов лучевой терапии. **Материал и методы.** В исследование были включены 52 пациента (49 мужчин и 3 женщины), пролеченные в 2012–2014 гг. с подтвержденным диагнозом НМРЛ IIB – IIIB стадии. Дозиметрическое планирование проводилось на программе XiO, а конформное облучение – на ускорителе Elekta Synergy S. Для сравнения лучевых нагрузок при 2D и 3D планировании для пациентов, получивших конформное облучение, были сформированы поля так же, как это делается при конвенциональной лучевой терапии. Сравнение дозовых нагрузок произведено на дозе 50 Гр. **Результаты.** Все планы были сопоставимы по распределению дозы в PTV. По сравнению с 2D лучевой терапией 3D конформная лучевая терапия статистически значимо позволяет снизить максимальную дозу на сердце ( $p < 0,01$ ), спинной мозг ( $p < 0,01$ ), легкие ( $p < 0,01$ ) и пищевод ( $p < 0,02$ ).

**Ключевые слова:** немелкоклеточный рак легкого, сравнение конвенциональной и конформной лучевой терапии.

В лечении немелкоклеточного рака лёгкого (НМРЛ) «золотым стандартом» является хирургическое лечение в комбинации с полихимиотерапией (ПХТ) [2, 3, 10]. Однако в связи с поздней диагностикой, наличием противопоказаний или отказом больных от хирургического лечения только 15–30 % пациентов операбельны на момент постановки диагноза [2–4, 7], в остальных случаях показано консервативное лечение, одним из вариантов которого является лучевая терапия (ЛТ).

Конвенциональная ЛТ до недавнего времени была наиболее распространенной в России. Для подготовки к этому методу лечения используются компьютерные томографы, рентгеновские симуляторы, планирующие программы с реализацией плана в 2D объеме. Применяют гамма-терапевтические установки или линейные ускорители с различной энергией фотонов, как правило, используются два передне-задних поля.

Конформная ЛТ – наиболее распространенный вид лучевой терапии в экономически развитых странах. Особенности подготовки, планирования и проведения данного вида ЛТ позволяют повысить дозу в опухоли, сокращая лучевую нагрузку на здоровые ткани и органы. Для подготовки к лече-

нию обычно используются индивидуальные фиксирующие приспособления (вакуумные матрасы, фреймы для фиксации рук и ног), разметка полей облучения проводится с помощью компьютерного томографа, магнитно-резонансного томографа. Лечение проводится на линейных ускорителях с многолепестковыми коллиматорами.

При ЛТ наряду с опухолью облучаются здоровые ткани, что приводит к изменению их функциональной активности и анатомической структуры как обратимого (лучевые и химиолучевые реакции), так и необратимого характера, которые развиваются на фоне первых в более отдаленные сроки, как правило, через 6–18 мес после начала лечения (лучевые повреждения). Одни и те же нагрузки тяжелее переносятся пожилыми пациентами с сопутствующими заболеваниями, чем более молодыми лицами. Развившиеся лучевые повреждения существенно влияют на качество и нередко на продолжительность жизни. Объемы облученных здоровых тканей зависят от расположения опухоли, методики лечения и оборудования, на котором проводится лечение.

В мире накоплен опыт сравнения различных методик ЛТ при ряде локализаций злокачествен-

ных опухолей, как правило, на основе сопоставления 3D конформной ЛТ с томотерапией и ЛТ с модуляцией интенсивности [9, 11]. В России, где еще достаточно широко представлено 2D планирование, сохраняет актуальность сравнение 2D и 3D планов, что дает возможность оценки, в том числе ретроспективной, полученных пациентами лучевых нагрузок на нормальные ткани. Такая информация позволяет проводить более корректный анализ ранее проведенных исследований, оценивать возможность повторных курсов лучевой терапии у конкретных пациентов, сочетать на различных этапах лечения конвенциональное и конформное облучение.

**Целью исследования** является оценка переносимости, безопасности и эффективности различных методик лучевой терапии у больных неоперабельным немелкоклеточным раком легкого. Проведено сравнение 2D и 3D планов лучевой терапии.

### Материал и методы

В исследование были включены 52 пациента (49 мужчин и 3 женщины), пролеченные в 2012–2014 гг. с подтвержденным диагнозом НМРЛ ПВ–ШВ стадии. Дозиметрическое планирование проводилось на программе XiO, а конформное облучение – на ускорителе Elekta Synergy S.

Для сравнения лучевых нагрузок при 2D и 3D планировании для пациентов, получивших конформное облучение, были сформированы поля так же, как это делается при конвенциональной лучевой терапии. Сравнение дозовых нагрузок произведено на дозе 50 Гр, так как одна часть больных получила послеоперационный курс ЛТ, СОД 50 Гр, другая – радикальный курс, СОД 60–70 Гр. Произведен анализ распределения дозы при 2D и 3D планировании на мишень и органы риска (пищевод, сердце, легочная ткань, спинной мозг).

Статистический анализ различия поглощенных энергий при лечении двумя методами произведён с использованием непараметрического критерия Вилкоксона W и t критерия Стьюдента.

### Результаты исследования

Для адекватного сравнения лучевых нагрузок были рассчитаны планы в дозе 50 Гр 2D конвенциональной и 3D конформной лучевой терапии для 52 пациентов с НМРЛ ПВ–ШВ стадии, в основном центральным раком лёгкого. В зависимости от расположения опухоли (правое или левое лёгкое), наличия лимфоузлов  $N_{1-2}$  нагрузка на критические органы варьирует. На рис. 1–4 показано сравнение распределения дозы ЛТ в различных органах риска при лечении НМРЛ.

Основываясь на результатах подсчёта доз на критические органы, можно отметить, что при конформном лечении пищевод получает на  $39 \pm 7\%$ , сердце – на  $47 \pm 10\%$ , спинной мозг – на  $10 \pm 4\%$

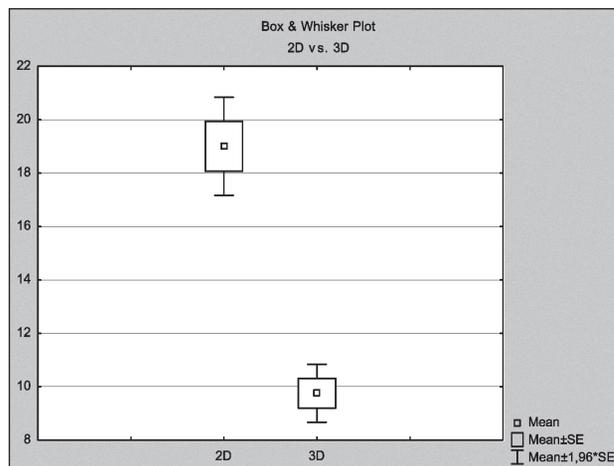


Рис. 1. Сравнение лучевых нагрузок на спинной мозг при 2D, среднее 19,0 Гр и 3D планировании, среднее 9,8 Гр ( $p=0,000264$ )

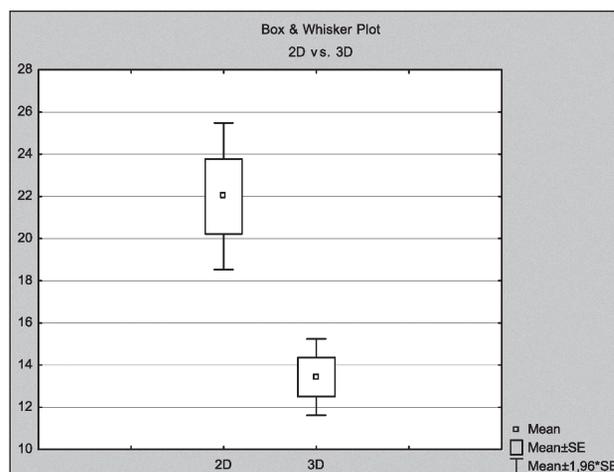


Рис. 2. Сравнение лучевых нагрузок на сердце при 2D, среднее 22,0 Гр и 3D планировании, среднее 13,4 Гр ( $p=0,000007$ )

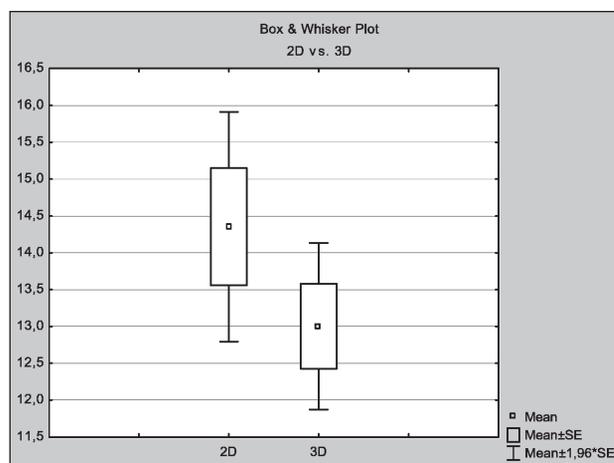


Рис. 3. Сравнение лучевых нагрузок на лёгкие при 2D, среднее 14,4 Гр и 3D планировании, среднее 13,0 Гр ( $p=0,023392$ )

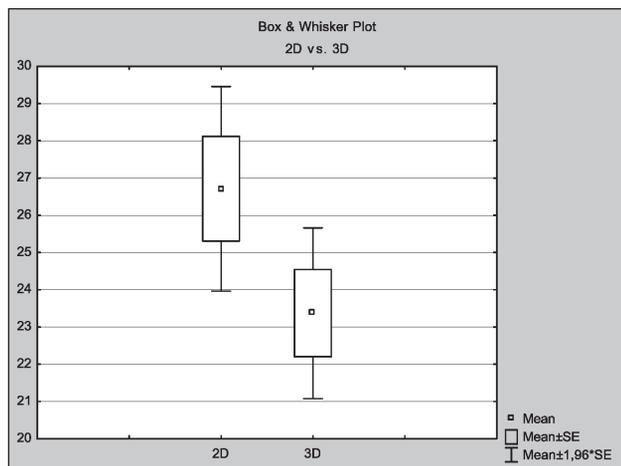


Рис. 4. Сравнение лучевых нагрузок на пищевод при 2D, среднее 26,7 Гр и 3D планировании, среднее 23,4 Гр (p=0,020043)

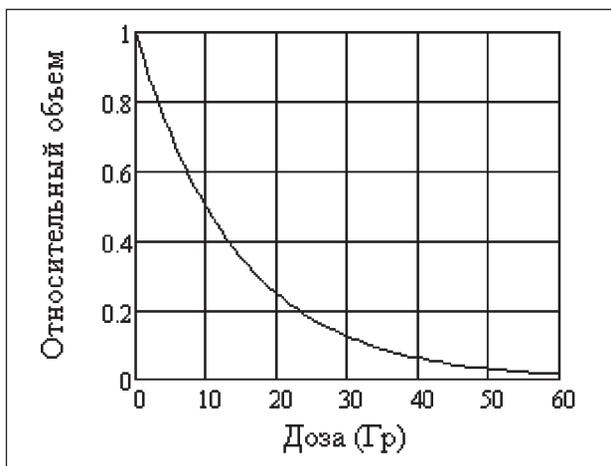


Рис. 5. Зависимость объема облученного органа от дозы облучения

и лёгкие – на  $14 \pm 6$  % меньше лучевой нагрузки. Даже такой относительно грубый, но наглядный статистический метод демонстрирует возможность при конформном облучении эскалировать дозу на мишень, не выходя за пределы толерантности окружающих здоровых тканей. Более точно определить разницу лучевых нагрузок на мишень и критические органы позволяет математический анализ с использованием непараметрического критерия Вилкоксона (W).

Сравним лучевую нагрузку на критические органы и мишень при 2D планировании для линейных ускорителей Philips SL 20 и SL 75 – первый метод и конформном лечении на ускорителе Elekta Synergy S – второй метод. За критерий сравнения примем среднюю энергию, поглощенную в здоровых тканях (органах). Типичная зависимость облученного объема органа и дозы облучения (зависит от разработанного алгоритма облучения) имеет вид, представленный на рис. 5. При этом по оси абсцисс отложена доза, по оси ординат – относительный облученный объем органа. Прокомментируем эту зависимость. Разобьем весь объем на 5 интервалов по 0,2. В первом интервале объема (1–0,8) средняя доза примерно равна 2 Гр, их произведение ( $0,2 \times 2 = 0,4$ ) даст поглощенную энергию в данной части объема, во второй доле

объема (0,8–0,6) средняя доза равна 5 Гр, поглощенная энергия –  $5 \times 0,2 = 1$ . Продолжая так далее и суммируя поглощенные энергии, получим:  $2 \times 0,2 + 5 \times 0,2 + 11 \times 0,2 + 19 \times 0,2 + 30 \times 0,2 = 12,3$  – это энергия, поглощенная во всем органе (фактически мы вычислили площадь под кривой – интеграл). Если разделить ее на объем, который равен 1, получим среднюю дозу в облученной части органа.

В аналитическом виде поглощенная в облученном объеме V с дозой dos(v) энергия E может быть представлена в следующем виде:

$$E = \int_0^V dos(\epsilon) \cdot d\epsilon,$$

и она по значению (не по размерности) равна средней поглощенной дозе.

Значения средних доз (поглощенных энергий) приведены в табл. 1. Для примера взяты данные 6 пациентов. Проведем экспресс-сравнение методов и просуммируем поглощенную энергию в мишени и окружающих опухоль нормальных тканях у всех больных. Так как это различие может быть обусловлено статистическими флуктуациями поглощенной энергии, обусловленными вариациями дозы и объема, проведем анализ различий с использованием тест-статистики Вилкоксона

Таблица 1

**Средняя доза (Гр) по критическим органам и мишени двумя методами лечения:  
2D планирование и 2 – конформное лечение на Elekta Synergy S**

Пациент	Мишень		Спинальный мозг		Сердце		Лёгкие		Пищевод	
	2D	3D	2D	3D	2D	3D	2D	3D	2D	3D
1	51,59	49,82	31,15	19,62	43,94	24,66	22,79	18,75	45,96	35,56
2	49,31	49,96	30,13	15,24	42,92	25,62	22,72	15,56	33,32	27,06
3	50,21	49,81	17,59	3,77	9,54	6,84	12,29	12,27	11,18	6,59
4	49,87	51,18	16,25	7,4	19,86	9,92	12,51	8,99	24,75	20,35
5	49,85	50,29	16,58	4,75	24,23	11,82	14,36	12,25	23,13	16,49
6	51,14	50,52	17,42	11,67	20,73	13,68	18,56	15,41	24,59	20,18

Таблица 2

## Различие поглощенных энергий при двух вариантах лечения

Показатель	Пищевод	Сердце	Спинальный мозг	Легкие
Значение W	54	79	87	67
Уровень p	0,02	<0,01	<0,01	0,01

(величина W). Рассматривалась разность E1 – E2. Разность положительна в случае, когда поглощенная энергия при втором способе лечения больше, чем при первом. В табл. 2 приведены результаты проверки нулевой гипотезы (различие поглощенных энергий при двух вариантах лечения) для всех 52 больных с использованием критерия Вилкоксона (W – значение критерия).

Таким образом, нулевая гипотеза об эквивалентности облученных объемов здоровых тканей отклоняется. Лучевая нагрузка на критические органы при конформной лучевой терапии статистически значимо ниже.

### Обсуждение

В России до недавнего времени большинство исследований применения лучевой терапии при НМРЛ проводилось с использованием конвенциональной ЛТ. С развитием технической базы лучевая терапия переходит на более качественный уровень, тем самым обеспечивая лучшие условия для повреждения опухоли за счет увеличения суммарной очаговой дозы, при этом снижается лучевая нагрузка на окружающие опухоль здоровые органы и ткани. Остаётся актуальной количественная оценка отличий лучевой нагрузки на критические органы при лечении разными методами с целью минимизации риска лучевых повреждений здоровых тканей.

Рекомендации группы QUANTEC позволяют прогнозировать лучевые повреждения и подбирать оптимальные распределения доз для каждого больного. В зависимости от расположения и размеров опухоли и возможностей оборудования подбираются режим фракционирования дозы облучения и химиопрепараты с учётом их токсичности для больных с сопутствующей патологией (заболевания сердечно-сосудистой системы, язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки, болезни почек, сахарный диабет). Индивидуально решается вопрос о суммарной очаговой дозе, которая может быть скорректирована в процессе лечения, но при радикальных курсах не должна быть менее 60 Гр. Тем не менее при лечении рака лёгкого невозможно избежать лучевых реакций со стороны критических органов, особенно часто у пациентов развиваются лучевой эзофагит, пневмонит и перикардит [5, 6]. Проведенный анализ показывает, что конвенциональная лучевая терапия при местнораспространенном раке легкого

практически всегда не укладывается в требования QUANTEC, даже при 3D планировании с трудом удается оптимизировать план облучения до допустимых уровней лучевых нагрузок на нормальные ткани, окружающие опухоль, особенно на паренхиму легкого [8].

Группа наших больных, получивших химиолучевое лечение с использованием конформного облучения, наблюдается более 2 лет, ни у кого из них не выявлены лучевые повреждения лёгких и сердца III–IV ст. В процессе лечения возникали лучевые реакции со стороны пищевода и лёгких I–II ст., купированные симптоматической терапией без прерывания курса ЛТ. В то же время при оценке переносимости химиолучевого лечения у 187 больных раком легкого, получивших конвенциональное облучение в МРНЦ, было установлено, что частота острого пневмонита III ст. составила 8,7 %, острого эзофагита III ст. – 6,5 % [1].

Анализ мировых данных также показывает, что частота острого лучевого эзофагита III ст. колеблется от 1,3 % (при конвенциональной ЛТ) до 36,0 % (при одновременной химиолучевой терапии). Частота острого лучевого пневмонита III ст. также зависит от вида проводимого лечения. При конвенциональной лучевой терапии его частота составляет около 2 %, при одновременной химиолучевой терапии – увеличивается до 8–22 % [12].

Необходимо отметить, что больные раком легкого относятся к категории пациентов, которые, прежде всего, нуждаются в конформном облучении, поскольку наблюдается существенный выигрыш от его использования. Именно в грудной полости расположено значительное число критических с точки зрения радиочувствительности структур, окружающих опухоль, на которые существенно снижается лучевая нагрузка.

### Заключение

Проведенный анализ показал, что использование конформной лучевой терапии рака легкого позволяет резко снизить лучевую нагрузку на нормальные ткани, что существенно повышает качество жизни пролеченных больных и создает условия для эскалации суммарной очаговой дозы. Ретроспективный анализ лучевых нагрузок на органы и ткани позволяет оценивать возможность проведения повторной ЛТ и сочетать методики конвенционального и конформного облучения на различных этапах лечения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гоголин Д.В., Гулидов И.А., Мардынский Ю.С., Иванова И.Н., Рагулин Ю.А., Курсова Л.В. Ускоренное гиперфракционирование с неравномерным дроблением дневной дозы при лучевом и химиолучевом лечении неоперабельного немелкоклеточного рака легкого // Сибирский онкологический журнал. 2014. № 6. С. 5–9.

2. Золотков А.Г., Мардынский Ю.С., Гулидов И.А., Красильников А.В., Эфендиев В.А., Вальков М.Ю. Повышение эффективности лучевой терапии рака легкого: клинические и экономические проблемы // Клиническая радиология – практика. 2008. № 3. С. 16–20.

3. Мардынский Ю.С., Золотков А.Г., Кудрявцев Д.В. Значение лучевой терапии в лечении рака легкого // Вопросы онкологии. 2006. Т. 52, № 5. С. 499–504.

4. Сидоренко Ю.С. Пути улучшения результатов лечения больных онкологическими болезнями // Снижение смертности – стратегическое направление демографической политики: сборник материалов XII (80) сессии Общего собрания Российской академии медицинских наук. М., 2007. С. 20–27.

5. Трахтенберг А.Х. Рак лёгкого. М., 1987. 304 с.

6. Alam N., Darling G., Evans W.K., Mackay J.A., Shepherd F.A.; Lung Cancer Disease Site Group of Cancer Care Ontario's Program in Evidence-Based Care. Adjuvant chemotherapy of completely resected non-small cell lung cancer: a systematic review // Crit. Rev. Oncol. Hematol. 2006. Vol. 58 (2). P. 146–155.

7. Byhardt R., Martin L., Pajak T., Shin K.H., Emami B., Cox J.D. The influence of field size and other treatment factors on pulmonary toxicity following hyperfractionated irradiation for inoperable non-small cell lung cancer (NSCLC) – analysis of a Radiation Therapy Oncology Group

(RTOG) protocol // Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 1993. Vol. 27 (3). P. 537–544.

8. Marks L.B., Bentzen S.M., Deasy J.O., Kong S., Bradley J.D., Vogelius I.S., El Naqa I., Hubbs J.L., Lebesque J.V., Timmerman R.D., Martel M.K., Jackson A. Radiation dose-volume effects in the lung // Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 2010. Vol. 76. (3 Suppl.). P. 70–76. doi: 10.1016/j.ijrobp.2009.06.091.

9. Mavroidis P., Shi C., Plataniotis G.A., Delichas M.G., Ferreira B.C., Rodrigues S., Lind B.K., Papanikolaou N. Comparison of the helical tomotherapy against the multileaf collimator-based intensity-modulated radiotherapy and 3D conformal radiation modalities in lung cancer radiotherapy // Br. J. Radiol. 2011. Vol. 84 (998). P. 161–172. doi: 10.1259/bjr/89275085.

10. Sim S., Rosenzweig K.E., Schindelheim R., Ng K.K., Leibel S.A. Induction chemotherapy plus three-dimensional conformal radiation therapy in the definitive treatment of locally advanced non-small-cell lung cancer // Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 2001. Vol. 51 (3). P. 660–665.

11. Simone C.B. 2nd, Ly D., Dan T.D., Ondos J., Ning H., Belard A., O'Connell J., Miller R.W., Simone N.L. Comparison of intensity-modulated radiotherapy, adaptive radiotherapy, proton radiotherapy, and adaptive proton radiotherapy for treatment of locally advanced head and neck cancer // Radiother. Oncol. 2011. Vol. 101 (3). P. 376–382. doi: 10.1016/j.radonc.2011.05.028.

12. Werner-Wasik M., Paulus R., Curran W.J. Jr., Byhardt R. Acute esophagitis and late lung toxicity in concurrent chemoradiotherapy trials in patients with locally advanced non-small-cell lung cancer: analysis of the radiation therapy oncology group (RTOG) database // Clin. Lung Cancer. 2011. Vol. 12 (4). P. 245–251. doi: 10.1016/j.clcc.2011.03.026.

Поступила 3.04.15

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**Гулидов Игорь Александрович**, доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделением дистанционной лучевой терапии, Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский радиологический центр» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Обнинск), Российская Федерация. E-mail: iagulidov@mrc.obninsk.ru. SPIN-код: 2492-5581

**Иванова Ирина Николаевна**, кандидат медицинских наук, врач-радиолог отделения дистанционной лучевой терапии, Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский радиологический центр» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Обнинск), Российская Федерация. E-mail: ivanirka@gmail.com. SPIN-код: 5950-0917

**Гоголин Данил Вячеславович**, врач-радиолог отделения дистанционной лучевой терапии, Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский радиологический центр» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Обнинск), Российская Федерация. E-mail: dgogolin@yandex.ru. SPIN-код: 7491-3379

**Горский Антон Игоревич**, ведущий научный сотрудник лаборатории оценки радиационных рисков и математического моделирования, Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский радиологический центр» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Обнинск), Российская Федерация. Тел.: 8 (484) 939-32-60. E-mail: gorsky@nrcr.ru

**Курсова Лариса Викторовна**, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник отделения хирургического и консервативного лечения лучевых повреждений, Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский радиологический центр» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Обнинск), Российская Федерация. E-mail: larisa@mrc.obninsk.ru. SPIN-код: 4852-3241

**Букша Анна Юрьевна**, инженер отделения клинической топометрии и дозиметрии, Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский радиологический центр» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Обнинск), Российская Федерация. Тел.: 8 (484) 399-30-35. E-mail: a.bouksha@mail.ru. SPIN-код: 9184-2186

**Рагулин Юрий Александрович**, кандидат медицинских наук, заведующий отделением лучевого и хирургического лечения заболеваний торакальной области с группой лечения заболеваний молочной железы, Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский радиологический центр» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Обнинск), Российская Федерация. E-mail: yuri.ragulin@mail.ru. SPIN-код: 6453-6594

**Авторы данной статьи подтвердили отсутствие финансовой поддержки / конфликта интересов, о котором необходимо сообщить**

## COMPARATIVE ANALYSIS OF THE RADIATION EXPOSURE ON THE TARGET AND CRITICAL ORGANS WITH 2D AND 3D PLANNING OF RADIATION THERAPY FOR LUNG CANCER

I.A. Gulidov, I.N. Ivanova, D.V. Gogolin, A.I. Gorsky, L.V. Kursova, A.Ju. Bouksha, Yu.A. Ragulin

A.F. Tsyba Medical Radiological Research Center affiliated to P.A. Gertsen Moscow Cancer Research Institute, Obninsk  
4, Korolev street, 249036-Obninsk, Russian Federation, e-mail: mrrc@mrrc.obninsk.ru

### Abstract

**Background and purpose.** The purpose of this investigation was to evaluate feasibility, safety and efficacy of radiotherapy for inoperable non-small-cell lung cancer (NSCLC). Various radiotherapy planning methods have been proposed to decrease normal tissue toxicity. We compared 2D-RT with 3D-RT for NSCLC. Parameters assessed included dose to PTV and organ-at-risk (OAR), multiple conformity and homogeneity indices. **Material and methods.** Initial and re-simulation CT images from 52 consecutive patients with IIB – IIIB NSCLC were used to quantify dosimetric differences between 2D and 3D conformal radiotherapy. Contouring was performed on both CTs, and plans (n=104 plans) and dose-volume histograms were generated. **Results.** All plans provided comparable PTV coverage. Compared with 2D-RT, 3D-RT significantly reduced the maximum dose to heart ( $p<0.01$ ), spinal cord ( $p<0.01$ ), whole lung ( $p<0.01$ ), esophagus ( $p<0.02$ ) – Wilcoxon test.

**Key words:** non-small cell lung cancer, comparison of conventional and conformal radiation therapy.

### REFERENCES

1. Gogolin D.V., Gulidov I.A., Mardynsky Yu.S., Ivanova I.N., Ragulin Yu.A., Kursova L.V. Accelerated hyperfractionated radiotherapy with nonuniform fractionation of daily dose in radiation and chemoradiation therapy for inoperable non-small cell lung cancer // Sibirskij onkologicheskij zhurnal. 2014. № 6. P. 5–9. [in Russian]
2. Zolotkov A.G., Mardynsky Yu.S., Gulidov I.A., Krasilnikov A.V., Efendiev V.A., Valkov M.Yu. Improvement of radiotherapy efficiency in treating patients with lung cancer: clinical and economic problems // Klinicheskaja radiologija – praktika. 2008. № 3. P. 16–20. [in Russian]
3. Mardynsky Yu.S., Zolotkov A.G., Kudryavtsev D.V. Importance of radiation therapy for lung cancer // Voprosy onkologii. 2006. Vol. 52 (5). P. 499–504. [in Russian]
4. Sidorenko Yu.S. Ways of improvement of treatment outcomes in cancer patients // Snizhenie smertnosti – strategicheskoe napravlenie demograficheskoy politiki: sbornik materialov XII (80) sessii Obshhego sobranija Rossijskoy akademii medicinskih nauk. M., 2007. P. 20–27. [in Russian]
5. Trakhtenberg A.Kh. Lung cancer. M, 1987. 304 p. [in Russian]
6. Alam N., Darling G., Evans W.K., Mackay J.A., Shepherd F.A.; Lung Cancer Disease Site Group of Cancer Care Ontario's Program in Evidence-Based Care. Adjuvant chemotherapy of completely resected non-small cell lung cancer: a systematic review // Crit. Rev. Oncol. Hematol. 2006. Vol. 58 (2). P. 146–155.
7. Byhardt R., Martin L., Pajak T., Shin K.H., Emami B., Cox J.D. The influence of field size and other treatment factors on pulmonary toxicity following hyperfractionated irradiation for inoperable non-small cell lung cancer (NSCLC)--analysis of a Radiation Therapy Oncology Group (RTOG) protocol // Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 1993. Vol. 27 (3). P. 537–544.
8. Marks L.B., Bentzen S.M., Deasy J.O., Kong S., Bradley J.D., Vogelius I.S., El Naqa I., Hubbs J.L., Lebesque J.V., Timmerman R.D., Martel M.K., Jackson A. Radiation dose-volume effects in the lung // Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 2010. Vol. 76. (3 Suppl.). P. 70–76. doi: 10.1016/j.ijrobp.2009.06.091.
9. Mavroidis P., Shi C., Plataniotis G.A., Delichas M.G., Ferreira B.C., Rodrigues S., Lind B.K., Papanikolaou N. Comparison of the helical tomotherapy against the multileaf collimator-based intensity-modulated radiotherapy and 3D conformal radiation modalities in lung cancer radiotherapy // Br. J. Radiol. 2011. Vol. 84 (998). P. 161–172. doi: 10.1259/bjr/89275085.
10. Sim S., Rosenzweig K.E., Schindelheim R., Ng K.K., Leibel S.A. Induction chemotherapy plus three-dimensional conformal radiation therapy in the definitive treatment of locally advanced non-small-cell lung cancer // Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 2001. Vol. 51 (3). P. 660–665.
11. Simone C.B. 2nd, Ly D., Dan T.D., Ondos J., Ning H., Belard A., O'Connell J., Miller R.W., Simone N.L. Comparison of intensity-modulated radiotherapy, adaptive radiotherapy, proton radiotherapy, and adaptive proton radiotherapy for treatment of locally advanced head and neck cancer // Radiother. Oncol. 2011. Vol. 101 (3). P. 376–382. doi: 10.1016/j.radonc.2011.05.028.
12. Werner-Wasik M., Paulus R., Curran W.J. Jr., Byhardt R. Acute esophagitis and late lung toxicity in concurrent chemoradiotherapy trials in patients with locally advanced non-small-cell lung cancer: analysis of the radiation therapy oncology group (RTOG) database // Clin. Lung Cancer. 2011. Vol. 12 (4). P. 245–251. doi: 10.1016/j.clcc.2011.03.026.

### ABOUT THE AUTHORS

**Gulidov Igor Alexandrovich**, MD, Professor, Head of External Beam Radiation Therapy Department, A.F. Tsyba Medical Radiological Research Center affiliated to P.A. Gertsen Moscow Cancer Research Institute (Obninsk), Russian Federation. E-mail: iagulidov@mrrc.obninsk.ru. SPIN-code: 2492-5581

**Ivanova Irina Nikolaevna**, MD, PhD, radiologist, External Beam Radiation Therapy Department, A.F. Tsyba Medical Radiological Research Center affiliated to P.A. Gertsen Moscow Cancer Research Institute (Obninsk), Russian Federation. E-mail: ivanirka@gmail.com. SPIN-code: 5950-0917

**Gogolin Danil Vyacheslavovich**, radiologist, External Beam Radiation Therapy Department, A.F. Tsyba Medical Radiological Research Center affiliated to P.A. Gertsen Moscow Cancer Research Institute (Obninsk), Russian Federation. E-mail: dgogolin@yandex.ru. SPIN-code: 7491-3379

**Gorsky Anton Igorevich**, Leading Researcher, Laboratory of Assessment of Radiation Risks and Mathematical Modeling, A.F. Tsyba Medical Radiological Research Center affiliated to P.A. Gertsen Moscow Cancer Research Institute (Obninsk), Russian Federation. Phone: +7 (484) 939-32-60. E-mail: gorsky@nrer.ru

**Kursova Larisa Viktorovna**, MD, PhD, Leading research fellow, Department of Surgical and Conservative Treatment of Radiation-induced Damage, A.F. Tsyba Medical Radiological Research Center affiliated to P.A. Gertsen Moscow Cancer Research Institute (Obninsk), Russian Federation. E-mail: larisa@mrrc.obninsk.ru. SPIN-code: 4852-3241

**Buksha Anna Yurievna**, engineer, Department of Clinical Topometry and Dosimetry, A.F. Tsyba Medical Radiological Research Center affiliated to P.A. Gertsen Moscow Cancer Research Institute (Obninsk), Russian Federation. Phone: +7 (484) 399-30-35. E-mail: a.bouksha@mail.ru. SPIN-code: 9184-2186

**Ragulin Yuriy Alexandrovich**, MD, PhD, Head of Department of Thoracic Radiotherapy and Surgery with Group of Breast Cancer Treatment, A.F. Tsyba Medical Radiological Research Center affiliated to P.A. Gertsen Moscow Cancer Research Institute (Obninsk), Russian Federation. E-mail: yuri.ragulin@mail.ru. SPIN-code: 6453-6594

## РУЧНОЙ КОЛОАНАЛЬНЫЙ ИЛИ АППАРАТНЫЙ КОЛОРЕКТАЛЬНЫЙ АНАСТОМОЗ? СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЛАПАРОСКОПИЧЕСКИХ НИЗКИХ РЕЗЕКЦИЙ ПРЯМОЙ КИШКИ

И.Л. Черниковский

Санкт-Петербургский клинический научно-практический центр специализированных видов медицинской помощи (онкологический), г. Санкт-Петербург  
197758, г. Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, 68А, e-mail: Odindra@mail.ru

### Аннотация

**Цель исследования:** сравнение непосредственных результатов ультранизких передних резекций (ПРПР) и интрасфинктерных резекций (ИСР) прямой кишки. **Материалы и методы.** Представлены результаты лечения 42 больных, прооперированных в период с марта 2014 г. по январь 2015 г., I группу составили 24 пациента, перенесшие лапароскопическую ультранизкую ПРПК, II группу – 18 больных, которым была произведена лапароскопическая ИСР. **Результаты.** Средняя продолжительность вмешательства и объем кровопотери в сравниваемых группах значимо не отличались. Во всех случаях циркулярный и дистальный края резекции были интактны. У 18 (75 %) больных I группы и у 14 (77,7 %) пациентов II группы качество ТМЭ было оценено как grade 3 ( $p=0,83$ ). Частота послеоперационных осложнений при ПРПК составила 20,8 %, они не потребовали хирургической коррекции. Во II группе осложнения возникли в 27,8 % случаев, у 3 (16,8 %) больных потребовалось выполнить повторные операции. Среднее значение функции анального недержания по шкале Векснера через месяц после операции оказалось значимо достоверно выше во II группе – 9,3 против 6,2 – в I группе больных ( $p=0,01$ ). Выполнение ультранизких ПРПК потребовало расходных материалов в среднем на 45 тыс. руб. больше, чем ИСР. **Выводы.** По продолжительности вмешательства, объему интраоперационной кровопотери, качеству мезоректумэктомии эти хирургические методики сопоставимы. Частота осложнений также значимо не отличалась, однако в группе больных, которым выполнялась интрасфинктерная резекция, в 16,8 % случаев потребовалась релапаротомия, что, возможно, связано с этапом освоения методики ИСР, и в дальнейшем можно ожидать снижения уровня осложнений. Функционально ультранизкие передние резекции прямой кишки с резервуарным анастомозом являются более предпочтительными. Использование методики резервуарного колоанального анастомоза с сохранением порции внутреннего сфинктера при выполнении ИСР обеспечивает функциональные результаты, сопоставимые с полученными при ультранизких ПРПК.

**Ключевые слова:** рак прямой кишки, лапароскопические операции, ультранизкая передняя резекция, интрасфинктерная резекция прямой кишки.

Совершенствование хирургических методов лечения больных дистальным раком прямой кишки (РПК) является актуальной задачей. Это связано как с высокой заболеваемостью РПК, так и с существенным снижением качества жизни пациентов, перенесших оперативное пособие. Наиболее часто аденокарцинома прямой кишки локализуется в дистальной ее части (65 %), из них более чем в 35 % – в нижнеампулярном отделе [2, 4, 20].

Исследования, посвященные особенностям распространения опухоли прямой кишки, значительно расширили показания для сфинктеросохраняющих операций (ССО). Наиболее значимым фактором прогноза является циркулярный край резекции, что требует тщательного выполнения мезоректумэктомии (ТМЭ). Минимальный клиренс по нижнему краю резекции со стороны слизистой

может составлять 1 см, а отступ в дистальном направлении по мезоректальной клетчатке – не менее 4 см [23, 26, 27, 33]. Дополнительные возможности для выполнения ССО появились при внедрении в повседневную практику механических степлеров для формирования низких колоректальных и колоанальных анастомозов [13, 26, 33]. Доказанная эффективность неoadьювантной химиолучевой терапии при РПК с поражением средне- и нижнеампулярного отделов позволила сосредоточиться на совершенствовании реконструктивного этапа оперативного лечения, с целью снижения числа осложнений и улучшения качества жизни больных [1, 3, 17, 19, 26].

В литературе активно обсуждался вопрос безопасности и онкологической целесообразности эндовидеохирургических технологий при лечении

РПК. В настоящее время опубликованы результаты нескольких рандомизированных проспективных исследований (CLASICC, COLOR II, COREAN) [15, 22, 34], в которых были показаны следующие преимущества подобных операций по сравнению с открытыми вмешательствами: значимо меньшая кровопотеря, более раннее восстановление функции кишечника и короткий срок госпитализации. По качеству мезоректумэктомии, циркулярной границе резекции, лимфаденэктомии, частоте осложнений и летальности значимых различий также не получено. Недавно опубликованы данные об отдаленных результатах лапароскопических резекций при РПК (COREAN), в соответствии с которыми трехлетняя безрецидивная выживаемость в «открытой» и «лапароскопической» группах не отличалась [21]. Исследование CLASSIC продемонстрировало отсутствие значимых отличий в группах в отношении общей и безрецидивной выживаемости при медиане наблюдения 62 мес [14]. Вышеуказанные обстоятельства способствовали широкому внедрению в практику лапароскопических модификаций низкой передней, брюшно-анальной и интрасфинктерной резекций прямой кишки.

При практическом применении низкой и ультранизкой передней резекций прямой кишки важным аспектом является снижение частоты несостоятельности колоректального анастомоза (НКА), которая достигает 3–30 % [25] и находится в обратной зависимости от расстояния между анастомозом и зубчатой линией. Ряд авторов убедительно демонстрируют возрастание риска НКА с увеличением размеров опухоли, у пациентов мужского пола, при интраоперационной кровопотере более 200 мл и при отсутствии дивертивной стомы [24, 28, 35]. Даже при наличии стомы до 8 % больных нуждаются в реоперации при возникновении НКА, а при отсутствии таковой частота релапаротомий возрастает до 58 % [32]. В связи с этим большинство хирургов склонны формировать превентивную кишечную стому при низких и ультранизких передних резекциях прямой кишки.

Некоторые авторы указывают на характерную для эндовидеохирургического варианта низкой и ультранизкой резекции прямой кишки проблему адекватной оценки дистальной границы резекции во время операции [5]. Отсутствие возможности пальпаторной оценки дистального края опухоли при наложении линейного степлера и отсечении прямой кишки заставляет прибегать к интраоперационному трансректальному пальцевому контролю, что, на наш взгляд, является не вполне надежным методом. Для решения этой проблемы также используются интраоперационная ректоскопия и татуаж границ опухоли, однако широкого применения эти методики не находят.

У более чем 40 % больных, перенесших низкую и ультранизкую передние резекции прямой кишки, наблюдается ряд функциональных нару-

шений, именуемых синдромом низкой передней резекции [6]. Пути улучшения функциональных результатов имеют два направления. Во-первых, это интраоперационное сохранение вегетативных нервов таза, чему способствует расширение возможностей для прецизионной мезоректумэктомии за счет 3D визуализации, использование робот-ассистированных методик, совершенствование эндовидеохирургии. Во-вторых, совершенствование методик формирования неоампулы прямой кишки. Существующие варианты колопластики позволяют несколько улучшить функциональные результаты. Так, J-образный резервуар (рекомендуемая длина 5 см) способствует снижению риска несостоятельности анастомоза при хорошем восстановлении накопительной функции в течение 1 года. Поперечная колопластика сопровождается несколько более высокой частотой несостоятельности анастомоза и худшими функциональными результатами. Наиболее успешным оказалось формирование анастомоза «бок в конец» с запасом участка толстой кишки около 3 см (side-to-end anastomosis – STEA) [30]. Такой вариант сопровождался результатами, сопоставимыми с J-резервуаром, при этом методика STEA технически проще. Так или иначе, поиски в этом направлении продолжаются, применялись и другие варианты формирования неоректум, такие как, например, илеоцекальная транспозиция [29], однако они не продемонстрировали особых преимуществ перед традиционными [16]. Несмотря на вышеописанные сложности, передняя резекция прямой кишки остается наиболее популярной операцией при «дистальном» РПК.

Одновременно с совершенствованием технологии передней резекции развивался принципиально иной метод реконструкции прямой кишки, основанный на формировании анастомоза в глубине малого таза, что было особенно актуально до появления циркулярных степлеров. Основоположником метода является W. Vabcock, который в 1932 г. впервые выполнил трансабдоминальную резекцию прямой кишки с «протаскиванием» или низведением толстой кишки в малый таз и подшиванием ее к анальному краю [8]. Позднее операция была популяризирована G. Vason, который впервые описал возможность ее выполнения для низко расположенных опухолей путем задней сфинктеротомии [9]. Различают 2 варианта операции: с эвагинационным колоректальным анастомозом по Turnbull и эвагинационным колоанальным анастомозом по Петрову – Нисневичу – Холдину. В обеих модификациях вторым этапом отсекают избыток низведенной кишки. Большинство исследований убедительно свидетельствуют о неудовлетворительных функциональных результатах подобных вмешательств, поэтому активное внедрение циркулярных степлеров вытеснило брюшно-анальную резекцию из арсенала европейских и американских хирургов [6].

Однако расширение показаний к сфинктеросохраняющим операциям заставило вновь обратиться к операциям подобного типа, что способствовало появлению новой хирургической технологии – интрасфинктерной резекции прямой кишки (ИСР), предложенной J.A. Lyttle, A.G. Parks в 1977 г. Позже, в 1994 г., ИСР была описана R. Schiessel et al. для лечения «низкого» рака прямой кишки. Основное преимущество ИСР перед ультранизкой передней резекцией прямой кишки состоит в возможности сформировать ручной колоанальный анастомоз на таком предельно низком уровне, где аппаратное соустье технически невозможно. Кроме того, она позволяет включить в препарат частично или полностью внутренний сфинктер, тем самым «опустив» дистальную границу резекции практически до зубчатой линии. Целесообразность ИСР с точки зрения онкологического радикализма была обоснована рядом исследований [31, 33], однако вопрос определения показаний остается открытым. Очевидным противопоказанием является поражение элементов сфинктера, тогда как локализация опухоли на расстоянии 1,5–3,5 см от зубчатой линии определяет выбор хирурга в пользу ИСР [6].

Наиболее существенный недостаток данного вмешательства – это синдром «низкой передней резекции», развития которого при удалении внутреннего сфинктера следует ожидать чаще, чем при передней резекции. По данным некоторых авторов, не более 40 % больных, перенесших ИСР, не испытывают выраженных проблем с дефекацией. В связи с этим обстоятельством разработано множество оригинальных методик формирования неоректум и неосфинктера [4, 30]. К наиболее распространенным относятся создание J-образного или S-образного резервуаров с формированием гладкомышечного жома и поперечной колопластики.

Дискутируется вопрос о необходимости превентивной кишечной стомы при ИСР. Ряд авторов считают этот этап излишним, так как несостоятельность колоанального анастомоза, как правило, не приводит к перитониту [7]. Тем не менее осложнения, являющиеся специфическими для ИСР, такие как некроз низведенной кишки, стриктура (встречается в 5,8 %) и несостоятельность анастомоза (10,5 %) [33], служат основанием для формирования разгрузочной стомы.

В связи с широким внедрением в практику лапароскопического доступа при ИСР актуальной становится проблема выбора трансанального либо трансабдоминального извлечения препарата. Трансанальный способ служит промежуточным шагом к транслюминальным операциям в колоректальной хирургии и, по мнению некоторых авторов, не уступает мини-лапаротомии [12]. Существует и противоположное мнение, связанное с высоким уровнем осложнений, обусловленных трансанальным извлечением препарата [11]. Большинство

авторов указывают на необходимость кисетного шва дистальнее опухоли для предотвращения имплантации опухолевых элементов во время операции. Для повышения абластики рекомендуется начинать вмешательство с промежностного этапа [5], что при использовании оборудования для ТЭМ или монопорта открывает возможности для относительно нового хирургического приема – реверсивной мезоректумэктомии.

Учитывая, что при определенной локализации опухоли в прямой кишке показания к ультранизкой передней резекции прямой кишки и к ИСР совпадают, опубликован ряд исследований, сравнивающих их результаты [7, 10, 18]. Обобщая накопленный опыт, следует отметить, что преимуществами передней резекции прямой кишки являются возможность выполнения менее трудоемкого резервуара – STEA, быстрое техническое исполнение анастомоза, благодаря использованию степлеров, возможность сохранения внутреннего сфинктера и несколько меньшее число осложнений. Однако применение ИСР прямой кишки с J-образным резервуаром, сохранением пуборектальной петли сопровождается близкими функциональными результатами, формирование ручного колоанального анастомоза не требует использования дорогостоящего степлера и позволяет в ряде случаев обойтись без превентивной стомы. Кроме того, ИСР расширяет возможности для сфинктеросохраняющей операции и позволяет четко визуализировать дистальный край резекции.

**Целью исследования** явилось сравнение непосредственных результатов указанных вариантов резекции, частоты и характера функциональных нарушений после данных вмешательств, а также расчет экономической составляющей для каждого вида операции.

### Материал и методы

В исследовании проведен анализ результатов хирургического лечения 42 больных дистальным раком прямой кишки, которые были прооперированы в КНпЦСВМП(о) в период с марта 2014 г. по январь 2015 г. Критериями включения являлись: локализация нижнего полюса опухоли на 2–5 см от зубчатой линии, стадия заболевания –  $cT_{1-3}N_{0-2}M_0$ , отсутствие признаков инвазии опухоли в сфинктер и леваторы, гистотип – аденокарцинома. Всем больным в рамках предоперационного обследования выполнялись МРТ малого таза с контрастированием, трансректальное УЗИ, КТ грудной клетки и брюшной полости, ректороманоскопия с биопсией, фиброколоноскопия. Неоадьювантную химиолучевую терапию (ХЛТ) получили 32 пациента, СОД 52 Гр на фоне радиомодификации кселодой 825 мг/м<sup>2</sup> в сут.

Все пациенты были разделены на 2 группы, сопоставимые по полу, возрасту, ИМТ, шкале CR-POSSUM (табл. 1):

Таблица 1

Характеристика групп больных

Операция	ИМТ	CR-POSSUM	Возраст, лет	Пол (муж/жен)	ХЛТ
ПРПК (n=24)	23,8 ± 4,2	6,4 ± 3,1 %	68,3 ± 10,4	11/13	19
ИСП (n=18)	22,1 ± 3,9	6,1 ± 3,4 %	71,2 ± 8,8	7/11	13

Таблица 2

Характеристика выполненных хирургических вмешательств

Тип операции	ПРПК (n=24)	ИСП (n=18)
Трансверзостомия	18 (75,0 %)	-
Илеостомия	6 (25,0 %)	-
J-образный резервуар	6 (25,0 %)	-
СТЕА	2 (8,3 %)	-
Поперечная колопластика	9 (37,5 %)	9 (50,0 %)

- I группа – 24 пациента, перенесшие лапароскопическую ультранизкую переднюю резекцию прямой кишки (ПРПК);

- II группа – 18 больных, которым была произведена лапароскопическая интерсфинктерная резекция прямой кишки с формированием ручного колоанального анастомоза и поперечной колопластикой.

Передняя резекция прямой кишки во всех случаях сопровождалась тотальной мезоректум-эктомией, формированием превентивной стомы (6 – илеостом, 18 – трансверзостом) и двухстеплерным анастомозом. У 6 больных I группы колоанальный анастомоз был дополнен J-образным резервуаром длиной 5 см, который формировался с использованием линейного степлера NTLC с регулируемой высотой закрытия скобки. В 2 случаях был сделан СТЕА с погружением головки циркулярного степлера в просвет ободочной кишки и прошиванием циркулярным степлером по типу «бок в конец» на расстоянии 4–5 см от заглушенной культи ободочной кишки. Поперечная колопластика (n=9) выполнялась нитью Викрил 3/0 9120 на колющей игле, первый ряд швов – обвивной непрерывный, второй – узловый. Пациентам II группы превентивная стома не формировалась, во всех случаях производилась мобилизация селезеночного изгиба ободочной кишки, «ручной» колоанальный анастомоз формировался двухрядным узловым швом с использованием нити Викрил 3/0 9120 на колющей игле (табл. 2). Поперечная колопластика по аналогичной методике произведена 9 больным. Препарат всегда извлекался трансанально.

В исследовании оценивались продолжительность хирургического вмешательства, интраоперационная кровопотеря, послеоперационные осложнения, циркулярный, дистальный и проксимальный края резекции, качество ТМЭ по критериям P. Quirke. Функциональные результаты оценивались по шкале Векснера (Fecal Incontinence Severity Index), качество жизни – с помощью специализированного опросника FIQL (Fecal Incontinence Quality of Life). Кроме того, были

рассчитаны финансовые затраты учреждения для указанных видов оперативных вмешательств.

Результаты исследования и обсуждение

При анализе непосредственных результатов выполненных операций отдельно указываем сложности, возникшие при каждой из методик. При ультранизкой лапароскопической резекции прямой кишки в одном случае не удалось адекватно определить каудальную границу резекции, и после удаления препарата был зафиксирован макроскопически положительный дистальный край. Операция была модифицирована в ИСП с интрасфинктерным иссечением культи прямой кишки, лапароскопической мобилизацией селезеночного изгиба с низведением ободочной кишки и формированием колоанального анастомоза. Кроме того, возникали сложности при пересечении прямой кишки непосредственно над тазовым дном, понимая при этом необходимость формирования одной, желательной вертикальной, линии степлерного шва. Эту задачу удалось решить, устанавливая 12-мм, а не 5-мм троакар в правом мезогастрин с использованием его для проведения степлера (рис. 1).

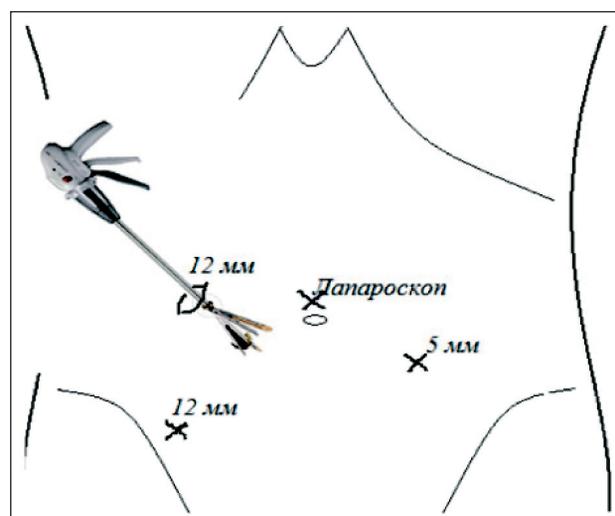


Рис. 1. Схема установки троакаров и линейного степлера

Таблица 3

## Непосредственные результаты операций

Показатель	ПРПК (n=24)	ИСР (n=18)	p
Продолжительность операции, мин	206 ± 46	216 ± 24	0,72
Объем кровопотери, мл	113,6	85,4	0,88
Качество ТМЭ уровня-3 по критериям P. Quirke, %	18 (75,0 %)	14 (77,7 %)	0,83
Функция анального недержания	6,2	9,3	0,01
Послеоперационная летальность	-	-	-

Основные сложности при выполнении ИСР возникали с лапароскопической мобилизацией селезеночного изгиба. Данный этап операции считаем абсолютно обязательным, поэтому с целью минимизации риска повреждения капсулы селезенки и хвоста поджелудочной железы работали по следующему алгоритму. Из первоначальной позиции осуществляли диссекцию между фасцией Тольда и мезоколон вверх до нижнего края поджелудочной железы. Затем оператор располагался между разведенных нижних конечностей пациента, и производилась латеральная мобилизация ободочной кишки с пересечением селезеночно-ободочной связки и перехода в сальниковую сумку. При этом для визуального контроля использовался 2-й монитор, установленный над правым плечом больного, инструменты для пересечения тканей вводились через расположенный слева 5-мм троакар. Только после этого в правом подреберье устанавливался дополнительный 5-мм троакар, и оператор из первоначальной позиции пересекал желудочно-ободочную связку (рис. 2).

Следует отметить важный технический аспект ИСР – сложности с правильным расположением низведенной кишки в малом тазу при трансанальном извлечении препарата. Учитывая отсутствие лапароскопического контроля в момент извлечения, для предотвращения перекрута и натяжения брыжейки перед формированием анастомоза возобновляли пневмоперитонеум и визуально оценивали низведенную кишку.

По средней продолжительности операции оба вида вмешательства значительно не отличались – 206 ± 46 мин и 216 ± 24 мин соответственно (p=0,72) (табл. 3). При ультранизких ПРПК дополнительное время требовалось для формирования превентивной стомы, при ИСР – для мобилизации селезеночного изгиба ободочной кишки и трансанального этапа операции. Интраоперационная кровопотеря оказалась несколько выше во II группе, однако различия также были не достоверны (p=0,88). Во всех случаях циркулярный и дистальный края резекции были интактны. У 18 (75 %) больных I группы и у 14 (77,7 %) пациентов II группы качество ТМЭ было оценено как grade 3 (p=0,83). Среднее значение функции анального недержания через месяц после операции по шкале Векснера оказалось значительно выше во II группе – 9,3 против 6,2 – в I группе (табл. 3).

Послеоперационные осложнения (табл. 4) наблюдались у 5 (20,8 %) больных I группы и у 5 (27,8 %) больных II группы, различия оказались не значимы (p=0,38), однако структура осложнений существенно отличалась, прежде всего тем, что 3 (16,7 %) пациентам после ИСР потребовались релапаротомии. В I группе у 3 (12,5 %) возникла несостоятельность анастомоза, у 1 (4,2 %) больного – задержка мочи, у 1 (4,2 %) больного – стриктура анастомоза. Эти осложнения были купированы консервативными методами. Во II группе у 2 (11,2 %) больных развился некроз низведенной кишки, что потребовало формирования стомы, у 1 (5,6 %) –

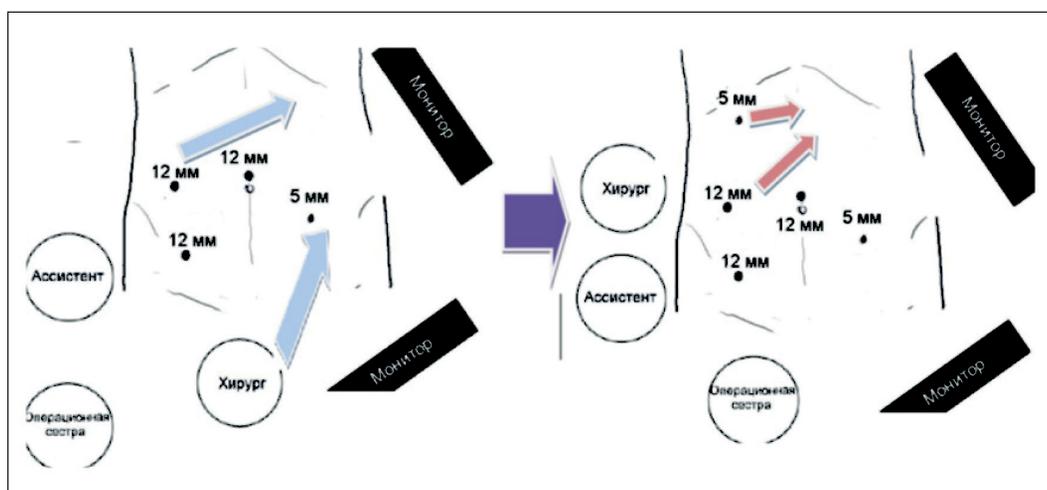


Рис. 2. Схема расположения операционной бригады на этапе мобилизации селезеночного изгиба толстой кишки

Частота и характер послеоперационных осложнений

Вид осложнений	ПРПК (n=24)	ИСП (n=18)	p
Несостоятельность анастомоза	3 (12,5 %)	1 (5,6 %)	0,44
Некроз низведенной кишки	-	2 (11,2 %)	0,09
Дизурия	1 (4,2 %)	-	0,38
Стриктура анастомоза	1 (4,2 %)	2 (11,2 %)	0,38
Осложнения, потребовавшие релапаротомии	-	3 (12,5 %)	0,03

несостоятельность колоанального анастомоза, что также потребовало повторной операции с формированием колоанального реанастомоза, стриктура анастомоза зафиксирована у 2 (11,2 %) пациентов, им выполнили бужирование соустья.

Основные затраты на расходные материалы для лапароскопической ультранизкой передней резекции прямой кишки были обусловлены использованием одноразового эндоскопического линейного степлера (19400 руб.) для пересечения прямой кишки, при этом в среднем расходовалось 2,3 кассеты к указанному аппарату (10350 руб.). Напротив, при ИСП пересечение кишки происходило трансанально и затем по проксимальной границе резекции после извлечения препарата через анус, что не требовало применения специальных устройств. Существенная разница в стоимости операций определялась способом формирования анастомоза. В I группе во всех случаях использовался циркулярный степлер (15500 руб.), у 6 пациентов, для формирования J-образного резервуара – линейный степлер с 2 кассетами, большим II группы формирование колоанального анастомоза потребовало в среднем 3,3 упаковки нити Викрил 9120 (770 руб.). Для формирования превентивных стом у больных I группы также истрачено

в среднем 1,6 упаковки нити Викрил 9120 (373 руб.). Таким образом, усредненная разница в затратах на указанные виды хирургического лечения составила 45 тыс. руб. При этом не учитывались затраты на последующие вмешательства по восстановлению кишечной непрерывности после ПРПК.

### Заключение

Таким образом, по продолжительности операции, объему интраоперационной кровопотери, качеству мезоректумэктомии эти хирургические методики сопоставимы. Частота осложнений значительно не отличалась, однако в группе больных, перенесших ИСП, трижды выполнялись повторные операции, что составило 16,7 %. Возможно, это связано с этапом освоения методики, и в дальнейшем можно ожидать снижения данного показателя. Функционально ультранизкая передняя резекция прямой кишки с резервуаром является более предпочтительной, однако при использовании методики резервуарного колоанального анастомоза и сохранении порции внутреннего сфинктера при выполнении ИСП результаты сравнимых хирургических операций могут быть близки. Затраты на ИСП в среднем на 45 тыс. рублей меньше, чем затраты на переднюю резекцию прямой кишки.

### ЛИТЕРАТУРА

- Афанасьев С.Г., Старцева Ж.А., Тарасова А.С., Усова А.В., Самцов Е.Н. Результаты комбинированного лечения рака прямой кишки с применением пролонгированной предоперационной химиолучевой терапии // Сибирский онкологический журнал. 2012. № 6. С. 5–12.
- Бондарь Г.В., Башеев В.Х., Думанский Ю.В. Успехи и проблемы лечения рака прямой кишки // Новообразование. 2009. № 3–4. С. 19–24.
- Воробьев Г.И., Шельгин Ю.А., Еропкин П.В., Маркова Е.В., Подмаренкова Л.Ф., Пикунов Д.Ю. Проктэктомия с сохранением элементов наружного сфинктера в хирургии нижеампулярного рака прямой кишки // Хирургия. 2008. № 9. С. 8–14.
- Пикунов Д.Ю., Кашиников В.Н., Джанаев Ю.А., Рыбаков Е.Г. Отдаленные результаты сохранения элементов наружного сфинктера при нижеампулярном раке прямой кишки // Клиническая онкология. 2011. № 1. С. 43–46.
- Расулов А.О., Мамедли З.З., Кулушев В.М., Кузьмичев Д.В., Джумабаев Х.Э., Балясникова С.С. Лапароскопическая интерсфинктерная брюшно-анальная резекция прямой кишки по поводу нижеампулярного рака с трансанальным удалением препарата, формированием толстокишечного J-образного резервуара и колоанального анастомоза // Эндоскопическая хирургия. 2014. Т. 20, № 1. С. 42–47.
- Царьков П.В., Тулина И.А. Некоторые спорные вопросы истории развития хирургии рака прямой кишки // Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. 2012. № 1. С. 53–57.
- Щепотин И.Б., Колесник Е.А., Приймак В.В., Безносенко А.П., Яцина А.И., Ермо И.П., Балабушко С.Б. Эволюция сфинктерсохраняющей хирургии у больных раком нижеампулярного отдела прямой кишки // Клиническая онкология. 2013. № 4. С. 16–20.

- Babcock W.W. Experiences with resection of the colon and the elimination of colostomy // Am. J. Surg. 1939. Vol. 4. P. 186.
- Bacon H.E. Evaluation of sphincter muscle preservation and reestablishment of continuity in the operative treatment of rectal and sigmoidal cancer // Surg. Gynecol. Obstet. 1945. Vol. 81. P. 113.
- Benoist S., Panis Y., Boleslawski E., Hautefeuille P., Valleur P. Functional outcome after coloanal versus low colorectal anastomosis for rectal carcinoma // J. Am. Coll. Surg. 1997. Vol. 185 (2). P. 114–119.
- Bretagnol F., Rullier E., Couderc P., Rullier A., Saric J. Technical and oncological feasibility of laparoscopic total mesorectal excision with pouch coloanal anastomosis for rectal cancer // Colorectal Dis. 2003. Vol. 5 (5). P. 451–453.
- Denost Q., Adam J.P., Pontallier A., Celerier B., Laurent C., Rullier E. Laparoscopic Total Mesorectal Excision With Coloanal Anastomosis for Rectal Cancer // Ann. Surg. 2015. Vol. 261 (1). P. 138–143. doi: 10.1097/SLA.0000000000000855.
- Enker W.E. Total mesorectal excision – the new golden standard of surgery for rectal cancer // Ann. Med. 1997. Vol. 29 (2). P. 127–133.
- Green B., Marshall H., Collinson F., Quirke P., Guillou P., Jayne D.G., Brown J.M. Long-term follow-up of the Medical Research Council CLASICC trial of conventional versus laparoscopically assisted resection in colorectal cancer // Br. J. Surg. 2013. Vol. 100 (1). P. 75–82. doi: 10.1002/bjs.8945.
- Guillou P.J., Quirke P., Thorpe H., Walker J., Jayne D.G., Smith A.M., Heath R.M., Brown J.M. Short-term endpoints of conventional versus laparoscopic-assisted surgery in patients with colorectal cancer (MRC CLASICC trial) // Lancet. 2005. Vol. 365 (9472). P. 1718–1726.
- Hamel C.T., Metzger J., Curti G., Degen L., Harder F., von Flue M.O. Ileocecal reservoir reconstruction after total mesorectal excision: func-

tional results of the long-term follow-up // *J. Colorectal Dis.* 2004. Vol. 19 (6). P. 574–579.

17. *Heald R.J., Moran B.J., Ryall R.D., Sexton R., MacFarlane J.K.* Rectal cancer: the Basingstoke experience of total mesorectal excision, 1978–1997 // *Arch. Surg.* 1998. Vol. 133 (8). P. 894–899.

18. *Hiranyakas A., Ho Y.H.* Laparoscopic ultralow anterior resection versus laparoscopic pull-through with coloanal anastomosis for rectal cancers: a comparative study // *Am. J. Surg.* 2011. Vol. 202 (3). P. 291–297. doi: 10.1016/j.amjsurg.2010.09.027.

19. *Jehle E.C., Haehnel T., Starlinger M.J., Becker H.D.* Level of the anastomosis does not influence functional outcome after anterior rectal resection for rectal cancer // *Am. J. Surg.* 1995. Vol. 169 (1). P. 147–152.

20. *Jemal A., Siegel R., Ward E., Hao Y., Xu J., Thun M.J.* Cancer statistics, 2009 // *CA Cancer J. Clin.* Vol. 59 (4). P. 225–249. doi: 10.3322/caac.20006.

21. *Jeong S., Park J., Nam B., Kim S., Kang S.B., Lim S.B., Choi H.S., Kim D.W., Chang H.J., Kim D.Y., Jung K.H., Kim T.Y., Kang G.H., Chie E.K., Kim S.Y., Sohn D.K., Kim D.H., Kim J.S., Lee H.S., Kim J.H., Oh J.H.* Open versus laparoscopic surgery for mid-rectal or low-rectal cancer after neoadjuvant chemoradiotherapy (COREAN trial): survival outcomes of an open-label, non-inferiority, randomised controlled trial // *Lancet Oncol.* 2014. Vol. 15 (7). P. 767–774. doi: 10.1016/S1470-2045(14)70205-0.

22. *Kang S.B., Park J.W., Jeong S.Y., Nam B.H., Choi H.S., Kim D.W., Lim S.B., Lee T.G., Kim D.Y., Kim J.S., Chang H.J., Lee H.S., Kim S.Y., Jung K.H., Hong Y.S., Kim J.H., Sohn D.K., Kim D.H., Oh J.H.* Open versus laparoscopic surgery for mid or low rectal cancer after neoadjuvant chemoradiotherapy (COREAN trial): short-term outcomes of an open-label randomised controlled trial // *Lancet Oncol.* 2010. Vol. 11 (7). P. 637–645. doi: 10.1016/S1470-2045(10)70131-5.

23. *Karanjia N.D., Schache D.J., North W.R., Heald R.J.* 'Close shave' in anterior resection // *Br. J. Surg.* 1990. Vol. 77 (5). P. 510–512.

24. *Law W.L., Chu K.W., Ho J.W., Chan C.W.* Risk factors for anastomotic leakage after low anterior resection with total mesorectal excision // *Am. J. Surg.* 2000. Vol. 179 (2). P. 92–96.

25. *Lee M.R., Hong C.W., Yoon S.N., Lim S.B., Park K.J., Park J.G.* Risk factors for anastomotic leakage after resection for rectal cancer // *Hepatogastroenterology.* 2006. Vol. 53 (71). P. 682–686.

26. *Leo E., Belli F., Andreola S., Gallino G., Bonfanti G., Ferro F., Zingaro E., Sirizzotti G., Civelli E., Valvo F., Gios M., Brunelli C.* Total

rectal resection and complete mesorectum excision followed by coloanal anastomosis as the optimal treatment for low rectal cancer: the experience of the National Cancer Institute of Milano // *Ann. Surg. Oncol.* 2000. Vol. 7 (2). P. 125–132.

27. *Martin S.T., Heneghan H.M., Winter D.C.* Systematic review of outcomes after intersphincteric resection for low rectal cancer // *Brit. J. Surg.* 2012. Vol. 99 (5). P. 603–612. doi: 10.1002/bjs.8677.

28. *Peeters K.C., Tollenaar R.A., Marijnen C.A., Klein Kranenburg E., Steup W.H., Wiggers T., Rutten H.J., van de Velde C.J.* Risk factors for anastomotic failure after total mesorectal excision of rectal cancer // *Br. J. Surg.* 2005. Vol. 92 (2). P. 211–216.

29. *Rink A.D., Haaf F., Knupper N., Vestweber K.H.* Prospective randomised trial comparing ileocaecal interposition and colon-J-pouch as rectal replacement after total mesorectal excision // *Int. J. Colorectal Dis.* 2007. Vol. 22 (2). P. 153–160.

30. *Rubin F., Douard R., Wind P.* The functional outcomes of coloanal and low colorectal anastomoses with reservoirs after low rectal cancer resections // *Am. Surg.* 2014. Vol. 80 (12). P. 1222–1229.

31. *Schumpelick V., Braun J.* Die intersphinctäre Rectumresektion mit radikaler Mesorectumexzision und coloanaler Anastomose // *Chirurg.* 1996. Vol. 67 (2). P. 110–120.

32. *Shiomi A., Ito M., Maeda K., Kinugasa Y., Ota M., Yamaue H., Shiozawa M., Horie H., Kuriu Y., Saito N.* Effects of a Diverting Stoma on Symptomatic Anastomotic Leakage after Low Anterior Resection for Rectal Cancer: A Propensity Score Matching Analysis of 1,014 Consecutive Patients // *J. Am. Coll. Surg.* 2015. Vol. 220 (2). P. 186–194. doi: 10.1016/j.jamcollsurg.2014.10.017.

33. *Tilney H.S., Tekkis P.P.* Extending the horizons of restorative rectal surgery: intersphincteric resection for low rectal cancer // *Colorectal Dis.* 2008. Vol. 10 (1). P. 3–15.

34. *van der Pas M.H., Haglund E., Cuesta M.A., Fürst A., Lacy A.M., Hop W.C., Bonjer H.J.* Laparoscopic versus open surgery for rectal cancer (COLOR II): short-term outcomes of a randomised, phase 3 trial // *Lancet Oncol.* 2013. Vol. 14 (3). P. 210–2118. doi: 10.1016/S1470-2045(13)70016-0.

35. *Wang L., Gu J.* Risk factors for symptomatic anastomotic leakage after low anterior resection for rectal cancer with 30 Gy/10 f2 w preoperative radiotherapy // *World J. Surg.* 2010. Vol. 34 (5). P. 1080–5. doi: 10.1007/s00268-010-0449-9.

Поступила 31.03.15

#### СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**Черниковский Илья Леонидович**, кандидат медицинских наук, заведующий колопроктологическим отделением, Санкт-Петербургский клинический научно-практический центр специализированных видов медицинской помощи (онкологический); ассистент кафедры факультетской хирургии им. И.И. Грекова, Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова (г. Санкт-Петербург), Российская Федерация. E-mail: Odindra@mail.ru

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие финансовой поддержки / конфликта интересов, о котором необходимо сообщить

## MANUAL COLON-ANAL OR MECHANICAL COLORECTAL ANASTOMOSIS? COMPARATIVE ANALYSIS OF LAPAROSCOPIC LOW RESECTIONS OF THE RECTUM

I.L. Chernikovsky

St-Petersburg Clinical Research Center of specialized kinds of medical care (oncology), Saint-Petersburg 68 A, Leningradskaya Street, 197758-Saint-Petersburg, Russian Federation, e-mail: Odindra@mail.ru

#### Abstract

**The purpose of the study** was to compare immediate surgical outcomes of low anterior resections (LAR) and intersphincteric resections (ISR) of the rectum. **Materials and methods.** Treatment outcomes of 42 patients operated on between March, 2014 and January, 2015 were presented. Group I consisted of 24 patients who underwent laparoscopic ultra-low anterior resection (uLAR) for rectal cancer. Group II comprised 18 patients who underwent laparoscopic ISR. **Results.** No significant differences in the median length of surgery and blood loss between two groups were observed. Circular and distal resection margins were negative in all cases. In 18 (75 %) patients of Group I and in 14 (77.7 %) patients of Group II, total mesorectumectomy

(TME) was assessed as grade 3 ( $p=0.83$ ). The frequency of postoperative complications in uLAR-treated group was 20.8 %, not requiring a secondary revision procedure, and 27.8 % in ISR-treated group, requiring repeated surgery. The mean value of the fecal incontinence according to the Wechsler scale in a month after surgery was significantly higher in group II than in Group I patients (9.3 versus 6.2,  $p=0.01$ ). The average treatment cost for uLAR was higher by 45,000 rubles than that for ISR. **Conclusion.** Both surgical procedures were matched by the duration of operation, amount of blood loss and the quality of mesorectectomy. The complication rate was not significantly different between two groups, however, 16.8 % of Group II patients required relaparotomy, likely due to the mastering of the ISR technique. Ultra-low anterior resections of the rectum are functionally preferred. When performing ISR, the technique of reservoir colo-anal anastomosis with preservation of the portion of the internal sphincter provides functional results comparable with those obtained using LAR.

**Key words:** rectal cancer, laparoscopic surgery, low anterior resections and intersphincteric resections of the rectum.

## REFERENCES

- Afanasyev S.G., Startseva Zh.A., Tarasova A.S., Usova A.V., Samstov E.N. Results of combined modality treatment including preoperative prolonged chemoradiotherapy for rectal cancer // *Sibirskij onkologicheskij zhurnal*. 2012. № 6. P. 5–12. [in Russian]
- Bondar' G.V., Basheev V.H., Dumanskij Ju.V. The successes and problems of the treatment of colorectal cancer // *Novoutvorennja*. 2009. № 3–4. P. 19–24. [in Russian]
- Vorob'ev G.I., Shelygin Iu. A., Erokin P.V., Markova E.V., Podmarenkova L.F., Pkunov D. Iu. Proctectomy with external sphincter elements' preservation in surgery of low-ampullary rectal cancer // *Hirurgija*. 2008. № 9. P. 8–14. [in Russian]
- Pkunov D.Y., Kashnikov V.N., Janaev Y.A., Rybakov E.G. Long-term results of the partial external sphincter preservation in low rectal cancer // *Klinicheskaja onkologija*. 2011. № 1. S. 43–46. [in Russian]
- Rasulov A.O., Mamedli Z.Z., Kulushev V.M., Kuz'michev D.V., Dzhumabaev Kh.E., Baliashnikova S.S. Laparoscopic intersphincteric abdominoanal resection of rectum for lower rectal cancer with transanal extraction of the specimen, creation of J-pouch and coloanal anastomosis // *Jendoskopicheskaja hirurgija*. 2014. Vol. 20 (1). P. 42–47. [in Russian]
- Tsar'kov P.V., Tulina I.A. Some discutable questions from the history of the surgery of rectum cancer // *Hirurgija. Zhurnal im. N.I. Pirogova*. 2012. № 1. P. 53–57. [in Russian]
- Shchepotin I.B., Kolesnik O.O., Prymak V.V., Beznosenko A.P., Yatsina A.I., Yerko I.P., Balabushko S.B. The evolution of sphincter saving surgery in patients with low rectal cancer // *Klinicheskaja onkologija*. 2013. № 4. P. 16–20. [in Russian]
- Babcock W.W. Experiences with resection of the colon and the elimination of colostomy // *Am. J. Surg.* 1939. Vol. 4. P. 186.
- Bacon H.E. Evaluation of sphincter muscle preservation and reestablishment of continuity in the operative treatment of rectal and sigmoidal cancer // *Surg. Gynecol. Obstet.* 1945. Vol. 81. P. 113.
- Benoist S., Panis Y., Boleslawski E., Hautefeuille P., Valleur P. Functional outcome after coloanal versus low colorectal anastomosis for rectal carcinoma // *J. Am. Coll. Surg.* 1997. Vol. 185 (2). P. 114–119.
- Bretagnol F., Rullier E., Coudere P., Rullier A., Saric J. Technical and oncological feasibility of laparoscopic total mesorectal excision with pouch coloanal anastomosis for rectal cancer // *Colorectal Dis.* 2003. Vol. 5 (5). P. 451–453.
- Denost Q., Adam J.P., Pontallier A., Celerier B., Laurent C., Rullier E. Laparoscopic Total Mesorectal Excision With Coloanal Anastomosis for Rectal Cancer // *Ann. Surg.* 2015. Vol. 261 (1). P. 138–143. doi: 10.1097/SLA.0000000000000855.
- Enker W.E. Total mesorectal excision – the new golden standard of surgery for rectal cancer // *Ann. Med.* 1997. Vol. 29 (2). P. 127–133.
- Green B., Marshall H., Collinson F., Quirke P., Guillou P., Jayne D.G., Brown J.M. Long-term follow-up of the Medical Research Council CLASICC trial of conventional versus laparoscopically assisted resection in colorectal cancer // *Br. J. Surg.* 2013. Vol. 100 (1). P. 75–82. doi: 10.1002/bjs.8945.
- Guillou P.J., Quirke P., Thorpe H., Walker J., Jayne D.G., Smith A.M., Heath R.M., Brown J.M. Short-term endpoints of conventional versus laparoscopic-assisted surgery in patients with colorectal cancer (MRC CLASICC trial) // *Lancet*. 2005. Vol. 365 (9472). P. 1718–1726.
- Hamel C.T., Metzger J., Curti G., Degen L., Harder F., von Flue M.O. Ileocecal reservoir reconstruction after total mesorectal excision: functional results of the long-term follow-up // *J. Colorectal Dis.* 2004. Vol. 19 (6). P. 574–579.
- Heald R.J., Moran B.J., Ryall R.D., Sexton R., MacFarlane J.K. Rectal cancer: the Basingstoke experience of total mesorectal excision, 1978–1997 // *Arch. Surg.* 1998. Vol. 133 (8). P. 894–899.
- Hiranyakas A., Ho Y.H. Laparoscopic ultralow anterior resection versus laparoscopic pull-through with coloanal anastomosis for rectal cancers: a comparative study // *Am. J. Surg.* 2011. Vol. 202 (3). P. 291–297. doi: 10.1016/j.amjsurg.2010.09.027.
- Jehle E.C., Haehnel T., Starlinger M.J., Becker H.D. Level of the anastomosis does not influence functional outcome after anterior rectal resection for rectal cancer // *Am. J. Surg.* 1995. Vol. 169 (1). P. 147–152.
- Jemal A., Siegel R., Ward E., Hao Y., Xu J., Thun M.J. Cancer statistics, 2009 // *CA Cancer J. Clin.* Vol. 59 (4). P. 225–249. doi: 10.3322/caac.20006.
- Jeong S., Park J., Nam B., Kim S., Kang S.B., Lim S.B., Choi H.S., Kim D.W., Chang H.J., Kim D.Y., Jung K.H., Kim T.Y., Kang G.H., Chie E.K., Kim S.Y., Sohn D.K., Kim D.H., Kim J.S., Lee H.S., Kim J.H., Oh J.H. Open versus laparoscopic surgery for mid-rectal or low-rectal cancer after neoadjuvant chemoradiotherapy (COREAN trial): survival outcomes of an open-label, non-inferiority, randomised controlled trial // *Lancet Oncol.* 2014. Vol. 15 (7). P. 767–774. doi: 10.1016/S1470-2045(14)70205-0.
- Kang S.B., Park J.W., Jeong S.Y., Nam B.H., Choi H.S., Kim D.W., Lim S.B., Lee T.G., Kim D.Y., Kim J.S., Chang H.J., Lee H.S., Kim S.Y., Jung K.H., Hong Y.S., Kim J.H., Sohn D.K., Kim D.H., Oh J.H. Open versus laparoscopic surgery for mid or low rectal cancer after neoadjuvant chemoradiotherapy (COREAN trial): short-term outcomes of an open-label randomised controlled trial // *Lancet Oncol.* 2010. Vol. 11 (7). P. 637–645. doi: 10.1016/S1470-2045(10)70131-5.
- Karanja N.D., Schache D.J., North W.R., Heald R.J. 'Close shave' in anterior resection // *Br. J. Surg.* 1990. Vol. 77 (5). P. 510–512.
- Law W.I., Chu K.W., Ho J.W., Chan C.W. Risk factors for anastomotic leakage after low anterior resection with total mesorectal excision // *Am. J. Surg.* 2000. Vol. 179 (2). P. 92–96.
- Lee M.R., Hong C.W., Yoon S.N., Lim S.B., Park K.J., Park J.G. Risk factors for anastomotic leakage after resection for rectal cancer // *Hepatogastroenterology*. 2006. Vol. 53 (71). P. 682–686.
- Leo E., Belli F., Andreola S., Gallino G., Bonfanti G., Ferro F., Zingaro E., Sirizzotti G., Civelli E., Valvo F., Gios M., Brunelli C. Total rectal resection and complete mesorectum excision followed by coloanal anastomosis as the optimal treatment for low rectal cancer: the experience of the National Cancer Institute of Milano // *Ann. Surg. Oncol.* 2000. Vol. 7 (2). P. 125–132.
- Martin S.T., Heneghan H.M., Winter D.C. Systematic review of outcomes after intersphincteric resection for low rectal cancer // *Brit. J. Surg.* 2012. Vol. 99 (5). P. 603–612. doi: 10.1002/bjs.8677.
- Peeters K.C., Tollenaar R.A., Marijnen C.A., Klein Kranenburg E., Steup W.H., Wiggers T., Rutten H.J., van de Velde C.J. Risk factors for anastomotic failure after total mesorectal excision of rectal cancer // *Br. J. Surg.* 2005. Vol. 92 (2). P. 211–216.
- Rink A.D., Haaf F., Knupper N., Vestweber K.H. Prospective randomised trial comparing ileocecal interposition and colon-J-pouch as rectal replacement after total mesorectal excision // *Int. J. Colorectal Dis.* 2007. Vol. 22 (2). P. 153–160.
- Rubin F., Douard R., Wind P. The functional outcomes of coloanal and low colorectal anastomoses with reservoirs after low rectal cancer resections // *Am. Surg.* 2014. Vol. 80 (12). P. 1222–1229.
- Schumpelick V., Braun J. Die intersphinctäre Rectumresektion mit radikaler Mesorectumexzision und coloanaler Anastomose // *Chirurg.* 1996. Vol. 67 (2). P. 110–120.
- Shiomi A., Ito M., Maeda K., Kinugasa Y., Ota M., Yamaue H., Shiozawa M., Horie H., Kuriu Y., Saito N. Effects of a Diverting Stoma on Symptomatic Anastomotic Leakage after Low Anterior Resection for Rectal Cancer: A Propensity Score Matching Analysis of 1,014 Consecutive Patients // *J. Am. Coll. Surg.* 2015. Vol. 220 (2). P. 186–194. doi: 10.1016/j.jamcollsurg.2014.10.017.

33. *Tilney H.S., Tekkis P.P.* Extending the horizons of restorative rectal surgery: intersphincteric resection for low rectal cancer // *Colorectal Dis.* 2008. Vol. 10 (1). P. 3–15.

34. *van der Pas M.H., Haglind E., Cuesta M.A., Fürst A., Lacy A.M., Hop W.C., Bonjer H.J.* Laparoscopic versus open surgery for rectal cancer (COLOR II): short-term outcomes of a randomised, phase 3 trial //

*Lancet Oncol.* 2013. Vol. 14 (3). P. 210–2118. doi: 10.1016/S1470-2045-(13)70016-0.

35. *Wang L., Gu J.* Risk factors for symptomatic anastomotic leakage after low anterior resection for rectal cancer with 30 Gy/10 f/2 w preoperative radiotherapy // *World J. Surg.* 2010. Vol. 34 (5). P. 1080–5. doi: 10.1007/s00268-010-0449-9.

#### ABOUT THE AUTHORS

**Chernikovsky Ilya Leonidovich**, MD, PhD, Head of Coloproctological Department, St-Peterburg Clinical Research Center of specialized kinds of medical care (oncology), Assistant of the Department of Surgery named after I.I. Grekov, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov (Saint-Peterburg), Russian Federation. E-mail: Odindra@mail.ru

## ТРАНСУРЕТРАЛЬНАЯ РЕЗЕКЦИЯ СТЕНКИ МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ С ОПУХОЛЬЮ ЕДИНЫМ БЛОКОМ

М.Ю. Ульянин<sup>1,2</sup>, Г.Т. Басиашвили<sup>1,3</sup>, Р.Ш. Хасанов<sup>1,2,3</sup>,  
М.В. Бурмистров<sup>1,2,3</sup>, И.Г. Гатауллин<sup>1,2</sup>

Республиканский клинический онкологический диспансер  
Министерства здравоохранения Республики Татарстан, г. Казань<sup>1</sup>  
Приволжский филиал Федерального государственного бюджетного учреждения  
«Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина», г. Казань<sup>2</sup>  
Казанская государственная медицинская академия, г. Казань<sup>3</sup>  
420029, г. Казань, Сибирский тракт, 29, e-mail: giga\_2@icloud.com<sup>1</sup>

### Аннотация

**Цель исследования:** оценка непосредственных и отдаленных результатов лечения больных поверхностным раком мочевого пузыря путем трансуретральной резекции стенки мочевого пузыря с опухолью единым блоком. **Материал и методы.** Были оценены результаты хирургического лечения 270 пациентов с раком мочевого пузыря, в период с 2003 по 2012 г. Больные были разделены на 2 группы: основная группа – 94 пациента, которым проведена трансуретральная резекция стенки мочевого пузыря с опухолью единым блоком, и группа сравнения – 176 пациентов, получавших стандартную трансуретральную резекцию. **Результаты.** Методика операции влияет на частоту рецидивов, в основной группе число местных рецидивов было в 1,4 раза меньше, чем в группе сравнения, – 47,7 % и 34,0 % ( $p < 0,05$ ), а случаев прогрессирования заболевания в 4 раза меньше – 8,5 % и 2,1 % ( $p < 0,001$ ) соответственно. Кроме того, в основной группе сроки до прогрессирования были почти в 2 раза больше, чем при стандартных операциях, –  $16,1 \pm 3,1$  и  $32,5 \pm 7,5$  мес ( $p < 0,05$ ) соответственно. **Заключение.** Трансуретральная резекция стенки мочевого пузыря с опухолью единым блоком позволяет точно установить глубину инвазии опухоли и снизить частоту рецидивов в зоне вмешательства.

**Ключевые слова:** поверхностный рак мочевого пузыря, трансуретральная резекция мочевого пузыря единым блоком, результаты лечения.

В России на долю рака мочевого пузыря (РМП) в общей структуре онкологической заболеваемости приходится 2,7 %, что составляет 21,8 % от всех онкоурологических заболеваний [2]. Следует отметить, что большинство исследователей рассматривают РМП как заболевание всей слизистой оболочки, склонное к мультифокальному поражению органа. Этим можно объяснить частоту рецидивов, которые, по данным различных авторов, возникают примерно у каждого четвертого пациента в течение первого года после операции. У 70 % больных поверхностным РМП после трансуретральной резекции (ТУР) рецидивы возникают в течение 5 лет после лечения [1, 5]. Частота рецидивов снижается до 50 % и 70 % при проведении адьювантной внутривезикулярной химио- или иммунотерапии соответственно [4]. Важным является тот факт, что около 20–45 % поверхностных форм РМП перерождаются в мышечно-инвазивный рак [8, 11].

Несмотря на то, что в литературе сформировалась единая точка зрения о показаниях трансуретральной резекции при РМП, нет консенсуса относительно методик и объема данного оперативного вмешательства. Ряд авторов счита-

ют, что идеальная ТУР мочевого пузыря означает полное удаление видимой опухоли с резекцией окружающей здоровой слизистой оболочки на расстоянии 1 см от опухоли с последующим удалением мышечного слоя мочевого пузыря, прилежащего к опухоли [6, 7]. Существенным недостатком трансуретральной резекции является то обстоятельство, что опухоль в процессе операции подвергается фрагментации и опухолевые клетки могут обсеменять раневую поверхность. Таким образом, ТУР является единственной в онкологии операцией, которая, по сути, не соответствует онкологическим принципам. В связи с этим были предприняты попытки разработать и оценить эффективность выполнения трансуретральной резекции опухолей единым блоком, что позволяет иметь в препарате все слои стенки мочевого пузыря для адекватного патоморфологического исследования. Данная операция впервые была описана Т. Kawada et al. в 1997 г. [9]. В литературе предлагаются различные методики ее выполнения, отличающиеся технологическим обеспечением (монополярная или биполярная резекция, лазер, водоструйный гибридный нож и др.) [12–15]. Большинство ав-

торов отмечают определенные ограничения при выполнении подобных вмешательств, главным из которых является размер опухоли до 23–30 мм, новообразования большего размера невозможно эвакуировать из мочевого пузыря [3, 10]. Кроме того, при локализации опухоли вне пределов задней стенки мочевого пузыря существенно возрастает риск неконтролируемой перфорации органа [10].

**Цель исследования:** оценка непосредственных и отдаленных результатов лечения больных поверхностным раком мочевого пузыря путем трансуретральной резекции стенки мочевого пузыря с опухолью единым блоком.

### Материал и методы

В исследование были включены 270 больных раком мочевого пузыря, проходивших лечение в ГАУЗ «Республиканский клинический онкологический диспансер» МЗ РТ с 2003 по 2012 г. Все пациенты были разделены на 2 группы, сопоставимые по основным параметрам (табл. 1):

- основная группа – 94 пациента, которым была проведена трансуретральная резекция стенки мочевого пузыря с опухолью единым блоком;

- группа сравнения – 176 пациентов, которым была проведена стандартная трансуретральная резекция.

Таблица 1

#### Характеристика групп больных

Показатель	Основная группа (n=94)	Группа сравнения (n=176)
Средний возраст, лет	69,13 ± 11,98	68,25 ± 10,85
Мужчины (n=206)	70 (62,5 %)	136 (66, %)
Женщины (n=64)	24 (37,5 %)	40 (34/0 %)
Среднее время наблюдения, мес	31,5 ± 1,5	36,9 ± 1,7

Всем пациентам выполнялась флуоресцентная ТУР мочевого пузыря с применением в качестве фотосенсибилизатора раствора 5-АЛК (1,5 г препарата, растворенного в 50 мл 4 % раствора гидрокарбоната натрия), который вводился внутрипузырно по уретральному катетеру за 2 ч до операции. Использовался стандартный набор для трансуретральной резекции мочевого пузыря и оптика для флуоресцентной диагностики.

Для выполнения ТУР стенки мочевого пузыря с опухолью единым блоком после обзорной цистоскопии, визуализации опухоли и планирования границ резекции стенки мочевого пузыря мы применяли собственные инструменты и метод операции, защищенные патентом на изобретение №2417775 «Способ трансуретральной резекции (ТУР) опухоли мочевого пузыря и инструмент для его осуществления». Суть метода заключается в том, что ТУР выполняется единым блоком – опухоль вместе со стенкой мочевого пузыря удаляется ретроградными движениями электрода-петли.

При этом резецируемая ткань поддерживается рачочным концом ветвей инструмента, обеспечивая визуальное наблюдение за положением электрода-петли. Осуществляли резекцию стенки мочевого пузыря до полного её окончания и последующую эвакуацию отсеченной ткани из мочевого пузыря через просвет тубуса резектоскопа или по уретре, захватывая щипцами для передачи на гистологическое исследование (рис. 1). При резекции опухолей большого размера предварительно производили электрорезекцию части экзофита для того, чтобы иметь возможность эвакуировать опухоль по уретре, а затем выполняли ТУР стенки мочевого пузыря с основанием опухоли единым блоком (рис. 2)

Для проведения стандартной ТУР стенки мочевого пузыря применяли обычную петлю для монополярной резекции. В этом случае производили поэтапную послойную электрорезекцию антеградными движениями электрода петли экзофитной части и основания опухоли (рис. 3).

Непосредственно после операции всем пациентам внутрипузырно вводили 40 мг митомидина, разведенного в 50 мл физиологического раствора, время экспозиции – 2 ч. Через 1 мес после операции все больные получали внутрипузырную иммунотерапию, которая включала 6 еженедельных внутрипузырных инстилляций 100 мг вакцины БЦЖ, разведенной в 50 мл физиологического раствора. Больных просили удерживать препарат в течение 2 ч.

Все данные о пациентах были формализованы с помощью специально разработанного кодификатора и внесены в базу данных, созданную на основе

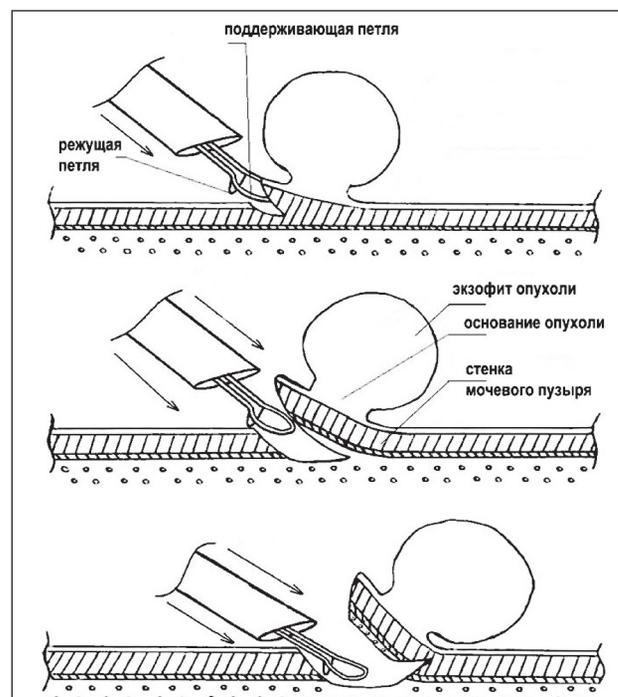


Рис. 1. Схема операции ТУР стенки мочевого пузыря с опухолью единым блоком при размерах новообразования <3 см

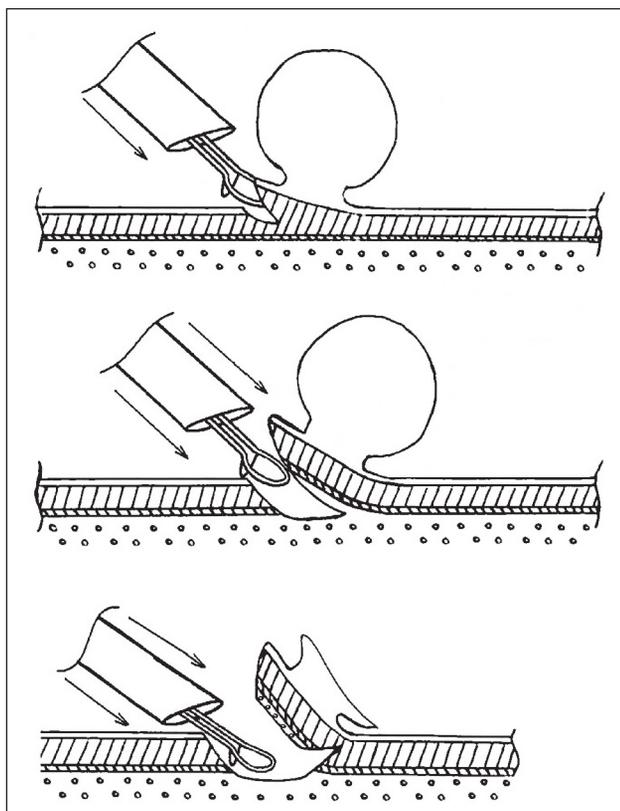


Рис. 2. Схема операции ТУР стенки мочевого пузыря с опухолью единым блоком при размерах новообразования >3 см

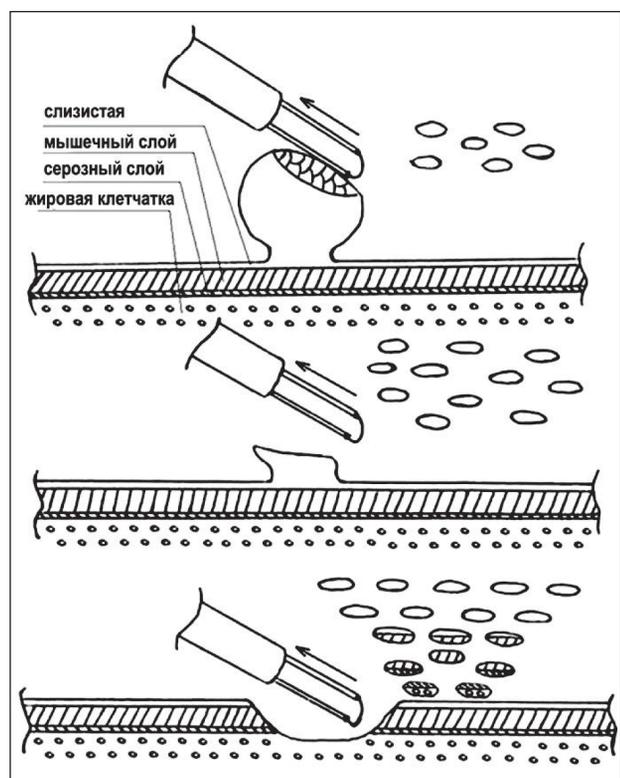


Рис. 3. Схема стандартной ТУР

электронных таблиц EXCEL. Статистическую обработку производили стандартным пакетом «STATISTICA 5.11». Использовали программы корреляционного, дискриминантного и регрессионного анализа. Общую и скорректированную выживаемость оценивали по методу Kaplan – Meier (при расчетах скорректированной выживаемости учитывали больных, умерших только от рака мочевого пузыря). Различия выживаемости в группах определяли с помощью log-rank теста. Для выявления прогностически значимых для выживаемости факторов использовали одно- и многофакторный регрессионный анализ Cox. Достоверность различий между количественными показателями вычисляли по критерию t Стьюдента. Для сравнения качественных параметров применялся точный критерий Фишера и  $\chi^2$  с учетом непараметрических данных и нормального распределения Пуассона. Различия признавали значимыми при  $p < 0,05$ .

### Результаты исследования и обсуждение

По данным флуоресцентной диагностики у 32 (11,5 %) пациентов была выявлена флуоресценция участков слизистой оболочки мочевого пузыря, которые казались не измененными в белом свете. При гистологическом исследовании прицельно взятых биоптатов у 8 (2,8 %) пациентов диагностирован Ca in situ, у 10 (3,6 %) – тяжелая дисплазия. У 11 (4 %) пациентов с мультифокальным РМП при флуоресцентной диагностике были выявлены резидуальные опухоли, в группе больных с единичными очагами резидуальные новообразования были обнаружены в 3 (1 %) случаях. Таким образом, у каждого двенадцатого пациента не были выявлены опухоли при цистоскопии в белом свете. Полученные результаты позволяют утверждать, что во всех флуоресцирующих участках слизистой мочевого пузыря имеются патологические изменения, вплоть до опухолевого поражения, в связи с чем эти структуры должны подвергаться биопсии и хирургическому воздействию.

Для адекватного определения местной распространенности опухоли (критерий T) все удаленные во время операции ткани должны быть исследованы патоморфологом с разделенным анализом экзофитной части и основания опухоли. В проведенном исследовании после ТУР опухоли единым блоком во всех случаях патоморфологического исследования операционного материала было описано наличие в препарате как самой опухоли, так и структур стенки мочевого пузыря (слизистый слой, мышечная стенка) и определена истинная глубина опухолевой инвазии. После стандартных операций диагноз по категории T в ряде случаев не был установлен, при морфологическом исследовании наблюдалось термическое повреждение слизистой оболочки, но в мышечном слое мочевого пузыря опухолевого роста не наблюдали.

Таблица 2

## Частота и характер послеоперационных осложнений

Вид осложнений	Основная группа (n=94)	Группа сравнения (n=176)
Внутрибрюшная перфорация	-	3 (1,7 %)
Кровотечение из ложа опухоли	-	7 (3,9 %)
Острый орхит	-	1 (0,6 %)
Стриктура устья мочеточника	7 – пересадка мочеточника; 2 – холодное рассечение стриктуры, стентирование мочеточника	1 – пересадка мочеточника; 1 – холодное рассечение стриктуры, стентирование мочеточника
Летальность	-	1 (0,6 %) ТЭЛА

Таблица 3

## Отдаленные результаты лечения в сравниваемых группах

Показатель	Основная группа (n=94)	Группа сравнения (n=176)	p
Всего рецидивов	32 (34,0 %)	84 (47,7 %)	<0,05
Рецидив в зоне резекции	-	2 (1,1 %)	
Среднее время появления рецидива, мес	17,1 ± 1,9	11,4 ± 1,2	>0,05
Частота случаев прогрессирования	2 (2,1 %)	15 (8,5 %)	<0,001
Среднее время до прогрессирования, мес	32,5 ± 7,5	16,1 ± 3,1	<0,05

При анализе течения послеоперационного периода нами получены данные о том, что ТУР стенки мочевого пузыря с опухолью единым блоком является безопасным методом лечения. В этой группе больных интраоперационных и ранних послеоперационных осложнений не наблюдалось (табл. 2), тогда как в группе сравнения при выполнении стандартной ТУР во время операции и в раннем послеоперационном периоде осложнения возникли в 10 (5,7 %) наблюдениях. У 3 (1,7 %) больных произошла внутрибрюшная перфорация стенки мочевого пузыря, что потребовало лапаротомии, ушивания стенки органа, дренирования брюшной полости. У 7 (4,0 %) пациентов в раннем послеоперационном периоде развились внутрипузырные кровотечения, не купирующиеся консервативно и потребовавшие повторных операций: в 6 (3,4 %) случаях выполнена гемостатическая ТУР, в 1 (0,56 %) – цистотомия и прошивание кровоточащего сосуда.

При оценке частоты поздних осложнений возникла несколько иная картина. У части больных, перенесших ТУР с резекцией в зоне устья мочеточника (в основной группе подобные вмешательства выполнены 12 больным, в группе сравнения – 13 пациентам, во всех случаях в конце операции устанавливали мочеточниковый стент), произошло формирование рубца с нарушением оттока мочи. После операции ТУР стенки мочевого пузыря с опухолью единым блоком стриктура возникла у 9, после стандартной ТУР – у 2 пациентов (табл. 2). Данное обстоятельство может быть связано с тем, что при стандартной операции глубина резекции стенки мочевого пузыря меньше, поэтому она должна выполняться только при неинвазивной папиллярной карциноме (стадия Та).

При сравнительном анализе отдаленных результатов оперативного лечения больных РМП (табл. 3)

установлено, что в основной группе число местных рецидивов было в 1,4 раза меньше, чем в группе сравнения, – 47,7 % и 34,0 % ( $p < 0,05$ ), а случаев прогрессирования заболевания в 4 раза меньше – 8,5 % и 2,1 % ( $p < 0,001$ ) соответственно. Кроме того, у этой когорты больных в основной группе сроки до прогрессирования были почти в 2 раза выше, чем при стандартных операциях, – 16,1 ± 3,1 и 32,5 ± 7,5 мес ( $p < 0,05$ ) соответственно.

При оценке влияния основных параметров на отдаленные результаты лечения не выявлено значимых различий частоты рецидивирования в зависимости от возраста. У пациентов моложе 60 лет рецидивы возникли в 21,9 %, у больных старше 60 лет – в 28,6 % случаев ( $p > 0,05$ ). Аналогичные результаты получены при анализе влияния локализации первичной опухоли – частота рецидивов при исходном поражении дна мочевого пузыря, передней стенки, задней стенки, боковой стенки, треугольника Льетто и шейки мочевого пузыря составила 42,9, 45,0, 29,7, 22,0, 28,9 и 30,0 % соответственно. Также не было значимых различий при опухолях различной гистопатологической дифференцировки – при G1 рецидивы наблюдались в 26,3 %, при G2 – в 22,9 %, при G3 – в 32,9 % случаев ( $p > 0,05$ ).

При этом в обеих группах отмечено значимое увеличение частоты рецидивов при множественных новообразованиях – 42,5 %, по сравнению с группой больных, у которых имелись одиночные опухоли – 21,3 % ( $p = 0,001$ ). Кроме того, значимое влияние оказывали размеры опухоли, рецидивы зарегистрированы у 19,5 % пациентов с очагами менее 3 см в диаметре и у 34,3 % больных с новообразованиями диаметром более 3 см ( $p = 0,009$ ).

За период наблюдения умерло 25 (9,3 %) больных. Из них от причин, связанных с основным

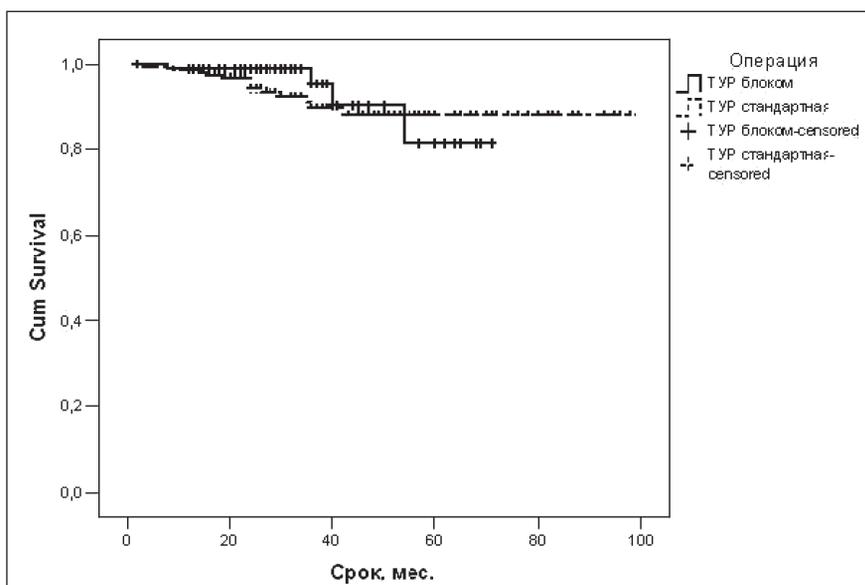


Рис. 4. Показатели выживаемости в сравниваемых группах

заболеванием, – 9 (3,3 %) пациентов, из них в основной группе (ТУР единым блоком) – 2 (2,1 %), в группе сравнения (стандартная ТУР) – 7 (4,0 %) больных. Значимых различий в показателях выживаемости, связанных с основным заболеванием, в зависимости от вида операции не выявлено ( $p=0,465$ ). Медиана выживаемости не достигнута ни в одной из сравниваемых групп (рис. 4).

### Заключение

При поверхностном раке мочевого пузыря методика трансуретрального удаления опухоли единым блоком с прилежащей стенкой позволяет снизить количество интраоперационных осложнений. Данная операция во всех случаях позволяет точно установить глубину инвазии опухоли и снизить частоту местных рецидивов.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Державец Л.А. Лабораторные показатели и выживаемость пациентов, страдающих раком мочевого пузыря // Сибирский онкологический журнал. 2013. № 4. С. 12–16.
2. Злокачественные новообразования в России в 2012 г. / Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, Г.В. Петровой. М., 2015. 250 с.
3. Мартюв А.Г., Ергаков Д.В., Байков Н.А., Поминальная В.М., Соломатов И.А. Трансуретральное удаление опухолей мочевого пузыря единым блоком // Онкоурология. 2015. Т. 1, № 1. С. 41–49.
4. Allard P., Bernard P., Fradet Y., Têtu B. The early clinical course of primary Ta and T1 bladder cancer: a proposed prognostic index // Br. J. Urol. 1998. Vol. 81 (5). P. 692–698.
5. Domínguez G., Carballido J., Silva J., Silva J.M., García J.M., Menéndez J., Provencio M., España P., Bonilla F. p14ARF promoter hypermethylation in plasma DNA as an indicator of disease recurrence in bladder cancer patients // Clin. Cancer Res. 2002. Vol. 8 (4). P. 980–985.
6. Epstein J.I., Amin M.B., Reuter V.R., Mostofi F.K. The world health organization/international society of urological pathology consensus classification of urothelial (transitional cell) neoplasms of the urinary bladder // Am. J. Surg. Pathol. 1998. Vol. 22 (12). P. 1435–1448.
7. Herr H.W., Donat M.S. Quality control in transurethral resection of bladder tumors // BJU Int. 2008. Vol. 102 (9. Pt. B). P. 1242–1246. doi: 10.1111/j.1464-410X.2008.07966.x.
8. Hu Z., Mudaliar K., Quek M.L., Paner G.P., Barkan G.A. Measuring the dimension of invasive component in pT1 urothelial carcinoma in transurethral resection specimens can predict time to recurrence // Ann. Diagn. Pathol. 2014. Vol. 18 (2). P. 49–52. doi: 10.1016/j.anndiagpath.2013.11.002.

9. Kawada T., Ebihara K., Suzuki T., Imai K., Yamanaka H. A new technique for transurethral resection of bladder tumors: rotational tumor resection using a new arched electrode // J. Urol. 1997. Vol. 157 (6). P. 2225–2226.
10. Lodde M., Lusuardi L., Palermo S., Signorello D., Maier K., Hohenfellner R., Pycha A. En bloc transurethral resection of bladder tumors: use and limits // Urology. 2003. Vol. 62 (6). P. 1089–1091.
11. Millán-Rodríguez F., Chéchile-Toniolo G., Salvador-Bayarri J., Palou J., Algaba F., Vicente-Rodríguez J. Primary superficial bladder cancer risk groups according to progression, mortality and recurrence // J. Urol. 2000. Vol. 164 (3. Pt. 1.) P. 680–684.
12. Muto G., Collura D., Giacobbe A., D’Urso L., Muto G.L., Demarchi A., Coverlizza S., Castelli E. Thulium:yttrium-aluminum-garnet laser for en bloc resection of bladder cancer: clinical and histopathologic advantages // J. Urology. 2014. Vol. 83 (4). P. 851–855. doi: 10.1016/j.urology.2013.12.022.
13. Naselli A., Introini C., Germinale F., Spina B., Puppo P. En bloc transurethral resection of bladder lesions: a trick to retrieve specimens up to 4.5 cm // BJU Int. 2012. Vol. 109 (6). P. 960–963. doi: 10.1111/j.1464-410X.2012.10982.x.
14. Saito S. Transurethral en bloc resection of bladder tumors // J. Urol. 2001. Vol. 166 (6). P. 2148–2150.
15. Upadhyay R., Kapoor R., Srivastava A., Krishnani N., Mandhani A. Does En-bloc transurethral resection of bladder tumor give a better yield in terms of presence of detrusor muscle in the biopsy specimen? // Indian J. Urol. 2012. Vol. 28 (3). P. 275–279. doi: 10.4103/0970-1591.102700.

Поступила 7.07.15

### СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**Ульянин Михаил Юрьевич**, врач-онколог, Республиканский клинический онкологический диспансер Министерства здравоохранения Республики Татарстан (г. Казань), Российская Федерация. E-mail: Mikhail\_ulyanin@mail.ru  
**Басиашвили Георгий Тариелович**, врач-онколог, Республиканский клинический онкологический диспансер Министерства здравоохранения Республики Татарстан (г. Казань), Российская Федерация; заочный аспирант, Казанская государственная медицинская академия Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Казань), Российская Федерация. E-mail: giga\_2@icloud.com

**Хасанов Рустем Шамильевич**, доктор медицинских наук, заслуженный врач РФ и РТ, главный врач, Республиканский клинический онкологический диспансер Министерства здравоохранения Республики Татарстан (г. Казань); директор, Приволжский филиал Федерального государственного бюджетного учреждения «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» (г. Казань); заведующий кафедрой онкологии, радиологии и паллиативной медицины, Казанская государственная медицинская академия Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Казань), Российская Федерация. E-mail: media@oncort.ru

**Бурмистров Михаил Владимирович**, доктор медицинских наук, профессор кафедры онкологии, радиологии и паллиативной медицины, Казанская государственная медицинская академия Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Казань), Российская Федерация. E-mail: media@oncort.ru

**Гатауллин Ильгиз Габдуллович**, доктор медицинских наук, профессор кафедры онкологии, радиологии и паллиативной медицины, Казанская государственная медицинская академия Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Казань), Российская Федерация. E-mail: media@oncort.ru

**Авторы данной статьи подтвердили отсутствие финансовой поддержки / конфликта интересов, о котором необходимо сообщить**

## TRANSURETHRAL EN BLOCK RESECTION OF THE BLADDER WALL TUMOR

M.Yu. Ulyanin<sup>1,2</sup>, G.T. Basiashvili<sup>1,3</sup>, R.Sh. Khasanov<sup>1,2,3</sup>,  
M.V. Burmistrov<sup>1,2,3</sup>, I.G. Gataullin<sup>1,2</sup>

Republic Clinical Cancer Center, Kazan, the Republic of Tatarstan<sup>1</sup>  
Privolzhskiy branch of the N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Kazan<sup>2</sup>  
Kazan State Medical Academy, Kazan<sup>3</sup>  
29, Sibirskiy Trakt, 420029-Kazan, Russian Federation, e-mail: giga\_2@icloud.com<sup>1</sup>

### Abstract

**The goal of the research:** to evaluate short-and long-term treatment outcomes in patients with superficial bladder cancer, who underwent transurethral en block resection of the bladder wall tumor. **Material and methods.** Surgical treatment results were assessed in 270 patients with bladder cancer from 2003 to 2012. All patients were divided into 2 groups. Group I consisted of 94 patients who underwent transurethral en block resection of the bladder wall tumor. Group II (the control group) composed of 176 patients who received the conventional transurethral resection. **Results.** Local recurrence occurred 1.4-fold less frequently in Group I than in Group II patients (47.7 versus 34.0 %,  $p < 0.05$ ), and disease progression occurred 4-fold less frequently in Group I than in the control group (8.5 versus 2.1 %,  $p < 0.001$ ). Moreover, the Group I patients had a longer time to disease progression than the Group II patients ( $6.1 \pm 3.1$  versus  $32.5 \pm 75$  months,  $p < 0.05$ ). **Conclusion.** Transurethral en block resection of the bladder wall tumor allows the depth of invasion to be exactly measured and the incidence of recurrence to be decreased.

**Key words:** superficial bladder cancer, transurethral en block resection of the bladder, treatment outcomes.

### REFERENCES

1. Derzhavets L.A. Laboratory indices and survival of urinary bladder cancer patients // Sibirskij onkologicheskij zhurnal. 2013. № 4. P. 12–16. [in Russian]
2. Cancer incidence in Russia in 2013 (morbidity and mortality) / Eds. A.D. Kaprin, V.V. Starinskij, G.V. Petrova. M., 2015. P. 250. [in Russian]
3. Martov A.G., Ergakov D.V., Baykov N.A., Pominalnaya V.M., Solomatnikov I.A. Transurethral en bloc resection of bladder tumors // Onkourologija. 2015. Vol. 1 (1). P. 41–49. [in Russian]
4. Allard P., Bernard P., Fradet Y., Têtu B. The early clinical course of primary Ta and T1 bladder cancer: a proposed prognostic index // Br. J. Urol. 1998. Vol. 81 (5). P. 692–698.
5. Dominguez G., Carballido J., Silva J., Silva J.M., Garcia J.M., Menéndez J., Provencio M., España P., Bonilla F. p14ARF promoter hypermethylation in plasma DNA as an indicator of disease recurrence in bladder cancer patients // Clin. Cancer Res. 2002. Vol. 8 (4). P. 980–985.
6. Epstein J.I., Amin M.B., Reuter V.R., Mostofi F.K. The world health organization/international society of urological pathology consensus classification of urothelial (transitional cell) neoplasms of the urinary bladder // Am. J. Surg. Pathol. 1998. Vol. 22 (12). P. 1435–1448.
7. Herr H.W., Donat M.S. Quality control in transurethral resection of bladder tumors // BJU Int. 2008. Vol. 102 (9. Pt. B). P. 1242–1246. doi: 10.1111/j.1464-410X.2008.07966.x.
8. Hu Z., Mudaliar K., Quek M.L., Paner G.P., Barkan G.A. Measuring the dimension of invasive component in pT1 urothelial carcinoma in transurethral resection specimens can predict time to recurrence // Ann. Diagn. Pathol. 2014. Vol. 18 (2). P. 49–52. doi: 10.1016/j.andiagpath.2013.11.002.
9. Kawada T., Ebihara K., Suzuki T., Imai K., Yamanaka H. A new technique for transurethral resection of bladder tumors: rotational tumor resection using a new arched electrode // J. Urol. 1997. Vol. 157 (6). P. 2225–2226.
10. Lodde M., Lusuardi L., Palermo S., Signorello D., Maier K., Hohenfellner R., Pycha A. En bloc transurethral resection of bladder tumors: use and limits // Urology. 2003. Vol. 62 (6). P. 1089–1091.
11. Millán-Rodríguez F., Chéchile-Toniolo G., Salvador-Bayarri J., Palou J., Algaba F., Vicente-Rodríguez J. Primary superficial bladder cancer risk groups according to progression, mortality and recurrence // J. Urol. 2000. Vol. 164 (3. Pt 1.) P. 680–684.
12. Muto G., Collura D., Giacobbe A., D'Urso L., Muto G.L., Demarchi A., Coverlizza S., Castelli E. Thulium:yttrium-aluminum-garnet laser for en bloc resection of bladder cancer: clinical and histopathologic advantages // J. Urology. 2014. Vol. 83 (4). P. 851–855. doi: 10.1016/j.urology.2013.12.022.
13. Naselli A., Introini C., Germinale F., Spina B., Puppo P. En bloc transurethral resection of bladder lesions: a trick to retrieve specimens up

to 4.5 cm // BJU Int. 2012. Vol. 109 (6). P. 960–963. doi: 10.1111/j.1464-410X.2012.10982.x.

14. *Saito S.* Transurethral en bloc resection of bladder tumors // J. Urol. 2001. Vol. 166 (6). P. 2148–2150.

15. *Upadhyay R., Kapoor R., Srivastava A., Krishnani N., Mandhani A.* Does En-bloc transurethral resection of bladder tumor give a better yield in terms of presence of detrusor muscle in the biopsy specimen? // Indian J. Urol. 2012. Vol. 28 (3). P. 275–279. doi: 10.4103/0970-1591.102700.

#### ABOUT THE AUTHORS

**Ulyanin Mikhail Yurievich**, oncologist, Republic Clinical Cancer Center (Kazan), Russian Federation. E-mail: Mikhail\_ulyanin@mail.ru

**Basiashvili Georgy Tarielovich**, oncologist, Republic Clinical Cancer Center; post-graduate, Kazan State Medical Academy (Kazan), Russian Federation. E-mail: giga\_2@icloud.com

**Khasanov Rustem Shamilyevich**, MD, DSc, Honored Physician of the Russian Federation, and the Republic of Kazakhstan, Head Physician of the Republic Clinical Cancer Center Kazan, the Republic of Kazakhstan; Director of Privolzhskiy branch of the N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Head of Department of Oncology, Radiology and Palliative Medicine of Kazan State Medical Academy (Kazan), Russian Federation. E-mail: media@oncort.ru

**Burmistrov Mikhail Vladimirovich**, MD, Professor, Department of Oncology, Radiology and Palliative Medicine of Kazan State Medical Academy (Kazan), Russian Federation. E-mail: media@oncort.ru

**Gataullin Ilgiz Gabdullovich**, MD, Professor, Department of Oncology, Radiology and Palliative Medicine of Kazan State Medical Academy (Kazan), Russian Federation. E-mail: media@oncort.ru

## ОЦЕНКА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К АНТИБИОТИКАМ АНАЭРОБНЫХ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ *BACTEROIDES*, *PREVOTELLA* И *FUSOBACTERIUM*, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ

И.И. Шильникова, Н.В. Дмитриева

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва  
115478, г. Москва, Каширское шоссе, 24, e-mail: iish54@mail.ru

### Аннотация

В исследовании было проанализировано 122 штамма строго анаэробных грамотрицательных палочек рода *Bacteroides*, *Prevotella* и *Fusobacterium*, выделенных от онкологических больных в 2004–2014 гг. Большинство штаммов принадлежало к группе *Bacteroides fragilis* (55 %), затем по частоте выделения следовали штаммы *Prevotella* (34,4 %) и *Fusobacterium* (10,6 %). Видовую идентификацию штаммов проводили с помощью времяпролетной матрично-ассоциированной лазерной десорбционно-ионизационной масс-спектрометрии (MALDI-TOF MS). Из группы *B. fragilis* наиболее часто выделялись *B. fragilis*, *B. thetaiotaomicron*, *B. ovatus* и *B. vulgatus*. Среди *Prevotella* наиболее часто выделялись *P. buccae*, *P. buccalis*, *P. oris*, *P. denticola* и *P. nigrescens*, а среди *Fusobacterium* 77 % составляли штаммы *F. nucleatum*. Чувствительность выделенных штаммов к антимикробным препаратам определяли методом E-теста. Процент чувствительности изолятов группы *B. fragilis* составлял для метронидазола 97 %; имипенема – 95,5 %; амоксициллин / клавуланата – 95,5 % и клиндамицина – 77,6 %. Три штамма *B. fragilis* имели множественную резистентность (одновременно к имипенему, амоксициллин / клавуланату и метронидазолу либо клиндамицину). Все выделенные штаммы *Prevotella* были чувствительны к имипенему и амоксициллин / клавуланату, в то время как 78,6 % пигментных видов *Prevotella* и 46,4 % непигментированных видов были устойчивы к пенициллину. Количество штаммов, чувствительных к метронидазолу и клиндамицину, составляло 93 и 88 % соответственно. Все штаммы *Fusobacterium* были чувствительны ко всем тестируемым антибиотикам, включая пенициллин.

**Ключевые слова:** чувствительность анаэробных грамотрицательных палочек, резистентность, *Bacteroides*, *Prevotella*, *Fusobacterium*, онкологические больные.

*Bacteroides*, *Prevotella* и *Fusobacterium* являются строго анаэробными грамотрицательными палочками, которые колонизируют ротовую полость, верхние дыхательные пути, желудочно-кишечный тракт и женские половые пути. Они относятся к условно-патогенным микроорганизмам, которые обычно вовлекаются в полимикробные аэробно-анаэробные инфекции, в основном у пациентов с иммунодефицитом. Иногда эти организмы выделяются в чистой культуре. До 1990 г. виды *Prevotella* принадлежали к роду *Bacteroides*, который в настоящее время ограничивается видами группы *B. fragilis* – основными представителями микрофлоры кишечника. Среди всех анаэробных бактерий члены группы *B. fragilis* наиболее часто выделяются из клинических образцов у больных с внутрибрюшными инфекциями, абсцессами, инфекциями малого таза, послеоперационными раневыми инфекциями и инфекциями мягких тканей. *B. fragilis* составляет менее 2 % кишечной флоры, но чаще других видов *Bacteroides* выделяется из

клинических образцов, в том числе крови, и является наиболее вирулентным видом [14].

Отличие от *Bacteroides* виды *Prevotella* являются желчечувствительными организмами и ассоциируются с инфекциями головы и шеи (около 70 %) и инфекциями легких (инфекции выше диафрагмы). Виды *Fusobacterium* вызывают различные инфекции, но выделяются из клинического материала реже, чем *Bacteroides* и *Prevotella* [5]. *F. nucleatum* чаще остальных видов фузобактерий выделяется из клинических образцов.

Для лечения инфекций, вызванных грамотрицательными анаэробными бактериями, такими как *Bacteroides*, *Prevotella* и *Fusobacterium*, используют метронидазол, карбапенемы, комбинации β-лактамов с ингибиторами β-лактамаз, клиндамицин и моксифлоксацин. Чувствительность к этим антианаэробным препаратам зависит от вида микроорганизма, географического расположения и специфики медицинского учреждения. В последние годы во всем мире возросла устойчивость этих

бактерий к различным антимикробным препаратам, а среди членов группы *B. fragilis* наблюдается устойчивость сразу к нескольким антибиотикам (так называемая мультирезистентность) [2, 6, 10]. Наибольший рост резистентности наблюдался в случае клиндамицина и моксифлоксацина; самый низкий уровень резистентности сохраняется в отношении метронидазола, имипенема и тагетциклина. *B. fragilis* является наиболее чувствительным к антибиотикам видом, однако он может демонстрировать множественную устойчивость к лекарственным препаратам.

**Целью исследования** явилось определение этиологической структуры видов *Bacteroides*, *Prevotella* и *Fusobacterium*, выделяемых от онкологических больных; анализ чувствительности этих анаэробов к антимикробным препаратам и выявление резистентных штаммов в нашей клинике.

### Материал и методы

#### *Сбор образцов и условия роста микроорганизмов*

Все образцы клинического материала были собраны в период с августа 2004 г. по март 2014 г. от пациентов с различными злокачественными новообразованиями. Образцы биоматериала доставлялись в лабораторию в течение 2 ч после сбора без использования специальных анаэробных транспортных систем и высевались на Schaedler Agar (bioMérieux, Франция) с добавлением гемина, менадиона и 5 % крови, а также на обогащенный тиогликолевый бульон (bioMérieux, Франция). Чашки и пробирки с бульоном инкубировали в анаэробной атмосфере с использованием герметичных банок или пакетов и Genbox системы (bioMérieux, Франция) при 37°C в течение 48 ч. Каждый морфологический тип выросших колоний вновь переседали на чашки с Schaedler агаром и одновременно на чашки с кровяным агаром. Чашки с Schaedler агаром снова инкубировали в анаэробных условиях, а чашки с кровяным агаром инкубировали в аэробных условиях с целью выявления строго анаэробных бактерий. Предварительную идентификацию проводили с использованием анализаторов Rapid ID 32A, Vitek-2 (bioMérieux, Франция) и MicroScan WalkAway (Siemens, Великобритания). Выделенные штаммы хранили в сливках молока при -70°C.

#### *Идентификация выделенных штаммов*

Для идентификации выделенных штаммов до вида использовали самый современный, достоверный и простой метод – времяпролетную матрично-ассоциированную лазерную десорбционно-ионизационную масс-спектрометрию (matrix-assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry, MALDI-TOF MS), – который успешно применяется для идентификации

анаэробных бактерий в последние годы [9, 15]. Чистую культуру каждого штамма размораживали, дважды переседали на кровяной агар и инкубировали в анаэробных условиях. Идентификацию проводили методом прямого нанесения. Одну или несколько колоний наносили непосредственно на металлическую мишень в виде тонкой пленки с помощью пластиковой петли в три точки и покрывали 1 мкл матрицы ( $\alpha$ -циано-4-гидрокси-коричной кислоты), растворенной в органическом растворителе (50 % ацетонитрил и 2,5 % трифторуксусной кислоты). Мишень оставляли при комнатной температуре, пока матричный раствор не высохнет на воздухе. В качестве положительного контроля и калибровочного стандарта использовали *E. coli* (бактериальный стандарт, Bruker Daltonik, Бремен, Германия). Масс-спектры получали с использованием масс-спектрометра MicroFlex LT (Bruker Daltonik GmbH) и анализировали с помощью программного обеспечения Biotyper 3,0 в программе FlexControl. Для идентификации бактерий спектр определяемого штамма сравнивался со спектрами штаммов базы данных. Использовали базу данных 4 613 стандартных спектров (версия 3.3.1.0). Оценка достоверности совпадения спектра анализируемого штамма со спектром штамма базы данных рассчитывается в диапазоне от 0 до 3,0. В соответствии с критериями, предложенными производителем, оценка от 1,7 до 1,99 указывает на идентификацию до рода, а оценка  $\geq 2$  указывает на идентификацию до вида. Оценка  $\leq 1,7$  рассматривается как недостоверная идентификация.

#### *Чувствительность*

##### *к антимикробным препаратам*

Минимальную ингибирующую концентрацию (МИК) антибиотиков определяли с помощью стрипов-полосок M.I.C.Evaluator (Oxoid, Англия), на которые нанесены градиенты концентраций антибиотика. Полоски M.I.C.E. действуют по принципу оригинального устройства – E-теста [11]. Было протестировано пять антимикробных агентов: метронидазол, клиндамицин, пенициллин, имипенем и амоксициллин/клавуланат. Для каждого штамма готовили инокулят с концентрацией, эквивалентной 1,0 стандарта McFarland. Чашки с кровяным агаром засеивали инокулятом, соблюдая равномерность; после полного высыхания накладывали полоски M.I.C.E. в соответствии с инструкциями производителя и инкубировали в течение 48 ч при 37°C в анаэробной атмосфере. После истечения времени инкубирования вокруг полоски образуется зона ингибирования. МИК определяется в точке, где зона роста микроорганизма пересекается с полоской. Значения МИК интерпретировались в соответствии со стандартами EUCAST.

## Результаты и обсуждение

### Таксономическая структура грамотрицательных анаэробных палочек

За 10-летний период было выделено 122 штамма грамотрицательных анаэробных палочек из 110 образцов клинического материала, полученных от онкологических больных с инфекциями легких, головы и шеи, брюшной полости, желчевыводящих путей, малого таза и мягких тканей (табл. 1).

Таблица 1

### Таксономическая структура видов *Bacteroides*, *Prevotella* и *Fusobacterium*, выделенных от онкологических больных за период с 2004 по 2014 г.

Виды анаэробных грамотрицательных палочек	Количество штаммов
<b><i>Bacteroides</i></b>	<b>67</b>
<i>B. fragilis</i>	33
<i>B. thetaiotaomicron</i>	12
<i>B. ovatus</i>	8
<i>B. vulgatus</i>	6
<i>B. nordii</i>	2
<i>B. uniformis</i>	1
<i>B. pyogenes</i>	1
<i>Parabacteroides distasonis</i>	3
<i>Parabacteroides johnsonii</i>	1
<b><i>Prevotella</i></b>	<b>42</b>
<b>Непигментированные</b>	<b>28</b>
<i>P. buccae</i>	10
<i>P. buccalis</i>	6
<i>P. oris</i>	6
<i>P. salivae</i>	1
<i>P. baroniae</i>	1
<i>P. bergensis</i>	1
<i>P. bivia</i>	1
<i>P. disiens</i>	1
<i>P. oralis</i>	1
<b>Пигментированные</b>	<b>14</b>
<i>P. denticola</i>	6
<i>P. nigrescens</i>	5
<i>P. melaninogenica</i>	2
<i>P. intermedia</i>	1
<b><i>Fusobacterium</i></b>	<b>13</b>
<i>F. nucleatum</i>	10
<i>F. necrophorum</i>	1
<i>F. mortiferum</i>	1
<i>F. ulcerans</i>	1

Все выделенные штаммы были идентифицированы до вида на MALDI-TOF MS с оценкой  $\geq 2$ . В группе *B. fragilis* наиболее часто выделялись *B. fragilis* (почти половина всех видов *Bacteroides* и 26,8 % от общего числа выделенных штаммов). Второе место по частоте выделения занимал *B. thetaiotaomicron*, за которым следовали *B. ovatus* и *B. vulgatus*. Аналогичное распределение видов наблюдалось в группе *B. fragilis* в исследованиях, проведенных в США, но отличалось от ситуации в Канаде, где *B. ovatus* был вторым наиболее часто выделяемым видом после *B. fragilis*, за которыми следовали *B. thetaiotaomicron* и *B. stercoris* [6, 12].

В исследованиях, проведенных в Испании, после *B. fragilis* и *B. thetaiotaomicron* наиболее часто выделяемым видом был *B. uniformis* [3]. В нашем исследовании *Bacteroides spp.* выделялись из желчи (34,9 %), дренажного отделяемого (30,2 %), абсцессов (20,6 %) и операционных ран (14,3 %).

Количество непигментированных видов *Prevotella* было в два раза выше (28 штаммов из 42), чем количество пигментированных видов (14 из 42). Наиболее часто среди непигментированных видов выделялись *P. buccae*, *P. buccalis* и *P. oris*, а среди пигментных видов – *P. denticola* и *P. nigrescens* (табл. 1). В исследованиях, проведенных в Болгарии, пигментированные виды выделялись чаще, чем непигментированные [4]. Возможно, эти различия связаны с различной локализацией инфекции и разными образцами биоматериалов. В нашем исследовании *Prevotella spp.* чаще выделялись из плевральной и брюшной жидкостей (35,9 %), операционных ран (25,6 %), абсцессов (20,5 %), желчи (10,3 %) и операционного материала (7,7 %). Несмотря на то, что *Prevotella spp.* являются желчечувствительными организмами, они иногда выделялись из желчи холангиостом.

Штаммы *Fusobacterium* выделялись относительно редко, и большинство из них (77 %) относилось к *F. nucleatum*. *Fusobacterium spp.* примерно с одинаковой частотой выделялись из жидкостей, абсцессов, операционных ран и желчи. Ни один штамм из группы *B. fragilis*, *Prevotella* и *Fusobacterium* не был выделен из образцов крови в течение исследуемого периода.

### Чувствительность

#### к антибактериальным препаратам

Распределение значений МИК четырех антимикробных агентов в отношении исследуемых штаммов *Bacteroides* представлено в табл. 2. В нашей клинике метронидазол является препаратом выбора для профилактики и лечения анаэробных инфекций. Этот препарат обладает более высокой эффективностью по сравнению с имипенемом и комбинацией  $\beta$ -лактамов с ингибиторами  $\beta$ -лактамаз, в частности амоксициллин / клавуланатом. Для большинства выделенных штаммов *Bacteroides* диапазоны МИК метронидазола, имипенема и амоксициллин / клавуланата составляли 1–4, 0,12–0,5 и 0,5–2 мкг/мл соответственно.

В ноябре 2010 г. из операционной раны больного раком желудка был выделен штамм *B. fragilis*, устойчивый к метронидазолу (МИК  $\geq 256$  мкг/мл). Этот штамм был также устойчив к амоксициллину/клавуланату (МИК  $\geq 256$  мкг/мл) и имипенему (МИК  $\geq 32$  мкг/мл), но чувствителен к клиндамицину (2 мкг/мл). В октябре 2011 г. от больного гепатоцеллюлярной карциномой и холангитом был выделен штамм *B. thetaiotaomicron* со сниженной чувствительностью к метронидазолу (МИК – 8 мкг/мл), но чувствительный к другим антибиотикам.

Таблица 2

Диапазоны МИК различных антимикробных агентов в отношении 67 штаммов *Bacteroides* spp.

Антимикробный агент	Количество штаммов, для которых МИК (мкг/мл) антимикробных агентов составлял:														
	≤0,015	0,03	0,06	0,12	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	≥256
Амоксициллин/клавуланат	-	1	-	2	3	18	17	12	8	3	-	-	-	-	3
Имипенем	-	-	8	17	19	14	3	2	1	-	-	3	-	-	-
Клиндамицин	3	-	1	6	1	4	12	15	10	7	-	-	-	-	8
Метронидазол	-	-	-	-	1	7	19	28	10	1	-	-	-	-	1

Таблица 3

Сравнение *in vitro* активности различных антимикробных агентов в отношении штаммов *B. fragilis* и не-*B. fragilis*

Антимикробный агент	Виды	Диапазон МИК (мкг/мл)	Количество резистентных штаммов
Амоксициллин/клавуланат	<i>B. fragilis</i>	0,03–256	3
	не- <i>B. fragilis</i>	0,12–8	0
Имипенем	<i>B. fragilis</i>	0,06–32	3
	не- <i>B. fragilis</i>	0,06–2	0
Клиндамицин	<i>B. fragilis</i>	0,06–256	4
	не- <i>B. fragilis</i>	0,015–256	11
Метронидазол	<i>B. fragilis</i>	0,25–256	1
	не- <i>B. fragilis</i>	0,5–8	1

В сентябре 2009 г. от больного раком желудка из абсцесса в ложе желчного пузыря была выделена монокультура штамма *B. fragilis*, устойчивого к амоксициллин/клавуланату (МИК ≥ 256 мкг/мл), имипенему (МИК ≥ 32 мкг/мл) и клиндамицину (МИК ≥ 256 мкг/мл), но чувствительного к метронидазолу (2 мкг/мл). Через месяц от больного раком печени с холециститом из желчи был выделен второй мультирезистентный штамм *B. fragilis*, который демонстрировал устойчивость к амоксициллин/клавуланату (МИК ≥ 256 мкг/мл), имипенему (МИК ≥ 32 мкг/мл) и клиндамицину (МИК ≥ 256 мкг/мл), но был чувствителен к метронидазолу (4 мкг/мл). Этот штамм был выделен из полимикробной культуры в ассоциации с *Stenotrophomonas maltophilia* и *E. coli*. Инфекции, вызываемые *Bacteroides* spp. с множественной лекарственной устойчивостью, встречаются редко и возникают в основном у иммунокомпрометированных пациентов, в частности у онкологических больных [7]. В Канаде выделены *B. ovatus* и *B. thetaiotaomicron* с множественной лекарственной устойчивостью: к клиндамицину, моксифлоксацину и цефокситину [6]. Кроме того, во Франции были выделены штаммы *B. fragilis*, устойчивые одновременно к нескольким агентам, таким как метронидазол, имипенем и амоксициллин/клавуланат [13].

Активность клиндамицина в отношении *Bacteroides* spp. очень избирательна. Диапазон МИК для большинства штаммов *Bacteroides* составлял 1–4 мкг/мл. Клиндамицин не используется в нашей клинике, и, вероятно, поэтому наблюдается относительно низкий уровень рези-

стентности (22,4 %) к этому препарату. Всего 15 штаммов были устойчивы к клиндамицину, 8 из которых имели высокий уровень резистентности (МИК ≥ 256 мкг/мл), и для 7 штаммов МИК составил 8 мкг/мл.

Чувствительность к различным антибактериальным препаратам может существенно варьировать у разных штаммов (табл. 3). Различия в чувствительности *B. fragilis* и других видов не-*B. fragilis* необходимо учитывать при назначении эмпирической терапии анаэробных инфекций, так как они имеют важное эпидемиологическое значение. Имипенем и амоксициллин/клавуланат были активны в отношении всех штаммов не-*B. fragilis*, но среди штаммов *B. fragilis* три имели высокую резистентность к этим препаратам. Известно, что устойчивость к имипенему наблюдается только у штаммов *B. fragilis*, что согласуется с нашими результатами. Один штамм *B. fragilis* обладал высокой резистентностью к метронидазолу (МИК ≥ 256), и один штамм *B. thetaiotaomicron* был со сниженной чувствительностью к метронидазолу (8 мкг/мл). Уровень устойчивости к клиндамицину варьировал от 12 % (4 из 33 штаммов) у *B. fragilis* до 32 % (11 из 34 штаммов) среди не-*B. fragilis*.

Поскольку виды *Prevotella* имеют более низкий уровень устойчивости к пенициллину, по сравнению с видами *Bacteroides*, нам казалось интересным оценить их чувствительность (табл. 4). Были выявлены существенные различия в резистентности к пенициллину между пигментными и непигментированными видами (78,6 %, 11/14 штаммов по сравнению с 46,4 %, 13/28). Среди

Таблица 4

Диапазоны МИК различных антимикробных агентов в отношении 42 штаммов *Prevotella* spp.

Антимикробный агент	Количество штаммов, для которых МИК (мкг/мл) антимикробных агентов составлял:														
	≤0,015	0,03	0,06	0,12	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	≥256
Пенициллин	3	5	5	4	1	-	-	-	2	-	-	22	-	-	-
Амоксициллин/ клавуланат	3	2	5	13	5	8	3	-	2	3	-	-	-	-	-
Имипенем	13	8	10	8	2	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Клиндамицин	17	16	3	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5
Метронидазол	-	1	-	-	3	10	9	8	8	2	1	-	-	-	-

Таблица 5

Диапазоны МИК различных антимикробных агентов в отношении 13 штаммов *Fusobacterium* spp.

Антимикробный агент	Количество штаммов, для которых МИК (мкг/мл) антимикробных агентов составлял:										
	0,002	0,004	0,008	0,015	0,03	0,06	0,12	0,25	0,5	1,0	
Пенициллин	1	3	3	2	2	-	1	1	-	-	
Амоксициллин/ клавуланат	-	-	-	7	2	1	1	-	1	1	
Имипенем	1	-	6	1	2	1	1	1	-	-	
Клиндамицин	-	-	-	3	5	4	-	-	1	-	
Метронидазол	-	-	-	5	2	1	2	1	1	1	

*Prevotella* spp. не было обнаружено штаммов, устойчивых к имипенему и амоксициллину/клавуланату. Устойчивость к клиндамицину (МИК ≥ 256 мкг/мл) наблюдалась у 5 штаммов, которые также были резистентны к пенициллину, и два из этих штаммов показали сниженную чувствительность к метронидазолу (МИК 8 мкг/мл). Множественной лекарственной устойчивостью обладал штамм *P. buccalis*, выделенный в 2006 г., и штамм *P. buccae*, выделенный в 2012 г., оба из операционной раны после мастэктомии. В 2012 г. из операционной раны больного раком слепой кишки был выделен штамм *P. bivia*, который не был чувствителен к метронидазолу (МИК – 16 мкг/мл), но чувствителен к другим тестируемым антибиотикам, в том числе пенициллину. В исследовании, проведенном во Франции, также были обнаружены штаммы *P. bivia*, устойчивые к метронидазолу [1, 8]. Авторы сообщали, что устойчивость этих штаммов можно было обнаружить только после длительного инкубационного периода (72–96 ч). В нашем исследовании устойчивость к метронидазолу наблюдалась после 48 ч инкубирования. Мы также наблюдали рост отдельных колоний в зоне просветления. Для этой субпопуляции МИК метронидазола варьировала от 16 до 256 мкг/мл. Для большинства штаммов *Prevotella* МИК метронидазола имела такой же диапазон (0,5–4 мкг/мл), как и для *Bacteroides* spp. Но *Prevotella* spp. были чувствительны к более низким концентрациям клиндамицина (≤0,015–0,03 мкг/мл), амоксициллин / клавуланата (0,12–0,5 мкг/мл) и имипенема (≤0,015–0,12 мкг/мл), чем виды *Bacteroides*.

Все штаммы *Fusobacterium* были чувствительны ко всем тестируемым антибиотикам, включая пенициллин (табл. 5). *Fusobacterium* spp. были чувствительны к еще более низким концентрациям антибиотиков, чем *Prevotella* spp. В США были выделены штаммы *Fusobacterium*, устойчивые к клиндамицину, что, вероятно, связано с частым использованием этого препарата в клинической практике [2].

## Выводы

Проведенное исследование показало, что в отношении анаэробных грамотрицательных палочек рода *Bacteroides*, *Prevotella* и *Fusobacterium* наиболее активными антибактериальными агентами являются метронидазол, имипенем и амоксициллин/клавуланат. Тем не менее были выделены три штамма *B. fragilis*, устойчивых одновременно к трем препаратам (имипенему, амоксициллину/клавуланату и метронидазолу или клиндамицину), а также три штамма *Prevotella* со сниженной чувствительностью к метронидазолу (МИК 8–16 мкг/мл). Широкое использование этих препаратов может привести к появлению и селекции резистентных штаммов у онкологических больных с тяжелыми инфекционными осложнениями. Резистентные штаммы были выделены в нашей клинике в период с 2009 по 2012 г. Мониторинг чувствительности анаэробных возбудителей инфекции к антимикробным препаратам необходим для проведения адекватной эмпирической терапии в будущем.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Alauzet C., Mory F., Teyssier C., Hallage H., Carlier J.P., Grolhier G., Lozniewski A. Metronidazole resistance in *Prevotella* spp. and description of a new *nim* gene in *Prevotella baroniae* // Antimicrob. Agents Chem. 2010. Vol. 54 (1). P. 60–64. doi: 10.1128/AAC.01003-09.
2. Aldridge K.E., Ashcraft D., Cambre K., Pierson C.L., Jenkins S.G., Rosenblatt J.E. Multicenter survey of the changing in vitro antimicrobial susceptibilities of clinical isolates of *Bacteroides fragilis* group, *Prevotella*, *Fusobacterium*, *Porphyromonas* and *Peptostreptococcus* species // Antimicrob. Agents Chemother. 2001. Vol. 45 (4). P. 1238–1243.
3. Betriu C., Culebras E., Gomez M., Lopez F., Rodriguez-Avial I., Picazo J.J. Resistance trends of the *Bacteroides fragilis* group over a 10-year period, 1997 to 2006, in Madrid, Spain // Antimicrob. Agents Chemother. 2008. Vol. 52 (7). P. 2686–2690. doi: 10.1128/AAC.00081-08.
4. Boyanova L., Kolarov R., Gergova G., Dimitrova L., Mitov I. Trends in antibiotic resistance in *Prevotella* species from patients of the University Hospital of Maxillofacial Surgery, Sofia, Bulgaria, in 2003–2009 // Anaerobe. 2010. Vol. 16 (5). P. 489–492. doi: 10.1016/j.anaerobe.2010.07.004.
5. Huggan P.J., Murdoch D.R. Fusobacterial infections: clinical spectrum and incidence of invasive disease // J. Infect. 2008. Vol. 57 (4). P. 283–289. doi: 10.1016/j.jinf.2008.07.016.
6. Karlowsky J.A., Walky A.J., Adam H.J., Baxter M.R., Hoban D.J., Zhanel G.G. Prevalence of antimicrobial resistance among clinical isolates of *Bacteroides fragilis* group in Canada in 2010–2011: CANWARD surveillance study // Antimicrob. Agents Chemother. 2012. Vol. 56 (3). P. 1247–1252. doi: 10.1128/AAC.05823-11.
7. Katsandri A., Papaparaskevas J., Pantazatou A., Petrikos G.L., Thomopoulos G., Houhoula D.P., Avlami A. Two cases of infections due to multidrug-resistant *Bacteroides fragilis* group strains // J. Clin. Microbiol. 2006. Vol. 44 (9). P. 3465–3467.
8. Mory F., Carlier J.P., Alauzet C., Thouvenin M., Schuhmacher H., Lozniewski A. Bacteremia caused by a metronidazole-resistant *Prevotella* sp. Strain // J. Clin. Microbiol. 2005. Vol. 43 (10). P. 5380–5383.
9. Nagy E., Maier T., Urban E., Terhes G., Kostrzewa M., ESCMID Study Group on Antimicrobial Resistance in Anaerobic Bacteria. Species identification of clinical isolates of *Bacteroides* by matrix-assisted laser-desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry // Clin. Microbiol. Infect. 2009. Vol. 15 (8). P. 796–802. doi: 10.1111/j.1469-0691.2009.02788.x.
10. Nagy E., Urban E., Nord C.E.; ESCMID Study Group on Antimicrobial Resistance in Anaerobic Bacteria. Antimicrobial susceptibility of *Bacteroides fragilis* group isolates in Europe: 20 years of experience // Clin. Microbiol. Infect. 2011. Vol. 17(3). P. 371–379. doi: 10.1111/j.1469-0691.2010.03256.x.
11. Rennie R.P., Turnbull L., Brosnikoff C., Cloke J. First comprehensive evaluation of the M.I.C. evaluator device compared to Etest and CLSI reference dilution methods for antimicrobial susceptibility testing of clinical strains of anaerobes and other fastidious bacterial species // J. Clin. Microbiol. 2012. Vol. 50 (4). P. 1153–1157. doi: 10.1128/JCM.05397-11.
12. Snyderman D.R., Jacobus N.V., McDermott L.A., Golan Y., Hecht D.W., Golgstein E.J., Harrell L., Jenkins S., Newton D., Pierson C., Rihs J.D., Yu V.L., Venezia R., Finegold S.M., Rosenblatt J.E., Gorbach S.L. Lessons learned from the anaerobe survey: historical perspective and review of the most recent data (2005–2007) // Clin. Infect. Dis. 2010. Vol. 50. Suppl 1. P. 26–33. doi: 10.1086/647940.
13. Turner P., Edwards R., Weston V., Gazis A., Ispahani P., Greenwood D. Simultaneous resistance to metronidazole, co-amoxiclav and imipenem in clinical isolate of *Bacteroides fragilis* // Lancet. 1995. Vol. 345 (8960). P. 1275–1277.
14. Wexler H.M. *Bacteroides*: the good, the bad and the nitty-gritty // Clin. Microbiol. Rev. 2007. Vol. 20 (4). P. 593–621.
15. Wybo I., Soetens O., De Bel A., Echahidi F., Vancutsem E., Vandorslaer K., Pierard D. Species identification of clinical *Prevotella* isolates by matrix-assisted laser-desorption ionization-time of flight mass spectrometry // J. Clin. Microbiol. 2012. Vol. 50 (4). P. 1415–1418. doi: 10.1128/JCM.06326-11.

Поступила 16.12.14

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**Шильникова Ирина Ивановна**, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории микробиологической диагностики и лечения инфекций в онкологии, НИИ клинической онкологии, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Москва), Российская Федерация. Тел.: +7 (967) 084-76-70. E-mail: iish54@mail.ru. SPIN-код: 9400-6222

**Дмитриева Наталья Владимировна**, доктор медицинских наук, профессор, заведующая лабораторией микробиологической диагностики и лечения инфекций в онкологии, НИИ клинической онкологии, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Москва), Российская Федерация. Тел.: +7 (499) 324-18-40. E-mail: prof.ndmitrieva@mail.ru

**Авторы данной статьи подтвердили отсутствие финансовой поддержки / конфликта интересов, о котором необходимо сообщить**

## EVALUATION OF ANTIBIOTIC SUSCEPTIBILITY OF ANAEROBIC PATHOGENS *BACTEROIDES*, *PREVOTELLA* AND *FUSOBACTERIUM* ISOLATED FROM CANCER PATIENTS

I.I. Shilnikova, N.V. Dmitrieva

N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center of the Russian Academy of Medical Sciences, Moscow 24, Kashirskoye Shosse, 115448-Moscow, Russia, e-mail: iish54@mail.ru

### Abstract

In this study 122 strains of strictly anaerobic gram-negative rods *Bacteroides*, *Prevotella* and *Fusobacterium*, isolated from cancer patients between 2004 and 2014 were analyzed. The most common strains were *B. fragilis* (55 %) followed by *Prevotella* (34.4 %) and *Fusobacterium* spp (10.6 %). The species identification was carried out by matrix-assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS). Among the *B. fragilis* group strains, *B. fragilis*, *B. thetaiotaomicron*, *B. ovatus* and *B. vulgatus* were isolated most frequently. Among *Prevotella* species, the most frequently isolated species were *P. buccae*, *P. buccalis*, *P. oris*, *P. denticola* and *P. nigrescens*, and 77 % of the *Fusobacterium* spp. were *F. nucleatum*. Susceptibilities of the isolates to antimicrobial agents were determined by the E-test methodology. The percentage of the

susceptibility of *B. fragilis* group isolates were: metronidazole, 97 %; imipenem, 95.5 %; amoxicillin/clavulanate, 95.5 % and clindamycin, 77.6 %. Three *B. fragilis* isolates proved to be multidrug-resistant (simultaneously to imipenem, amoxicillin/ clavulanate and metronidazole or clindamycin). All *Prevotella* isolates were susceptible to imipenem and amoxicillin/clavulanate, whereas 78.6 % of the pigmented *Prevotella* species and 46.4 % of the non-pigmented species were resistant to penicillin. The number of strains susceptibility to metronidazole and clindamycin were 93 % and 88 %, respectively. All *Fusobacterium* strains were sensitive to all tested antibiotics, including penicillin.

**Key words:** Antimicrobial susceptibility, resistance, *Bacteroides*, *Prevotella*, *Fusobacterium*, cancer patients.

#### REFERENCES

1. Alauzet C., Mory F., Teyssier C., Hallage H., Carlier J.P., Grolhier G., Lozniewski A. Metronidazole resistance in *Prevotella* spp. and description of a new *nim* gene in *Prevotella baroniae* // Antimicrob. Agents Chem. 2010. Vol. 54 (1). P. 60–64. doi: 10.1128/AAC.01003-09.
2. Aldridge K.E., Ashcraft D., Cambre K., Pierson C.L., Jenkins S.G., Rosenblatt J.E. Multicenter survey of the changing in vitro antimicrobial susceptibilities of clinical isolates of *Bacteroides fragilis* group, *Prevotella*, *Fusobacterium*, *Porphyromonas* and *Peptostreptococcus* species // Antimicrob. Agents Chemother. 2001. Vol. 45 (4). P. 1238–1243.
3. Betriu C., Culebras E., Gomez M., Lopez F., Rodriguez-Avial I., Picazo J.J. Resistance trends of the *Bacteroides fragilis* group over a 10-year period, 1997 to 2006, in Madrid, Spain // Antimicrob. Agents Chemother. 2008. Vol. 52 (7). P. 2686–2690. doi: 10.1128/AAC.00081-08.
4. Boyanova L., Kolarov R., Gergova G., Dimitrova L., Mitov I. Trends in antibiotic resistance in *Prevotella* species from patients of the University Hospital of Maxillofacial Surgery, Sofia, Bulgaria, in 2003–2009 // Anaerobe. 2010. Vol. 16 (5). P. 489–492. doi: 10.1016/j.anaerobe.2010.07.004.
5. Huggan P.J., Murdoch D.R. Fusobacterial infections: clinical spectrum and incidence of invasive disease // J. Infect. 2008. Vol. 57 (4). P. 283–289. doi: 10.1016/j.jinf.2008.07.016.
6. Karlowsky J.A., Walkty A.J., Adam H.J., Baxter M.R., Hoban D.J., Zhanel G.G. Prevalence of antimicrobial resistance among clinical isolates of *Bacteroides fragilis* group in Canada in 2010–2011: CANWARD surveillance study // Antimicrob. Agents Chemother. 2012. Vol. 56 (3). P. 1247–1252. doi: 10.1128/AAC.05823-11.
7. Katsandri A., Papaparaskevas J., Pantazatou A., Petrikos G.L., Thomopoulos G., Houhoula D.P., Avlami A. Two cases of infections due to multidrug-resistant *Bacteroides fragilis* group strains // J. Clin. Microbiol. 2006. Vol. 44 (9). P. 3465–3467.
8. Mory F., Carlier J.P., Alauzet C., Thouvenin M., Schuhmacher H., Lozniewski A. Bacteremia caused by a metronidazole-resistant *Prevotella* sp. Strain // J. Clin. Microbiol. 2005. Vol. 43 (10). P. 5380–5383.
9. Nagy E., Maier T., Urban E., Terhes G., Kostrzewa M., ESCMID Study Group on Antimicrobial Resistance in Anaerobic Bacteria. Species identification of clinical isolates of *Bacteroides* by matrix-assisted laser-desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry // Clin. Microbiol. Infect. 2009. Vol. 15 (8). P. 796–802. doi: 10.1111/j.1469-0691.2009.02788.x.
10. Nagy E., Urban E., Nord C.E.; ESCMID Study Group on Antimicrobial Resistance in Anaerobic Bacteria. Antimicrobial susceptibility of *Bacteroides fragilis* group isolates in Europe: 20 years of experience // Clin. Microbiol. Infect. 2011. Vol. 17(3). P. 371–379. doi: 10.1111/j.1469-0691.2010.03256.x.
11. Rennie R.P., Turnbull L., Brosnikoff C., Cloke J. First comprehensive evaluation of the M.I.C. evaluator device compared to Etest and CLSI reference dilution methods for antimicrobial susceptibility testing of clinical strains of anaerobes and other fastidious bacterial species // J. Clin. Microbiol. 2012. Vol. 50 (4). P. 1153–1157. doi: 10.1128/JCM.05397-11.
12. Snyderman D.R., Jacobus N.V., McDermott L.A., Golan Y., Hecht D.W., Gogstein E.J., Harrell L., Jenkins S., Newton D., Pierson C., Rihs J.D., Yu V.L., Venezia R., Finegold S.M., Rosenblatt J.E., Gorbach S.L. Lessons learned from the anaerobe survey: historical perspective and review of the most recent data (2005–2007) // Clin. Infect. Dis. 2010. Vol. 50. Suppl 1. P. 26–33. doi: 10.1086/647940.
13. Turner P., Edwards R., Weston V., Gazis A., Ispahani P., Greenwood D. Simultaneous resistance to metronidazole, co-amoxiclav and imipenem in clinical isolate of *Bacteroides fragilis* // Lancet. 1995. Vol. 345 (8960). P. 1275–1277.
14. Wexler H.M. *Bacteroides*: the good, the bad and the nitty-gritty // Clin. Microbiol. Rev. 2007. Vol. 20 (4). P. 593–621.
15. Wybo I., Soetens O., De Bel A., Echahidi F., Vancutsem E., Vandoorslaer K., Pierard D. Species identification of clinical *Prevotella* isolates by matrix-assisted laser-desorption ionization-time of flight mass spectrometry // J. Clin. Microbiol. 2012. Vol. 50 (4). P. 1415–1418. doi: 10.1128/JCM.06326-11.

#### ABOUT THE AUTHORS

**Shilnikova Irina Ivanovna**, PhD, Senior Researcher of Laboratory for Microbiologic Diagnosis and Treatment of Infection in Oncology, N.N. Blokhin Cancer Research Center of Russia (Moscow), Russian Federation. Phone: +7 (967) 084-76-70. E-mail: iish54@mail.ru. SPIN-code: 9400-6222

**Dmitrieva Natalia Vladimirovna**, MD, DSc, Professor, Head of Laboratory for Microbiologic Diagnosis and Treatment of Infection in Oncology, N.N. Blokhin Cancer Research Center of Russia (Moscow), Russian Federation. Phone: +7 (499) 324-18-40. E-mail: prof.dmitrieva@mail.ru

УДК: 616.61-006.6:577.2

## ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ТРАНСКРИПЦИОННЫХ ФАКТОРОВ, ФАКТОРА РОСТА VEGF, ЕГО РЕЦЕПТОРА, ПРОТЕИНАЗЫ m-TOR И АКТИВНОСТИ ВНУТРИКЛЕТОЧНЫХ ПРОТЕИНАЗ У БОЛЬНЫХ ДИССЕМИНИРОВАННЫМ РАКОМ ПОЧКИ

З.А. Юрмазов<sup>1</sup>, Е.А. Усынин<sup>1</sup>, Л.В. Спирина<sup>1,2</sup>,  
И.В. Кондакова<sup>1</sup>, Е.М. Слонимская<sup>1,2</sup>

Томский НИИ онкологии, г. Томск<sup>1</sup>

ГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет» МЗ РФ, г. Томск<sup>2</sup>  
634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5, e-mail: SpirinaLV@oncology.tomsk.ru<sup>1</sup>

### Аннотация

**Введение.** Поиск дополнительных информативных прогностических параметров у больных раком почки является актуальной задачей современной онкологии. **Цель исследования.** Изучение прогностической значимости экспрессии транскрипционных факторов, фактора роста VEGF, его рецептора, протеинкиназы m-TOR и активности внутриклеточных протеиназ у больных диссеминированным раком почки в соотношении со шкалой MSKCC. **Материал и методы.** В исследование было включено 40 пациентов с метастатическим почечно-клеточным раком (T<sub>3-4</sub>N<sub>0-1</sub>M<sub>1</sub>). Согласно шкале MSKCC все больные были распределены на 3 группы: с хорошим (n=13), промежуточным (n=26) и неблагоприятным прогнозом (n=1). В дальнейшем анализ касался больных, имеющих хороший и промежуточный прогноз (n=39). Всем пациентам на первом этапе проводилась таргетная терапия пазопанибом или эверолимусом, после которой выполнялась паллиативная нефрэктомия. Содержание транскрипционных и ростовых факторов изучено методом ИФА; активность протеасом и кальпаинов – с помощью флюорометрического метода. **Результаты.** Исходно высокие уровни экспрессии транскрипционного фактора HIF-1 и ростового фактора VEGF в опухоли почки ассоциированы с хорошим прогнозом заболевания по шкале MSKCC. У этой категории больных на фоне лечения наблюдалось снижение экспрессии транскрипционных факторов HIF-1, NF-κB p65, NF-κB p50, ростового фактора VEGF и активности протеасом. Выявленное повышение активности кальпаинов у больных с промежуточным прогнозом было ассоциировано с прогрессированием заболевания. **Заключение.** Выделены дополнительные молекулярные показатели, повышающие информативность шкалы MSKCC, что позволяет с большей точностью предсказать возможный исход заболевания у больных метастатическим раком почки.

**Ключевые слова:** диссеминированный рак почки, NF-κB, HIF-1, VEGF, протеасомы, кальпаины, прогноз.

Рак почки представляет собой гетерогенную группу опухолей, из которых более 75 % приходится на светлоклеточный почечно-клеточный тип [14], связанный с мутационными изменениями белка фон Хиппель-Линдау, увеличением содержания ядерного фактора HIF-1, гиперэкспрессией эндотелиального фактора роста (VEGF), активацией тирозинкиназных путей [16] и ключевой серин-треониновой протеинкиназой TOR (m-TOR) [9]. Это позволяет рассматривать данные молекулярные маркеры в качестве основных мишеней. Помимо этого, в патогенезе рака почки важную роль играет фактор транскрипции NF-κB (nuclear factor kappa-B), который вовлечен в апоптоз и пролиферацию опухолевых клеток [12].

Одним из механизмов регуляции содержания транскрипционных факторов NF-κB и HIF-1α является внутриклеточный протеолиз, осуществляемый протеиназами, к числу которых относят протеасому и кальпаины [1, 2, 4, 18]. В литературе представлены данные о том, что снижение деградации HIF-1α при использовании ингибиторов протеиназ или гипоксии приводит к значительному повышению экспрессии VEGF в опухолевых клетках [20]. Активация транскрипционного фактора NF-κB также осуществляется при участии протеасом [13]. Показана связь экспрессии транскрипционных факторов NF-κB, HIF-1 и ростового фактора VEGF с активностью и субъединичным составом протеасом у больных раком почки при развитии

✉ Юрмазов Захар Александрович, pzahar@sibmail.com

гематогенных метастазов [3, 4]. Кроме этого, на культуре почечно-клеточного рака (ПКР) выявлено влияние протеасом на содержание активных компонентов m-TOR сигнального пути [19].

При определении тактики лечения больных метастатическим почечно-клеточным раком значимую роль играют факторы прогноза – патоморфологические и клинико-лабораторные показатели, входящие в состав ряда прогностических шкал (прогностическая модель ECOG, номограмма Kattan, шкалы Motzer и HENG) [11, 15]. Наиболее известной и широко используемой для прогнозирования течения заболевания является шкала, разработанная в Мемориальном онкологическом центре Слоан-Кеттеринг MSKCC (МОЦСК/MSKCC), которая включает в себя такие параметры, как соматический статус больного по шкале Карновского, уровень ЛДГ, концентрация скорректированного кальция в сыворотке крови, уровень гемоглобина и наличие в анамнезе нефрэктомии.

Однако далеко не всегда этой информации бывает достаточно для прогноза заболевания, что обусловлено сложными механизмами патогенеза рака почки, поэтому ведется непрерывный поиск дополнительных информативных прогностических параметров [10, 18]. Примером таких исследований может служить шкала Heng, в которую кроме критериев MSKCC были включены такие лабораторные показатели, как количество тромбоцитов и нейтрофилов [7, 11].

**Целью исследования** явилось изучение прогностической значимости экспрессии транскрипционных факторов, фактора роста VEGF, его

рецептора, протеинкиназы m-TOR и активности внутриклеточных протеиназ у больных диссеминированным ПКР и соотношение их со шкалой MSKCC.

### Материал и методы

В исследование включено 40 больных (табл. 1) с метастатическим морфологически верифицированным почечно-клеточным раком T<sub>3-4</sub>N<sub>0-1</sub>M<sub>1</sub> стадий, получавших лечение в отделении общей онкологии Томского НИИ онкологии в период с 2010 по 2013 г. Из них 25 мужчин и 15 женщин. На первом этапе пациентам в течение 2 мес проводилась таргетная терапия препаратами пазопаниб (n=26) по 800 мг или эверолимус (n=14) в дозе 10 мг ежедневно.

*Разделение больных на группы согласно шкале MSKCC.* В зависимости от прогноза заболевания были выделены группы больных с благоприятным, промежуточным и плохим прогнозом. Оценка проводилась по 5 независимым параметрам. Неблагоприятными факторами считали: статус по шкале Карновского <80 %, уровень лактатдегидрогеназы в 1,5 раза выше нормы, скорректированный кальций крови >10 мг/дл, уровень гемоглобина <130 г/л и отсутствие в анамнезе нефрэктомии. В группу благоприятного прогноза вошли пациенты (n=13), у которых не было ни одного из вышеперечисленных факторов, промежуточного (n=26) – при наличии одного или двух факторов, и неблагоприятного (n=1) – при наличии трех факторов и более [15]. В дальнейшем анализ касался больных, имеющих хороший и промежуточный прогноз (n=39). После

Таблица 1

**Клиническая характеристика больных, получавших пазопаниб и эверолимус в предоперационном режиме**

Показатель	Пазопаниб	Эверолимус
	Кол-во больных	Кол-во больных
Пол		
Мужчины	16 (61,5 %)	9 (64,3 %)
Женщины	10 (38,5 %)	5 (35,7 %)
Средний возраст (мин-макс), лет	56 ± 2,5 (48–73)	54 ± 1,8 (46–70)
Местная распространенность		
T <sub>1</sub>	6 (23,1 %)	2 (14,3 %)
T <sub>2</sub>	10 (38,5 %)	8 (57,1 %)
T <sub>3</sub>	5 (19,2 %)	3 (21,4 %)
T <sub>4</sub>	5 (19,2 %)	1 (7,1 %)
Поражение регионарных л/узлов		
N <sub>0</sub>	19 (73,1 %)	9 (64,3 %)
N <sub>1</sub>	7 (26,9 %)	5 (35,7 %)
Метастазы		
В легкие	20 (76,9 %)	9 (64,3 %)
В кости	11 (42,3 %)	7 (50,0 %)
В печень	2 (7,6 %)	1 (7,1 %)
В контралатеральный надпочечник	1 (3,8 %)	1 (7,1 %)
В другие органы	2 (7,6 %)	-

окончания курса предоперационного лечения проводилась паллиативная нефрэктомия.

Материалом для исследования явились образцы опухолевой ткани, полученные при выполнении диагностической биопсии и радикального оперативного вмешательства, которые после забора замораживались и хранились при температуре  $-80^{\circ}\text{C}$ .

**Получение гомогенатов.** Замороженную ткань (100 мг) гомогенизировали в жидком азоте, затем ресуспендировали в 300 мкл 50 мМ трис-НСl буфера (pH=7,5), содержащего 2 мМ АТФ, 5 мМ хлорид магния, 1 мМ дитиотреитол, 1 мМ ЭДТА и 100 мМ хлорид натрия. Гомогенат центрифугировали 60 мин при 10 000 g и  $4^{\circ}\text{C}$ .

**Определение активности протеасом.** Химотрипсинподобную активность тотального пула протеасом определяли в осветленных гомогенатах опухолевых и неизмененных тканей, а также во фракциях протеасом, по гидролизу флуорогенного олигопептида N-Succinyl-Leu-Leu-Val-Tyr-7-Amido-4-Methylcoumarin, утилизирующегося химотрипсинподобными центрами протеасом [6], на флуориметре Hitachi-850 (Япония) при длине волны возбуждения 380 нм и эмиссии 440 нм. Реакционная смесь содержала 20 мМ трис-НСl (pH=7,5), 1 мМ дитиотреитола, 30 мкМ N-Succinyl-Leu-Leu-Val-Tyr-7-Amido-4-Methylcoumarin, 5 мМ хлорида магния и 1 мМ АТФ. Реакцию проводили при  $37^{\circ}\text{C}$  в течение 20 мин и останавливали 1 % додецил сульфатом натрия. Для оценки активности примесных протеаз в образцах применяли специфический ингибитор протеасом – MG132. Удельную активность протеасом выражали в единицах активности на 1 мг белка. Содержание белка определяли по методу Лоури.

**Определение активности кальпаинов.** Активность кальпаинов определяли в осветленных гомогенатах тканей по методу Sandmann [17]. В качестве субстрата использовали тот же флуорогенный олигопептид N-Succinyl-Leu-Leu-Val-Tyr-7-Amido-4-Methylcoumarin, который был использован для определения активности протеасом. Реакционная смесь содержала 100 мМ Tris-HCl (pH 7,3), 145 мМ NaCl. Реакцию проводили, добавляя к 30 мкМ Suc-LLVY-АМС, растворенному в реакционной смеси, 5 мкл супернатанта, и инкубируя при  $25^{\circ}\text{C}$  в течение 30 мин в присутствии или отсутствии 10 мМ  $\text{CaCl}_2$  и 0,4 мкМ ингибитора N-ацетил-Leu-Leu-норлейцинал (Sigma) [5].

**Определение содержания p-m-TOR, VEGF, VEGFR2, HIF-1 $\alpha$ , NF- $\kappa$ Bp50 и NF- $\kappa$ Bp65.** Образцы осветленных гомогенатов опухолей использовались для определения содержания VEGF, VEGFR2, p-m-TOR (R&D Systems, DSL, США), HIF-1 $\alpha$ , NF- $\kappa$ B p50 и NF- $\kappa$ B p65 субъединиц (Caymanchem, США) методом твердофазного иммуноферментного анализа на ИФА-анализаторе Anthos 2020. Приготовление и очистка ядерных экстрактов

тканевого гомогената проводились в соответствии с рекомендациями фирмы-производителя наборов. Уровень белка в гомогенатах и ядерных экстрактах определяли по методу Лоури. Результаты определения содержания VEGF, VEGFR2, phospho-TOR выражали в пг/мг белка, а HIF-1 $\alpha$ , NF $\kappa$ B p50 и NF $\kappa$ B p65 – в условных единицах на мг белка в лунке.

Статистическую обработку результатов проводили с применением пакета статистических программ Statistica 8.0. В зависимости от вида распределения результаты представлены как  $m \pm M$ , где m – среднее выборочное, M – ошибка среднего, или как медиана с интерквартильным размахом (25-й и 75-й процентиля). Значимость различий исследовали с помощью t-критерия Стьюдента или критерия Манна – Уитни.

Проведение данной работы одобрено этическим комитетом Томского НИИ онкологии.

### Результаты исследования и обсуждение

Данные, характеризующие исходный уровень транскрипционных факторов, а также динамика их изменения на фоне лечения таргетными препаратами у больных с хорошим и промежуточным прогнозом заболевания по шкале MSKCC представлены в табл. 2.

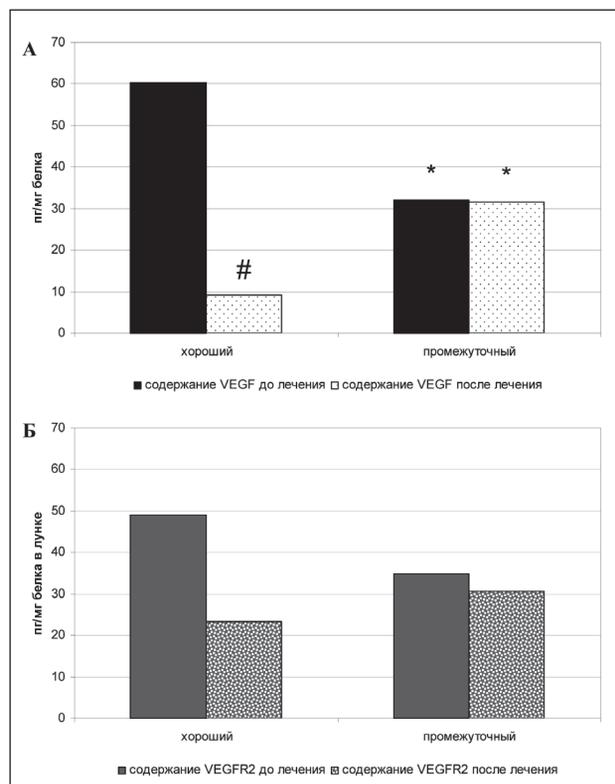


Рис. 1. Содержание ростового фактора VEGF (А) и его рецептора VEGFR2 (Б) в опухоли больных раком почки в зависимости от шкалы MSKCC и этапа лечения. Примечание: \* – различия статистически значимы по сравнению с показателями у больных с хорошим прогнозом ( $p < 0,05$ ); # – различия статистически значимы по сравнению с показателями у больных до лечения ( $p < 0,05$ )

Таблица 2

**Экспрессия транскрипционных факторов NF-κB p65, NF-κB p50 и HIF-1α в опухоли больных раком почки в зависимости от шкалы MSKCC и этапа лечения**

Прогноз по шкале MSKCC	Содержание NF-κB p65, УЕ/мг белка в лунке		Содержание NF-κB p50, УЕ/мг белка в лунке		Экспрессия HIF-1α, УЕ/мг белка в лунке	
	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения
Хороший	20,8 (9,8–37,0)	4,6 (3,96–4,84)#	24,7 (9,8–42,6)	4,0 (3,34–4,9)#	13,08 (6,2–20,5)	1,11 (0,34–1,98)#
Промежуточный	17,9 (6,3–23,0)	9,0 (3,98–16,46)#	10,8 (6,0–32,5)	6,33 (4,0–12,1)	6,35 (3,2–12,7)*	1,0 (0,26–3,6)

Примечание: \* – различия статистически значимы по сравнению с показателями у больных с хорошим прогнозом (p<0,05); # – различия статистически значимы по сравнению с показателями у больных до лечения (p<0,05).

Таблица 3

**Содержание протеинкиназы p-m-TOR в опухоли больных раком почки в зависимости от шкалы MSKCC и этапа лечения**

Прогноз по шкале MSKCC	Содержание p-m-TOR, пг/мг белка в лунке	
	До лечения	После лечения
Хороший	13,9 (0,0–20,0)	6,65 (2,15–7,89)#
Промежуточный	12,5 (0–14,3)	15,84 (1,58–21,8)*

Примечание: \* – различия статистически значимы по сравнению с показателями у больных с хорошим прогнозом (p<0,05); # – различия статистически значимы по сравнению с показателями до лечения (p<0,05).

Выявлена исходно высокая экспрессия ядерных факторов NF-κB p65 и NF-κB p50 в опухоли больных обеих групп до начала лечения. В отличие от этих молекулярных показателей уровень транскрипционного фактора HIF-1α различался в зависимости от прогноза заболевания по шкале MSKCC. Так, исходная экспрессия ядерного фактора в ткани опухоли у пациентов с хорошим прогнозом была в 2 раза выше по сравнению с больными, у которых прогноз был определен как промежуточный.

На фоне проведенной таргетной терапии у больных как с благоприятным, так и промежуточным прогнозом уменьшался уровень NF-κB p65. Наиболее существенное снижение этих показателей (в 4,5 раза после приема таргетных препаратов) наблюдалось только у больных с хорошим прогнозом по шкале MSKCC. У этих же пациентов отмечено и снижение уровня транскрипционных факторов NF-κB p50 и HIF-1α – в 6,1 и 11,8 раза соответственно, в то время как у пациентов с промежуточным прогнозом таких изменений не отмечалось.

Аналогичные данные были получены и в отношении протеинкиназы p-m-TOR. Ее уровень снижался на фоне лечения у больных с хорошим прогнозом в 2 раза и оставался практически равным исходному у пациентов с промежуточным прогнозом (табл. 3).

Содержание ростового фактора VEGF и его рецептора в опухоли больных диссеминированным ПКР в зависимости от прогноза заболевания по шкале MSKCC и этапа лечения представлено на рис. 1. Зафиксирован исходно высокий уровень изучаемого параметра у больных с хорошим прогнозом, который снижался в 6,5 раза на фоне приема таргетных препаратов, тогда как у больных с

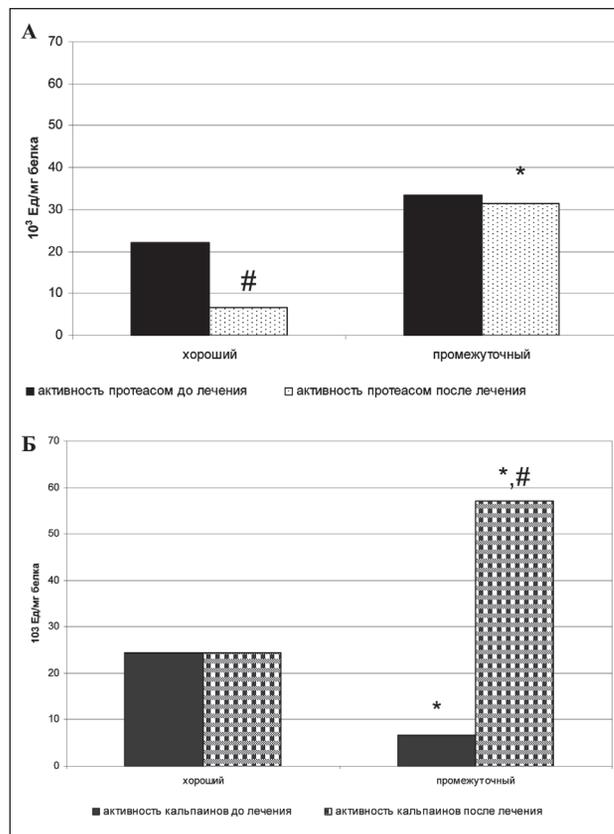


Рис. 2. Активность внутриклеточных протеиназ: протеасом (А), кальпаинов (Б) в опухоли больных раком почки в зависимости от шкалы MSKCC и этапа лечения. Примечание: \* – различия статистически значимы по сравнению с показателями у больных с хорошим прогнозом (p<0,05); # – различия статистически значимы по сравнению с показателями у больных до лечения (p<0,05)

промежуточным прогнозом подобной динамики не отмечалось. Экспрессия рецептора VEGFR2 имела только тенденцию к снижению, причем более выраженную у больных с хорошим прогнозом.

Активность внутриклеточных протеиназ у больных диссеминированным раком почки также имела ряд особенностей (рис. 2). На фоне приема таргетных препаратов выявлено снижение активности протеасом в 3,33 раза у больных с хорошим прогнозом, при этом активность кальпаинов оставалась неизменной. Динамика изменений активности внутриклеточных протеиназ у больных с промежуточным прогнозом была противоположной: в ткани опухоли активность протеасом на фоне лечения не изменялась, а активность кальпаинов увеличилась в 8,6 раза. При этом известна значимость кальпаинов в активации локомоторных свойств опухолевых клеток [8]. Возможно, в связи с этим фактом можно обсуждать роль кальпаинов в механизмах прогрессирования заболевания у больных с промежуточным прогнозом и рассматривать этот показатель в качестве прогностического.

Таким образом, исходно высокие показатели экспрессии транскрипционного фактора HIF-1,

ростового фактора VEGF в опухоли почки ассоциированы с хорошим прогнозом заболевания по шкале MSKCC, что позволяет рассматривать эти параметры в качестве дополнительных информативных маркеров, сопряженных с исходом заболевания у больных диссеминированным раком почки. В случае, если на фоне приема таргетных препаратов эти молекулярные показатели подвергаются значительному снижению, это также ассоциировано с благоприятным исходом заболевания. Рост активности кальпаинов чаще наблюдается у больных раком почки с промежуточным прогнозом и сопряжен с более агрессивным течением заболевания. Полученные в ходе исследования данные позволяют полагать, что изучаемые молекулярные маркеры могут рассматриваться в качестве дополнительных прогностических критериев, которые позволяют повысить точность предсказания ожидаемого исхода заболевания и определить выбор оптимальной тактики лечения пациентов с диссеминированным ПКР.

*Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Президента РФ № МД-3637.2015.7*

ЛИТЕРАТУРА

1. Кондакова И.В., Спирина Л.В., Коваль В.Д., Шашова Е.Е., Чойнзонов Е.Л., Иванова Э.В., Коломиец Л.А., Чернышова А.Л., Слонимская Е.М., Усынин Е.А., Афанасьев С.Г. Химотрипсинподобная активность и субединичный состав протеасом в злокачественных опухолях человека // Молекулярная биология. 2014. Т. 48., № 3. С. 444–451.
2. Спирина Л.В., Кондакова И.В., Усынин Е.А., Винтизенко С.И. Регуляция ангиогенеза при злокачественных новообразованиях почки и мочевого пузыря // Сибирский онкологический журнал. 2008. № 4 (28). С. 65–70.
3. Спирина Л.В., Кондакова И.В., Усынин Е.А., Коломиец Л.А., Винтизенко С.И., Бочкарева Н.В., Чернышева А.Л. Активность протеасом и содержание ростовых факторов при раке почки, мочевого пузыря и эндометрия // Российский онкологический журнал. 2010. № 1. С. 23–25.
4. Спирина Л.В., Кондакова И.В., Усынин Е.А., Юрмазов З.А. Регуляция экспрессии транскрипционных факторов и фактора роста эндотелия сосудов протеасомной системой при метастазировании рака почки // Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН. 2012. Т. 23, № 1. С. 27–32.
5. Atencio I.A., Ramachandra M., Shabram P., Demers G.W. Calpain inhibitor 1 activates p53-dependent apoptosis in tumor cell lines // Cell Growth Differ. 2000. Vol. 11 (5). P. 247–253.
6. Ben-Shahar S., Komlosch A., Nadav E., Shaked I., Ziv T., Admon A., DeMartino G.N., Reiss Y. 26 S proteasome-mediated production of an authentic major histocompatibility class I-restricted epitope from an intact protein substrate // J. Biol. Chem. 1999. Vol. 274 (31). P. 21963–21972.
7. Dirican A., Kucukzeybek Y., Somali L., Erten C., Demir L., Can A., Bahriye Payzin K., Vedat Bayoglu I., Akyol M., Koseoglu M., Alacacioglu A., Oktay Takhan M. The association of hematologic parameters on the prognosis of patients with metastatic renal cell carcinoma // J. BUON. 2013. Vol. 18 (2). P. 413–419.
8. Glading A., Bondar R.J., Reynolds I.J., Shiraha H., Satish L., Potter D.A., Blair H.C., Wells A. Epidermal growth factor activates m-calpain (calpain II), at least in part, by extracellular signal-regulated kinase-mediated phosphorylation // Mol. Cell Biol. 2004. Vol. 24 (6). P. 2499–2512.
9. Guertin D.A., Sabatini D.M. An expanding role for mTOR in cancer // Trends. Mol. Med. 2005. Vol. 11 (8). P. 353–361.
10. Heng D.Y., Xie W., Regan M.M., Warren M.A., Golshayan A.R., Sahi C., Eigl B.J., Ruether J.D., Cheng T., North S., Venner P., Knox J.J., Chi K.N., Kollmannsberger C., McDermott D.F., Oh W.K., Atkins M.B., Bukowski R.M., Rini B.I., Choueiri T.K. Prognostic factors for overall survival (OS) in patients with metastatic renal cell carcinoma (RCC) treated with vascular endothelial growth factor-targeted agents: Results from a

- large multicenter study // J. Clin. Oncol. 2009. Vol. 27 (34). P. 5794–5799. doi: 10.1200/JCO.2008.21.4809.
11. Heng D.Y., Xie W., Regan M.M., Harshman L.C., Bjarnason G.A., Vaishampayan U.N., Mackenzie M., Wood L., Donskov F., Tan M.-H., Rha S.Y., Agarwal N., Kollmannsberger C., Rini B.I., Choueiri T.K. External validation and comparison with other models of the International Metastatic Renal-Cell Carcinoma Database Consortium prognostic model: a population-based study // Lancet. Oncol. Vol. 14 (2). P. 141–148. doi: 10.1016/S1470-2045(12)70559-4.
12. Hoffmann A., Baltimore D. Circuitry of nuclear factor kappaB signaling // Immunol. Rev. 2006. Vol. 210. P. 171–186.
13. Juvekar A., Manna S., Ramaswami S., Chang T.P., Vu H.Y., Ghosh C.C., Celiker M.Y., Vancuriva I. Bortezomib induces nuclear translocation of IκBα resulting in gene-specific suppression of NF-κB-dependent transcription and induction of apoptosis in CTCL // Mol. Cancer Res. 2011. Vol. 9 (2). P. 183–194. doi: 10.1158/1541-7786.MCR-10-0368.
14. Keefe S.M., Nathanson K.L., Rathmell W.K. The molecular biology of renal cell carcinoma // Semin. Oncol. 2013. Vol. 40 (4). P. 421–428. doi: 10.1053/j.seminoncol.2013.05.006.
15. Motzer R.J., Bacik J., Schwartz L.H., Reuter V., Russo P., Mari-on S., Mazumdar M. Prognostic factors for survival in previously treated patients with metastatic renal cell carcinoma // J. Clin. Oncol. 2004. Vol. 22 (3). P. 454–463.
16. Na X., Wu G., Ryan C.K., Shoen S.R., di'Santagnese P.A., Messing E.M. Overproduction of vascular endothelial growth factor related to von Hippel-Lindau tumor suppressor gene mutations and hypoxia-inducible factor-1 alpha expression in renal cell carcinomas // J. Urol. 2003. Vol. 170 (2 Pt 1). P. 588–592.
17. Sandmann S., Prenzel F., Shaw L., Schauer R., Unger T. Activity profile of calpains I and II in chronically infarcted rat myocardium – influence of the calpain inhibitor CAL 9961 // Br. J. Pharmacol. 2002. Vol. 135 (8). P. 1951–1958.
18. Spirina L.V., Yunusova N.V., Kondakova I.V., Kolomiets L.A., Koval V.D., Chernyshova A.L., Shipileva O.V. Association of growth factors, HIF-1 and NF-κB expression with proteasomes in endometrial cancer // Mol. Biol. Rep. 2012. Vol. 39 (9). P. 8655–8662. doi: 10.1007/s11033-012-1720-y.
19. Wu W.K., Volta V., Cho C.H., Wu Y.C., Li H.T., Yu L., Li Z.J., Sung J.J. Repression of protein translation and mTOR signaling by proteasome inhibitor in colon cancer cells // Biochem. Biophys. Res. Commun. 2009. Vol. 386 (4). P. 598–601. doi: 10.1016/j.bbrc.2009.06.080.
20. Yue C.X., Ma J., Zhou H.J. The effect of RhoA and proteasome inhibitor MG132 on angiogenesis in tumors // Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban. 2011. Vol. 42 (4). 445–450.

Поступила 18.03.15

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**Юрмазов Захар Александрович**, врач-онколог онкологического отделения № 3, Томский НИИ онкологии (г. Томск), Российская Федерация. Тел.: (3822) 41-80-56. E-mail: pzahar@sibmail.com

**Усынин Евгений Анатольевич**, кандидат медицинских наук, научный сотрудник отделения общей онкологии, Томский НИИ онкологии (г. Томск), Российская Федерация. Тел.: 8 (3822) 41-80-92. E-mail: gusi70@list.ru. SPIN-код: 1804-0292

**Спирина Людмила Викторовна**, доктор медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории биохимии опухолей, Томский НИИ онкологии (г. Томск), Российская Федерация. Тел.: 8 (3822) 51-45-98. E-mail: spirinalv@oncology.tomsk.ru. SPIN-код: 1336-8363

**Кондакова Ирина Викторовна**, доктор медицинских наук, профессор, заведующая лабораторией биохимии опухолей, Томский НИИ онкологии (г. Томск), Российская Федерация. Тел.: 8 (3822) 51-25-29. E-mail: kondakova@oncology.tomsk.ru. SPIN-код: 9338-4149

**Слонимская Елена Михайловна**, доктор медицинских наук, профессор, руководитель отделения общей онкологии, Томский НИИ онкологии (г. Томск), Российская Федерация. Тел.: 8 (3822) 41-80-92. E-mail: slonimskaya@yandex.ru. SPIN-код: 7763-6417

## PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF EXPRESSION OF TRANSCRIPTION FACTORS, VEGF GROWTH FACTOR AND ITS RECEPTOR, m-TOR PROTEIN KINASE AND THE ACTIVITY OF INTRACELLULAR PROTEINASES IN PATIENTS WITH DISSEMINATED RENAL CELL CARCINOMA

Z.A. Yurmazov<sup>1</sup>, E.A. Usynin<sup>1</sup>, L.V. Spirina<sup>1,2</sup>, I.V. Kondakova<sup>1</sup>, E.M. Slonimskaya<sup>1,2</sup>

Tomsk Cancer Research Institute, Tomsk<sup>1</sup>

Siberian State Medical University, Tomsk<sup>2</sup>

5, Kooperativny Street, 634009-Tomsk, Russia, e-mail: SpirinaLV@oncology.tomsk.ru<sup>1</sup>

### Abstract

**Background.** Search for more informative prognostic parameters in patients with renal cell carcinoma is an actual problem of modern oncology. **Purpose:** to study the prognostic significance of expression of transcription factors, VEGF growth factors, its receptors, m-TOR protein kinase and the activity of intracellular proteinases in patients with disseminated renal cell carcinoma. **Material and methods.** Forty patients with metastatic renal cell carcinoma (T<sub>3-4</sub>N<sub>0-1</sub>M<sub>1</sub>) were included into the study. In accordance with the MSKCC scale, all patients were divided into 3 groups: with good prognosis (n=13), intermediate (n=26) and unfavorable prognosis (n=1). Further, the analysis included patients with good and intermediate prognosis (n=39). All patients received targeted therapy with pazopanib or everolimus. Palliative nephrectomy was performed after completion of preoperative treatment. The level of transcription and growth factors was studied using IFA method. The proteasome and calpain activities were assayed fluorometrically. **Results.** Initially high levels of the expression of HIF-1 transcription factor and VEGF growth factor in renal cell carcinoma were associated with good disease prognosis evaluated according to the MSKCC scale. The targeted therapy with pazopanib/everolimus resulted in decrease in the expression of HIF-1, NF-κB p65, NF-κB and p50 transcription factors, VEGF growth factor and the proteasome activity. The increased calpain activity in patients with intermediate prognosis was associated with disease progression. **Conclusion.** Additional molecular parameters that increase the informative value of the MSKCC scale were identified, allowing for more precise prediction of the disease outcome in patients with metastatic renal cell carcinoma.

**Key words:** disseminated renal cell carcinoma, NF-κB, HIF-1, VEGF, proteasomes, calpains, prognosis.

### REFERENCES

1. Kondakova I.V., Spirina L.V., Koval V.D., Shashova E.E., Chozonov E.L., Ivanova E.V., Kolomiets L.A., Chernyshova A.L., Slonimskaya E.M., Usynin E.A., Afanas'ev S.G. Chymotrypsin-Like Activity and Subunit Composition of Proteasomes in Human Cancers // *Molecular Biology*. 2014. Vol. 48 (3). P. 444–451. [in Russian]
2. Spirina L.V., Kondakova I.V., Usynin Y.A., Vintzenko S.I. Angiogenesis regulation in renal and bladder cancers // *Sibirskiy onkologicheskij zhurnal*. 2008. № 4 (28). P. 65–70. [in Russian]
3. Spirina L.V., Kondakova I.V., Usynin Y.A., Kolomiets L.A., Vintzenko S.I., Bochkareva N.V. Proteasome activity and growth factors expression in kidney, bladder and endometrial cancers // *Rossiyskiy onkologicheskij zhurnal*. № 1. P. 23–25. [in Russian]
4. Spirina L.V., Kondakova I.V., Usynin Y.A., Yurmazov Z.A. Expression of transcription factors and endothelial growth factor by proteasomal system in patients with metastatic renal carcinoma // *Journal of N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center RAMS*. 2012. Vol. 23, № 1. P. 27–32. [in Russian]
5. Atencio I.A., Ramachandra M., Shabram P., Demers G.W. Calpain inhibitor 1 activates p53-dependent apoptosis in tumor cell lines // *Cell Growth Differ*. 2000. Vol. 11 (5). P. 247–253.
6. Ben-Shahar S., Komlosch A., Nadav E., Shaked I., Ziv T., Admon A., DeMartino G.N., Reiss Y. 26 S proteasome-mediated production of an authentic major histocompatibility class I-restricted epitope from an intact protein substrate // *J. Biol. Chem*. 1999. Vol. 274 (31). P. 21963–21972.

7. Dirican A., Kucukzeybek Y., Somali I., Erten C., Demir L., Can A., Bahriye Payzin K., Vedat Bayoglu I., Akyol M., Koseoglu M., Alacacioglu A., Oktay Takhan M. The association of hematologic parameters on the prognosis of patients with metastatic renal cell carcinoma // J. BUON. 2013. Vol. 18 (2). P. 413–419.

8. Glading A., Bondar R.J., Reynolds I.J., Shiraha H., Satish L., Potter D.A., Blair H.C., Wells A. Epidermal growth factor activates m-calpain (calpain II), at least in part, by extracellular signal-regulated kinase-mediated phosphorylation // Mol. Cell Biol. 2004. Vol. 24 (6). P. 2499–2512.

9. Guertin D.A., Sabatini D.M. An expanding role for mTOR in cancer // Trends. Mol. Med. 2005. Vol. 11 (8). P. 353–361.

10. Heng D.Y., Xie W., Regan M.M., Warren M.A., Golshayan A.R., Sahi C., Eigl B.J., Ruether J.D., Cheng T., North S., Venner P., Knox J.J., Chi K.N., Kollmannsberger C., McDermott D.F., Oh W.K., Atkins M.B., Bukowski R.M., Rini B.I., Choueiri T.K. Prognostic factors for overall survival (OS) in patients with metastatic renal cell carcinoma (RCC) treated with vascular endothelial growth factor-targeted agents: Results from a large multicenter study // J. Clin. Oncol. 2009. Vol. 27 (34). P. 5794–5799. doi: 10.1200/JCO.2008.21.4809.

11. Heng D.Y., Xie W., Regan M.M., Harshman L.C., Bjarnason G.A., Vaishampayan U.N., Mackenzie M., Wood L., Donskov F., Tan M.-H., Rha S.Y., Agarwal N., Kollmannsberger C., Rini B.I., Choueiri T.K. External validation and comparison with other models of the International Metastatic Renal-Cell Carcinoma Database Consortium prognostic model: a population-based study // Lancet. Oncol. Vol. 14 (2). P. 141–148. doi: 10.1016/S1470-2045(12)70559-4.

12. Hoffmann A., Baltimore D. Circuitry of nuclear factor kappaB signaling // Immunol. Rev. 2006. Vol. 210. P. 171–186.

13. Juvekar A., Manna S., Ramaswami S., Chang T.P., Vu H.Y., Ghosh C.C., Celiker M.Y., Vancuriva I. Bortezomib induces nuclear translo-

cation of Ikb $\alpha$  resulting in gene-specific suppression of NF- $\kappa$ B-dependent transcription and induction of apoptosis in CTCL // Mol. Cancer Res. 2011. Vol. 9 (2). P. 183–194. doi: 10.1158/1541-7786.MCR-10-0368.

14. Keefe S.M., Nathanson K.L., Rathmell W.K. The molecular biology of renal cell carcinoma // Semin. Oncol. 2013. Vol. 40 (4). P. 421–428. doi: 10.1053/j.seminoncol.2013.05.006.

15. Motzer R.J., Bacik J., Schwartz L.H., Reuter V., Russo P., Mari-on S., Mazumdar M. Prognostic factors for survival in previously treated patients with metastatic renal cell carcinoma // J. Clin. Oncol. 2004. Vol. 22 (3). P. 454–463.

16. Na X., Wu G., Ryan C.K., Shoen S.R., di'Santagnese P.A., Messing E.M. Overproduction of vascular endothelial growth factor related to von Hippel-Lindau tumor suppressor gene mutations and hypoxia-inducible factor-1 alpha expression in renal cell carcinomas // J. Urol. 2003. Vol. 170 (2 Pt 1). P. 588–592.

17. Sandmann S., Prenzel F., Shaw L., Schauer R., Unger T. Activity profile of calpains I and II in chronically infarcted rat myocardium – influence of the calpain inhibitor CAL 9961 // Br. J. Pharmacol. 2002. Vol. 135 (8). P. 1951–1958.

18. Spirina L.V., Yunusova N.V., Kondakova I.V., Kolomiets L.A., Koval V.D., Chernyshova A.L., Shpileva O.V. Association of growth factors, HIF-1 and NF- $\kappa$ B expression with proteasomes in endometrial cancer // Mol. Biol. Rep. 2012. Vol. 39 (9). P. 8655–8662. doi: 10.1007/s11033-012-1720-y.

19. Sun M., Shariat S.F., Cheng C., Ficarra V., Murai M., Oudard S., Pantuck A.J., Zigeuner R., Karakiewicz P.I. Prognostic factors and predictive models in renal cell carcinoma: a contemporary review // Eur. Urol. 2011. Vol. 60 (4). P. 644–661. doi: 10.1016/j.eururo.2011.06.041.

20. Yue C.X., Ma J., Zhou H.J. The effect of RhoA and proteasome inhibitor MG132 on angiogenesis in tumors // Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban. 2011. Vol. 42 (4). 445–450.

#### ABOUT THE AUTHORS

**Yurmazov Zakhar Alexandrovich**, oncologist, General Oncology Department, Tomsk Cancer Research Institute (Tomsk), Russian Federation. Phone: +7 (3822) 41-80-56. E-mail: pzahar@sibmail.com

**Usynin Evgeny Anatolyevich**, MD, PhD, Researcher, General Oncology Department, Tomsk Cancer Research Center (Tomsk), Russian Federation. Phone: +7 (3822) 41-80-92. E-mail: gusi70@list.ru. SPIN-code: 1804-0292

**Spirina Lyudmila Viktorovna**, MD, DSc, Senior Researcher, Laboratory of Tumor Biochemistry, Tomsk Cancer Research Center (Tomsk), Russian Federation. Phone: +7 (3822) 51-45-98. E-mail: spirinalv@oncology.tomsk.ru. SPIN-code: 1336-8363

**Kondakova Irina Viktorovna**, Tumor Biochemistry, Tomsk Cancer Research Center (Tomsk), Russian Federation. Phone: +7 (3822) 51-25-29. E-mail: kondakova@oncology.tomsk.ru. SPIN-code: 9338-4149

**Slonimskaya Elena Mikhailovna**, MD, DSc, Professor, Head of General Oncology Department, Tomsk Cancer Research Institute (Tomsk), Russian Federation. Phone: +7 (3822) 41-80-92. E-mail: slonimskaya@rambler.ru. SPIN-code: 7763-6417

## УГНЕТЕНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ЦИТОТОКСИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК У БОЛЬНЫХ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ ЛИМФОМАМИ, ОБУСЛОВЛЕННОЕ ИЗМЕНЕННОЙ ЭКСПРЕССИЕЙ ФАКТОРА НЕКРОЗА ОПУХОЛИ АЛЬФА

Т.В. Тыринова, О.Ю. Леплина, М.А. Тихонова,  
Д.С. Баторова, Г.Ю. Ушакова, В.В. Сергеевичева,  
С.А. Сизикова, И.В. Крючкова, А.А. Останин, Е.Р. Черных

ФГБНУ «НИИ фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск  
630099, г. Новосибирск, ул. Ядринцевская, 14, e-mail: ct\_lab@mail.ru

### Аннотация

Исследования последних лет демонстрируют, что дендритные клетки (ДК) обладают прямой противоопухолевой цитотоксической активностью и способны подавлять рост и пролиферацию опухолевых клеток. Целью настоящей работы явилось исследование взаимосвязи между цитотоксической активностью генерируемых в присутствии IFN $\alpha$  дендритных клеток (ИФН-ДК) и экспрессией дендритными клетками TNF $\alpha$  у больных злокачественными лимфомами. Показано, что ИФН-ДК больных злокачественными лимфомами обладают слабой цитотоксической активностью против опухолевых клеток HEp-2, что ассоциируется с низкой экспрессией трансмембранной формы tmTNF $\alpha$  и высоким уровнем продукции растворимой формы TNF $\alpha$  (sTNF $\alpha$ ). Установлено, что угнетение цитотоксической активности ДК и низкая экспрессия tmTNF $\alpha$  в культурах ИФН-ДК характерны в большей степени для лимфом Ходжкина. При этом ИФН-ДК больных неходжкинскими лимфомами обладают сохранной цитотоксической активностью против клеток HEp-2, а экспрессия tmTNF $\alpha$  на ДК сопоставима с аналогичным показателем в культурах ИФН-ДК здоровых доноров. Установлено, что увеличение экспрессии tmTNF $\alpha$  в культурах ИФН-ДК исследуемых больных, индуцированное добавлением на этапе конечного созревания ДК ингибитора TNF $\alpha$ -конвертирующего фермента, ассоциируется с усилением цитотоксической активности ИФН-ДК против клеток HEp-2.

**Ключевые слова:** дендритные клетки, интерферон альфа, злокачественные лимфомы, фактор некроза опухоли альфа.

Дендритные клетки (ДК) являются высокоспециализированными антигенпрезентирующими клетками, способными индуцировать иммунный ответ против различных антигенов, включая опухолевые антигены [2]. Наряду с запуском адаптивного иммунного ответа ДК обладают непосредственной эффекторной функцией и способны подавлять рост и пролиферацию опухолевых клеток за счет прямого цитотоксического и цитостатического эффектов [7, 20]. Цитотоксическая активность ДК против опухолевых клеток может опосредоваться с вовлечением различных проапоптогенных лигандов, в том числе и молекулы фактора некроза опухоли альфа (TNF $\alpha$ ) [12]. Известно, что TNF $\alpha$  может существовать в двух формах: экспрессироваться на клеточной мембране в виде трансмембранной формы (tmTNF $\alpha$ ), а также секретироваться в виде растворимой формы (sTNF $\alpha$ ) [9]. Обе формы могут связываться с рецептором TNF-R1 и индуцировать апоптоз в клетках-мишенях [19].

Проведенные нами ранее исследования показали, что ДК здоровых доноров, генерированные в культуре *in vitro* в присутствии IFN $\alpha$  (ИФН-ДК), лизируют TRAIL-резистентные опухолевые клетки HEp-2 через TNF/TNF-R1-сигнальный путь [18]. Кроме того, нами было показано, что ИФН-ДК больных злокачественными лимфомами (ЗЛ) характеризуются низким цитотоксическим потенциалом против клеток HEp-2 [1], что может свидетельствовать о нарушении TNF $\alpha$ -медируемого механизма цитотоксичности ДК у больных ЗЛ. Учитывая также данные о том, что цитотоксический эффект ДК доноров против клеток HEp-2 не воспроизводился при замене ДК на их супернатанты [11], было высказано предположение, что выявленный у больных ЗЛ дефект цитотоксической функции ДК против клеток HEp-2 обусловлен в большей степени снижением экспрессии tmTNF $\alpha$ .

**Целью исследования** явилось подтверждение факта угнетения цитотоксической функции ИФН-

ДК больных ЗЛ против TRAIL-резистентных опухолевых клеток HEp-2, а также изучение связи нарушения цитотоксической активности ДК с уровнем экспрессии дендритными клетками TNF $\alpha$ .

### Материал и методы

В исследование были включены 15 больных: 6 мужчин и 9 женщин, в возрасте от 21 до 59 лет (медиана – 34 года), проходивших лечение в отделении гематологии и трансплантации костного мозга клиники иммунопатологии НИИ фундаментальной и клинической иммунологии. У 6 пациентов диагностировали неходжкинскую лимфому (НХЛ) и у 9 – лимфому Ходжкина (ЛХ). Количество курсов полихимиотерапии 1-й линии, проведенных у обследуемых пациентов со злокачественными лимфомами, варьировало от 2 до 13 (в среднем  $7,1 \pm 0,9$ ), 2-й линии – от 1 до 9 (в среднем  $3,4 \pm 0,6$ ). В качестве контрольной группы было обследовано 22 сопоставимых по полу и возрасту здоровых донора. Забор крови и все иммунологические исследования проводили после получения письменного информированного согласия пациентов.

Мононуклеарные клетки (МНК) получали центрифугированием гепаринизированной венозной крови в градиенте плотности фиколаверографина. ДК получали путем культивирования прилипающей фракции МНК в 6-луночных планшетах (Nunclon, Дания) в течение 3–4 сут в среде RPMI-1640 (Sigma-Aldrich, США), дополненной 0,3 мг/мл L-глутамина, 5 мМ HEPES-буфера, 100 мкг/мл гентамицина и 5 % сыворотки плодов коровы (FCS, БиолоТ, Россия, г. Санкт-Петербург), в присутствии GM-CSF (40 нг/мл, Sigma-Aldrich) и IFN $\alpha$  (1000 Ед/мл, Роферон-А, Roche, Швейцария) с последующим дозреванием в течение 24 ч с липополисахаридом (10 мкг/мл, ЛПС E.colli 0114:B4, Sigma-Aldrich). Клеточный выход составлял в среднем  $(1,3 \pm 2,2) \times 10^6$  ДК и  $(0,4 \pm 0,2) \times 10^6$  ДК в группах здоровых доноров и больных ЗЛ соответственно.

Уровень экспрессии tmTNF $\alpha$  на ДК определяли методом проточной цитофлюориметрии в гейте HLA-DR<sup>+</sup>клеток методом двойного окрашивания с использованием APC-конъюгированных анти-TNF $\alpha$ -антител и FITC- или PerCP-конъюгированных анти-HLA-DR-антител (BD PharMingen, США). Для исключения возможности связывания моноклонального анти-TNF $\alpha$ -антитела с комплексом sTNF $\alpha$ -TNFR ДК предварительно в течение 15 мин в темноте при комнатной температуре обрабатывали глициновым буфером Gly-HCl (pH=3,0). Глициновый буфер способствовал диссоциации комплекса sTNF $\alpha$ -TNFR и удалению с мембранной поверхности клетки sTNF $\alpha$ . Далее ДК инкубировали с анти-TNF $\alpha$ - и анти-HLA-DR-антителами согласно стандартной методике. Концентрацию продуцируемого цитокина TNF $\alpha$  в супернатантах ЛПС-стимулированных ИФН-ДК определяли

методом иммуноферментного анализа, используя соответствующую тест-систему производства «Вектор-Бест» (г. Новосибирск).

Оценка цитотоксической активности ДК против опухолевых клеток HEp-2 (карцинома гортани человека) проводилась с помощью МТТ-теста в течение 24 ч в соотношении эффектор/мишень 1:1. Расчет цитотоксической активности проводился по стандартной формуле:

$[1-(\text{ОПэ} + \text{м-ОПэ})/\text{ОПм}] \times 100 \%$ , где ОПэ+м – значение оптической плотности в опытных сериях; ОПэ – значение оптической плотности в лунках с эффекторами; ОПм – значение оптической плотности в лунках с мишенями. Оптическая плотность измерялась при длине волны 492 нм на мультилуночном спектрофотометре (Thermo Scientific Multiskan FC, Finland). В отдельной серии экспериментов в культуры ДК больных злокачественными лимфомами совместно с ЛПС добавляли синтетический ингибитор металлопротеиназ TAPI-0 (25 мкг/мл, Calbiochem, США).

Статистическую обработку данных проводили при помощи пакета прикладных программ Statistica 6.0 для Windows. Данные представлены в виде средних значений (m) и стандартной ошибки (SE). Для выявления значимых различий сравниваемых показателей использовали непараметрический U-критерий Вилкоксона – Манна – Уитни. Для анализа взаимосвязей между исследуемыми параметрами использовали коэффициент корреляции Спирмана. Различия считали достоверными при уровне значимости  $p < 0,05$ .

### Результаты и обсуждение

Оценка цитотоксической активности ДК против опухолевых TRAIL-резистентных клеток HEp-2 с помощью МТТ-теста показала (рис. 1), что ИФН-ДК здоровых доноров обладали выраженной противоопухолевой активностью (в среднем  $42,5 \pm 5,6 \%$ ). У больных ЗЛ этот показатель был значимо ниже и составлял в среднем  $24,7 \pm 6,2 \%$  ( $p_U=0,05$ ) (рис. 1А). Поскольку ЗЛ представляют собой гетерогенную группу и включают лимфомы Ходжкина (ЛХ) и неходжкинские лимфомы (НХЛ), была проведена сравнительная оценка изучаемого показателя с учетом типа лимфомы (рис. 1Б). Обе группы больных были сопоставимы по количеству проведенных курсов 1-й и 2-й линий химиотерапии. ИФН-ДК пациентов с НХЛ обладали относительно сохранным уровнем цитотоксической активности ( $39,1 \pm 5,1 \%$ ), тогда как в группе больных с ЛХ ИФН-ДК проявляли слабую цитотоксичность ( $14,4 \pm 8,1 \%$ ).

Сравнительная оценка экспрессии tmTNF $\alpha$  показала (рис. 2А), что популяция ИФН-ДК доноров содержала в среднем  $5,84 \pm 0,27 \%$  tmTNF $\alpha$ -позитивных клеток, тогда как для ИФН-ДК больных ЗЛ этот показатель был значимо ниже и составлял в среднем  $4,29 \pm 0,68 \%$  ( $p_U=0,02$ ). Ана-

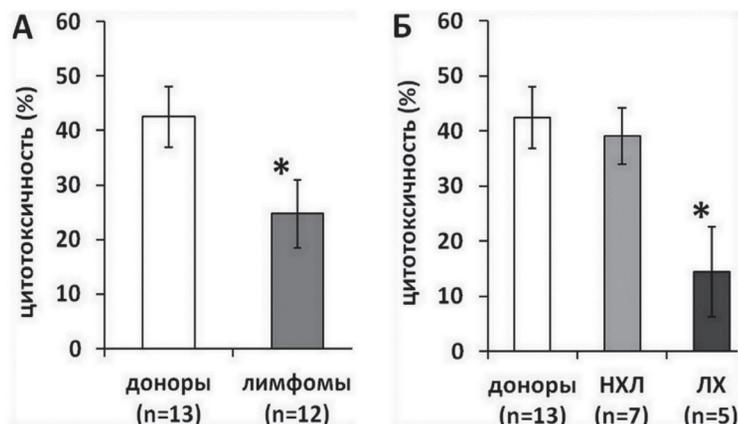


Рис. 1. Цитотоксическая активность ИФН-ДК больных злокачественными лимфомами против клеток линии H92. Представлены средние значения ( $m \pm SE$ ) цитотоксической активности в МТТ-тесте ЛПС-стимулированных ИФН-ДК доноров и больных злокачественными лимфомами против опухолевой линии H92 в соотношении 1:1.

Примечание: \* – различия между группами больных и доноров статистически значимы ( $p_U < 0,05$ )

лиз пациентов с учетом типа лимфом (рис. 2Б, В) показал, что ИФН-ДК больных ЛХ характеризовались достоверно низкой экспрессией tmTNF $\alpha$  по сравнению с группой доноров ( $3,4 \pm 0,8 \% vs 5,84 \pm 0,27 \%$ ;  $p_U = 0,01$ ). В то же время относительное количество tmTNF $\alpha$ -позитивных клеток в культурах ИФН-ДК пациентов с НХЛ было сопоставимо с аналогичным показателем в культурах ИФН-ДК доноров ( $5,48 \pm 1,07 \%$  и  $5,84 \pm 0,27 \%$  соответственно).

На следующем этапе было проведено сравнительное исследование продукции sTNF $\alpha$  в культурах ДК доноров и больных лимфомами.

Принимая во внимание тот факт, что клеточный выход при генерации ДК у больных ЗЛ был ниже по сравнению со здоровыми донорами, анализ уровня продукции sTNF $\alpha$  в цельных супернатантах культур ИФН-ДК проводился в пересчете на  $10^5$  ДК. Как видно из рис. 3А, ИФН-ДК больных ЗЛ отличались более высокой, по сравнению с ИФН-ДК доноров, продукцией sTNF $\alpha/10^5$  ДК ( $p_U = 0,004$ ). Кроме того, аналогичные различия наблюдались при сравнении культур ДК больных ЛХ и здоровых доноров ( $p_U = 0,002$ , рис. 3Б). Различия в продукции sTNF $\alpha/10^5$  ДК в культурах ДК доноров и больных НХЛ проявлялись в виде тенденции ( $p_U = 0,19$ ).

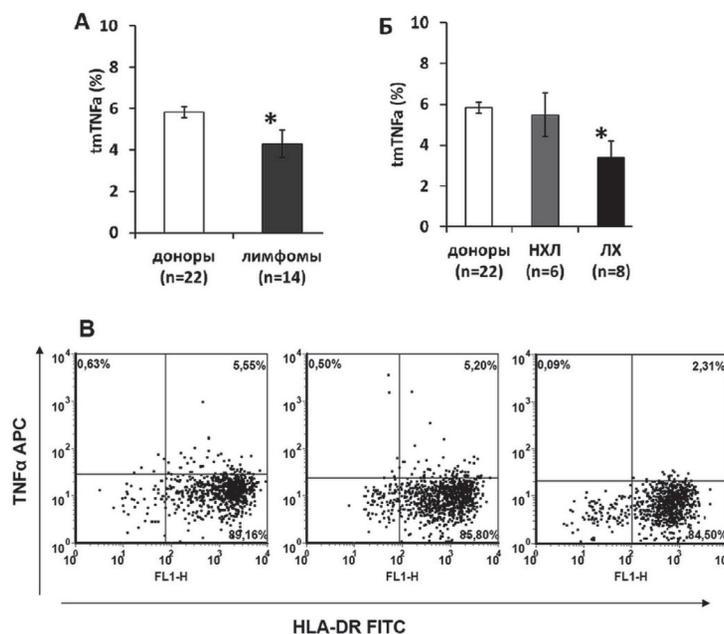


Рис. 2. Экспрессия мембранной формы TNF $\alpha$  в культурах ИФН-ДК больных злокачественными лимфомами: А, Б – средние значения ( $m \pm SE$ ) экспрессии tmTNF $\alpha$  (%) в культурах ЛПС-стимулированных ИФН-ДК доноров и больных злокачественными лимфомами; В – индивидуальные DotPlot гистограммы распределения ДК по флуоресценции FITC-меченных анти-HLA-DR-антител и APC-меченных анти-TNF $\alpha$ -антител у здорового донора (левый DotPlot график), больного НХЛ (в центре) и больного ЛХ (правый DotPlot график). Относительное содержание HLA-DR+ tmTNF $\alpha$  + ДК – правый верхний квадрант.

Примечание: \* – различия показателей ИФН-ДК в группах больных и доноров статистически значимы ( $p_U < 0,05$ )

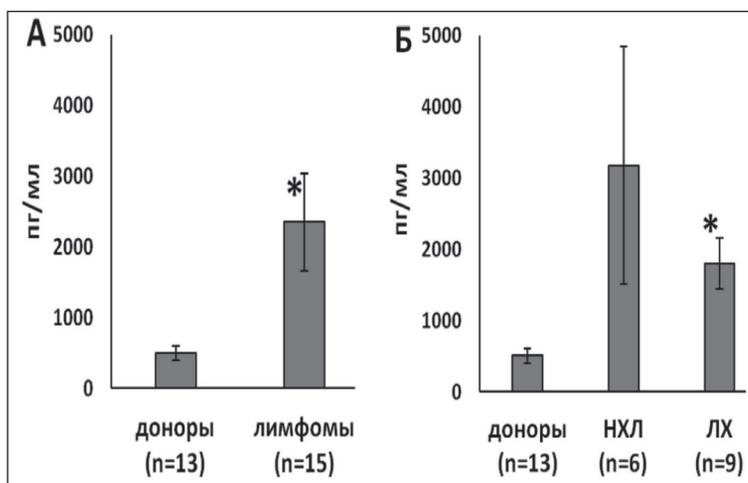


Рис. 3. Продукция растворимой формы TNFα в культурах ИФН-ДК больных злокачественными лимфомами. Представлены средние значения (m ± SE) продукции sTNFα/105 (пкг/мл) в супернатантах ЛПС-стимулированных ИФН-ДК доноров и больных злокачественными лимфомами.

Примечание: \* – различия между группами больных и доноров статистически значимы (p<sub>0</sub><0,05)

Для того чтобы выяснить роль мембранной и секретируемой форм TNFα в реализации цитотоксической активности ИФН-ДК против клеток HEp-2, была проведена серия экспериментов с использованием синтетического ингибитора TARI-0, блокирующего активность TNFα-конвертирующего фермента (TACE). TACE участвует в образовании sTNFα из tmTNFα [3]. Поскольку блокирование фермента TACE может приводить к снижению продукции sTNFα и накоплению на поверхности клетки tmTNFα, данный подход позволил оценить, как изменение соотношения sTNFα и tmTNFα ассоциировано с изменением цитотоксической активности ИФН-ДК больных ЗЛ. Как видно из рис. 4, добавление TARI-0 в дозе 25 мкг/мл на этапе конечного созревания ДК совместно с ЛПС действительно приводило к увеличению tmTNFα-позитивных клеток в культурах ИФН-ДК исследуемых больных. При этом продукция sTNF в культурах ИФН-ДК значимо снижалась.

Анализ индивидуальных значений цитотоксической активности ИФН-ДК больных ЗЛ (табл. 1) показал, что повышение экспрессии tmTNFα, обусловленное действием ингибитора, в 3 из 4 случаев было ассоциировано с увеличением цитотоксической активности ИФН-ДК. Однако у одного пациента с НХЛ (больной 3), несмотря на увеличение экспрессии дендритными клетками tmTNFα с 3,47 до 10,2 % при добавлении TARI-0, возрастания цитотоксичности не наблюдалось.

Двойственная функция дендритных клеток как непосредственных эффекторов врожденного иммунитета и индукторов/регуляторов адаптивного иммунного ответа придает им особую значимость в противоопухолевой защите. Цитотоксическая активность ДК, направленная на элиминацию опухолевых клеток, может обеспечить более успешное поглощение опухолевых антигенов ДК и, следовательно, способствовать более раннему развитию эффективного противоопухолевого

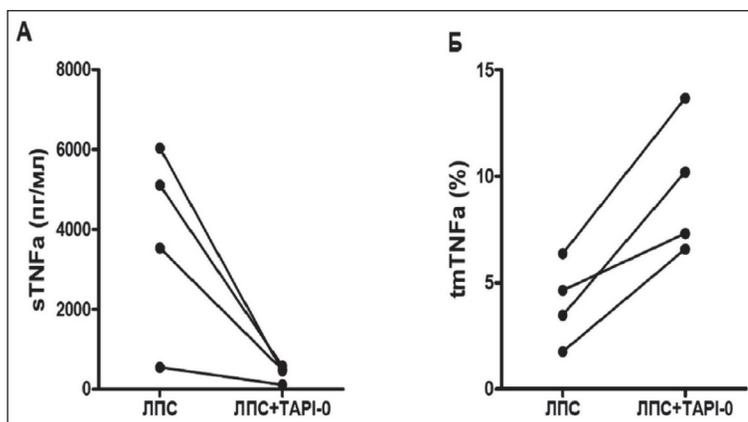


Рис. 4. Влияние TARI-0 на экспрессию tmTNFα и продукцию sTNFα в культурах ЛПС-стимулированных ИФН-ДК больных с онкопатологией.

Представлены средние значения (m ± SE) концентрации sTNFα/105 (пкг/мл) в супернатантах цельных культур (А) и относительного количества клеток, экспрессирующих tmTNFα (%), в интактных ЛПС-стимулированных и TARI-0-обработанных культурах ИФН-ДК больных злокачественными лимфомами (Б)

Таблица 1

## Влияние TARI-0 на цитотоксическую активность ИФН-ДК больных против опухолевых клеток HEp-2

Пациент	Диагноз	Цитотоксическая активность	
		ЛПС	ЛПС+TARI-0
Больной 1	ЛХ	10,05	29,6
Больной 2	НХЛ	27,4	28,9
Больной 3	НХЛ	28	25,4
Больной 4	ЛХ	25,3	31,8

Примечание: представлены индивидуальные значения цитотоксической активности (%) в МТТ-тесте интактных ЛПС-стимулированных и обработанных TARI-0 ИФН-ДК больных злокачественными лимфомами против опухолевой линии HEp-2 в соотношении 1:1.

иммунного ответа, индуцированного презентацией опухолевых антигенов Т-клеток. Настоящее исследование показало, что ИФН-ДК больных ЗЛ действительно обладают слабой цитотоксической активностью против TRAIL-резистентных опухолевых клеток HEp-2. Проведенные нами предыдущие исследования выявили дефект цитотоксической активности ИФН-ДК против клеток HEp-2 у больных с внутримозговыми глиальными опухолями высокой степени злокачественности [18]. При этом ДК больных этой категории проявляли высокую цитотоксическую активность против TRAIL- и FasL-чувствительных опухолевых клеток. Важно отметить, что больные злокачественными глиомами со слабой цитотоксической активностью ДК характеризовались низкими показателями выживаемости, тогда как пациенты с сохранной цитотоксической активностью ДК – более высокими показателями выживаемости. Полученные результаты позволяют предположить, что дефектность цитотоксической функции ДК может иметь патогенетическую значимость при опухолевом росте.

Согласно полученным нами данным, ДК больных ЗЛ характеризуются низкой экспрессией tmTNF $\alpha$  и высокой продукцией sTNF $\alpha$ /10<sup>5</sup> ДК. Поскольку sTNF $\alpha$  образуется из tmTNF $\alpha$  при участии мембраносвязанной металлопротеиназы TACE [3], можно предположить, что обнаруженное нами нарушение экспрессии TNF $\alpha$  в сторону увеличения секреторной формы связано с повышенной активностью TACE. Известно, что функциональная активность TACE подвержена позитивной и негативной регуляции. Так, например, стимулирующим эффектом на TACE обладают ЛПС, polyI:C, ИФН $\gamma$ , тогда как ИЛ-10, наоборот, ингибирует шеддинг TNF $\alpha$  [4, 10]. Описаны случаи измененной активности TACE при ряде патологий. Так, например, показано, что ЛПС-стимулированные моноциты при миелоидном лейкозе отличаются от моноцитов здоровых доноров повышенной каталитической активностью TACE [15]. Исследования D.J. O'Callaghan et al. указывают на то, что при сепсисе высокая активность TACE в моноцитах сохраняется и при их дифференцировке в макрофаги [16]. По-видимому, если низкая экспрессия tmTNF $\alpha$  в ДК больного ЗЛ связана с повышенной активностью фермента TACE, то подобные изменения действительно могут быть обусловлены

дефектом самих моноцитарных предшественников ДК.

При анализе пациентов с учетом типа лимфомы были обнаружены различия в противоопухолевой цитотоксической активности ИФН-ДК между больными ЛХ и НХЛ. Эти различия ассоциировались с уровнем экспрессии tmTNF $\alpha$  в оппозитных группах. Для культур ИФН-ДК больных ЛХ, проявляющих слабую цитотоксическую активность против клеток HEp-2, была характерна низкая экспрессия tmTNF $\alpha$  и высокая продукция sTNF $\alpha$ /10<sup>5</sup> ДК по сравнению с донорскими значениями. ИФН-ДК больных НХЛ, обладающие относительно сохранной цитотоксичностью против HEp-2, экспрессировали tmTNF $\alpha$  на уровне, сопоставимом с аналогичным показателем в культурах ИФН-ДК здоровых доноров, и характеризовались высокой продукцией sTNF $\alpha$ /10<sup>5</sup> ДК. Данных об экспрессии TNF $\alpha$  в ДК при ЛХ и НХЛ в литературе нет. Однако показано, что при НХЛ, несмотря на выраженные иммунные дисфункции, в том числе сниженный пролиферативный ответ лимфоцитов на аллоантигены [6], низкую антителозависимую и НК-клеточную цитотоксическую активность [14], моноциты больных этой категории сохраняют способность к продукции TNF $\alpha$  и проявляют выраженную цитотоксическую активность против TNF $\alpha$ -чувствительных опухолевых клеток [8]. Следует отметить, что уровень экспрессии мРНК TNF $\alpha$  в самих опухолевых клетках при ЛХ значительно ниже, чем при НХЛ [17]. Можно предположить, что различия в регуляции экспрессии данной молекулы на транскрипционном уровне (за счет активации сигнальных путей, вовлеченных в синтез мРНК TNF $\alpha$ ) и посттрансляционном уровне, обусловленные реципрокными или иными взаимодействиями, влияют на функции иммунокомпетентных клеток.

Предыдущие исследования показали, что супернатанты ИФН-ДК доноров не обладают киллерной активностью против клеток HEp-2 [11], что указывает на клеточно-контактный механизм реализации цитотоксической активности ИФН-ДК против клеток HEp-2. По-видимому, выявленные различия между донорами и больными в продукции sTNF $\alpha$  в данном случае не имеют значения, а цитотоксичность ДК детерминирована уровнем tmTNF $\alpha$ .

Согласно полученным нами данным, увеличение экспрессии tmTNF $\alpha$  в культурах ИФН-ДК больных ЗЛ и подавление продукции sTNF $\alpha$ , индуцированное ингибированием фермента TACE, ассоциируются с усилением противоопухолевой цитотоксической активности ИФН-ДК. Полученные нами результаты подтверждают ведущую роль tmTNF $\alpha$  в реализации цитотоксической активности против клеток Нер-2. В литературе имеются лишь единичные данные о том, что tmTNF $\alpha$  обладает более выраженной апоптоз-индуцирующей активностью против опухолевых мишеней [5, 13]. Также показано, что созревание ИЛ4-индуцированных ДК сопровождается снижением экспрессии tmTNF $\alpha$  и повышением sTNF $\alpha$  в супернатантах ДК. Эти изменения ассоциируются с более низкой цитотоксической активностью зрелых ДК по сравнению с незрелыми ДК против различных опухолевых линий [12]. Отсутствие стимулирующего эффекта TARI-0 на цитотоксическую активность ДК одного из исследуемых нами больных можно объяснить возможным участием других TNF $\alpha$ -независимых механизмов реализации цитотоксического эффекта ИФН-ДК. Можно предположить, что в этом случае цитотоксическая активность ИФН-ДК не связана

с уровнем экспрессии tmTNF $\alpha$ , а опосредуется с вовлечением других проапоптогенных молекул. Однако такая гипотеза требует дополнительных исследований.

### Заключение

Таким образом, угнетение цитотоксической функции ИФН-ДК у больных злокачественными лимфомами ассоциируется с низким уровнем экспрессии молекулы tmTNF $\alpha$  и высоким уровнем продукции sTNF в культурах ДК. При этом низкая экспрессия tmTNF $\alpha$  в популяции ИФН-ДК характерна в большей степени для лимфом Ходжкина, тогда как экспрессия tmTNF $\alpha$  ИФН-ДК больных НХЛ сопоставима с аналогичным показателем в культурах ИФН-ДК здоровых доноров. Направленная регуляция экспрессии TNF $\alpha$  на посттрансляционном уровне за счет снижения шеддинга трансмембранной формы TNF $\alpha$  усиливает цитотоксический потенциал ИФН-ДК, что свидетельствует о преобладающей роли трансмембранной формы TNF $\alpha$  в реализации лизиса TRAIL-резистентных опухолевых клеток дендритными клетками.

Проведенное исследование поддержано грантом РФФИ № 14-04-00446-а.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Леплина О.Ю., Насонова Г.В., Тихонова М.А., Крючкова И.В., Лисуков И.А., Останин А.А., Черных Е.П. IFN- $\alpha$ -индуцированные дендритные клетки у больных множественной миеломой // Сибирский онкологический журнал. 2009. № 6. С. 37–43.
2. Banchereau J., Steinman R.M. Dendritic cells and the control of immunity // Nature. 1998. Vol. 392 (6673). P. 245–252.
3. Black R.A., Rauch C.T., Kozlosky C.J., Peschon J.J., Slack J.L., Wolfson M.F., Castner B.J., Stocking K.L., Reddy P., Srinivasan S., Nelson N., Boiani N., Schooley K.A., Gerhart M., Davis R., Fitzner J.N., Johnson R.S., Paxton R.J., March C.J., Cerretti D.P. A metalloproteinase disintegrin that releases tumour-necrosis factor- $\alpha$  from cells // Nature. 1997. Vol. 385 (6618). P. 729–733.
4. Brennan F.M., Green P., Amjadi P., Robertshaw H.J., Alvarez-Iglesias M., Takata M. Interleukin-10 regulates TNF- $\alpha$ -converting enzyme (TACE/ADAM-17) involving a TIMP-3 dependent and independent mechanism // Eur. J. Immunol. 2008. Vol. 38. P. 1106–1117. doi: 10.1002/eji.200737821.
5. Gruss H.J. Molecular, structural, and biological characteristics of the tumor necrosis factor ligand superfamily // Int. J. Clin. Lab. Res. 1996. Vol. 26 (3). P. 143–159.
6. Healy F., Rees R.C., Hancock B.W. An assessment of natural cell-mediated cytotoxicity in patients with malignant lymphoma // Eur. J. Cancer Clin. Oncol. 1985. Vol. 21 (7). P. 775–783.
7. Janjic B.M., Lu G., Pimenov A., Whiteside T.L., Storkus W.J., Vujanovic N.L. Innate direct anticancer effector function of human immature dendritic cells. I. Involvement of an apoptosis-inducing pathway // J. Immunol. 2002. Vol. 168 (4). P. 1823–1830.
8. Jhaver K., De A., Advani S., Nadkarni J. Production of interleukin-1 and tumour necrosis factor in non-Hodgkin's lymphoma patients // Cancer Immunol. Immunother. 1991. Vol. 34 (2). P. 123–127.
9. Kriegler M., Perez C., DeFay K., Albert I., Lu S.D. A novel form of TNF/cachectin is a cell surface cytotoxic transmembrane protein: ramifications for the complex physiology of TNF // Cell. 1988. Vol. 53 (1). P. 45–53.
10. Le Gall S.M., Marzetzky T., Issuree P.D., Niu X.D., Reiss K., Saftig P., Khokha R., Lundell D., Blobel C.P. ADAM17 is regulated by a rapid and reversible mechanism that controls access to its catalytic site // J. Cell Sci. 2010. Vol. 123. P. 3913–3922. doi: 10.1242/jcs.069997.
11. Leplina O., Tyrinova T., Tikhonova M., Shevela E., Stupak V., Mishinov S., Pendyurin I., Sadovoy M., Ostanin A., Chernykh E. Direct Antitumor Activity of Interferon-Induced Dendritic Cells of Healthy

- Donors and Patients with Primary Brain Tumors // Glioma – Exploring Its Biology and Practical Relevance. NTECH Open Access Publisher. 2011. P. 325–342.
12. Lu G., Janjic B.M., Janjic J., Whiteside T.L., Storkus W.J., Vujanovic N.L. Innate Direct Anticancer Effector Function of Human Immature Dendritic Cells. II. Role of TNF, Lymphotoxin- $\alpha$ , Fas ligand, and TNF-related apoptosis-inducing ligand // J. Immunol. 2002. Vol. 168. P. 1831–1839. doi: 10.4049/jimmunol.168.4.1831.
13. Luettich B., Decker T., Lohmann-Matthes M.L. Evidence for the existence of two forms of membrane tumor necrosis factor: an integral protein and a molecule attached to its receptor // J. Immunol. 1989. Vol. 143 (12). P. 4034–4038.
14. Mehta B.A., Advani S.H., Nadkarni S.J. Natural killer activity and antibody-dependent cellular cytotoxicity in patients with non-Hodgkin's lymphoma // Neoplasma. 1988. Vol. 35 (1). P. 61–68.
15. Moreira-Tabaka H., Peluso J., Vonesch J.L., Hentsch D., Kessler P., Reimund J.M., Dumont S., Muller C.D. Unlike for human monocytes after LPS activation, release of TNF- $\alpha$  by THP-1 cells is produced by a TACE catalytically different from constitutive TACE // PLoS ONE. 2012. Vol. 7 (3). e34184. doi:10.1371/journal.pone.0034184.
16. O'Callaghan D.J., O'Dea K.P., Takata M., Gordon A.C. Monocyte TACE activity profile during sepsis and systemic inflammatory response syndrome // Intensive Care Medicine Experimental. 2014. Vol. 2 (Suppl. 1). P. 6. doi: 10.1186/2197-425X-2-S1-P6.
17. Sappino A.P., Seelentag W., Pelte M.F., Alberto P., Vassalli P. Tumor necrosis factor/cachectin and lymphotoxin gene expression in lymph nodes from lymphoma patients // Blood. 1990. Vol. 75 (4). P. 958–962.
18. Tyrinova T.V., Leplina O.Y., Mishinov S.V., Tikhonova M.A., Shevela E.Y., Stupak V.V., Pendyurin I.V., Shilov A.G., Alyamkina E.A., Rubtsova N.V., Bogachev S.S., Ostanin A.A., Chernykh E.R. Cytotoxic activity of ex-vivo generated IFN $\alpha$ -induced monocyte-derived dendritic cells in brain glioma patients // Cell. Immunol. 2013. Vol. 284 (1–2). P. 146–153. doi: 10.1016/j.cellimm.2013.07.013.
19. Vandenabeele P., Declercq W., Beyaert R., Fiers W. Two tumor necrosis factor receptors: structure and function // Trends Cell. Biol. 1995. Vol. 5 (10). P. 392–399.
20. Vanderheyde N., Vandenabeele P., Goldman M., Willems F. Distinct mechanisms are involved in tumoricidal and tumoricidal activities of monocyte-derived dendritic cells // Immunol. Lett. 2004. Vol. 91 (2–3). P. 99–101.

Поступила 17.03.15

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**Тыринова Тамара Викторовна**, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории клеточной иммунотерапии, ФГБНУ «НИИ фундаментальной и клинической иммунологии» (г. Новосибирск), Российская Федерация. Тел.: 8 (383) 228-21-01. E-mail: tyrinova@bk.ru. SPIN-код: 1535-6493

**Леплина Ольга Юрьевна**, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории клеточной иммунотерапии, ФГБНУ «НИИ фундаментальной и клинической иммунологии» (г. Новосибирск), Российская Федерация. Тел.: 8 (383) 228-21-01. E-mail: olerplina@mail.ru. SPIN-код: 2204-9718

**Тихонова Марина Александровна**, кандидат химических наук, старший научный сотрудник лаборатории клеточной иммунотерапии, ФГБНУ «НИИ фундаментальной и клинической иммунологии» (г. Новосибирск), Российская Федерация. Тел.: 8 (383) 228-21-01. E-mail: martix-59@mail.ru

**Баторова Дарья Сергеевна**, врач-гематолог отделения гематологии с блоком трансплантации костного мозга, клиника иммунопатологии, ФГБНУ «НИИ фундаментальной и клинической иммунологии» (г. Новосибирск), Российская Федерация. Тел.: 8 (383) 228-59-56. E-mail: sugar1983@mail.ru

**Ушакова Галина Юрьевна**, врач-гематолог отделения гематологии с блоком трансплантации костного мозга, клиника иммунопатологии, ФГБНУ «НИИ фундаментальной и клинической иммунологии» (г. Новосибирск), Российская Федерация. Тел.: 8 (383) 228-59-56. E-mail: bmt-novosibirsk@mail.ru

**Сергеевичева Вера Васильевна**, кандидат медицинских наук, врач-гематолог отделения гематологии с блоком трансплантации костного мозга, клиника иммунопатологии, ФГБНУ «НИИ фундаментальной и клинической иммунологии» (г. Новосибирск), Российская Федерация. Тел.: 8 (383) 228-59-56. E-mail: verden@bk.ru. SPIN-код: 5507-1870

**Сизикова Светлана Анатольевна**, кандидат медицинских наук, врач-гематолог отделения гематологии с блоком трансплантации костного мозга, клиника иммунопатологии, ФГБНУ «НИИ фундаментальной и клинической иммунологии» (г. Новосибирск), Российская Федерация. Тел.: 8 (383) 228-59-56. E-mail: bmt-novosibirsk@mail.ru

**Крючкова Ирина Валентиновна**, кандидат медицинских наук, заведующая отделением гематологии с блоком трансплантации костного мозга, клиника иммунопатологии, ФГБНУ «НИИ фундаментальной и клинической иммунологии» (г. Новосибирск), Российская Федерация. Тел.: 8 (383) 228-59-56. E-mail: irina\_ici@mail.ru. SPIN-код: 7668-3559

**Останин Александр Анатольевич**, доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории клеточной иммунотерапии, ФГБНУ «НИИ фундаментальной и клинической иммунологии» (г. Новосибирск), Российская Федерация. Тел.: 8 (383) 228-21-01. E-mail: ct\_lab@mail.ru. SPIN-код: 3199-0970

**Черных Елена Рэмовна**, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, заведующая лабораторией клеточной иммунотерапии, ФГБНУ «НИИ фундаментальной и клинической иммунологии» (г. Новосибирск), Российская Федерация. E-mail: ct\_lab@mail.ru. SPIN-код автора в РИНЦ: 8957-0362

## THE IMPAIRMENT OF ANTITUMOR CYTOTOXIC ACTIVITY OF DENDRITIC CELLS IN PATIENTS WITH MALIGNANT LYMPHOMA DUE TO THE ALTERED EXPRESSION OF TUMOR NECROSIS FACTOR ALPHA

**T.V. Tyrinova, O.Yu. Leplina, M.A. Tikhonova, D.S. Batorova,  
G.Yu. Ushakova, V.V. Sergeevicheva, S.A. Sizikova, I.V. Kryuchkova,  
A.A. Ostanin, E.R. Chernykh**

Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk  
14, Yadrintsevskaya street, 630099-Novosibirsk, Russian Federation, e-mail: ct\_lab@mail.ru

### Abstract

Recent research revealed dendritic cells (DCs) to have direct antitumor cytotoxic activity and to inhibit the growth and proliferation of tumor cells *in vitro*. The aim of the present study was to investigate the association between the cytotoxic activity of dendritic cells generated in the presence of interferon alpha (IFN-DCs) and TNF $\alpha$  expression by IFN-DCs in patients with malignant lymphomas. It was shown that IFN-DCs of malignant lymphoma patients possessed low cytotoxic activity against tumor cell line HEP-2 associated with low expression of transmembrane TNF $\alpha$  (tmTNF $\alpha$ ) and high level of soluble TNF $\alpha$  (sTNF $\alpha$ ) secretion. Reduced DC cytotoxic activity and low tmTNF $\alpha$  expression on DC surface were observed mainly in Hodgkin's lymphoma patients. In contrast, IFN-DCs of patients with non-Hodgkin lymphoma were endowed with the ability to lysis of HEP-2 cells and tmTNF $\alpha$  molecule expression was similar to that in IFN-DCs from healthy donors. It was determined that the increase of expression of tmTNF $\alpha$  molecule on lymphoma patient IFN-DCs induced by the addition of TNF $\alpha$ -converting enzyme inhibitor into IFN-DC cultures was associated with the enhancement of IFN-DC cytotoxic activity against HEP-2 cells.

**Key words:** dendritic cells; interferon alpha; lymphomas; tumor necrosis factor alpha.

REFERENCES

1. *Leplina O.Yu., Nasonova G.V., Tikhonova M.A., Kryuchkova I.V., Lisukov I.A., Ostanin A.A., Chernykh E.R.* IFN- $\alpha$ -induced dendritic cells in patients with multiple myeloma // *Sibirskij onkologicheskij zhurnal*. 2009. № 6. P. 37–43. [in Russian]
2. *Banchereau J., Steinman R.M.* Dendritic cells and the control of immunity // *Nature*. 1998. Vol. 392 (6673). P. 245–252.
3. *Black R.A., Rauch C.T., Kozlosky C.J., Peschon J.J., Slack J.L., Wolfson M.F., Castner B.J., Stocking K.L., Reddy P., Srinivasan S., Nelson N., Boiani N., Schooley K.A., Gerhart M., Davis R., Fitzner J.N., Johnson R.S., Paxton R.J., March C.J., Cerretti D.P.* A metalloproteinase disintegrin that releases tumour-necrosis factor- $\alpha$  from cells // *Nature*. 1997. Vol. 385 (6618). P. 729–733.
4. *Brennan F.M., Green P., Amjadi P., Robertshaw H.J., Alvarez-Iglesias M., Takata M.* Interleukin-10 regulates TNF- $\alpha$ -converting enzyme (TACE/ADAM-17) involving a TIMP-3 dependent and independent mechanism // *Eur. J. Immunol.* 2008. Vol. 38. P. 1106–1117. doi: 10.1002/eji.200737821.
5. *Gruss H.J.* Molecular, structural, and biological characteristics of the tumor necrosis factor ligand superfamily // *Int. J. Clin. Lab. Res.* 1996. Vol. 26 (3). P. 143–159.
6. *Healy F., Rees R.C., Hancock B.W.* An assessment of natural cell-mediated cytotoxicity in patients with malignant lymphoma // *Eur. J. Cancer Clin. Oncol.* 1985. Vol. 21 (7). P. 775–783.
7. *Janjic B.M., Lu G., Pimenov A., Whiteside T.L., Storkus W.J., Vujanovic N.L.* Innate direct anticancer effector function of human immature dendritic cells. I. Involvement of an apoptosis-inducing pathway // *J. Immunol.* 2002. Vol. 168 (4). P. 1823–1830.
8. *Jhaver K., De A., Advani S., Nadkarni J.* Production of interleukin-1 and tumour necrosis factor in non-Hodgkin's lymphoma patients // *Cancer Immunol. Immunother.* 1991. Vol. 34 (2). P. 123–127.
9. *Kriegler M., Perez C., DeFay K., Albert I., Lu S.D.* A novel form of TNF/cachectin is a cell surface cytotoxic transmembrane protein: ramifications for the complex physiology of TNF // *Cell*. 1988. Vol. 53 (1). P. 45–53.
10. *Le Gall S.M., Maretzky T., Issuree P.D., Niu X.D., Reiss K., Saftig P., Khokha R., Lundell D., Blobel C.P.* ADAM17 is regulated by a rapid and reversible mechanism that controls access to its catalytic site // *J. Cell Sci.* 2010. Vol. 123. P. 3913–3922. doi: 10.1242/jcs.069997.
11. *Leplina O., Tyrinova T., Tikhonova M., Shevela E., Stupak V., Mishinov S., Pendyurin I., Sadovoy M., Ostanin A., Chernykh E.* Direct

- Antitumor Activity of Interferon-Induced Dendritic Cells of Healthy Donors and Patients with Primary Brain Tumors // *Glioma – Exploring Its Biology and Practical Relevance*. NTECH Open Access Publisher. 2011. P. 325–342.
12. *Lu G., Janjic B.M., Janjic J., Whiteside T.L., Storkus W.J., Vujanovic N.L.* Innate Direct Anticancer Effector Function of Human Immature Dendritic Cells. II. Role of TNF, Lymphotoxin- $\alpha$ , Fas ligand, and TNF-related apoptosis-inducing ligand // *J. Immunol.* 2002. Vol. 168. P. 1831–1839. doi: 10.4049/jimmunol.168.4.1831.
13. *Luettich B., Decker T., Lohmann-Matthes M.L.* Evidence for the existence of two forms of membrane tumor necrosis factor: an integral protein and a molecule attached to its receptor // *J. Immunol.* 1989. Vol. 143 (12). P. 4034–4038.
14. *Mehta B.A., Advani S.H., Nadkarni S.J.* Natural killer activity and antibody-dependent cellular cytotoxicity in patients with non-Hodgkin's lymphoma // *Neoplasma*. 1988. Vol. 35 (1). P. 61–68.
15. *Moreira-Tabaka H., Peluso J., Vonesch J.L., Hentsch D., Kessler P., Reimund J.M., Dumont S., Muller C.D.* Unlike for human monocytes after LPS activation, release of TNF- $\alpha$  by THP-1 cells is produced by a TACE catalytically different from constitutive TACE // *PLoS ONE*. 2012. Vol. 7 (3). e34184. doi:10.1371/journal.pone.0034184.
16. *O'Callaghan D.J., O'Dea K.P., Takata M., Gordon A.C.* Monocyte TACE activity profile during sepsis and systemic inflammatory response syndrome // *Intensive Care Medicine Experimental*. 2014. Vol. 2 (Suppl. 1). P. 6. doi: 10.1186/2197-425X-2-S1-P6.
17. *Sappino A.P., Seelentag W., Pelte M.F., Alberto P., Vassalli P.* Tumor necrosis factor/cachectin and lymphotoxin gene expression in lymph nodes from lymphoma patients // *Blood*. 1990. Vol. 75 (4). P. 958–962.
18. *Tyrinova T.V., Leplina O.Y., Mishinov S.V., Tikhonova M.A., Shevela E.Y., Stupak V.V., Pendyurin I.V., Shilov A.G., Alyamkina E.A., Rubtsova N.V., Bogachev S.S., Ostanin A.A., Chernykh E.R.* Cytotoxic activity of ex-vivo generated IFN $\alpha$ -induced monocyte-derived dendritic cells in brain glioma patients // *Cell. Immunol.* 2013. Vol. 284 (1–2). P. 146–153. doi: 10.1016/j.cellimm.2013.07.013.
19. *Vandenabeele P., Declercq W., Beyaert R., Fiers W.* Two tumor necrosis factor receptors: structure and function // *Trends Cell. Biol.* 1995. Vol. 5 (10). P. 392–399.
20. *Vanderheyde N., Vandenabeele P., Goldman M., Willems F.* Distinct mechanisms are involved in tumorigenic and tumoricidal activities of monocyte-derived dendritic cells // *Immunol. Lett.* 2004. Vol. 91 (2–3). P. 99–101.

ABOUT THE AUTHORS

**Tyrinova Tamara Viktorovna**, PhD, research fellow, Laboratory of Cellular Immunotherapy, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology (Novosibirsk), Russian Federation. Phone: +7 (383) 228-21-01. E-mail: tyrinova@bk.ru. SPIN-code: 1535-6493

**Lepina Olga Yurievna**, MD, DSc, Leading researcher, Laboratory of Cellular Immunotherapy, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology (Novosibirsk), Russian Federation. Phone: +7 (383) 228-21-01. E-mail: oleplina@mail.ru. SPIN-code: 2204-9718

**Tikhonova Marina Alexandrovna**, Senior research fellow, Laboratory of Cellular Immunotherapy, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology (Novosibirsk), Russian Federation. Phone: +7 (383) 228-21-01. E-mail: martix-59@mail.ru

**Batorova Daria Sergeevna**, hematologist, Hematology Department with Bone Marrow Transplantation Unit, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology (Novosibirsk), Russian Federation. Phone: +7 (383) 228-59-56. E-mail: sugar1983@mail.ru

**Ushakova Galina Yurievna**, hematologist, Hematology Department with Bone Marrow Transplantation Unit, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology (Novosibirsk), Russian Federation. Phone: +7 (383) 228-59-56. E-mail: bmt-novosibirsk@mail.ru

**Sergeevicheva Bera Vasilievna**, MD, PhD, Hematology Department with Bone Marrow Transplantation Unit, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology (Novosibirsk), Russian Federation. Phone: +7 (383) 228-59-56. E-mail: verden@bk.ru. SPIN-code: 5507-1870

**Sizikova Svetlana Anatolievna**, MD, PhD, Hematology Department with Bone Marrow Transplantation Unit, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology (Novosibirsk), Russian Federation. Phone: +7 (383) 228-59-56. E-mail: bmt-novosibirsk@mail.ru

**Kruchkova Irina Valentinovna**, MD, PhD, Head of Hematology Department with Bone Marrow Transplantation Unit, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology (Novosibirsk), Russian Federation. Phone: +7 (383) 228-59-56. E-mail: irina\_ici@mail.ru. SPIN-code: 7668-3559

**Ostanin Alexandr Anatolievich**, MD, Professor, Principal Investigator, Laboratory of Cellular Immunotherapy, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology (Novosibirsk), Russian Federation. Phone: +7 (383) 228-21-01. E-mail: ct\_lab@mail.ru. SPIN-code: 3199-0970

**Chernykh Elena Removna**, Professor, Corresponding Member of RAS, Head of Cellular Immunotherapy Laboratory, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology (Novosibirsk), Russian Federation. E-mail: ct\_lab@mail.ru. SPIN-code: 8957-0362

## ОДНОНУКЛЕОТИДНЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ ОПУХОЛИ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И ЭКСПРЕССИЯ ABC-ТРАНСПОРТЕРОВ ПОСЛЕ НЕОАДЪЮВАНТНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ

М.М. Цыганов<sup>1,2</sup>, М.К. Ибрагимова<sup>1,2</sup>, Е.М. Слонимская<sup>1</sup>,  
Н.В. Чердынцева<sup>1,2</sup>, Н.В. Литвяков<sup>1,2</sup>

Томский НИИ онкологии, г. Томск<sup>1</sup>

Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск<sup>2</sup>  
634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5, e-mail: tsyganovmm@yandex.ru<sup>1</sup>

### Аннотация

В настоящее время практически не изученным остается механизм регуляции экспрессии генов ABC-транспортёров, который связан с индивидуальными особенностями организма опухоленосителя и его опухоли, определяемыми генным однонуклеотидным полиморфизмом (SNP – Single Nucleotide Polymorphism). Проведено изучение ассоциации SNP в широкогеномном масштабе с уровнем экспрессии генов ABC-транспортёров после неоадъювантной химиотерапии (НХТ) у 68 больных с морфологически верифицированным раком молочной железы (РМЖ). При помощи количественной ПЦР с обратной транскрипцией в режиме реального времени изучена экспрессия 4 генов ABC: *ABCB1*, *ABCC1*, *ABCC2*, *ABCG2* в операционном материале после НХТ. Для исследования SNP проводили микроматричный анализ на ДНК-чипах высокой плотности, которые содержат более 750 тыс. однонуклеотидных полиморфизмов. В результате биоинформатического анализа было идентифицировано 6 SNP, которые статистически значимо связаны с послеоперационным уровнем экспрессии генов ABC: *ABCB1*, *ABCC1*, *ABCC2* и *ABCG2*. Показано, что у носителей редкого генотипа уровень экспрессии всех 4 исследованных генов в опухоли после воздействия химиопрепаратов либо снижен (*rs2680835*, *rs1951366* и *rs12018988*), либо повышен (*rs4676478*, *rs6896596*, *rs1154121*) по сравнению с носителями частого и гетерозиготного генотипов этих SNP. Обсуждены возможные механизмы влияния выявленных SNP и их генов на экспрессию ABC-транспортёров.

**Ключевые слова:** ABC-транспортёры, рак молочной железы, однонуклеотидный полиморфизм, микроматричное исследование.

Основной причиной неэффективности химиотерапии считают формирование фенотипа множественной лекарственной устойчивости (МЛУ) опухоли за счет экспрессии энергозависимых белков ABC-транспортёров (*ABCB1*, *ABCB3*, *ABCC1*, *ABCC2*, *ABCC5*, *ABCG1*, *ABCG2*), выбрасывающих лекарственные препараты из опухолевых клеток против градиента концентрации с затратой энергии АТФ [9, 11]. Наши предыдущие исследования показали, что эффективность неоадъювантной химиотерапии (НХТ) рака молочной железы (РМЖ) связана не с исходным уровнем экспрессии ABC-транспортёров в опухоли, а с его изменением в процессе лечения. Если в процессе НХТ экспрессия генов ABC в опухоли снижается, то наблюдается клинический ответ на химиотерапию, в противном случае формируется фенотип множественной лекарственной устойчивости, ответ на химиотерапию отсутствует и значительно увеличено отдаленное метастазирование [1–3, 21].

Практически не изученным остается механизм регуляции экспрессии ABC-транспортёров, который

связан с индивидуальными особенностями организма опухоленосителя и его опухоли, определяемыми генным однонуклеотидным полиморфизмом (SNP – Single Nucleotide Polymorphism). Известны только немногие SNP, которые ассоциированы с уровнем экспрессии ABC-транспортёров. Прежде всего, это полиморфизм самих генов ABC, которые имеют значение для экспрессии генов ABC и работы транспортёров: *ABCG2 R482T* или *R482G*, *ABCB1 rs1045642*, *ABCC1 rs35605*, *GSTP1 rs1695*, *ABCG2 rs2725264*, *ABCC2 (rs1885301, rs717620 и rs3740066)* и др. [5, 6, 13–15, 25–27, 29, 30]. По данным ряда авторов, экспрессия генов ABC связана и с отдельными полиморфизмами других генов [7, 9, 32]. Наши предыдущие исследования позволили установить 5 SNP генов репарации, апоптоза и фолатного цикла (*TP53 rs1042522*, *TP53 rs8073498*, *MTHFR rs1801133*, *FGFR2 rs2981582* и *ATM1 rs664143*), которые связаны с регуляцией отдельных генов ABC [4].

Таким образом, анализ литературы свидетельствует о связи полиморфизма с уровнем экспрессии

генов ABC и их регуляцией и делает актуальными исследования по выявлению генов и полиморфных локусов, участвующих в регуляции экспрессии ABC-транспортеров и формировании лекарственной устойчивости опухоли. Следует отметить, что исследования связи генного полиморфизма с экспрессией генов ABC проводятся в мире в узком формате. В одном исследовании изучаются не более 100 полиморфизмов, что не позволяет в полной мере выявить индивидуальные генетические особенности организма и опухоли, связанные с экспрессией генов ABC-транспортеров. Работы по изучению связи SNP с изменением экспрессии генов ABC в процессе химиотерапии отсутствуют, а, как нами было установлено, именно изменение экспрессии ABC-транспортеров определяет эффективность химиотерапии.

**Целью исследования** явилось изучение ассоциации SNP опухоли молочной железы в широко-

геномном масштабе с уровнем экспрессии генов ABC-транспортеров после НХТ.

**Материал и методы**

В исследование включены 68 больных РМЖ ПА–ПИС стадий, с морфологически верифицированным диагнозом, в возрасте 28–68 лет, в среднем  $53,43 \pm 0,78$  года (табл. 1). В соответствии с «Consensus Conference on Neoadjuvant Chemotherapy in Carcinoma of the Breast, April 26–28, 2003, Philadelphia, Pennsylvania» [28] все больные получали 2–4 курса неoadъювантной химиотерапии по схемам FAC (фторурацил, доксорубин, циклофосфан), САХ (циклофосфан, доксорубин, кселода) или монотерапию таксотером. Через 3–5 нед после НХТ выполнялась операция, затем проводили 2 курса адъювантной химиотерапии по схеме FAC, лучевая терапия и/или гормональное лечение назначались по показаниям. Исследование проводи-

Таблица 1

**Клинико-патологические параметры обследованных больных РМЖ**

Клинико-патологический параметр		Число больных
Возраст (лет)	≤45	21 (30,9 %)
	>45	47 (69,1 %)
Менструальный статус	Пременопауза	36 (52,9 %)
	Постменопауза	32 (47,1 %)
Гистологический тип	Инвазивный протоковый рак	58 (85,3 %)
	Инвазивный дольковый рак	3 (4,4 %)
	Медулярный рак	2 (2,9 %)
	Другие типы	5 (7,4 %)
Размер опухоли	T <sub>1</sub>	9 (13,2 %)
	T <sub>2</sub>	52 (76,5 %)
	T <sub>3</sub>	3 (4,4 %)
	T <sub>4</sub>	4 (5,9 %)
Лимфогенное метастазирование	N <sub>0</sub>	27 (39,7 %)
	N <sub>1</sub>	31 (45,6 %)
	N <sub>2</sub>	4 (5,9 %)
	N <sub>3</sub>	6 (8,8 %)
Рецепторы эстрогена	+	33 (48,5 %)
	–	31 (42,6 %)
	Нет данных	4 (5,9 %)
Рецепторы прогестерона	+	35 (51,5 %)
	–	29 (42,26 %)
	Нет данных	4 (5,9 %)
Рецепторы эпидермального фактора роста HER2	0/+	47 (69,1 %)
	++	10 (14,7 %)
	+++	6 (8,8 %)
	Нет данных	5 (7,4 %)
Молекулярный подтип	Люминальный В	40 (59,7 %)
	Трижды негативный	17 (25,4 %)
	HER2-позитивный	10 (14,9 %)
Гистологическая форма	Уницентрическая	45 (66,2 %)
	Мультицентрическая	23 (33,8 %)
Степень злокачественности	1 степень	2 (2,9 %)
	2 степень	48 (70,6 %)
	3 степень	6 (8,8 %)
	Нет данных	12 (17,6 %)
Схема НАХТ	САХ	21 (30,9 %)
	FAC	33 (48,5 %)
	Таксотер	14 (20,6 %)

лось в соответствии с Хельсинкской декларацией 1964 г. (доработанной в 1975 и 1983 гг.), получено разрешение локального этического комитета Томского НИИ онкологии. Были использованы биопсийные опухолевые образцы (~10 мм<sup>3</sup>), взятые до лечения под контролем УЗИ, а также операционный материал (~60–70 мм<sup>3</sup>). Образцы опухоли помещали в раствор RNeasy Lysis Buffer (Qiagen, USA) и сохраняли при температуре –80°C (после 24-часовой инкубации при +4°C) для дальнейшего выделения РНК и ДНК.

РНК выделяли из 68 образцов после НХТ с помощью набора RNeasy Plus mini Kit (Qiagen, Germany) в соответствии с инструкцией производителя. Качество и целостность РНК оценивались при помощи капиллярного электрофореза на приборе TapeStation (Agilent Technologies, USA). Показатель RIN составил 5,6–7,8. Для получения кДНК на матрице РНК проводили реакцию обратной транскрипции с помощью набора RevertAid™ (Fermentas, Lithuania) со случайными гексануклеотидными праймерами в соответствии с инструкцией к набору. Остальные манипуляции, последовательность праймеров и методика оценки относительной экспрессии генов ABC описаны ранее [21]. В качестве результата оценивался уровень экспрессии исследуемых генов ABC: *ABCB1*, *ABCC1*, *ABCC2* и *ABCG2* относительно гена-рефери *GAPDH* и нормальной ткани молочной железы, вычисляемый по методу Pfaffl [24] в операционном материале после НХТ.

ДНК выделяли из 68 биопсийных образцов опухолевой ткани с помощью набора QIAamp DNA mini Kit (Qiagen, Germany). Концентрацию ДНК и чистоту выделения оценивали на спектрофотометре NanoDrop-2000 (Thermo Scientific, USA) (от 50 до 150 нг/мкл, A260/A280 = 2,10–2,35; A260/A230 = 2,15–2,40). Целостность ДНК оценивалась при помощи капиллярного электрофореза на приборе TapeStation (Agilent Technologies, USA), фрагменты ДНК имели массу более 48 kbp.

SNP в опухоли изучали при помощи микроматричного анализа на ДНК-чипах высокой плотности фирмы Affymetrix (USA) CytoScan™ HD Array (<http://www.affymetrix.com/eseach/search.jsp?pd=prod520004&N=4294967292>), которые содержат более 750 тыс. однонуклеотидных полиморфизмов. Процедуры пробоподготовки, гибридизации и сканирования проводили в соответствии с протоколом производителя на системе Affymetrix GeneChip® Scanner 3000 7G (Affymetrix, USA). Для обработки результатов микрочипирования использовали программу Chromosome Analysis Suite 2.0 (Affymetrix, USA), которая разработана специально для анализа результатов матрицы CytoScan™ HD Array. Определение SNP генов по *rs* осуществляли при помощи базы данных Affymetrix (<https://www.affymetrix.com/>). Ассоциацию уровня экспрессии генов ABC после НХТ с SNP в опухоли оценивали

с использованием языка программирования «R» в программе R version 3.0.2. Программа предназначена для статистической обработки большого массива данных и содержит общий пакет статистического анализа. Для биоинформатического анализа специально был прописан скрипт (последовательность команд), содержащий в себе команды форматирования данных и расчета. Для коррекции уровней значимости на множественные сравнения использовалась поправка Бонферрони.

### Результаты исследования и обсуждение

Была проанализирована связь экспрессии генов ABC-транспортеров после НХТ с SNP, которые определялись в опухоли до лечения при помощи микроматриц. Поскольку в предыдущем исследовании наиболее сильная коэкспрессия в процессе НХТ была показана для генов *ABCB1*, *ABCC1*, *ABCC2* и *ABCG2*, то анализировали связь SNP с экспрессией именно этих четырех генов. Всего в биоинформатический анализ было включено 749 158 SNP на каждого пациента. В процессе анализа происходила фильтрация первичных данных. В первую очередь из представленного массива данных (749 158 SNP) были исключены мономорфные полиморфизмы, которые имели только один (дикий) или два (дикий и гетерозиготный) генотипа. Далее из анализа исключались SNP с частотами генотипов, не соответствующими ожидаемым при соблюдении равновесия Харди – Вайнберга, поскольку в противном случае выборка по SNP оказывается подразделенной и ее нельзя рассматривать как единую выборку. Следующий фильтр был подобран, исходя из выбора в качестве генотипической модели – рецессивной генотипической модели (редкий генотип против гетерозиготного + частого генотипов), которая была определена согласно информационному критерию Акаике. Эмпирически была подобрана необходимость наличия частоты редкого генотипа не менее 8%. Все SNP с частотой редкого генотипа исключались из анализа. В итоге для анализа было оставлено 258 586 SNP. Для этих SNP был произведен расчет уровня статистической значимости различий экспрессии по каждому из четырех генов ABC после НХТ – редкий генотип против гетерозиготного+частого генотипов по логлинейной регрессии. Далее были выбраны общие для генов *ABCB1*, *ABCC1*, *ABCC2* и *ABCG2* SNP. В результате идентифицировано 6 полиморфизмов (*EPHA4* (*rs2680835*), *SCN10A* (*rs4676478*), *H2AFY* (*rs6896596*), *SLC25A21* (*rs1154121*), *RTN1* (*rs1951366*), *RTN1* (*rs12018988*)), связанных с послеоперационным уровнем экспрессии четырех генов ABC (*ABCB1*, *ABCC1*, *ABCC2* и *ABCG2*) одновременно (рис. 1).

Экспрессия всех четырех исследованных генов ABC у носителей редкого генотипа полиморфизмов *EPHA4* (*rs2680835*), *RTN1* (*rs1951366*) и *RTN1* (*rs12018988*) после проведения НХТ статистически

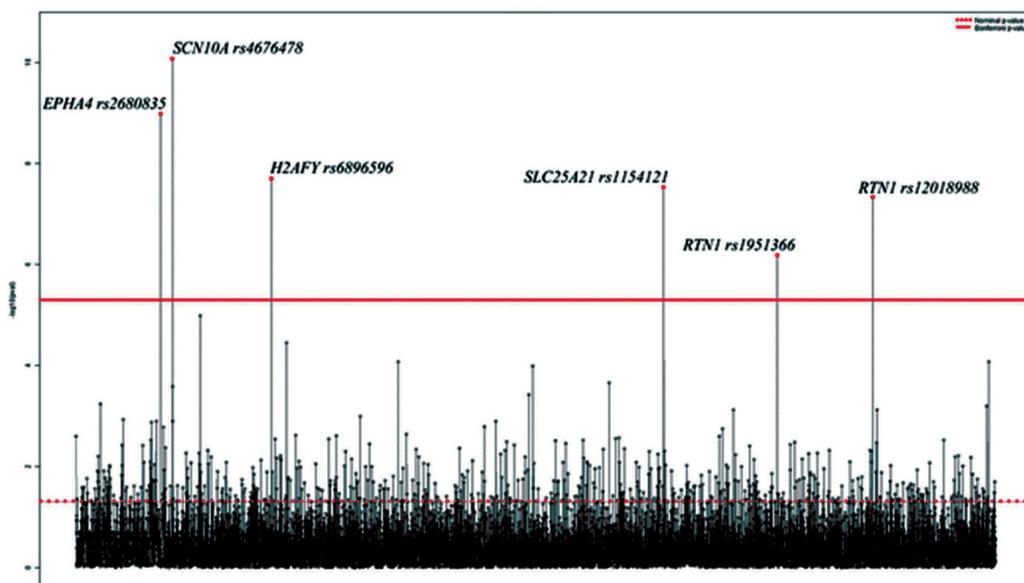


Рис. 1. Уровень статистической значимости связи SNP с экспрессией генов *ABCB1*, *ABCC1*, *ABCC2* и *ABCG2* после НХТ. Примечание: по оси ординат – значение десятичного логарифма уровня статистической значимости (p-level); по оси абсцисс – однонуклеотидные полиморфизмы (n = 258586 SNP). На рисунке пунктирной линией обозначено значение номинального p-level, равного 0,05, сплошной линией – значение p-level с учетом поправки Бонферрони

значимо ниже, чем у носителей гетерозиготного и дикого генотипов (p-level < 0,01 с учетом поправки Бонферрони) (табл. 2). Для полиморфизмов *SCN10A* (rs4676478), *H2AFY* (rs6896596), *SLC25A21* (rs1154121) было показано, что у больных с гетерозиготным и диким генотипом уровень экспрессии после НХТ достоверно ниже по сравнению с редким генотипом, в среднем в 2 раза (p-level < 0,01 с учетом поправки Бонферрони). Таким образом, однонуклеотидный полиморфизм опухолевых клеток может оказывать влияние на уровень экспрессии комплекса генов ABC после воздействия химиопрепаратов.

Механизм, благодаря которому SNP может оказывать влияние на экспрессию генов ABC, еще предстоит выявить. В настоящее время на основании литературных данных можно только высказать некоторые предположения. Функция полиморфизма *EPHA4* (rs2680835), согласно базе данных <http://compbio.cs.queensu.ca/F-SNP/>, неизвестна. По поводу функций гена *EPHA4* имеется некоторая информация. В недавних исследованиях было показано, что целенаправленное ингибирование экспрессии генов группы *EPHA* вызывает устойчивость опухоли молочной железы к трастузумабу [34], но при этом делает опухолевые клетки чувствительными к тамоксифену [10]. Учитывая то, что выведение тамоксифена из опухолевых клеток осуществляется двумя генами лекарственной устойчивости *ABCB1* и *ABCC2* [31], можно предположить, что мутантный генотип *EPHA4* (rs2680835) ингибирует экспрессию этого гена.

Роль гена ретикулонина 1 – *RTN1* – в формировании лекарственной устойчивости или взаимодействии с генами ABC остается неясной. В единичных исследованиях было показано, что продукт гена

*RTN1* может взаимодействовать с белком спастина (SPAST) [22], который, в свою очередь, опосредованно влияет на экспрессию белка тубулина, что делает опухолевые клетки чувствительными к воздействию химиопрепаратов [8].

Для полиморфизма *SCN10A* (rs4676478) в базе данных <http://compbio.cs.queensu.ca/F-SNP/> показана функция регуляции транскрипции. Сам ген *SCN10A* кодирует тетродотоксин-резистентный натриевый канал, локализуется на мембране клетки. В недавней публикации показана роль SNP этого гена в индуцированной химиотерапией гастроинтестинальной токсичности [12], в реализации которой также играют роль и полиморфизмы генов ABC [20].

Согласно базе <http://compbio.cs.queensu.ca/F-SNP/>, полиморфизм гена гистонового белка *H2AFY* (rs6896596) находится в downstream регионе и участвует в регуляции транскрипции гена *H2AFY*, который регулирует *HDAC* (Histone Deacetylase) диацетилазу гистонов (<http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=H2AFY&keywords=H2AFY>). Также недавно было показано, что *HDAC1* и *2* ингибируют экспрессию генов *ABCB1* и *ABCC2* их продуктов в клеточных культурах colorectal adenocarcinoma и carcinoma [33].

В 2012 г. J. Radoslaw et al. провели микроатричное исследование экспрессии генов ABC-транспортеров и генов семейства транспортеров SLC. Ими была изучена роль данных генов в формировании лекарственной устойчивости к таким химиопрепаратам, как метотрексат, цисплатин, доксорубин, винкристин, топотекан, а также паклитексел – при раке яичника [18]. Оказалось, что высокий уровень экспрессии генов *SLC* связан с устойчивостью опухолевых клеток к метотрек-

Таблица 2

Уровень экспрессии генов *ABCB1*, *ABCC1*, *ABCC2* и *ABCG2* в опухоли молочной железы после НХТ в зависимости от генотипа по выявленным полиморфизмам в рецессивной модели наследования

SNP	Генотип	Уровень экспрессии после НХТ			
		<i>ABCB1</i>	<i>ABCC1</i>	<i>ABCC2</i>	<i>ABCG2</i>
<i>EPHA4</i> (rs2680835)	<i>TT/TC</i>	4,53 ± 1,34	1,67 ± 0,38	4,26 ± 1,23	2,87 ± 0,58
	<i>CC</i>	<b>3,14 ± 1,02</b>	<b>0,80 ± 0,13</b>	<b>1,32 ± 0,54</b>	<b>1,61 ± 0,60</b>
<i>RTN1</i> (rs1951366)	<i>AA/AG</i>	5,16 ± 1,33	1,790 ± 0,37	4,40 ± 1,21	3,29 ± 0,59
	<i>GG</i>	<b>1,94 ± 0,70</b>	<b>0,59 ± 0,11</b>	<b>1,04 ± 0,42</b>	<b>0,73 ± 0,26</b>
<i>RTN1</i> (rs12018988)	<i>AA/AG</i>	4,88 ± 1,26	1,71 ± 0,35	4,16 ± 1,14	3,14 ± 0,56
	<i>GG</i>	<b>2,00 ± 0,73</b>	<b>0,62 ± 0,16</b>	<b>1,10 ± 0,44</b>	<b>0,67 ± 0,27</b>
<i>SCN10A</i> (rs4676478)	<i>CC/TC</i>	3,99 ± 1,03	1,22 ± 0,22	3,14 ± 0,93	2,28 ± 0,41
	<i>TT</i>	<b>6,26 ± 3,13</b>	<b>3,77 ± 1,91</b>	<b>6,20 ± 2,29</b>	<b>5,11 ± 2,67</b>
<i>H2AFY</i> (rs6896596)	<i>AA/GA</i>	3,93 ± 1,04	1,22 ± 0,22	3,18 ± 0,95	2,31 ± 0,46
	<i>GG</i>	<b>6,69 ± 3,22</b>	<b>3,60 ± 2,02</b>	<b>6,20 ± 2,32</b>	<b>5,06 ± 1,83</b>
<i>SLC25A21</i> (rs1154121)	<i>CC/CT</i>	3,79 ± 1,03	1,20 ± 0,22	3,02 ± 0,95	2,15 ± 0,41
	<i>TT</i>	<b>6,40 ± 2,71</b>	<b>2,96 ± 1,35</b>	<b>5,62 ± 1,84</b>	<b>4,78 ± 1,84</b>

сату, и, в частности, это было показано для гена *SLC19A1*. Низкий уровень экспрессии других генов *SLC* транспортеров обуславливал формирование лекарственной устойчивости опухоли к лекарственным препаратам, субстратам генов ABC [16, 17, 19, 23].

### Заключение

В результате проведенного широкогеномного исследования полиморфизмов опухоли молочной железы были идентифицированы 6 SNP, статистически значимо связанных с уровнем экспрессии генов множественной лекарственной устойчивости *ABCB1*, *ABCC1*, *ABCC2* и *ABCG2* после НХТ. Показано, что у носителей редкого генотипа уровень экспрессии всех четырех исследованных генов в

опухоли после воздействия химиопрепаратов либо снижен (*EPHA4* (rs2680835), *RTN1* (rs1951366) и *RTN1* (rs12018988)), либо повышен (*SCN10A* (rs4676478), *H2AFY* (rs6896596), *SLC25A21* (rs1154121)) по сравнению с носителями частого и гетерозиготного генотипов этих SNP. Обсуждены возможные механизмы влияния выявленных SNP и их генов на экспрессию ABC-транспортеров.

Работа поддержана грантом РФФИ № НК 14-04-31633\15 «Экспрессия генов множественной лекарственной устойчивости и клональные циклы эволюции опухоли молочной железы в процессе неoadъювантной химиотерапии» и программой повышения конкурентоспособности Национального исследовательского Томского государственного университета.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Литвяков Н.В. Регуляция экспрессии генов множественной лекарственной устойчивости в опухоли молочной железы при проведении неoadъювантной химиотерапии: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Томск, 2014. 47 с.
2. Литвяков Н.В. Градиентный феномен экспрессии генов множественной лекарственной устойчивости в опухоли молочной железы при проведении неoadъювантной химиотерапии: связь с прогрессированием заболевания // Сибирский онкологический журнал, 2013. № 4. С. 5–11.
3. Литвяков Н.В., Гарбуков Е.Ю., Слонимская Е.М., Цыганов М.М., Денисов Е.В., Вторушин С.В., Христенко К.Ю., Завьялова М.В., Чердынцева Н.В. Связь безметастатической выживаемости больных раком молочной железы и вектора изменения экспрессии генов множественной лекарственной устойчивости в опухоли при проведении неoadъювантной химиотерапии // Вопросы онкологии. 2013. Т. 59, № 3 (59). С. 334–340.
4. Литвяков Н.В., Чердынцева Н.В., Цыганов М.М., Денисов Е.В., Мерзлякова М.К., Гарбуков Е.Ю., Вторушин С.В., Завьялова М.В., Слонимская Е.М. Ассоциация генетического полиморфизма с изменением экспрессии генов множественной лекарственной устойчивости в опухоли молочной железы в процессе неoadъювантной химиотерапии // Медицинская генетика. 2011. Т. 10, № 10. С. 37–43.
5. Allen J.D., Jackson S.C., Schinkel A.H. A mutation hot spot in the Bcrp1 (Abcg2) multidrug transporter in mouse cell lines selected for Doxorubicin resistance // Cancer Res. 2002. Vol. 62 (8). P. 2294–2299.
6. Di Francia R., Siesto R.S., Valente D., Spart D., Berretta M. Pharmacogenomics panel test for prevention toxicity in patient who receive Fluoropyrimidine/Oxaliplatin-based therapy // Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci. 2012. Vol. 16 (9). P. 1211–1217.
7. Einert T.R., Schmidt G., Binig G. Diagnostics // Ann. Oncol. 2012. Vol. 23 (Suppl. 5): P. 12–22. doi:10.1093/annonc/mds161.
8. Errico A., Claudiani P., D'Addio M., Rugarli E.I. Spastin interacts with the centrosomal protein NA14, and is enriched in the spindle pole, the midbody and the distal axon // Hum. Mol. Genet. 2004. Vol. 13 (18). P. 2121–2132.
9. Gillet J.P., Gottesman M.M. Overcoming multidrug resistance in cancer: 35 years after the discovery of ABCB1 // Drug Resistance Updates. 2012. Vol. 15 (1–2). P. 2–4. doi: 10.1016/j.drug.2012.03.001.
10. Gökmen-Polar Y., Toroni R.A., Hocevar B.A., Badve S., Zhao Q., Shen C., Bruckheimer E., Kinch M.S., Miller K.D. Dual targeting of EphA2 and ER restores tamoxifen sensitivity in ER/EphA2-positive breast cancer // Breast Cancer Res. Treat. 2011. Vol. 127 (2). P. 375–384. doi: 10.1007/s10549-010-1004-y.
11. Gottesman M.M., Fojo T., Bates S.E. Multidrug resistance in cancer: role of ATP-dependent transporters // Nat. Rev. Cancer. 2002. Vol. 2 (1). P. 48–58.
12. He Y.J., Winham S.J., Hoskins J.M., Glass S., Paul J., Brown R., Motesinger-Reif A., McLeod H.L. Carboplatin/taxane-induced gastrointestinal toxicity: a pharmacogenomics study on the SCOTROC1 trial // Pharmacogenomics J. 2015. doi: 10.1038/tj.2015.52.
13. Henriksen U., Gether U., Litman T. Effect of Walker A mutation (K86M) on oligomerization and surface targeting of the multidrug resistance transporter ABCG2 // J. Cell Sci. 2005. Vol. 118 (7). P. 1417–1426.
14. Hoffmeyer S., Burk O., von Richter O., Arnold H.P., Brockmüller J., Johné A., Cascorbi I., Gerloff T., Roots I., Eichelbaum M., Brinkmann U. Functional polymorphisms of the human multidrug-resistance gene: multiple sequence variations and correlation of one allele with P-glycoprotein expression and activity in vivo // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2000. Vol. 97 (7). P. 3473–3478.
15. Honjo Y., Hrycyna C.A., Yan Q.W., Medina-Pérez W.Y., Robey R.W., van de Laar A., Litman T., Dean M., Bates S.E. Acquired mutations in the MXR/BCRP/ABCP gene alter substrate specificity in MXR/BCRP/ABCP-overexpressing cells // Cancer Res. 2001. Vol. 61 (18). P. 6635–6639.

16. Huang Y, Sadée W. Membrane transporters and channels in chemoresistance and -sensitivity of tumor cells // *Cancer Lett.* 2006. Vol. 239 (2). P. 168–182.
17. Huang Y. Pharmacogenetics/genomics of membrane transporters in cancer chemotherapy // *Cancer Metastasis Rev.* 2007. Vol. 26 (1). P. 183–201.
18. Januchowski R, Zawierucha P, Ruciński M, Andrzejewska M, Wojtowicz K, Nowicki M, Zabel M. Drug transporter expression profiling in chemoresistant variants of the A2780 ovarian cancer cell line // *Biomed. Pharmacother.* 2014. Vol. 68 (4). P. 447–453. doi: 10.1016/j.biopha.2014.02.002.
19. Januchowski R, Wojtowicz K, Sujka-Kordowska P, Andrzejewska M, Zabel M. MDR gene expression analysis of six drug-resistant ovarian cancer cell lines // *Biomed. Res. Int.* 2013. doi: 10.1155/2013/241763.
20. Kim H.S., Kim M.K., Chung H.H., Kim J.W., Park N.H., Song Y.S., Kang S.B. Genetic polymorphisms affecting clinical outcomes in epithelial ovarian cancer patients treated with taxanes and platinum compounds: a Korean population-based study // *Gynecol. Oncol.* 2009. Vol. 113 (2): P. 264–269. doi: 10.1016/j.ygyno.2009.01.002.
21. Litviakov N.V., Cherdyntseva N.V., Tsyganov M.M., Denisov E.V., Garbukov E.Y., Merzliakova M.K., Volkomorov V.V., Vtorushin S.V., Zavyalova M.V., Slonimskaya E.M., Perelmuter V.M. Changing the expression vector of multidrug resistance genes is related to neoadjuvant chemotherapy response // *Cancer Chemother. Pharmacol.* 2013. Vol. 71 (1). P. 153–163. doi: 10.1007/s00280-012-1992-x.
22. Mannan A.U., Boehm J., Sauter S.M., Rauber A., Byrne P.C., Neesen J., Engel W. Spastin, the most commonly mutated protein in hereditary spastic paraplegia interacts with Reticulon 1 an endoplasmic reticulum protein // *Neurogenetics.* 2006. Vol. 7 (2). P. 93–103.
23. Nakanishi T. Drug transporters as targets for cancer chemotherapy // *Cancer Genomics Proteomics.* 2007. Vol. 4 (3). P. 241–254.
24. Pfaffl M.W. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR // *Nucleic Acids Res.* 2001. Vol. 29 (9). P. e45.
25. Polgar O., Ozvegy-Laczka C., Robey R.W., Morisaki K., Okada M., Tamaki A., Koblos G., Elkind N.B., Ward Y., Dean M., Sarkadi B., Bates S.E. Mutational studies of G553 in TM5 of ABCG2: a residue potentially involved in dimerization // *Biochemistry.* 2006. Vol. 45 (16): P. 5251–5260.
26. Robey R., Honjo Y., Morisaki K., Nadjem T.A., Runge S., Risbood M., Poruchynsky M.S., Bates S.E. Mutations at amino-acid 482 in the ABCG2 gene affect substrate and antagonist specificity // *Br. J. Cancer.* 2003. Vol. 89 (10). P. 1971–1978.
27. Sauer G., Brehm G., Schneider S., Nielsch K., Wehrspohn R.B., Choi J., Hofmeister H., Gösele U. Highly ordered monocrystalline silver nanowire arrays // *J. Appl. Phys.* 2002. Vol. 91 (5): P. 3243–3247.
28. Schwartz G.F., Hortobagyi G.N. Proceedings of the consensus conference on neoadjuvant chemotherapy in carcinoma of the breast, April 26–28, 2003, Philadelphia, Pennsylvania // *Cancer.* 2004. Vol. 100 (12). P. 2512–2532.
29. Taheri M., Mahjoubi F., Omranipour R. Effect of MDR1 polymorphism on multidrug resistance expression in breast cancer patients // *Genet. Mol. Res.* 2010. Vol. 9 (1). P. 34–40. doi: 10.4238/vol9-1gmr669.
30. Tamura A., Wakabayashi K., Onishi Y., Takeda M., Ikegami Y., Sawada S., Tsuji M., Matsuda Y., Ishikawa T. Re-evaluation and functional classification of nonsynonymous single nucleotide polymorphisms of the human ATP-binding cassette transporter ABCG2 // *Cancer Sci.* 2007. Vol. 98 (2). P. 231–239.
31. Tefi W.A., Mansell S.E., Kim R.B. Endoxifen, the active metabolite of tamoxifen, is a substrate of the efflux transporter P-glycoprotein (multidrug resistance 1) // *Drug Metab. Dispos.* 2011. Vol. 39 (3). P. 558–562. doi: 10.1124/dmd.110.036160.
32. Vega-Gálvez A., Di Scalab K., Rodríguez K., Lemus-Mondaca R., Mirandaa M., López J., Perez-Wona M. Effect of air-drying temperature on physico-chemical properties, antioxidant capacity, colour and total phenolic content of red pepper (*Capsicum annuum*, L. var. Hungarian) // *Food Chemistry.* 2009. Vol. 117 (4). P. 647–653. doi:10.1016/j.foodchem.2009.04.066.
33. Xu Y., Jiang Z., Yin P., Li Q., Liu J. Role for Class I histone deacetylases in multidrug resistance // *Exp. Cell Res.* 2012. Vol. 318 (3). P. 177–186. doi: 10.1016/j.yexcr.2011.11.010.
34. Zhuang G., Brantley-Sieders D.M., Vaught D., Yu J., Xie L., Wells S., Jackson D., Muraoka-Cook R., Arteaga C., Chen J. Elevation of receptor tyrosine kinase EphA2 mediates resistance to trastuzumab therapy // *Cancer Res.* 2010. Vol. 70 (1). P. 299–308. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-09-1845.

Поступила 4.07.15

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**Цыганов Матвей Михайлович**, младший научный сотрудник лаборатории онковирусологии, Томский НИИ онкологии (г. Томск), Российская Федерация. Тел.: 8 (3822) 51-46-09. E-mail: TsyganovMM@yandex.ru. SPIN-код: 1253-0240

**Ибрагимова Марина Константиновна**, младший научный сотрудник лаборатории онковирусологии, Томский НИИ онкологии (г. Томск), Российская Федерация. Тел.: 8 (3822) 51-46-09. E-mail: imk1805@yandex.ru. SPIN-код: 2340-1628

**Слонимская Елена Михайловна**, доктор медицинских наук, профессор, заведующая отделением общей онкологии, Томский НИИ онкологии (г. Томск), Российская Федерация. Тел.: 8 (3822) 41-80-92. E-mail: slonimskaya@rambler.ru. SPIN-код: 7763-6417

**Чердынцева Надежда Викторовна**, доктор биологических наук, профессор, заведующая лабораторией молекулярной онкологии и иммунологии, Томский НИИ онкологии (г. Томск), Российская Федерация. Тел.: 8 (3822) 51-25-29. E-mail: nvch@oncology.tomsk.ru. SPIN-код: 5344-0990

**Литвяков Николай Васильевич**, доктор биологических наук, заведующий лабораторией онковирусологии, Томский НИИ онкологии (г. Томск), Российская Федерация. Тел.: 8 (3822) 51-46-07. E-mail: nvlitv72@yandex.ru. SPIN-код: 2546-0181

**SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISMS IN BREAST TUMOR AND EXPRESSION OF ABC-TRANSPORTERS AFTER NEOADJUVANT CHEMOTHERAPY**

**M.M. Tsyganov<sup>1,2</sup>, M.K. Ibragimova<sup>1,2</sup>, E.M. Slonimskaya<sup>1</sup>, N.V. Cherdyntseva<sup>1,2</sup>, N.V. Litviakov<sup>1,2</sup>**

Tomsk Cancer Research Institute, Tomsk<sup>1</sup>  
Tomsk State University, Tomsk<sup>2</sup>  
5, Kooperativny Street, 634009-Tomsk, Russia, e-mail: tsyganovmm@yandex.ru<sup>1</sup>

**Abstract**

The mechanism of regulation of ABC transporter gene expression, which is related to individual characteristics of the tumor-bearing organism and its tumor, defined by gene single nucleotide polymorphisms (SNP – Single Nucleotide Polymorphism) has not been extensively studied. We conducted large-scale genome studies of

association of SNP with the level of ABC transporter gene expression. The study involved 68 patients with morphologically verified diagnosis of breast cancer treated with neoadjuvant chemotherapy (NAC). Using a quantitative Real-time PCR, the expression of 4 multidrug resistance (MDR) genes (*ABCB1*, *ABCC1*, *ABCC2*, *ABCG2*) was studied in surgical samples after NAC. Microarray analysis was performed using high density DNA microarrays, which contain more than 750.000 SNPs. Six SNPs significantly associated with postoperative expression levels of multidrug resistance genes, *ABCB1*, *ABCC1*, *ABCC2*, *ABCG2*, were identified. It was shown that in carriers of a rare genotype, the expression levels of all 4 examined genes in tumors after chemotherapy were either decreased (rs2680835, rs1951366 and rs12018988), or increased (rs4676478, rs6896596, rs1154121) compared to those observed in carriers of frequent and heterozygous genotypes of the SNP. The possible mechanisms of the effect of the identified SNPs and their genes on the expression of ABC transporters were discussed.

**Key words:** multidrug resistance genes, single nucleotide polymorphism, breast cancer, microarray research.

#### REFERENCES

- Litviakov N.V. Reguljacija jekspressii genov mnozhestvennoj lekarstvennoj ustojchivosti v opuholi molochnoj zhelezy pri provedenii neoadjuvantnoj himioterapii. avtoref. dissertacii ... d-ra biol. nauk. Tomsk, 2014. 37 p. [in Russian]
- Litviakov N.V. Gradient phenomenon of multidrug resistance gene expression in breast cancer during neoadjuvant chemotherapy // Sibirskij onkologicheskij zhurnal. 2013. № 4 (58). P. 5–11. [in Russian]
- Litviakov N.V., Garbukov E.Y., Slonimskaya E.M., Tsyganov M.M., Denisov E.V., Vtorushin S.V., Hristenko K.Ju., Zavyalova M.V., Cherdyntseva N.V. Correlation of metastasis-free survival in breast cancer patients and an expression vector of multidrug resistance genes in tumor during neoadjuvant chemotherapy // Voprosy onkologii. 2013. Vol. 59 (3). P. 334–340. [in Russian]
- Litviakov N.V., Cherdyntseva N.V., Tsyganov M.M., Denisov E.V., Merzlikova M.K., Garbukov E.Y., Vtorushin S.V., Zavyalova M.V., Slonimskaya E.M. Influence of gene polymorphism on the expression of the multidrug resistance genes in breast tumor during neoadjuvant chemotherapy // Medicinskaja genetika. 2011. Vol. 10 (10). P. 37–43. [in Russian]
- Allen J.D., Jackson S.C., Schinkel A.H. A mutation hot spot in the Bcrp1 (Abcg2) multidrug transporter in mouse cell lines selected for Doxorubicin resistance // Cancer Res. 2002. Vol. 62 (8). P. 2294–2299.
- Di Francia R., Siesto R.S., Valente D., Spart D., Berretta M. Pharmacogenomics panel test for prevention toxicity in patient who receive Fluoropyrimidine/Oxaliplatin-based therapy // Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci. 2012. Vol. 16 (9). P. 1211–1217.
- Einert T.R., Schmidt G., Binnig G. Diagnostics // Ann. Oncol. 2012. Vol. 23 (Suppl. 5). P. 12–22. doi:10.1093/annonc/mds161.
- Errico A., Claudiani P., D'Addio M., Rugarli E.I. Spastin interacts with the centrosomal protein NA14, and is enriched in the spindle pole, the midbody and the distal axon // Hum. Mol. Genet. 2004. Vol. 13 (18). P. 2121–2132.
- Gillet J.P., Gottesman M.M. Overcoming multidrug resistance in cancer: 35 years after the discovery of ABCB1 // Drug Resistance Updates. 2012. Vol. 15 (1–2). P. 2–4. doi: 10.1016/j.drug.2012.03.001.
- Gökmen-Polar Y., Toroni R.A., Hocevar B.A., Badve S., Zhao Q., Shen C., Bruckheimer E., Kinch M.S., Miller K.D. Dual targeting of EphA2 and ER restores tamoxifen sensitivity in ER/EphA2-positive breast cancer // Breast Cancer Res. Treat. 2011. Vol. 127 (2). P. 375–384. doi: 10.1007/s10549-010-1004-y.
- Gottesman M.M., Fojo T., Bates S.E. Multidrug resistance in cancer: role of ATP-dependent transporters // Nat. Rev. Cancer. 2002. Vol. 2 (1). P. 48–58.
- He Y.J., Winham S.J., Hoskins J.M., Glass S., Paul J., Brown R., Motsinger-Reif A., McLeod H.L. Carboplatin/taxane-induced gastrointestinal toxicity: a pharmacogenomics study on the SCOTROC1 trial // Pharmacogenomics J. 2015. doi: 10.1038/tpj.2015.52.
- Henriksen U., Gether U., Litman T. Effect of Walker A mutation (K86M) on oligomerization and surface targeting of the multidrug resistance transporter ABCG2 // J. Cell Sci. 2005. Vol. 118 (7). P. 1417–1426.
- Hoffmeyer S., Burk O., von Richter O., Arnold H.P., Brockmöller J., Johne A., Cascorbi I., Gerloff T., Roots I., Eichelbaum M., Brinkmann U. Functional polymorphisms of the human multidrug-resistance gene: multiple sequence variations and correlation of one allele with P-glycoprotein expression and activity in vivo // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2000. Vol. 97 (7). P. 3473–3478.
- Honjo Y., Hrycyna C.A., Yan Q.W., Medina-Pérez W.Y., Robey R.W., van de Laar A., Litman T., Dean M., Bates S.E. Acquired mutations in the MXR/BCRP/ABCP gene alter substrate specificity in MXR/BCRP/ABCP-overexpressing cells // Cancer Res. 2001. Vol. 61 (18). P. 6635–6639.
- Huang Y., Sadée W. Membrane transporters and channels in chemoresistance and -sensitivity of tumor cells // Cancer Lett. 2006. Vol. 239 (2). P. 168–182.
- Huang Y. Pharmacogenetics/genomics of membrane transporters in cancer chemotherapy // Cancer Metastasis Rev. 2007. Vol. 26 (1). P. 183–201.
- Januchowski R., Zawierucha P., Ruciński M., Andrzejewska M., Wojtowicz K., Nowicki M., Zabel M. Drug transporter expression profiling in chemoresistant variants of the A2780 ovarian cancer cell line // Biomed. Pharmacother. 2014. Vol. 68 (4). P. 447–453. doi: 10.1016/j.biopha.2014.02.002.
- Januchowski R., Wojtowicz K., Sujka-Kordowska P., Andrzejewska M., Zabel M. MDR gene expression analysis of six drug-resistant ovarian cancer cell lines // Biomed. Res. Int. 2013. doi: 10.1155/2013/241763.
- Kim H.S., Kim M.K., Chung H.H., Kim J.W., Park N.H., Song Y.S., Kang S.B. Genetic polymorphisms affecting clinical outcomes in epithelial ovarian cancer patients treated with taxanes and platinum compounds: a Korean population-based study // Gynecol. Oncol. 2009. Vol. 113 (2). P. 264–269. doi: 10.1016/j.ygyno.2009.01.002.
- Litviakov N.V., Cherdyntseva N.V., Tsyganov M.M., Denisov E.V., Garbukov E.Y., Merzlikova M.K., Volkomorov V.V., Vtorushin S.V., Zavyalova M.V., Slonimskaya E.M., Perelmutter V.M. Changing the expression vector of multidrug resistance genes is related to neoadjuvant chemotherapy response // Cancer Chemother. Pharmacol. 2013. Vol. 71 (1). P. 153–163. doi: 10.1007/s00280-012-1992-x.
- Mannan A.U., Boehm J., Sauter S.M., Rauber A., Byrne P.C., Neesen J., Engel W. Spastin, the most commonly mutated protein in hereditary spastic paraplegia interacts with Reticulon 1 an endoplasmic reticulum protein // Neurogenetics. 2006. Vol. 7 (2). P. 93–103.
- Nakanishi T. Drug transporters as targets for cancer chemotherapy // Cancer Genomics Proteomics. 2007. Vol. 4 (3). P. 241–254.
- Pfaffl M.W. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR // Nucleic Acids Res. 2001. Vol. 29 (9). P. e45.
- Polgar O., Ozvegy-Laczka C., Robey R.W., Morisaki K., Okada M., Tamaki A., Koblos G., Elkind N.B., Ward Y., Dean M., Sarkadi B., Bates S.E. Mutational studies of G553 in TM5 of ABCG2: a residue potentially involved in dimerization // Biochemistry. 2006. Vol. 45 (16). P. 5251–5260.
- Robey R., Honjo Y., Morisaki K., Nadjem T.A., Runge S., Risbood M., Poruchynsky M.S., Bates S.E. Mutations at amino-acid 482 in the ABCG2 gene affect substrate and antagonist specificity // Br. J. Cancer. 2003. Vol. 89 (10). P. 1971–1978.
- Sauer G., Brehm G., Schneider S., Nielsch K., Wehrspohn R.B., Choi J., Hofmeister H., Gösele U. Highly ordered monocrystalline silver nanowire arrays // J. Appl. Phys. 2002. Vol. 91 (5). P. 3243–3247.
- Schwartz G.F., Hortobagyi G.N. Proceedings of the consensus conference on neoadjuvant chemotherapy in carcinoma of the breast, April 26–28, 2003, Philadelphia, Pennsylvania // Cancer. 2004. Vol. 100 (12). P. 2512–2532.
- Taheri M., Mahjoubi F., Omranipour R. Effect of MDR1 polymorphism on multidrug resistance expression in breast cancer patients // Genet. Mol. Res. 2010. Vol. 9 (1). P. 34–40. doi: 10.4238/vol9-1gmr669.
- Tamura A., Wakabayashi K., Onishi Y., Takeda M., Ikegami Y., Sawada S., Tsuji M., Matsuda Y., Ishikawa T. Re-evaluation and functional classification of nonsynonymous single nucleotide polymorphisms of the human ATP-binding cassette transporter ABCG2 // Cancer Sci. 2007. Vol. 98 (2). P. 231–239.
- Teft W.A., Mansell S.E., Kim R.B. Endoxifen, the active metabolite of tamoxifen, is a substrate of the efflux transporter P-glycoprotein (multidrug resistance 1) // Drug Metab. Dispos. 2011. Vol. 39 (3). P. 558–562. doi: 10.1124/dmd.110.036160.

32. Vega-Gálvez A., Di Scalab K., Rodríguez K., Lemus-Mondaca R., Mirandaa M., López J., Perez-Wona M. Effect of air-drying temperature on physico-chemical properties, antioxidant capacity, colour and total phenolic content of red pepper (*Capsicum annuum*, L. var. Hungarian) // *Food Chemistry*. 2009. Vol. 117 (4). P. 647–653. doi:10.1016/j.foodchem.2009.04.066.

33. Xu Y., Jiang Z., Yin P., Li Q., Liu J. Role for Class I histone deacetylases in multidrug resistance // *Exp. Cell Res.* 2012. Vol. 318 (3). P. 177–186. doi: 10.1016/j.yexcr.2011.11.010.

34. Zhuang G., Brantley-Sieders D.M., Vaught D., Yu J., Xie L., Wells S., Jackson D., Muraoka-Cook R., Arteaga C., Chen J. Elevation of receptor tyrosine kinase EphA2 mediates resistance to trastuzumab therapy // *Cancer Res.* 2010. Vol. 70 (1). P. 299–308. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-09-1845.

#### ABOUT THE AUTHORS

**Tsyganov Matvey Mikhailovich**, junior research fellow, Laboratory of Viral Oncology, Tomsk Cancer Research Institute (Tomsk), Russian Federation. Phone: +7 (3822) 51-46-09. E-mail: TsyganovMM@yandex.ru. SPIN-code: 1253-0240

**Ibragimova Marina Konstantinovna**, junior research fellow, Laboratory of Viral Oncology, Tomsk Cancer Research Institute (Tomsk), Russian Federation. Phone: +7 (3822) 51-46-09. E-mail: imk1805@yandex.ru. SPIN-code: 2340-1628

**Slonimskaya Elena Mikhailovna**, MD, Professor, Head of General Oncology Department, Tomsk Cancer Research Institute (Tomsk), Russian Federation. Phone: +7 (3822) 41-80-92. E-mail: slonimskaya@rambler.ru. SPIN-code: 7763-6417

**Cherdyntseva Nadezhda Viktorovna**, Professor, Deputy Director for Basic Science, Head of Laboratory of Molecular Oncology and Immunology, Tomsk Cancer Research Institute (Tomsk), Russian Federation. Phone: +7 (3822) 51-53-42. E-mail: nvch@oncology.tomsk.ru. SPIN-code: 5344-0990

**Litviakov Nikolay Vasilyevich**, DSc, Head of Laboratory of Viral Oncology, Tomsk Cancer Research Institute (Tomsk), Russian Federation. Phone: +7 (3822) 51-46-07. E-mail: nvlity72@yandex.ru. SPIN-code: 2546-0181

## ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИОННОГО ПРОФИЛЯ МИКРОРНК В КЛЕТКАХ МЕЛАНОМЫ И ОПУХОЛЕВОМ МИКРООКРУЖЕНИИ

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

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Красноярск 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 1, e-mail: tatyana\_ruksha@mail.ru

### Аннотация

Меланома кожи относится к многокомплексным неопластическим системам, характеризующимся высокой степенью гетерогенности опухолевой ткани. МикроРНК являются разновидностью эпигенетических регуляторов экспрессии генов. На сегодняшний день известно более 1 500 разновидностей микроРНК, а также установлено, что около 90 % генома человека регулируется посредством микроРНК. В данном исследовании проведен сравнительный анализ экспрессии микроРНК на основе микрочипирования в образцах клеток меланомы, опухолевого окружения, а также меланоцитарных невусов. Выявленные различия в уровне экспрессии микроРНК между тремя исследуемыми группами требуют дальнейшего разъяснения с целью уточнения функциональной роли отдельных микроРНК в развитии меланомы, а также для потенциального использования в качестве прогностических и диагностических маркеров.

**Ключевые слова:** микроРНК, меланома, микроэпителий.

МикроРНК представляют собой последовательности, состоящие из 18–22 нуклеотидов, являются посттранскрипционными регуляторами экспрессии генов. На сегодняшний день выявлено несколько тысяч разновидностей микроРНК. Известно, что профили микроРНК являются тканеспецифичными, а также могут изменяться при развитии патологических процессов. Единичная микроРНК может регулировать активность сотен генов. С помощью микроРНК регулируется 90 % человеческого генома. Одним из основных механизмов действия микроРНК является снижение экспрессии целевой мРНК посредством связывания с комплементарными фрагментами в 3' не-транслируемом регионе [9]. Основанное на данных о регуляции микроРНК механизмов развития различных заболеваний, одним из направлений экспериментальной терапии является ингибирование микроРНК анти-смысловыми «анти-микроРНК» или, напротив, повышение уровня/активности микроРНК [5]. Для идентификации микроРНК, ассоциированных с конкретным патологическим состоянием, используется профилирование микроРНК, которое позволяет определять экспрессию широкого спектра микроРНК. В дальнейшем выявленные изменения могут быть использованы для определения диагностической и прогностической значимости отдельных микроРНК [8]. Изменения профиля микроРНК выявлены при воспалении, развитии сердечно-сосудистых заболеваний, злокачественных новообразований и пр. [6, 11].

В Российской Федерации в 2013 г. вклад меланомы кожи (МК) в структуру заболеваемости злокачественными новообразованиями кожи составил 12 %, при этом МК явилась причиной смерти от злокачественных новообразований кожи в 31 % случаев [1]. Меланома – это гетерогенное новообразование с включением в молекулярный патогенез множества сигнальных путей, которые, в том числе, обеспечивают высокую пластичность опухолевых клеток и, как следствие, резистентность к противоопухолевой терапии. Известно, что микроокружение опухоли при меланоме играет существенную роль в развитии и прогрессировании заболевания. В частности, повышение продукции эндотелиальными клетками ИЛ-6, -8 вызывает активацию пролиферации клеток меланомы [17], костно-мозговые супрессоры блокируют опухоль-реактивные Т-лимфоциты [10]. МикроРНК также выступают как паракринные и аутокринные регуляторы биологического поведения опухолевого микроокружения. Так, показано, что miR-155, miR-31, miR-214 *in vitro* и *in vivo* способствуют трансформации фибробластов в опухоль-ассоциированные фибробласты при раке яичников [3].

**Целью исследования** являлось изучение особенностей профиля микроРНК в доброкачественных меланоцитарных новообразованиях кожи: меланоцитарных невусах, в клетках меланомы и ткани опухолевого окружения.

**Материал и методы**

Образцы меланомы кожи (n=10) и доброкачественных меланоцитарных новообразований (n=5) были получены в КГБУЗ «Красноярское краевое патологоанатомическое бюро». Исследование утверждено локальным этическим комитетом (протокол № 59/2014 от 02.12.2014). Образцы окрашивались гематоксилином и эозином и просматривались на процент содержания опухолевых клеток. Для отделения опухолевого микроокружения осуществлялась макродиссекция ткани, после чего повторно изготавливались срезы, окрашенные гематоксилином и эозином, с целью проверки на отсутствие опухолевых клеток в ткани микроокружения.

Выделение и очистка микроРНК из образцов осуществлялись в два этапа: на первом этапе производилась экстракция РНК смесью фенол/хлороформ с использованием комплекта реагентов «РИБО-золь-В» (Amplisens, Россия), после чего, на втором этапе, осуществлялась очистка микроРНК из экстракта на колонках при помощи набора mirVana™ miRNA Isolation Kit (Ambion, Canada) в соответствии с протоколом производителя. Оценка концентрации микроРНК выполнялась с помощью флуориметра Qubit® 2.0 (Life technologies Holdings Pte Ltd., USA) с применением набора Qubit® HS RNA Assay kit и набора Qubit® microRNA Assay kit (Eugene, Oregon, USA). Наличие примесей белка и фенолов определялось с помощью оценки коэффициентов поглощения при длинах волн 260/280 и 260/230 на спектрофотометре NanoVue Plus (GE Healthcare, USA). Дальнейшая оценка профиля экспрессии микроРНК выполнялась с помощью системы микрочипирования GeneAtlas® Personal Microarray System (Affymetrix, Santa

Clara, CA, USA). С этой целью не менее 130 нг микроРНК подвергалось полиаденилированию и последующему биотинилированию с использованием набора FlashTag™ Biotin HSR RNA labeling Kit (Affymetrix, Santa Clara, CA, USA) в соответствии с протоколом производителя. Полученные комплексы подвергались гибридизации на микрочипы GeneChip miRNA 4.1 in Array Strip (Affymetrix, Santa Clara, CA), созданные на основе базы микроРНК mirBase v.20. Для постановки реакции гибридизации использовался набор GeneChip® Hybridization, Wash, and Stain Kit (Affymetrix, Santa Clara, CA) в течение 20 ч при температуре 48°C. По окончании гибридизации производилась отмывка микрочипов от несвязавшихся молекул и окраска реагентами набора GeneChip® Hybridization, Wash, and Stain Kit (Affymetrix, Santa Clara, CA). Далее осуществлялась детекция флуоресценции в ячейках микрочипа в станции детекции системы (Imaging station). Контроль качества гибридизации производился на всех этапах работы от постановки реакции полиаденилирования до детекции посредством использования контрольных образцов. Обработка данных флуоресценции производилась при помощи программы Expression Console software (Build 1.4.0.38) (Affymetrix, USA).

Статистическая обработка осуществлялась при помощи программы Transcriptome analysis Console 2.0. Различия в экспрессии микроРНК между меланоцитарными невусами, клетками меланомы и микроокружением меланомы признавались значимыми при p<0,05. При этом для последующего анализа были представлены только различия в уровнях экспрессии в 3 и более раз. Упорядочивание данных, имеющих значимые различия, производилось при помощи программы Transcrip-

Таблица 1

**МикроРНК, имеющие различия в уровнях экспрессии в меланоме и меланоцитарных невусах**

№ п/п	микроРНК	Кратность различий	P	Гены-мишени (по базам данных TargetScan, MiRanda, DIANA-miR-Path, экспериментально подтвержденные)
1	hsa-miR-155-5p	11,86	0,033	BACH1, JARID2, ARID2
2	hsa-miR-126-3p	7,80	0,006	SPRED1, PLK2, IRS1
3	hsa-miR-21-5p	7,33	0,017	CCL-1, PDCD-4, GATAD2B, ZNF367, RECK, SOX5, STAG2, YOD1, PELI1, MALT1, NFIB, GPR64, MEIS1, PBRM1, PLEKHA1, KBTBD7, RMND5A
4	hsa-miR-4286	6,21	0,005	–
5	hsa-miR-20b-5p	4,29	0,043	CDKN1A, STAT3, CRIM1, HIF1A, BAMBI
6	hsa-miR-363-3p	4,2	0,025	HIPK3 (экспериментально не подтверждено)
7	hsa-miR-6769b-5p	3,83	0,003	–
8	hsa-miR-150-5p	3,70	0,046	MYB
9	hsa-miR-6893-5p	3,09	0,014	–
10	hsa-miR-211-5p	-24,77	0,000074	MAPRE2, SHC1 (экспериментально не подтверждено)
11	hsa-miR-200c-3p	-19,06	0,027	ZEB2, ZEB1, ZFPM2
12	hsa-miR-508-5p	-13,71	0,0004	–
13	hsa-miR-203a	-12,47	0,012	–
14	hsa-miR-513a-5p	-12,00	0,004	–
15	hsa-miR-506-3p	-10,77	0,002	AMOTL1, ATP7A, TMEM134, WIPF1,

Примечание: \* – отрицательными числами отмечено, во сколько раз уровень экспрессии микроРНК в меланоме ниже, чем в невусах.

Таблица 2

**МикроРНК, имеющие различия в уровнях экспрессии в меланоме и опухолевом микроокружении**

№ п/п	микроРНК	Кратность различий	р	Гены-мишени
1	hsa-miR-106a-5p	11,46	0,040	UBE2W, SERF1A, SERF1B, PLEKHA3, MAP3K2, FGD4, MYCN, PTPN4, GPR137C, RRAGD (экспериментально не подтверждено)
2	hsa-miR-223-3p	5,63	0,037	RHOВ, NFIA
3	hsa-miR-221-3p	4,95	0,035	ZEB2, CDKN1B
4	hsa-miR-4745-5p	4,68	0,010	–
5	hsa-miR-4739	4,21	0,010	ZSWIM6, AFF4
6	hsa-miR-363-3p	4,04	0,032	HPK3 (экспериментально не подтверждено)
7	hsa-miR-107	4,02	0,041	–
8	hsa-miR-514b-5p	3,32	0,045	–
9	hsa-miR-6769b-5p	3,18	0,009	–
10	hsa-miR-3175	3,16	0,027	–
11	hsa-miR-6805-5p	3,15	0,018	–

Таблица 3

**МикроРНК, имеющие различия в уровнях экспрессии в меланоцитарных невусах и микроокружении меланомы**

№ п/п	микроРНК	Кратность различий	р	Гены-мишени
1	hsa-miR-509-3p	36,14	0,005	–
2	hsa-miR-514b-5p	27,73	0,0006	–
3	hsa-miR-211-5p	19,08	0,0006	–
4	hsa-miR-513a-5p	15,7	0,00079	–
5	hsa-miR-6747-3p	10,12	0,014	–
6	hsa-miR-506-3p	9,93	0,013	–
7	hsa-miR-4800-3p	9,84	0,016	–
8	hsa-miR-508-5p	9,34	0,00000087	–
9	hsa-miR-4695-3p	8,13	0,022	–
10	hsa-miR-197-3p	7,86	0,015	–
11	hsa-miR-6761-3p	7,3	0,044	–
12	hsa-miR-449-3p	6,71	0,0056	–
13	hsa-miR-4467	6,64	0,020	–
14	hsa-miR-6754-3p	6,51	0,033	–
15	hsa-miR-3591-3p	6,21	0,0078	–
16	hsa-miR-6794-3p	6,02	0,029	–
17	hsa-miR-4326	5,96	0,019	–
18	hsa-miR-3178	5,93	0,017	–
19	hsa-miR-6741-3p	5,86	0,015	–
20	hsa-miR-149-5p	5,79	0,019	ZNF726

to me analysis Console 2.0 методом иерархической кластеризации на тепловой карте. Базовые характеристики измененных микроРНК определялись с помощью базы данных Mirbase ([www.mirbase.org](http://www.mirbase.org) от 12.02.2015).

**Результаты исследования и обсуждение**

По результатам микрочипирования было выявлено 9 микроРНК, уровни которых были повышены в 3 и более раз в клетках меланомы по сравнению с меланоцитарными невусами; экспрессия 83 разновидностей микроРНК была снижена при меланоме по сравнению с невусами. 11 микроРНК отличались повышенной экспрессией в клетках меланомы по сравнению с опухолевым окружением, а также

94 микроРНК были выше по уровню экспрессии в 3 и более раз в ткани меланоцитарных невусов по сравнению с микроокружением меланомы; 5 микроРНК характеризовались сниженным уровнем экспрессии в меланоцитарных невусах по сравнению с микроокружением меланомы (табл. 1, 2, 3).

Таким образом, можно резюмировать, что изменения в экспрессии микроРНК превалируют в клетках меланомы по сравнению с доброкачественными меланоцитарными новообразованиями; минимальны изменения между опухолевым окружением меланомы и образцами меланоцитарных невусов. Подобные результаты также соотносятся с анализом экспрессионного профиля микроРНК

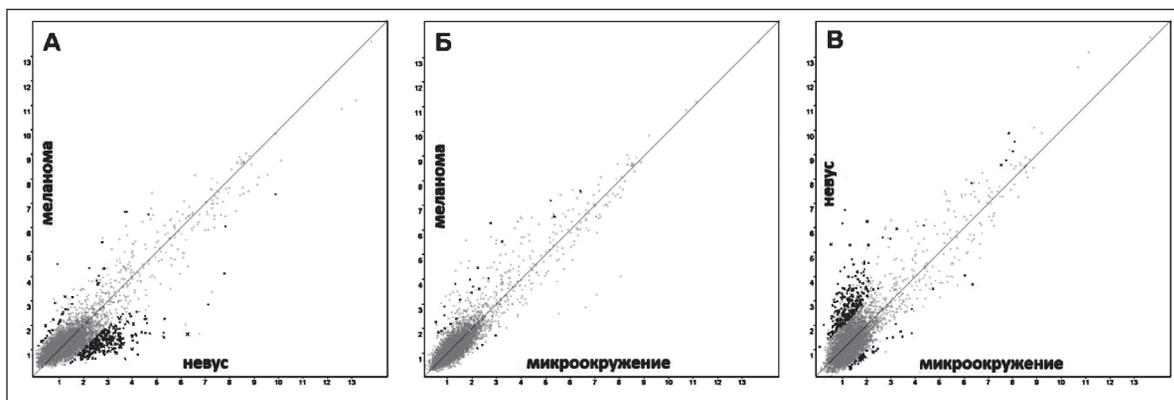


Рис. 1. Диаграмма разброса уровней экспрессии микроРНК:

А – в меланоме в сравнении с меланоцитарными невусами; Б – в меланоме в сравнении с микроокружением меланомы; В – в невусах в сравнении с микроокружением меланомы. Серые точки, расположенные близко к центральной диагонали, указывают на уровни экспрессии микроРНК, не имеющие достоверных различий между сравниваемыми группами. Темные точки выше диагональной линии соответствуют микроРНК, уровень экспрессии которых в группах, отмеченных на оси ординат, в 2 и более раза выше такового в группах, отмеченных по оси абсцисс ( $p < 0,05$ ). Темные точки ниже диагональной линии соответствуют микроРНК, уровень экспрессии которых в группах, отмеченных на оси ординат, в 2 и более раза ниже такового в группах, отмеченных по оси абсцисс ( $p < 0,05$ )

с помощью иерархической кластеризации, что отражено на тепловой карте (рис. 1).

Несомненно, стоит отметить, что опухолевое микроокружение имело значительно меньше различий по профилю экспрессии микроРНК с меланомой, чем с меланоцитарными невусами (рис. 2). Это может являться отражением феномена «перепрограммирования» опухолевого окружения, и синтеза опухоль-ассоциированными клетками (макрофагами, фибробластами, лимфоцитами) факторов, аналогичных продуцируемым опухолевыми клетками [16]. МикроРНК могут играть значимую регуляторную роль в этом процессе.

С помощью баз данных TargetScan, MiRanda, DIANA-miR-Path в дальнейшем был выполнен анализ генов-мишеней для микроРНК с максимально измененными уровнями. При анализе генов-мишеней микроРНК, уровни которых отличались в исследуемых группах, не все гены-мишени являлись идентифицированными (табл. 1, 2, 3).

Известно, что только у 3 из 11 видов микроРНК, уровни которых разнятся в меланоме и в микроокружении, есть экспериментально подтвержденные гены-мишени. Наиболее изученным видом микроРНК, уровни которой повышены в меланоме кожи, по сравнению с меланоцитарными новообразованиями кожи, является miR-21. Необходимо отметить, что miR-21 является хорошо изученным фактором с проонкогенной активностью. Так, установлено, что повышение уровня miR-21 ассоциировано с запущенными формами рака молочной железы, развитием метастазирования и плохим прогнозом [13]. Повышенные уровни miR-21 выявлены при колоректальном раке и раке желудка [2, 12]. При меланоме кожи miR-21 регулирует процессы выживаемости опухолевых клеток, миграции, инвазии, а также подавляет противоопухолевое действие интерферона- $\gamma$  [14].

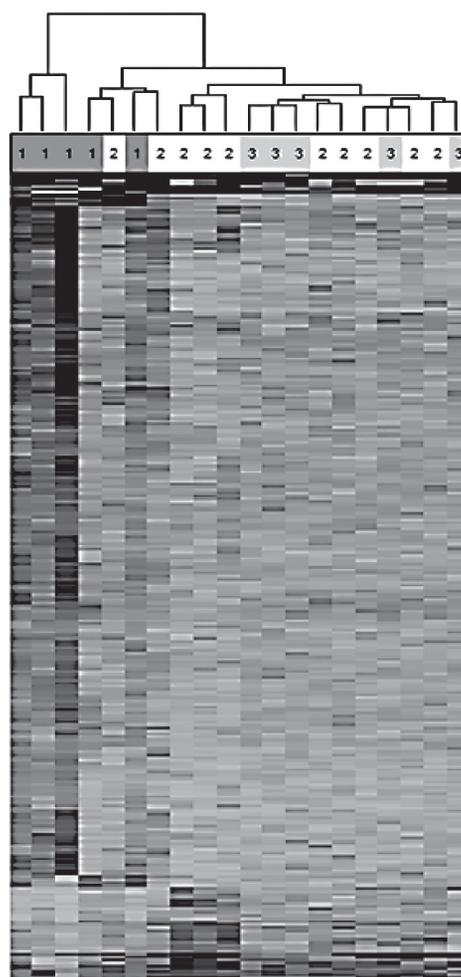


Рис. 2. Тепловая карта, представляющая экспрессию микроРНК в меланоцитарных невусах (1), меланоме (2), микроокружении меланомы (3). Отчетливо прослеживается разделение в отдельные группы по профилю микроРНК меланоцитарных невусов и меланомы

Как показали исследования, генами-мишенями miR-21 являются, в том числе, опухолевые супрессоры (PDCD-4, RECK), регулятор пролиферации клеток STAG2, а также другие, ассоциированные с канцерогенезом, гены (MALT1, MEIS1, PELI1). В целом, можно отметить, что результаты нашего исследования соотносятся с литературными данными в отношении miR-21.

Ранее в исследованиях также указывалось на повышение уровней miR-155 при меланоме кожи. С помощью гибридизации выявлены особенности локализации микроРНК по отношению к опухоли – преимущественно на периферии опухолевых комплексов [7]. Повышение уровня miR-155 регистрируется при других видах злокачественных новообразований: немелкоклеточном раке легкого, глиобластоме [4, 15]. И если для микроРНК, уровни которых изменены в клетках меланомы, по сравнению с показателями в клетках доброкачественных меланоцитарных новообразований, характерными генами-мишенями являются последние, преимущественно кодирующие регуляторы клеточного цикла, апоптоза, подвижности и пр., то в отношении опухолевого микроокружения и клеток меланомы мишенями являются гены, кодирующие белки, обеспечивающие базовые функции клетки: транспорт аминокислот, связывание с ДНК, а также транскрипционные факторы.

Наименее изученными на сегодняшний день являются микроРНК, которые по результатам

нашего исследования показали изменения в уровне экспрессии в опухолевом микроокружении по сравнению с клетками меланомы, а также с доброкачественными новообразованиями кожи. Таким образом, это является еще одним фактом, подтверждающим наличие системных изменений в опухолевом микроокружении при развитии злокачественных новообразований. Вместе с тем низкая степень изученности данных процессов на сегодняшний день указывает на необходимость дальнейшего изучения механизмов регуляции биологического поведения микроокружения на различных этапах канцерогенеза, в том числе с целью формирования новых терапевтических решений в онкологии.

### Заключение

Технология микроэррея позволяет оценивать экспрессию большого числа разновидностей микроРНК в образцах тканей, фиксированных в формалине и залитых в парафин. Определяются значимые изменения в экспрессии микроРНК при развитии меланомы, формировании опухолевого микроокружения. Дальнейшее разъяснение функциональных особенностей отдельных видов микроРНК при вышеуказанном процессе является важным для формирования новых терапевтических подходов и выработки новых прогностических/диагностических критериев при меланоме.

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

### ЛИТЕРАТУРА

1. *Злокачественные новообразования в России в 2013 году (заболеваемость и смертность)* / Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, Г.В. Петровой. М., 2015. 250 с.
2. Chan S.H., Wu C.W., Li A.F., Chi C.W., Lin W.C. miR-21 microRNA expression in human gastric carcinomas and its clinical association // *Anticancer Res.* 2008. Vol. 28 (2A). P. 907–911.
3. Chou J., Werb Z. MicroRNAs play a big role in regulating ovarian cancer-associated fibroblasts and the tumor microenvironment // *Cancer Discovery.* 2012. Vol. 2 (12). P. 1078–1080. doi: 10.1158/2159-8290.CD-12-0465.
4. Costa P.M., Cardoso A.L., Nobrega C., Pereira de Almeida L.F., Bruce J.N., Canoll P., Pedrosa de Lima M.C. MicroRNA-21 silencing enhances the cytotoxic effect of the antiangiogenic drug sunitinib in glioblastoma // *Hum. Mol. Genet.* 2013. Vol. 22 (5). P. 904–918. doi: 10.1093/hmg/dd5496.
5. Dimmeler S., Nicotera P. MicroRNAs in age-related diseases // *EMBO Mol. Med.* 2013. Vol. 5 (2). P. 180–190. doi: 10.1002/emmm.201201986.
6. Flowers E., Aouizerat B.E. MicroRNA associated with dyslipidemia and coronary disease in humans // *Physiol. Genomics.* 2013. Vol. 45 (24). P. 1199–1205. doi: 10.1152/physiolgenomics.00106.2013.
7. Grignol V., Fairchild E.T., Zimmerer J.M., Lesinski G.B., Walker M.J., Magro C.M., Kacher J.E., Karpa V.I., Clark J., Nuovo G., Lehman A., Volinia S., Agnese D.M., Croce C.M., Carson W.E 3rd. miR-21 and miR-155 are associated with mitotic activity and lesion depth of borderline melanocytic lesions // *Br. J. Cancer.* 2011. Vol. 105 (7). P. 1023–1029. doi: 10.1038/bjc.2011.288.
8. Pimentel F., Bonilla P., Ravishanker Y.G., Contag A., Gopal N., LaCour S., Lee T., Niemez A. Technology in MicroRNA Profiling: Circulating MicroRNAs as Noninvasive Cancer Biomarkers in Breast Cancer // *J. Lab. Autom.* 2014. pii: 2211068214561788.
9. Su W., Hopkins S., Nesser N.K., Sopher B., Silvestroni A., Ammannuel S., Jayadev S., Möller T., Weinstein J., Garden G.A. The p53 transcription factor modulates microglia behavior through microRNA-dependent regulation of c-Maf // *J. Immunol.* 2014. Vol. 192 (1). P. 358–366. doi: 10.4049/jimmunol.1301397.
10. Umansky V., Sevko A. Overcoming immunosuppression in the melanoma microenvironment induced by chronic inflammation // *Cancer Immunol Immunother.* 2012. Vol. 61 (2). P. 275–282. doi: 10.1007/s00262-011-1164-6.
11. Van Rooij E., Kauppinen S. Development of microRNA therapeutics is coming of age // *EMBO Mol. Med.* 2014. Vol. 6 (7). P. 851–864. doi: 10.15252/emmm.201100899.
12. Yamamichi N., Shimomura R., Inada K., Sakurai K., Haraguchi T., Ozaki Y., Fujita S., Mizutani T., Furukawa C., Fujishiro M., Ichinose M., Shiogama K., Tsutsumi Y., Omata M., Iba H. Locked nucleic acid in situ hybridization analysis of miR-21 expression during colorectal cancer development // *Clin. Cancer Res.* 2009. Vol. 15 (12). P. 4009–4016. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-08-3257.
13. Yan L.X., Huang X.F., Shao Q., Huang M.Y., Deng L., Wu Q.L., Zeng Y.X., Shao J.Y. MicroRNA miR-21 overexpression in human breast cancer is associated with advanced clinical stage, lymph node metastasis and patient poor prognosis // *RNA.* 2008. Vol. 14 (11). P. 2348–2360. doi: 10.1261/rna.1034808.
14. Yang C.H., Yue J., Pfeffer S.R., Handorf C.R., Pfeffer L.M. MicroRNA miR-21 regulates the metastatic behavior of B16 melanoma cells // *J. Biol. Chem.* 2011. Vol. 286 (45). P. 39172–39178. doi: 10.1074/jbc.M111.285098.
15. Yang M., Shen H., Qiu C., Ni Y., Wang L., Dong W., Liao Y., Du J. High expression of miR-21 and miR-155 predicts recurrence and unfavourable survival in non-small cell lung cancer // *Eur. J. Cancer.* 2013. Vol. 49 (3). P. 604–615. doi: 10.1016/j.ejca.2012.09.031.
16. Yang P., Markowitz G.J., Wang X.F. The hepatitis B virus-associated tumor microenvironment in hepatocellular carcinoma // *Natl. Sci. Rev.* 2014. Vol. 1 (3). P. 396–412.
17. Zigler M., Kamiya T., Brantley E.C., Villares G.J., Bar-Eli M. PAR-1 and thrombin: the ties that bind the microenvironment to melanoma metastasis // *Cancer Res.* 2011. Vol. 71 (21). P. 6561–6566. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-11-1432.

Поступила 30.04.15

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**Комина Анна Владимировна**, научный сотрудник кафедры патологической физиологии им. проф. В.В. Иванова, Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Красноярск), Российская Федерация. E-mail: komivlann@yandex.ru. SPIN-код: 1172-2769

**Аксененко Мария Борисовна**, кандидат медицинских наук, ассистент кафедры патологической физиологии им. проф. В.В. Иванова, Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Красноярск), Российская Федерация. E-mail: aksenenko\_mariya@mail.ru. SPIN-код: 6958-9122

**Палкина Надежда Владимировна**, аспирант кафедры патологической физиологии им. проф. В.В. Иванова, Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Красноярск), Российская Федерация. E-mail: MosmanNV@yandex.ru

**Артемов Сергей Александрович**, доктор медицинских наук, доцент кафедры патологической физиологии им. проф. В.В. Иванова, Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Красноярск), Российская Федерация. Тел.: 8 (3912) 97-96-97. E-mail: skyman1977@mail.ru. SPIN-код: 8049-0119

**Рукша Татьяна Геннадьевна**, доктор медицинских наук, заведующая кафедрой патологической физиологии им. проф. В.В. Иванова, Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Красноярск), Российская Федерация. E-mail: tatyana\_ruksha@mail.ru. SPIN-код: 5412-2148

## MICRORNA EXPRESSION PROFILE ALTERATIONS IN MELANOMA AND MELANOMA MICROENVIRONMENT

**A.V. Komina, M.B. Aksenenko, N.V. Palkina, S.A. Artemiev, T.G. Ruksha**

Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University,  
Russian Federation Ministry of Health Care, Krasnoyarsk  
1, Partizana Zheleznjaka, 660022-Krasnoyarsk, Russia, e-mail: tatyana\_ruksha@mail.ru

**Abstract**

Melanoma of the skin is considered as multiplex neoplastic system characterized by high tumor heterogeneity. MicroRNAs are a class of epigenetic regulators by which 90 % of human genome is controlled. At the present time more than 1 500 types of microRNAs is identified. Comparative analysis of microRNA expression profile is performed in melanoma, melanocytic nevi and tumor microenvironment in the present study. The differences of microRNA expression levels should be under further consideration to evaluate their functional significance in melanomagenesis and possible application as melanoma prognostic and diagnostic markers.

**Key words: microRNA, melanoma, microarray.**

REFERENCES

1. *Malignancies in Russia in 2013 (morbidity and mortality)* / Eds. A.D. Kaprin, V.V. Starinsky, G.V. Petrova. M., 2015. 250 p. [in Russian]
2. *Chan S.H., Wu C.W., Li A.F., Chi C.W., Lin W.C.* miR-21 microRNA expression in human gastric carcinomas and its clinical association // *Anticancer Res.* 2008. Vol. 28 (2A). P. 907–911.
3. *Chou J., Werb Z.* MicroRNAs play a big role in regulating ovarian cancer-associated fibroblasts and the tumor microenvironment // *Cancer Discovery.* 2012. Vol. 2 (12). P. 1078–1080. doi: 10.1158/2159-8290.CD-12-0465.
4. *Costa P.M., Cardoso A.L., Nobrega C., Pereira de Almeida L.F., Bruce J.N., Canoll P., Pedrosa de Lima M.C.* MicroRNA-21 silencing enhances the cytotoxic effect of the antiangiogenic drug sunitinib in glioblastoma // *Hum. Mol. Genet.* 2013. Vol. 22 (5). P. 904–918. doi: 10.1093/hmg/dd5496.
5. *Dimmeler S., Nicotera P.* MicroRNAs in age-related diseases // *EMBO Mol. Med.* 2013. Vol. 5 (2). P. 180–190. doi: 10.1002/emmm.201201986.
6. *Flowers E., Aouizerat B.E.* MicroRNA associated with dyslipidemia and coronary disease in humans // *Physiol. Genomics.* 2013. Vol. 45 (24). P. 1199–1205. doi: 10.1152/physiolgenomics.00106.2013.
7. *Grignol V., Fairchild E.T., Zimmerer J.M., Lesinski G.B., Walker M.J., Magro C.M., Kacher J.E., Karpa V.I., Clark J., Nuovo G., Lehman A., Volinia S., Agnese D.M., Croce C.M., Carson W.E 3rd.* miR-21 and miR-155 are associated with mitotic activity and lesion depth of borderline melanocytic lesions // *Br. J. Cancer.* 2011. Vol. 105 (7). P. 1023–1029. doi: 10.1038/bjc.2011.288.
8. *Pimentel F., Bonilla P., Ravishanker Y.G., Contag A., Gopal N., LaCour S., Lee T., Niemz A.* Technology in MicroRNA Profiling: Circulating MicroRNAs as Noninvasive Cancer Biomarkers in Breast Cancer // *J. Lab. Autom.* 2014. pii: 2211068214561788.
9. *Su W., Hopkins S., Nesser N.K., Sopher B., Silvestroni A., Ammanuel S., Jayadev S., Möller T., Weinstein J., Garden G.A.* The p53 transcription factor modulates microglia behavior through microRNA-dependent regulation of c-Maf // *J. Immunol.* 2014. Vol. 192 (1). P. 358–366. doi: 10.4049/jimmunol.1301397.
10. *Umansky V., Sevko A.* Overcoming immunosuppression in the melanoma microenvironment induced by chronic inflammation // *Cancer Immunol Immunother.* 2012. Vol. 61 (2). P. 275–282. doi: 10.1007/s00262-011-1164-6.
11. *Van Rooij E., Kauppinen S.* Development of microRNA therapeutics is coming of age // *EMBO Mol. Med.* 2014. Vol. 6 (7). P. 851–864. doi: 10.15252/emmm.201100899.
12. *Yamamichi N., Shimomura R., Inada K., Sakurai K., Haraguchi T., Ozaki Y., Fujita S., Mizutani T., Furukawa C., Fujishiro M., Ichinose M., Shioyama K., Tsutsumi Y., Omata M., Iba H.* Locked nucleic acid in situ

hybridization analysis of miR-21 expression during colorectal cancer development // *Clin. Cancer Res.* 2009. Vol. 15 (12). P. 4009–4016. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-08-3257.

13. *Yan L.X., Huang X.F., Shao Q., Huang M.Y., Deng L., Wu Q.L., Zeng Y.X., Shao J.Y.* MicroRNA miR-21 overexpression in human breast cancer is associated with advanced clinical stage, lymph node metastasis and patient poor prognosis // *RNA.* 2008. Vol. 14 (11). P. 2348–2360. doi: 10.1261/rna.1034808.

14. *Yang C.H., Yue J., Pfeffer S.R., Handorf C.R., Pfeffer L.M.* MicroRNA miR-21 regulates the metastatic behavior of B16 melanoma cells // *J. Biol. Chem.* 2011. Vol. 286 (45). P. 39172–39178. doi: 10.1074/jbc.M111.285098.

15. *Yang M., Shen H., Qiu C., Ni Y., Wang L., Dong W., Liao Y., Du J.* High expression of miR-21 and miR-155 predicts recurrence and unfavourable survival in non-small cell lung cancer // *Eur. J. Cancer.* 2013. Vol. 49 (3). P. 604–615. doi: 10.1016/j.ejca.2012.09.031.

16. *Yang P., Markowitz G.J., Wang X.F.* The hepatitis B virus-associated tumor microenvironment in hepatocellular carcinoma // *Natl. Sci. Rev.* 2014. Vol. 1 (3). P. 396–412.

17. *Zigler M., Kamiya T., Brantley E.C., Villares G.J., Bar-Eli M.* PAR-1 and thrombin: the ties that bind the microenvironment to melanoma metastasis // *Cancer Res.* 2011. Vol. 71 (21). P. 6561–6566. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-11-1432.

#### ABOUT THE AUTHORS

**Komina Anna Vladimirovna**, Researcher, Department of Pathological Physiology, Krasnoyarsk State Medical University (Krasnoyarsk), Russian Federation. E-mail: komivlann@yandex.ru. SPIN-code: 1172-2769

**Aksenenko Maria Borisovna**, MD, PhD, lecturer, Department of Pathological Physiology, Krasnoyarsk State Medical University (Krasnoyarsk), Russian Federation. E-mail: aksenenko\_mariya@mail.ru. SPIN-code: 6958-9122

**Palkina Nadezhda Vladimirovna**, postgraduate, Department of Pathological Physiology, Krasnoyarsk State Medical University (Krasnoyarsk), Russian Federation. E-mail: MosmanNV@yandex.ru

**Artemiev Sergey Alexandrovich**, MD, DSc, Associate Professor, Department of Pathological Physiology, Krasnoyarsk State Medical University (Krasnoyarsk), Russian Federation. Phone: 8 (3912) 97-96-97. E-mail: skyman1977@mail.ru. SPIN-code: 8049-0119

**Ruksha Tatiana Gennadievna**, MD, DSc, Head of Department of Pathological Physiology, Krasnoyarsk State Medical University (Krasnoyarsk), Russian Federation. E-mail: tatyana\_ruksha@mail.ru. SPIN-code: 5412-2148

## ХАРАКТЕР ЭКСПРЕССИИ МАРКЕРОВ ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ, АПОПТОЗА И КЛЕТочНОЙ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ ПРИ ПРЕДРАКЕ И РАКЕ ГОРТАНИ

О.В. Черемисина<sup>1</sup>, О.В. Панкова<sup>1</sup>, К.Ю. Меньшиков<sup>1</sup>, Е.Л. Чойнзон<sup>1,2</sup>

Томский НИИ онкологии, г. Томск<sup>1</sup>

ГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет» МЗ РФ, г. Томск<sup>2</sup>  
634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5, e-mail: CheremisinaOV@oncology.tomsk.ru<sup>1</sup>

### Аннотация

**Цель исследования:** определение информативности экспрессии маркеров p53, CD138, Ki67 в многослойном плоском эпителии слизистой оболочки гортани при предопухолевых заболеваниях и раке гортани. **Материал и методы.** В работу были включены результаты анализа экспрессии указанных маркеров у 80 пациентов с хроническими заболеваниями и у 37 больных раком гортани. **Результаты.** Показано, что уровень пролиферативной активности прямо пропорционален нарастанию степени тяжести диспластических и неопластических изменений в слизистой оболочке гортани. Выявленная закономерность свидетельствует об усилении процессов пролиферации при предопухолевых процессах и при их дальнейшей злокачественной трансформации. Полученные нами данные наглядно подтверждают, что в основе одного из механизмов злокачественного перерождения эпителия лежит подавление функции апоптоза. В сложных дифференциальных случаях резкое увеличение уровня p53 и Ki67 при дисплазии III степени может рассматриваться как дополнительный оценочный критерий риска злокачественной трансформации. На основании полученных результатов маркер клеточной дифференцировки CD138 рекомендуется рассматривать в качестве дополнительного критерия для отбора пациентов с диспластическими изменениями II степени в группу риска по раку гортани. **Выводы.** Стойкое повышение уровня маркера Ki67 выше 52,6 служит дополнительным критерием для включения больных с предраком в группу онкологического риска. Изменение уровня экспрессии маркера p53 в дисплазированном эпителии гортани при ДIII является признаком возможного прогрессирования предопухолевых изменений в рак.

**Ключевые слова:** предопухолевые изменения, рак гортани, маркерная диагностика, маркеры апоптоза, клеточная дифференцировка и пролиферативная активность.

Среди злокачественных опухолей верхних дыхательных путей рак гортани (РГ) продолжает занимать лидирующие позиции, составляя 65–70 %, при этом в общей структуре онкологической заболеваемости на его долю приходится 1,4 % [2, 11]. Гортань по-прежнему остается достаточно трудной локализацией для своевременной диагностики опухолевого процесса на ранних стадиях, несмотря на доступность органа для визуального осмотра и инструментального исследования [3, 5, 10]. Неспецифические симптомы неопластических процессов, отсутствие онкологической настороженности у специалистов общей клинической сети, высокий уровень диагностических ошибок приводят к высокому уровню запущенности – до 60–70 % больных поступают в специализированные учреждения с распространенным опухолевым процессом [7, 8], а ранний рак гортани, при котором возможно выполнение органосохраняющего лечения, составляет всего 2,3–6 % случаев [6, 10].

Эпидемиологические исследования, проведенные в различных странах мира, показали, что практически в 60 % случаев РГ развивается на основе различных хронических заболеваний, составляющих группу облигатного предрака, к ним, в

первую очередь, относятся хронический гиперпластический ларингит (ХГЛ) и папилломатоз гортани (ПГ). Известно, что папилломы гортани обладают высоким риском злокачественной трансформации [3, 8, 13, 15].

Однако один лишь факт наличия очагов дисплазии (предопухолевых изменений) в эпителии гортани совершенно недостаточен для определения пациента в группу онкологического риска, необходимы более определенные критерии прогноза развития предраковых изменений [3, 14, 17, 20]. Заслуживает внимания ряд исследований, в которых показана информативность экспрессии маркеров p53 и Ki67 в качестве критериев риска развития злокачественного процесса при различной хронической воспалительной патологии гортани [1, 4, 12, 18, 19, 21]. По сравнению с нормальной слизистой оболочкой гортани нарастание степени тяжести дисплазии эпителия влекло за собой увеличение экспрессии маркера p53, с максимальными значениями при РГ [16]. При наблюдении 114 больных с дисплазией эпителия гортани различной степени тяжести в 24 % случаев реализовалась злокачественная трансформация. Прогрессирование дисплазии в рак напрямую зависело от исходной

степени тяжести диспластических изменений, большинство (75 %) злокачественных новообразований гортани было обнаружено в течение 12 мес после выявления дисплазии в слизистой оболочке [3, 9]. Несмотря на актуальность проблемы, в доступной литературе имеются немногочисленные публикации об экспрессии различных маркеров на этапах злокачественной трансформации в слизистой оболочке у пациентов с хроническими заболеваниями гортани, ассоциированными с предопухолевыми изменениями.

**Цель исследования:** определение информативности экспрессии маркеров p53, CD138, Ki67 в многослойном плоском эпителии слизистой оболочки гортани при предопухолевых заболеваниях и раке гортани.

### Материал и методы

В исследование было включено 80 человек с диагнозом хронический гиперпластический ларингит или папиллома гортани и 37 больных с диагнозом плоскоклеточный рак гортани различной степени дифференцировки, не имеющих в анамнезе специального лечения на момент обследования. В группе хронических воспалительных заболеваний гортани было 49 (61,3 %) мужчин и 31 (38,8 %) женщина, в возрасте от 38 до 69 лет, средний возраст –  $57,9 \pm 6,2$  года. Из них у 34 (42,5 %) пациентов выявлены папилломы гортани, у 46 (57,5 %) – хронический гиперпластический ларингит. Из 37 пациентов с опухолью гортани было 33 (81,2 %) мужчины и 4 (10,8 %) женщины, в возрасте от 41 до 69 лет, средний возраст –  $59,2 \pm 5,2$  года. Рак гортани I стадии был диагностирован у 19 (51,4 %), из них 17 (45,9 %) мужчин, 2 (5,4 %) женщины, РГ III стадии – у 18 (48,6 %) пациентов, из которых было 16 (43,2 %) мужчин и 2 (5,4 %) женщины.

Видеоларингоскопия (ВЛС) проводилась на эндоскопических комплексах фирмы OLYMPUS EXERA-I и EXERA-II. Забор биопсийного материала производился из патологически измененных участков слизистой гортани при хронических и неопластических процессах. Фрагменты ткани, взятые при ФЛС, фиксировались в нейтральном формалине, проводились по стандартной методике и заливались в парафин. Срезы для гистологического исследования окрашивались гематоксилином и эозином. Мазки-отпечатки с биопсийного материала для цитологического исследования окрашивали азур-эозином. Цитологические и гистологические препараты изучались с помощью светового микроскопа «AxioStar plus» фирмы «K. Zeiss» – Германия.

Иммуногистохимическое исследование проводилось по общепринятой методике. Демаскировку антигенов осуществляли с помощью аппарата «PT Link» (Daco) в буфере с высоким pH. Для визуализации реакции антиген – антитело использовали систему «Super Sensitive Polymer – HRP Detection

System» (Bio Genex, США). Использовались моноклональные антитела к белкам p53 (clon DO-7, RTU, «Daco»), выявляющие «дикий» и «мутантный» варианты протеина; Ki67 (clon MIB – 1, RTU, «Daco»), CD138 (clon MI 15, RTU, «Daco»). Результаты иммуногистохимической реакции оценивали по процентному содержанию окрашенных клеток при любой степени положительной экспрессии маркера.

Обработка статистических данных проводилась при помощи пакета программы «STATISTICA-7», были применены непараметрические методы обработки данных. Анализ дисперсии данных проводился по группам показателей: тест Левина, LSD-тест для определения статистической значимости изменения показателя в зависимости от морфологических изменений ткани, Т-тест для связанных выборок показателей.

### Результаты исследования и обсуждение

Предопухолевые изменения различной степени тяжести были обнаружены у 57 (71,3 %) из 80 больных с хронической патологией гортани. Из них дисплазия (Д) эпителия гортани I степени обнаружена у 17 (21,3 %), дисплазия II степени – у 26 (32,5 %), дисплазия III степени – у 14 (17,5 %) пациентов. В 23 (28,8 %) наблюдениях у больных с ХГЛ и ПГ диспластических изменений эпителия гортани не зарегистрировано, при морфологическом исследовании подтвержден первоначальный клиничко-эндоскопический диагноз. Для оценки предсказательной значимости маркеров пролиферации, апоптоза и клеточной дифференцировки как факторов прогноза злокачественного прогрессирования в группах риска была изучена их экспрессия в зависимости от выраженности предопухолевых изменений в слизистой оболочке гортани – от Д I (легкой) степени до Д III (тяжелой) степени. Кроме того, для оценки влияния распространенности опухолевого процесса на экспрессию указанных маркеров их уровень был определен у больных раком гортани I и III стадий.

На первом этапе исследования был проведен анализ экспрессии онкобелка p53 у больных с хроническими воспалительными заболеваниями гортани без диспластических изменений эпителия гортани и у пациентов с дисплазией различной степени тяжести. Выявлено значимое, более чем в 2 раза, увеличение этого маркера при диспластических изменениях I–III степени по сравнению с группой D0 (рис. 1). Следует отметить, что при дисплазии I и II степени уровень экспрессии p53 составил  $2,5 \pm 1,61$  и  $2,1 \pm 1,08$ , при III степени –  $4,5 \pm 0,21$  соответственно, тогда как при отсутствии предопухолевых изменений этот показатель был равен  $0,17 \pm 1,12$ . При статистическом анализе полученных данных оказалось, что значимых отличий между группами пациентов с ДI и ДII не было ( $p > 0,05$ ). При этом обращает на себя внимание значимое увеличение этого маркера в эпителии

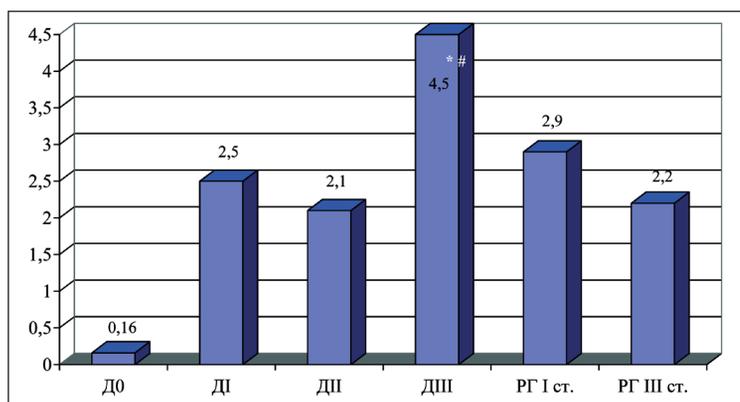


Рис. 1. Динамика показателей маркера апоптоза p53 в зависимости от степени тяжести пред- и опухолевых изменений гортани. Примечание: \* – различия значимы по сравнению с показателями у больных с дисплазией эпителия 0–II ст. ( $p < 0,05$ ); # – различия значимы по сравнению с показателями у больных с дисплазией эпителия III ст. ( $p < 0,05$ )

слизистой оболочки гортани при диспластическом процессе III степени по сравнению с уровнем экспрессии при ДI и ДII ( $p < 0,05$ ). Вероятнее всего, низкий уровень экспрессии p53 при диспластических изменениях I и II степеней обусловлен не полностью реализованными процессами малигнизации в эпителии гортани при начальных этапах канцерогенеза. Полученные нами данные наглядно подтверждают, что в основе одного из механизмов злокачественного перерождения эпителия лежит подавление функции апоптоза. В сложных дифференциальных случаях резкое увеличение уровня p53 при дисплазии слизистой оболочки гортани III степени может рассматриваться как дополнительный оценочный критерий. В процессе мониторинга за пациентами группы риска снижение показателя данного маркера может свидетельствовать о переходе предопухолевых изменений при ХГЛ и папилломах гортани в злокачественную опухоль гортани. Как известно, диспластический процесс III степени обратным изменениям не подвергается, тогда как при дисплазии II степени возможны два варианта развития событий – либо переход в легкую дисплазию I степени, либо прогрессирование тяжести предопухолевых изменений эпителия до дисплазии III степени. Исходя из этого, на этапах

динамического наблюдения более пристальное внимание должно уделяться пациентам с дисплазией эпителия II степени. При значимом нарастании уровня маркера p53 и стабильной клинической ситуации эта категория больных должна подвергаться тщательному мониторингу.

Следующим этапом исследования явилось изучение динамики экспрессии маркера пролиферации Ki67. При его анализе в группе пациентов с ХГЛ и папилломами гортани без предопухолевой патологии, а также у больных с хроническими заболеваниями, ассоциированными с диспластическими процессами I–III степени, выявлена закономерность, аналогичная изменениям экспрессии p53 (рис. 2). Низкий уровень экспрессии Ki67 отмечался при наличии хронических заболеваний гортани без дисплазии –  $13,97 \pm 1,71$ . По мере нарастания тяжести диспластических изменений наблюдалось его равномерное увеличение. Так, у пациентов с ХГЛ и папилломами гортани на фоне дисплазии слизистой оболочки I и II степени уровень экспрессии Ki67 был более чем в 2 раза выше, чем при Д0, составляя  $30,2 \pm 9,9$  и  $37,5 \pm 3,3$  соответственно. При диспластических изменениях ларингиального эпителия III степени наблюдались уже значимые различия уровня Ki67 ( $52,6 \pm 9,9$ )

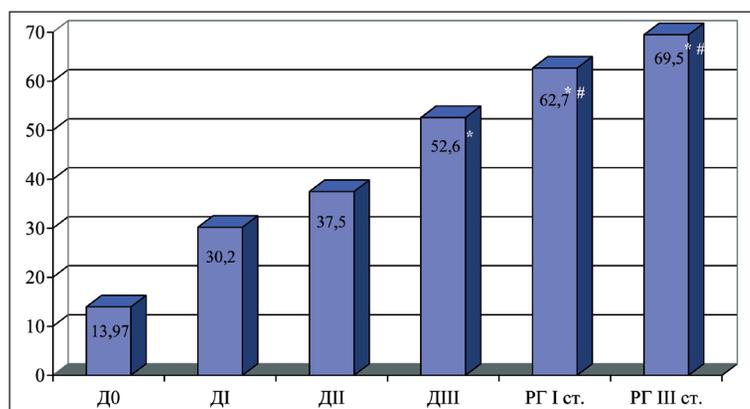


Рис. 2. Динамика показателей маркера пролиферации Ki67 в зависимости от степени тяжести пред- и опухолевых изменений гортани. Примечание: \* – различия значимы по сравнению с показателями у больных с дисплазией эпителия 0–II ст. ( $p < 0,05$ ); # – различия значимы по сравнению с показателями с больных у дисплазией эпителия III ст. ( $p < 0,05$ )

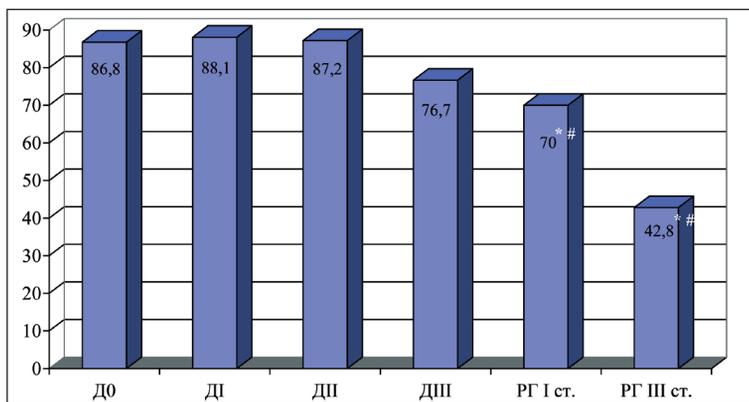


Рис. 3. Динамика показателей маркера клеточной дифференцировки CD138 в зависимости от степени тяжести пред- и опухолевых изменений гортани. Примечание: \* – различия значимы по сравнению с показателями у больных с дисплазией эпителия 0–II ст. ( $p < 0,05$ ); # – различия значимы по сравнению с показателями у больных с дисплазией эпителия III ст. ( $p < 0,05$ )

по сравнению с пациентами группы Д0 и больными с ХГЛ и папилломами, ассоциированными с предопухолевыми процессами I и II степени ( $p < 0,05$ ). При дальнейшем анализе установлено нарастание уровня экспрессии данного маркера. У больных со злокачественными изменениями в гортани показатель пролиферативной активности достоверно превышал значения Ki67 у пациентов с дисплазиями любой степени. Так, при раке гортани I стадии уровень маркера составил  $62,7 \pm 12,1$ , при РГ III стадии –  $69,5 \pm 7,5$  ( $p < 0,05$ ).

Таким образом, уровень пролиферативной активности, отражением которой, безусловно, является выраженность экспрессии маркера Ki67, прямо пропорционален нарастанию степени тяжести диспластических и неопластических изменений в слизистой оболочке гортани. Этот факт свидетельствует об усилении процессов пролиферации при предопухолевых процессах и при их дальнейшей злокачественной трансформации. На основании полученных данных стойкое повышение маркера Ki67 выше уровня 52,6 следует рассматривать в качестве дополнительного критерия для включения больных с предраком гортани в группу риска.

Еще одним процессом, характеризующим онкогенез, является нарушение клеточной дифференцировки. В качестве маркера, отражающего степень выраженности этих изменений, был выбран и в динамике исследован CD138. При анализе его экспрессии выявлена обратная закономерность по сравнению с изменениями уровней маркеров Ki67 и p53. Во всех группах больных с хронической воспалительной патологией гортани как при наличии диспластических изменений I и II степени слизистой оболочки, так и без таковых зарегистрированы высокие показатели экспрессии маркера CD138 (рис. 3). Значимых различий в подгруппах больных без дисплазии и с Д I и Д II не выявлено ( $p > 0,05$ ). При отсутствии дисплазии эпителия уровень данного маркера составил  $86,8 \pm 9,2$ , при дисплазии I степени –  $88,1 \pm 42,3$ , при диспластических изменениях II степени –  $87,2 \pm 2,06$ .

Значимое снижение уровня CD138 отмечается при диспластических изменениях эпителия III степени по сравнению с группой больных без дисплазии, а также с Д I и Д II ( $p < 0,05$ ). Дальнейший анализ данных убедительно показал, что наиболее низкие значения экспрессии CD138 наблюдаются у больных с выраженной деградацией дифференцировки клеток эпителия гортани, т.е. при реализовавшемся раке гортани. Так, у больных РГ I стадии этот показатель равнялся  $70,0 \pm 8,5$ , при РГ III стадии –  $42,8 \pm 13,8$ . Указанные параметры были значимо ниже по отношению к уровню CD138 как в группах больных без предопухолевых изменений, так и у пациентов с диспластическими изменениями всех степеней.

На основании полученных результатов маркер клеточной дифференцировки CD138 рекомендуется рассматривать в качестве дополнительного критерия для отбора пациентов с диспластическими изменениями II степени в группу риска по раку гортани. Показатели уровня маркера у пациентов с дисплазией III степени могут являться основанием для тщательного мониторинга как кандидатов для развития плоскоклеточного рака гортани.

Таким образом, оценка динамики маркеров Ki67, p53 и CD138 у пациентов с хроническими воспалительными заболеваниями, ассоциированными с предопухолевыми изменениями I–III степени слизистой оболочки, а также раком гортани I и III стадий, показала разнонаправленные значимые различия этих параметров на этапах злокачественного прогрессирования. Полученные результаты дают возможность использовать эти маркеры в качестве дополнительных критериев для отбора больных в группы риска, а также для прогноза течения предраковых изменений слизистой оболочки гортани на этапах мониторинга у данного контингента пациентов. Стойкое повышение уровня маркера Ki67 выше 52,6 служит дополнительным критерием для включения больных с предраком в группу риска. Изменение уровня экспрессии маркера p53 в дисплазированном эпителии гортани при ДIII является признаком возможного прогрессирования предопухолевых изменений в рак.

ЛИТЕРАТУРА

1. Горбань Н.А., Кудайбергенова А.Г., Панкратов В.А. Прогностическое значение маркеров пролиферативной активности и регуляции апоптоза при плоскоклеточном раке гортани // Архив патологии. 2013. Т. 75, № 1. С. 3–9.
2. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2013 году (заболеваемость и смертность). М., 2015. 250 с.
3. Коваленко С.Н., Лапченко А.С., Муратов Д.Л. Проблемы диагностики хронического гиперпластического ларингита // Вестник оториноларингологии. 2006. № 4. С. 27–30.
4. Кулагин Р.Н. Экспрессия p53 как прогностический маркер в плоскоклеточном раке гортани? // Российская оториноларингология. 2012. № 6 (61). С. 92–95.
5. Мухамедов М.Р., Черемисина О.В., Чойнзонов Е.Л., Кульбакин Д.Е., Балацкая Л.Н., Васильев Н.В., Гонтер В.Э. Современный взгляд на комплексный подход к диагностике, лечению и реабилитации больных раком гортани // Российская оториноларингология. 2012. № 3. С. 78–84.
6. Мухамедов М.Р., Чойнзонов Е.Л., Гонтер В.Э., Черемисина О.В., Лукьянов В.Д., Мядель А.А., Шинкарев С.А., Корнев А.А., Васильев Н.В., Цветаев В.А., Кульбакин Д.Е. Использование биоадаптированных имплантатов на основе никелида титана в хирургической реабилитации больных раком гортани (результаты десятилетнего кооперированного исследования) // Вестник РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН. 2010. Т. 21, № 1. С. 65–70.
7. Пачес А.И. Опухоли головы и шеи. М., 2013. 478 с.
8. Поддубный Б.К., Белоусова Н.В., Унгуадзе Г.В. Диагностическая и лечебная эндоскопия верхних дыхательных путей. М., 2006. 256 с.
9. Соколов В.В., Телегина Л.В., Гладышев А.А., Франк Г.А., Завалишина Л.Э., Белоус Т.А. Современные методы диагностики облитеративного предрака и раннего рака гортани // Опухоли головы и шеи. 2013. № 3. С. 44–48.
10. Черемисина О.В., Чойнзонов Е.Л. Возможности эндоскопической диагностики предопухолевых заболеваний и рака гортани в современной онкологии // Сибирский онкологический журнал. 2007. № 3. С. 5–9.
11. Чойнзонов Е.Л. Рак верхних отделов дыхательного и пищеварительного тракта (эпидемиологические и иммуновирологические аспекты, оценка эффективности лечения): Автореф. ... дис. д-ра мед. наук. Томск, 1995. 46 с.
12. Ashraf M.J., Maghbul M., Azarpira N., Khademi B. Expression of Ki67 and P53 in primary squamous cell carcinoma of the larynx // Indian. J. Pathol. Microbiol. 2010. Vol. 53 (4). P. 661–665. doi: 10.4103/0377-4929.72019.
13. Nunes R.B., Behlau M., Nunes M.B., Paulino J.G. Clinical diagnosis and histological analysis of vocal nodules and polyps // Braz. J. Otorhinolaryngol. 2013. Vol. 79 (4). P. 434–440. doi: 10.5935/1808-8694.2013007.
14. Cosway B., Paleri V. Laryngeal dysplasia: an evidence-based flowchart to guide management and follow up // J. Laryngol. Otol. 2015. Vol. 129 (6). P. 598–599. doi: 10.1017/S0022215115000833.
15. Hu Y., Liu H. Histopathological variability and the prognosis of laryngeal premalignant lesions // Zhonghua Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi. 2014. Vol. 49 (12). P. 979–985.
16. Hussein M.R. Alterations of p53 and Bcl-2 protein expression in the laryngeal intraepithelial neoplasia // Cancer Biol. Ther. 2005. Vol. 4 (2). P. 213–217.
17. Ioachim E., Peschos D., Goussia A., Mittari E., Charalabopoulos K., Michael M., Salmas M., Vougiouklakis T., Assimakopoulos D., Agnantis N.J. Expression patterns of cyclins D1, E in laryngeal epithelial lesions: correlation with other cell cycle regulators (p53, pRb, Ki-67 and PCNA) and clinicopathological features // J. Exp. Clin. Cancer Res. 2004. Vol. 23 (2). P. 277–283.
18. Micozkadioğlu D., Unal M., Pata Y.S., Baştürk M., Cinel L. Prognostic value of expression of p53, proliferating cell nuclear antigen, and c-erbB-2 in laryngeal carcinoma // Med. Sci. Monit. 2008. Vol. 14 (6). P. 299–304.
19. Pastuszewski W., Dziegiel P., Krecicki T., Podhorska-Okolow M., Ciesielska U., Gorzynska E., Zabel M. Prognostic significance of metallothionein, p53 protein and Ki-67 antigen expression in laryngeal cancer // Anticancer Res. 2007. Vol. 27 (1A). P. 335–342.
20. Rodrigo J.P., García-Pedrero J.M., Suárez C., Takes R.P., Thompson L.D., Slootweg P.J., Woolgar J.A., Westra W.H., Brakenhoff R.H., Rinaldo A., Devaney K.O., Williams M.D., Gnepp D.R., Ferlito A. Biomarkers predicting malignant progression of laryngeal epithelial precursor lesions: a systematic review // Eur. Arch. Otorhinolaryngol. 2012. Vol. 269 (4). P. 1073–1083. doi: 10.1007/s00405-011-1831-4.
21. Şimşek H., Han Ü., Önal B., Şimşek G. The expression of EGFR, cerbB2, p16, and p53 and their relationship with conventional parameters in squamous cell carcinoma of the larynx // Turk. J. Med. Sci. 2014. Vol. 44 (3). P. 411–416.

Поступила 15.05.15

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**Черемисина Ольга Владимировна**, доктор медицинских наук, заведующая эндоскопическим отделением, Томский НИИ онкологии (г. Томск), Российская Федерация. E-mail: CheremisinaOV@oncology.tomsk.ru. SPIN-код: 9579-2691

**Панкова Ольга Владимировна**, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник патологической анатомии и цитологии, Томский НИИ онкологии (г. Томск), Российская Федерация. E-mail: pankovaov1903@yandex.ru. SPIN-код: 3355-7118

**Меньшиков Кирилл Юрьевич**, врач-ординатор эндоскопического отделения, Томский НИИ онкологии (г. Томск), Российская Федерация. E-mail: kiri\_78@mail.ru

**Чойнзонов Евгений Лхаматренович**, академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, директор, Томский НИИ онкологии (г. Томск), Российская Федерация. E-mail: nii@oncology.tomsk.ru. SPIN-код: 2240-8730

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие финансовой поддержки / конфликта интересов, о котором необходимо сообщить

**EXPRESSION CHARACTERISTICS OF MARKERS OF PROLIFERATIVE ACTIVITY, APOPTOSIS AND CELL DIFFERENTIATION IN PATIENTS WITH PREMALIGNANT LESIONS AND CANCER OF THE LARYNX**

**O.V. Cheremisina<sup>1</sup>, O.V. Pankova<sup>1</sup>, K.Yu. Menshikov<sup>1</sup>, E.L. Choinzonov<sup>1,2</sup>**

Tomsk Cancer Research Institute, Tomsk<sup>1</sup>  
 Siberian State Medical University, Tomsk<sup>2</sup>  
 5, Kooperativny Street, 634009-Tomsk, Russia, e-mail: CheremisinaOV@oncology.tomsk.ru<sup>1</sup>

## Abstract

**The purpose of the study** was to determine the informative value of p53, CD 138 and Ki 67 markers in mucosal stratified squamous epithelium of patients with precancerous laryngeal lesions and laryngeal cancer. **Material and methods.** Expression of the above markers was analyzed in 80 patients with chronic laryngeal diseases and in 37 patients with laryngeal cancer. **Results.** The level of proliferative activity was shown to be directly proportional to more severe dysplastic and neoplastic lesions of the laryngeal mucosa, thus indicating the increased proliferative activity in precancerous lesions and their subsequent malignant transformation. Our data clearly show that suppression of apoptosis is one of the mechanisms of malignant epithelial transformation of epithelial cells. In difficult cases, a sharp increase in the levels of p53 and Ki 67 in patients with grade III dysplasia can be considered as an additional criterion for evaluation of risk of malignant transformation. Based on the results obtained, CD138, a cell differentiation marker, is recommended to be considered as an additional criterion for selecting patients with grade II dysplasia into the group being at high risk for laryngeal cancer development. **Conclusion.** Persistently increased Ki67 expression level serves as an additional criterion for inclusion of patients with precancerous lesions to the group at increased risk of cancer. Alterations in the expression levels of p53 in patients with grade III laryngeal dysplasia are the signs of possible progression of premalignant lesions.

**Key words:** premalignant lesions, laryngeal cancer, diagnostic markers, markers of apoptosis, cell differentiation and proliferative activity.

## REFERENCES

1. Gorban' N.A., Kudaibergenova A.G., Pankratov V.A. Prognostic value of markers for proliferative activity and apoptotic regulation in laryngeal squamous cell carcinoma // *Arhiv patologii*. Vol. 75 (1). P. 3–9. [in Russian]
2. Kaprin A.D., Starinskij V.V., Petrova G.V. Cancer incidence in Russia in 2013 (morbidity and mortality). M., 2015. P. 250. [in Russian]
3. Kovalenko S.N., Lapchenko A.S., Muratov D.L. Problems of diagnosis of chronic hyperplastic laryngitis // *Vestnik otorinolaringologii*. 2006. № 4. P. 27–30. [in Russian]
4. Kulagin R.N. Is p53 a prognostic factor in patients with laryngeal carcinoma? // *Rossijskaja otorinolaringologija*. 2012. № 6 (61). P. 92–95. [in Russian]
5. Muhamedov M.R., Cheremisina O.V., Choinzonov E.L., Kulbakin D.E., Balatskaya L.N., Vasiliev N.V., Gunther V.E. The modern view on complex approach when diagnosing, treating and aftercaring in larynx cancer patients // *Rossijskaja otorinolaringologija*. 2012. № 3. P. 78–84. [in Russian]
6. Muhamedov M.R., Choinzonov E.L., Gunter V.E., Cheremisina O.V., Lukyanov V.D., Myadzel A.A., Shinkarev S.A., Korenev A.A., Vasiliev N.V., Tsvetayev V.A., Kulbakin D.E. Titanium nikcevide-based bioadapted implants in surgical rehabilitation of patients with laryngeal cancer (results of a ten-year cooperative study) // *Vestnik RONC im. N. N. Blohina RAMN*. 2010. Vol. 21 (1). P. 65–70. [in Russian]
7. Paches A.I. Tumors of the head and neck. M., 2013. 478 p. [in Russian]
8. Poddubnyj B.K., Belousova N.V., Ungiadze G.V. Diagnostic and therapeutic endoscopy of the upper respiratory tract. M., 2006. 256 p. [in Russian]
9. Sokolov V.V., Telegina L.V., Gladyshev A.A., Frank G.A., Zavalishina L.E., Belov T.A. Modern methods of diagnostics of obligate premalignancy and early laryngeal cancer // *Opuholi golovy i shei*. 2013. № 3. P. 44–48. [in Russian]
10. Cheremisina O.V., Choinzonov E.L. Potentials of endoscopic diagnosis of precancer diseases and cancer of the larynx // *Sibirskij onkologicheskij zhurnal*. 2007. № 3. P. 5–9. [in Russian]
11. Choinzonov E.L. Cancer of the upper respiratory and digestive tract (epidemiological and immunovirological aspects, assessment of treatment effectiveness): Author's thesis. Tomsk, 1995. 46 p. [in Russian]
12. Ashraf M.J., Maghbul M., Azarpira N., Khademi B. Expression of Ki67 and P53 in primary squamous cell carcinoma of the larynx // *Indian. J. Pathol. Microbiol*. 2010. Vol. 53 (4). P. 661–665. doi: 10.4103/0377-4929.72019.
13. Nunes R.B., Behlau M., Nunes M.B., Paulino J.G. Clinical diagnosis and histological analysis of vocal nodules and polyps // *Braz. J. Otorhinolaryngol*. 2013. Vol. 79 (4). P. 434–440. doi: 10.5935/1808-8694.2013007.
14. Cosway B., Paleri V. Laryngeal dysplasia: an evidence-based flowchart to guide management and follow up // *J. Laryngol. Otol*. 2015. Vol. 129 (6). P. 598–599. doi: 10.1017/S0022215115000833.
15. Hu Y., Liu H. Histopathological variability and the prognosis of laryngeal premalignant lesions // *Zhonghua Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi*. 2014. Vol. 49 (12). P. 979–985.
16. Hussein M.R. Alterations of p53 and Bcl-2 protein expression in the laryngeal intraepithelial neoplasia // *Cancer Biol. Ther*. 2005. Vol. 4 (2). P. 213–217.
17. Ioachim E., Peschos D., Goussia A., Mittari E., Charalabopoulos K., Michael M., Salmas M., Vougiouklakis T., Assimakopoulos D., Agnantis N.J. Expression patterns of cyclins D1, E in laryngeal epithelial lesions: correlation with other cell cycle regulators (p53, pRb, Ki-67 and PCNA) and clinicopathological features // *J. Exp. Clin. Cancer Res*. 2004. Vol. 23 (2). P. 277–283.
18. Micozkadioglu D., Unal M., Pata Y.S., Bastürk M., Cinel L. Prognostic value of expression of p53, proliferating cell nuclear antigen, and c-erbB-2 in laryngeal carcinoma // *Med. Sci. Monit*. 2008. Vol. 14 (6). P. 299–304.
19. Pastuszewski W., Dziegiel P., Krecicki T., Podhorska-Okolow M., Ciesielska U., Gorzyska E., Zabel M. Prognostic significance of metallothionein, p53 protein and Ki-67 antigen expression in laryngeal cancer // *Anticancer Res*. 2007. Vol. 27 (1A). P. 335–342.
20. Rodrigo J.P., Garcia-Pedrero J.M., Suárez C., Takes R.P., Thompson L.D., Slootweg P.J., Woolgar J.A., Westra W.H., Brakenhoff R.H., Rinaldo A., Devaney K.O., Williams M.D., Gnepp D.R., Ferlito A. Biomarkers predicting malignant progression of laryngeal epithelial precursor lesions: a systematic review // *Eur. Arch. Otorhinolaryngol*. 2012. Vol. 269 (4). P. 1073–1083. doi: 10.1007/s00405-011-1831-4.
21. Şimşek H., Han Ü., Önal B., Şimşek G. The expression of EGFR, cerbB2, p16, and p53 and their relationship with conventional parameters in squamous cell carcinoma of the larynx // *Turk. J. Med. Sci*. 2014. Vol. 44 (3). P. 411–416.

## ABOUT THE AUTHORS

**Cheremisina Olga Vladimirovna**, MD, DSc, Head of Endoscopy Department, Tomsk Cancer Research Institute (Tomsk), Russian Federation. E-mail: CheremisinaOV@oncology.tomsk.ru. SPIN-code: 9579-2691.

**Pankova Olga Vladimirovna**, PhD, Senior Researcher, Department of Pathological Anatomy and Cytology, Tomsk Cancer Research Institute (Tomsk), Russian Federation. E-mail: pankovaov1903@yandex.ru. SPIN-code: 3355-7118.

**Menshikov Kirill Yurievich**, physician, Endoscopy Department, Tomsk Cancer Research Institute (Tomsk), Russian Federation. E-mail: kiri\_78@mail.ru

**Choinzonov Evgeny Lhamatsirenovich**, MD, DSc, Professor, Academician of RAS, Director of the Tomsk Cancer Research Institute (Tomsk), Russian Federation. E-mail: nii@oncology.tomsk.ru. SPIN-code: 2240-8730

## ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ MSH2, MSH6, PMS2, MLH1 В ОПРЕДЕЛЕНИИ СТЕПЕНИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОСТИ АДЕНОКАРЦИНОМЫ ТОЛСТОЙ КИШКИ

Г.А. Раскин<sup>1,2</sup>, С.В. Петров<sup>3</sup>, Р.В. Орлова<sup>1,2</sup>

Российский научный центр радиологии и хирургических технологий, г. Санкт-Петербург<sup>1</sup>  
Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург<sup>2</sup>  
Казанский государственный медицинский университет, г. Казань<sup>3</sup>  
197758, г. Санкт-Петербург, п. Песочный, ул. Ленинградская, 70, e-mail: rasking@list.ru

### Аннотация

Микросателлитная нестабильность связана с нарушением функций генов MSH2, MLH1, PMS2 и MSH6, которые в норме осуществляют репарацию неспаренных нуклеотидов ДНК. В настоящее время известно, что микросателлитная нестабильность – это независимый прогностический фактор, определяющий степень злокачественности рака толстой кишки. Использование иммуногистохимии для исследования системы репарации неспаренных нуклеотидов имеет свои особенности и ограничения. **Материал и методы.** В исследование вошло 39 больных аденокарциномой толстой кишки из них умереннодифференцированная аденокарцинома – 28 (72 %), высокодифференцированная аденокарцинома – 3 (8 %), низкодифференцированная аденокарцинома – 5 (12 %), муцинозная аденокарцинома – 3 (8 %) случая. Иммуногистохимически по стандартному протоколу исследовались белки генов MSH2, MSH6, PMS2, MLH1. **Результаты.** Из 39 исследованных случаев в 6 (15 %) наблюдениях было выявлено выпадение экспрессии как минимум одного из исследованных маркеров. Из 6 полученных случаев с косвенными признаками MSI-H три аденокарциномы были низкодифференцированными, 1 – муцинозной, 2 – умереннодифференцированными. **Заключение.** Иммуногистохимическое исследование генов репарации ДНК может быть использовано для определения степени злокачественности аденокарциномы толстой кишки совместно с оценкой гистологической дифференцировки опухоли. При использовании только гистологической дифференцировки для определения степени злокачественности аденокарциномы толстой кишки в 10 % случаев она будет оценена неверно.

**Ключевые слова:** микросателлитная нестабильность, аденокарцинома толстой кишки, MSH2, MSH6, PMS2, MLH1.

Использование иммуногистохимических методов для исследования системы репарации неспаренных нуклеотидов имеет свои особенности и ограничения. В основном мутация MMR-генов сопровождается деградацией соответствующего белка и отрицательной иммуногистохимической реакцией. Иммуногистохимия, однако, не способна дифференцировать белок с миссенс-мутацией от дикого типа белка. Около 30 % случаев мутаций в MLH1 носят миссенс-характер, которые приводят к потере его функции, но сохраняют антигенные свойства [9]. Однако MMR-протеины функционируют в виде гетеродимеров [4]. MSH2 димеризуется с MSH6, образуя функциональный комплекс MutSa38, а MLH1 димеризуется с PMS2, формируя MutLα [3]. MLH1 – облигатный партнер PMS2, соответственно, нарушение структуры MLH1 приводит к разрушению димера и потере экспрессии второго белка. Однако мутации PMS2 и MSH6 не обязательно приводят к деградации их партнеров, потому что MLH1 и MSH2 могут альтернативно связываться с MSH3, MLH3 и PMS1. Тем не менее

иммуногистохимическое исследование PMS2 позволяет выявлять миссенс-мутации MLH1, даже в условиях его антигенной сохранности [10]. Мутации же данных генов во всех исследованных случаях сопровождаются выпадением экспрессии исследованных генов, но не наоборот. Это связано с тем, что в ряде случаев негативная иммуногистохимическая реакция является отражением гиперметилирования исследованного гена.

Микросателлитная нестабильность связана с нарушением функций генов MSH2, MLH1, PMS2 и MSH6, которые в норме осуществляют репарацию неспаренных нуклеотидов ДНК [5–7]. В наших предыдущих исследованиях во всех случаях с негативной реакцией хотя бы на один из исследованных маркеров (MLH1, PMS2, MSH2, MSH6) наблюдалась микросателлитная нестабильность [1]. В настоящее время известно, что микросателлитная нестабильность – это независимый прогностический фактор, определяющий степень злокачественности рака толстой кишки [2].

Таблица 1

**Характеристика антител к белкам генов репарации неспаренных нуклеотидов ДНК**

Антитело	Характеристика	Разведение	Фирма-производитель
MSH6	Кроличье, клон EPR3945	1:200	Abcam
MSH2	Мышиное, клон 25D12	1:20	DBS
PMS2	Мышиное, клон MOR4G	1:40	Novocastra Leica
MLH1	Мышиное, клон ES05	1:25	Novocastra Leica

**Материал и методы**

В исследование вошли 39 больных аденокарциномой толстой кишки, из них 26 женщин и 13 мужчин. Средний возраст составил 59 лет. Распределение по гистологической дифференцировке: умереннодифференцированная аденокарцинома – 28 (72 %), высокодифференцированная аденокарцинома – 3 (8 %), низкодифференцированная аденокарцинома – 5 (12 %), муцинозная аденокарцинома – 3 (8 %) случая.

Иммуногистохимическое исследование проводилось по стандартному протоколу: срезы с парафиновых блоков наносились на поли-L-лизиновые стекла с последующей инкубацией их при температуре 35–37°C в условиях термостата с целью плотного их прикрепления. Затем выполнялась депарафинизация материала в ксилоле, отмывка в 96 % и 70 % этиловых спиртах, дистиллированной воде. После этого проводилась демаскировка антигенов при температуре 96°C в буфере Antigen Retrieval Solution (DAKO), pH 9,0. Последовательно выполнялись ингибирование эндогенной пероксидазы 3 % перекисью водорода, инкубация первыми антителами к MSH2, MSH6, PMS2, MLH1 (табл. 1); выявление комплекса антиген – антитело осуществлялось при помощи системы визуализации DakoEnVision и диаминобензидина в качестве хромогена.

Окрашивание ядер осуществлялось при помощи гематоксилина Майера (инкубация была уменьшена в сравнении со стандартным протоколом). Оценивалась только ядерная реакция. Внутренним контролем была нормальная слизистая оболочка, прилежащая к аденокарциноме. Экспрессия считалась утраченной в случае, если более 50 % раковых клеток демонстрировали негативную реакцию. Отдельно отмечались случаи со сниженной экспрессией (менее 90 % клеток с позитивной реакцией).

**Результаты исследования и обсуждение**

Из 39 исследованных случаев в 6 (15 %) наблюдениях было выявлено выпадение экспрессии как минимум одного из исследованных маркеров (MSH2, MSH6, PMS2, MLH1) (рис. 1). В 4 случаях наблюдалась отрицательная иммуногистохимическая реакция на MLH1 и PMS2, а в 2 наблюдениях – на MSH6 и MSH2. Данный результат показывает, что 15 % изученных аденокарцином толстой кишки можно считать сцепленными с микросателлитной

нестабильностью высокой степени (MSI-H). По данным N.M. Lindor et al. [8], при проведении исследования MSI и MMR с использованием иммуногистохимии и ПЦР потеря экспрессии MSH2 и MLH1 в 100 % случаев сопровождается микросателлитной нестабильностью высокой степени. В наших предыдущих исследованиях мы получили аналогичные результаты [1]. Это особенно важно, потому что, согласно современной классификации ВОЗ, считается, что аденокарцинома толстой кишки с MSI-H имеет низкую степень злокачественности, независимо от ее гистологической дифференцировки [2]. В наших наблюдениях из 6

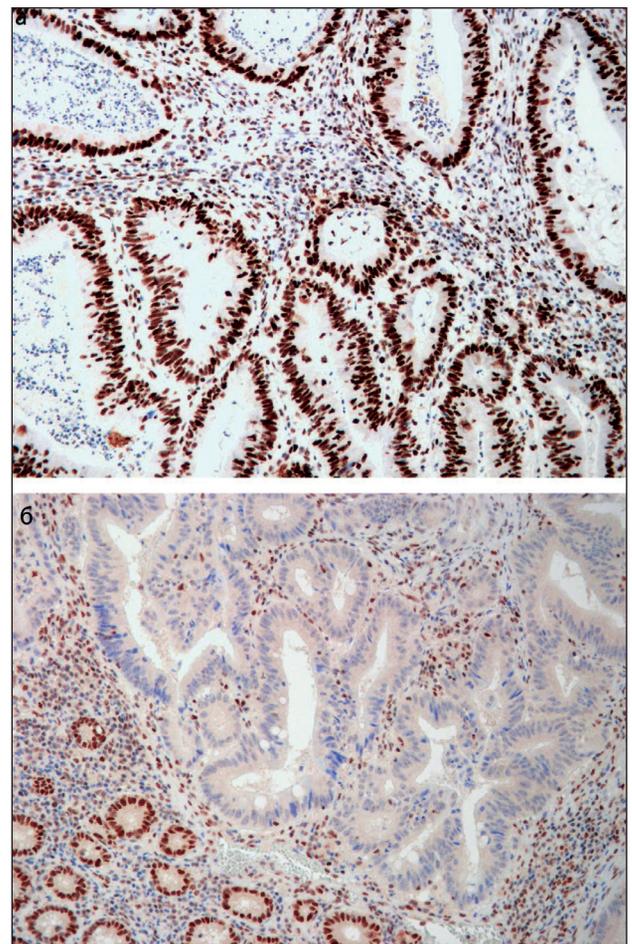


Рис. 1. Иммуногистохимическое исследование MSH6, MLH1 в аденокарциноме толстой кишки: а) интенсивная ядерная реакция на MSH6 в клетках аденокарциномы; б) выпадение экспрессии MLH1 в аденокарциноме (верхняя часть фотографии) в сравнении с сохраненной ядерной реакцией в нормальной слизистой оболочке (нижняя часть снимка). ×200

Таблица 2

**Распределение изученных случаев аденокарциномы толстой кишки по степени злокачественности в зависимости от использования критерия микросателлитной нестабильности**

Вид аденокарцином толстой кишки	Определение степени злокачественности без учета MSI (только гистологическая дифференцировка)	Определение степени злокачественности с учетом MSI
Низкой степени злокачественности (lowgrade)	31 (79 %)	35 (90 %)
Высокой степени злокачественности (highgrade)	8 (21 %)	4 (10 %)

случаев с косвенными признаками MSI-H 3 аденокарциномы были низкодифференцированными, 1 – муцинозной, 2 – умереннодифференцированными. Таким образом, без учета MSI четыре (10 %) случая из 39 были бы ложно расценены как опухоли высокой степени злокачественности (табл. 2).

**Заключение**

Иммуногистохимическое исследование генов репарации ДНК совместно с оценкой гистологической дифференцировки опухоли может быть использовано для определения степени злокачественности аденокарциномы толстой кишки. Если использовать для определения степени злокачественности данной опухоли только гистологическую дифференцировку, то в 10 % случаев она будет оценена неверно.

ЛИТЕРАТУРА

1. Раскин Г.А., Янус Г.А., Корнилов А.В., Орлова Р.В., Петров С.В., Протасова А.Э., Пожарисский К.М., Имянитов Е.Н. Иммуногистохимическое исследование MSH2, PMS2, MLH1, MSH6 в сопоставлении с анализом микросателлитной нестабильности в аденокарциноме толстой кишки // Вопросы онкологии. 2014. Т. 60, № 2. С. 47–50.  
 2. Bosman F.T., Carneiro F., Hruban R.H., Theise N.D. WHO classification of tumors the digestive system. Lyon: IARC Press, 2010. 417 p.  
 3. Harfe B.D., Minesinger B.K., Jinks-Robertson S. Discrete in vivo roles for the MutL homologs Mlh2p and Mlh3p in the removal of frameshift intermediates in budding yeast // Curr. Biol. 2000. Vol. 10 (3). P. 145–148.  
 4. Kadyrov F.A., Dzantiev L., Constantin N., Modrich P. Endonucleolytic function of MutLalpha in human mismatch repair // Cell. 2006. Vol. 126 (2). P. 297–308.  
 5. Kamat N., Khidhir M.A., Alashari M.M., Rannug U. Microsatellite instability and loss of heterozygosity detected in middle-aged patients with sporadic colon cancer: A retrospective study // Oncol. Lett. 2013. Vol. 6 (5). P. 1413–1420.

6. Kheirelseid E.A., Miller N., Chang K.H., Curran C., Hennessey E., Sheehan M., Kerin M.J. Mismatch repair protein expression in colorectal cancer // J. Gastrointest. Oncol. 2013. Vol. 4. P. 397–408. doi: 10.3978/j.issn.2078-6891.2013.021.  
 7. Kinzler K.W., Vogelstein B. Lessons from hereditary colorectal cancer // Cell. 1996. Vol. 87 (2). P. 159–170.  
 8. Lindor N.M., Burgart L.J., Leontovich O., Goldberg R.M., Cunningham J.M., Sargent D.J., Walsh-Vockley C., Petersen G.M., Walsh M.D., Leggett B.A., Young J.P., Barker M.A., Jass J.R., Hopper J., Gallinger S., Bapat B., Redston M., Thibodeau S.N. Immunohistochemistry versus microsatellite instability testing in phenotyping colorectal tumors // J. Clin. Oncol. 2002. Vol. 20 (4). P. 1043–1048.  
 9. Peltomaki P., Vasen H. Mutations associated with HNPCC predisposition – Update of ICG-HNPCC/INSiGHT mutation database // Dis. Markers. 2004. Vol. 20 (4–5). P. 269–276.  
 10. Shia J. Immunohistochemistry versus Microsatellite Instability Testing For Screening Colorectal Cancer Patients at Risk for Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer Syndrome. Part I. The Utility of Immunohistochemistry // J. Mol. Diagn. 2008. Vol. 10 (4). P. 293–300. doi: 10.2353/jmoldx.2008.080031.

Поступила 13.03.15

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**Раскин Григорий Александрович**, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Санкт-Петербург, п. Песочный), Российская Федерация. E-mail: rasking@list.ru. SPIN-код: 4569-9756

**Петров Семен Венедиктович**, доктор медицинских наук, профессор кафедры патологии, Казанский государственный медицинский университет (г. Казань), Российская Федерация. SPIN-код: 3237-4735

**Орлова Рашида Вахидовна**, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой онкологии, медицинский факультет, Санкт-Петербургский государственный университет (г. Санкт-Петербург), Российская Федерация. SPIN-код: 9932-6170

**Авторы данной статьи подтвердили отсутствие финансовой поддержки / конфликта интересов, о котором необходимо сообщить**

## IMMUNOHISTOCHEMICAL STUDY OF MSH2, MSH6, PMS2, MLH1 IN EVALUATION OF DIFFERENTIATION GRADE OF COLON ADENOCARCINOMA

G.A. Raskin<sup>1,2</sup>, S.V. Petrov<sup>3</sup>, R.V. Orlova<sup>1,2</sup>

Russian Research Center for Radiology and Surgical Technologies, Saint Petersburg<sup>1</sup>

Saint Petersburg State University, Saint Petersburg<sup>2</sup>

Kazan State Medical University, Kazan<sup>3</sup>

70, Leningradskaya Street, Pesochny, 197758-Saint Petersburg, Russia, e-mail: rasking@list.ru

### Abstract

Microsatellite instability is associated with dysfunction of the MSH2, MLH1, PMS2 and MSH6 genes, which participate in the repair of unpaired nucleotides of DNA. It is known that microsatellite instability is an independent prognostic factor in determining the differentiation grade of colon cancer. The use of immunohistochemistry to study the repair system of unpaired nucleotides has its own characteristics and limitations. **Materials and methods.** The study included 39 patients with colon adenocarcinoma. Moderately-differentiated colon adenocarcinoma was the most common histological type (72 %). There were 8 % of well-differentiated and 12 % poorly-differentiated carcinomas. Immunohistochemical analysis of SH2, MSH6, PMS2 and MLH1 proteins was done according to the standard protocol. **Results.** Out of 39 cases, 6 (15 %) had loss of expression of at least one of the studied proteins. Out of these 6 cases with indirect signs of MSI-H, 3 were poorly-differentiated, 1 was mucinous and 2 were moderately differentiated adenocarcinomas. **Conclusion.** Thus, immunohistochemical analysis of DNA repair genes can be used to determine the histological differentiation of colon adenocarcinoma.

**Key words:** microsatellite instability, colon adenocarcinoma, MSH2, MSH6, PMS2, MLH1.

### REFERENCES

1. Raskin G.A., Janus G.A., Kornilov A.V., Orlova R.V., Petrov S.V., Protasova A. Je., Pozharisskij K.M., Imjanitov E.N. Immunohistochemistry of MSH2, PMS2, MLH1, MSH6 versus microsatellite instability in colon adenocarcinoma // *Voprosy onkologii*. 2014. Vol. 60 (2). P. 47–50. [in Russian]
2. Bosman F.T., Carneiro F., Hruban R.H., Theise N.D. WHO classification of tumors the digestive system. Lyon: IARC Press, 2010. 417 p.
3. Harfe B.D., Minesinger B.K., Jinks-Robertson S. Discrete in vivo roles for the MutL homologs Mlh2p and Mlh3p in the removal of frameshift intermediates in budding yeast // *Curr. Biol*. 2000. Vol. 10 (3). P. 145–148.
4. Kadyrov F.A., Dzantiev L., Constantin N., Modrich P. Endonucleolytic function of MutLalpha in human mismatch repair // *Cell*. 2006. Vol. 126 (2). P. 297–308.
5. Kamat N., Khidhir M.A., Alashari M.M., Rannug U. Microsatellite instability and loss of heterozygosity detected in middle-aged patients with sporadic colon cancer: A retrospective study // *Oncol. Lett*. 2013. Vol. 6 (5). P. 1413–1420.
6. Kheirleiseid E.A., Miller N., Chang K.H., Curran C., Hennessey E., Sheehan M., Kerin M.J. Mismatch repair protein expression in colorectal cancer // *J. Gastrointest. Oncol*. 2013. Vol. 4. P. 397–408. doi: 10.3978/j.issn.2078-6891.2013.021.
7. Kinzler K.W., Vogelstein B. Lessons from hereditary colorectal cancer // *Cell*. 1996. Vol. 87 (2). P. 159–170.
8. Lindor N.M., Burgart L.J., Leontovich O., Goldberg R.M., Cunningham J.M., Sargent D.J., Walsh-Vockley C., Petersen G.M., Walsh M.D., Leggett B.A., Young J.P., Barker M.A., Jass J.R., Hopper J., Gallinger S., Bapat B., Redston M., Thibodeau S.N. Immunohistochemistry versus microsatellite instability testing in phenotyping colorectal tumors // *J. Clin. Oncol*. 2002. Vol. 20 (4). P. 1043–1048.
9. Peltomaki P., Vasen H. Mutations associated with HNPCC predisposition – Update of ICG-HNPCC/INSiGHT mutation database // *Dis. Markers*. 2004. Vol. 20 (4–5). P. 269–276.
10. Shia J. Immunohistochemistry versus Microsatellite Instability Testing For Screening Colorectal Cancer Patients at Risk for Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer Syndrome. Part I. The Utility of Immunohistochemistry // *J. Mol. Diagn*. 2008. Vol. 10 (4). P. 293–300. doi: 10.2353/jmoldx.2008.080031.

### ABOUT THE AUTHORS

**Raskin Grigory Alexandrovich**, MD, PhD, Leading Researcher, Russian Research Center for Radiology and Surgical Technologies (Saint Petersburg), Russian Federation. E-mail: rasking@list.ru. SPIN-code: 4569-9756

**Petrov Semyen Venediktovich**, MD, Professor, Pathology Department, Kazan State Medical University (Kazan), Russian Federation. SPIN-код: 3237-4735

**Orlova Rashida Vakhidovna**, MD, Professor, Head of Oncology Department, Medical Faculty, Saint Petersburg State University (Saint Petersburg), Russian Federation. SPIN-code: 9932-6170

УДК: 618.146-006.6-08-07:615.28:615.849.1]-073.756.8

## МРТ В ОЦЕНКЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ХИМИОЛУЧЕВОГО ЛЕЧЕНИЯ МЕСТНОРАСПРОСТРАНЕННОГО РАКА ШЕЙКИ МАТКИ

Н.Г. Трухачёва<sup>1</sup>, И.Г. Фролова<sup>1</sup>, Л.А. Коломиец<sup>1,2</sup>, А.В. Усова<sup>1</sup>,  
Е.Г. Григорьев<sup>1</sup>, С.А. Величко<sup>1</sup>, О.Н. Чуруксаева<sup>1</sup>, О.В. Шпилёва<sup>1</sup>

Томский НИИ онкологии, г. Томск<sup>1</sup>

ГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Томск<sup>2</sup>  
634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5, e-mail: nataly-tru@yandex.ru<sup>1</sup>

### Аннотация

**Цель исследования:** оценка возможностей высокопольной МРТ в определении эффективности химиолучевого лечения у больных местнораспространенным раком шейки матки. **Материал и методы.** В исследование включено 43 пациентки. МР-томография выполнялась на МР-сканере MAGNETOM ESSENZA (SIEMENS, Германия) с напряженностью магнитного поля 1,5Т. Для уточнения распространения опухоли, определения границ опухоли, уточнения ее структуры применялось внутривенное болюсное введение парамагнетика, с получением динамической серии срезов и отсроченных сканов в стандартной T1-взвешенной последовательности. **Результаты.** При анализе диагностической ценности МРТ с применением болюсного контрастного усиления установлено, что методика является высокоинформативным методом, который может быть использован для мониторинга в процессе комбинированного химиолучевого лечения больных раком шейки матки. МРТ позволяет получать объективную информацию о динамике регрессии опухоли, степени изменения ее кровоснабжения и изменениях в метастатических регионарных лимфоузлах в процессе лечения.

**Ключевые слова:** магнитно-резонансная томография, рак шейки матки, эффективность химиолучевой терапии.

В последние годы отмечается рост заболеваемости РШМ среди молодых женщин в возрастной группе до 40 лет, особенно заметен прирост заболеваемости у женщин до 29 лет, составляющий около 7 % в год [1, 4, 5, 8, 12]. Почти половина женщин умирают в течение первого года с момента установления диагноза [6, 13–16]. Лучевая терапия считается стандартным методом для лечения местнораспространенных форм РШМ, но ее результаты остаются неудовлетворительными [1, 3, 9, 10]. В ведущих онкологических центрах мира проводятся клинические исследования по оценке эффективности химиолучевой терапии рака шейки матки у первично неоперабельных больных [3, 10]. В последние десятилетия отмечается повсеместный рост использования КТ и МРТ с целью определения эффективности лучевого и химиолучевого лечения, что обусловлено способностью этих методов, особенно МРТ, обеспечить адекватную оценку состояния анатомических структур таза, вовлекаемых в опухолевый процесс [7, 11, 15]. Установлено, что объем опухоли, распространение опухоли на тело матки, состояние тазовых и забрюшинных лимфоузлов, определяемые при

МРТ, являются независимыми факторами прогноза общей и безрецидивной выживаемости при местнораспространенном РШМ [7, 18, 22]. Возможность с помощью МРТ надежно исключить распространение опухоли на соседние тазовые органы, выявить уровень и определить причину обструкции мочеточников привела к уменьшению потребности в применении рентгенографических методов диагностики. МР-томограммы оказались полезными при планировании и подготовке к лучевому лечению [11, 17, 24].

Наличие метастазов в регионарных лимфоузлах – крайне неблагоприятный прогностический фактор, который существенно снижает выживаемость при РШМ. Однако возможности применения патоморфологического исследования для оценки состояния лимфоузлов существенно ограничены, поскольку многим больным РШМ не показано хирургическое лечение, в связи с чем становятся актуальными неинвазивные методы диагностики [23]. Кроме того, МРТ благодаря возможностям высокой тканевой контрастности позволяет регистрировать изменения, происходящие в процессе лечения как в первичной опухоли, так и в регионарных метастатических лимфоузлах. Однако

✉ Трухачева Наталия Геннадьевна, nataly-tru@yandex.ru

на фоне реактивных изменений бывает крайне затруднительно определить остаточную опухоль, в связи с чем проведение МРТ с динамическим контрастным усилением дает возможность определять зоны патологической васкуляризации [24]. Анализ литературных данных свидетельствует о значительной вариабельности результатов МРТ, сложности интерпретации визуальной картины в мониторинге химиолучевого лечения с целью оценки его эффективности.

**Целью исследования** явилась оценка возможностей высокопольной МРТ в мониторинге химиолучевого лечения с целью определения эффективности терапии и выявления рецидивов РШМ.

### Материал и методы

В исследование включены 43 больных местнораспространенным РШМ, ПА–ПВ стадий по классификации FIGO (2009), получивших химиолучевое лечение в Томском НИИ онкологии с 2008 по 2013 г. Средний возраст больных составил  $44,7 \pm 1,2$  года. Морфологически у 34 (79 %) женщин диагностирован плоскоклеточный рак, у 9 (20,9 %) — аденокарцинома разной степени дифференцировки.

Все больные получили химиолучевое лечение, из них 31 (72,1 %) пациентке проведено 2 курса неoadьювантной химиотерапии по схеме гемзар + цисплатин, с последующим курсом сочетанной лучевой терапии, включающим дистанционную гамма-терапию, СОД 46 Гр и внутриволостную ЛТ, СОД 50 Гр; 12 (27,9 %) больным проведен курс сочетанной лучевой терапии: дистанционная гамма-терапия, СОД 46 Гр + внутриволостная ЛТ, СОД 50 Гр с радиомодификацией цисплатином в разовой дозе – 40 мг/м<sup>2</sup>, суммарная доза – 300 мг.

Оценка эффективности химиолучевого лечения проводилась по критериям RECIST с помощью МРТ, которая выполнялась на МР-сканере MAGNETOM ESSENZA (SIEMENS, Германия) с напряженностью магнитного поля 1,5Т. Магнитно-резонансное исследование органов малого таза выполнялось в Т2-взвешенных изображениях (Т2-ВИ), Т1-взвешенных изображениях (Т1-ВИ) в аксиальной, коронарной, сагиттальной плоскостях. Основными в протоколе исследования являлись Т2-ВИ, полученные с помощью импульсных последовательностей турбо- или быстрого спинэхо (TSE, FSE), обеспечивающих хороший контраст между опухолью и окружающими тканями. На сагиттальных срезах оценивали распространение опухоли вдоль длинной оси матки, ее переход на тело, а также взаимоотношения между опухолью и задней стенкой мочевого пузыря и/или передней стенкой прямой кишки. Аксиальные и коронарные срезы использовались для оценки перехода опухоли на стенки таза и визуализации лимфоузлов. Наилучшая визуализация параметральной инвазии

достигалась с помощью косых аксиальных срезов, ориентированных перпендикулярно длинной оси шейки матки. Обструкция мочеточников хорошо определялась с помощью методики МР-урографии (получение толстого среза в коронарной плоскости с сильной взвешенностью по Т2). Данная методика позволила в течение нескольких секунд, не прибегая к контрастированию, получить изображение мочевого пузыря и расширенных мочеточников. Хороший контраст между лимфоузлами и окружающей жировой клетчаткой обеспечивал режим Т1. При использовании Т2-ВИ-режима лимфоузлы лучше дифференцировались от скелетных мышц, яичников и сосудов. Преимуществом фронтальной плоскости являлась возможность исследовать забрюшинное пространство от лонного сочленения до уровня почечных сосудов. Для визуализации увеличенных парааортальных лимфоузлов были использованы сагиттальные изображения. Аксиальные срезы для адекватной оценки структуры лимфоузлов охватывали область от лонного сочленения до почечных сосудов.

При выполнении магнитно-резонансной томографии для уменьшения артефактов от перистальтики кишечника пациентам было рекомендовано воздерживаться от приема пищи в течение 5–6 ч до исследования с применением вечером перед исследованием антиперистальтических препаратов. Артефакты от дыхательных движений передней брюшной стенки устранялись программными средствами (с помощью полосы сатурации) или механической компрессией живота эластичным поясом.

Для определения границ опухоли, уточнения ее распространенности и структуры применялось внутривенное болюсное введение парамагнетика (Омнискан) в дозе 2 мл/10 кг массы тела, с получением динамической серии срезов с интервалом 12–14 сек и отсроченных сканов в стандартной Т1-взвешенной последовательности. С целью оценки распространения опухоли за пределы шейки матки дополнительно проводилось исследование с программой «подавления» сигнала от жировой ткани (Т2-FatSat или TIRM). Во всех случаях выполнялась контрольная МРТ органов малого таза через 3, 6, 9 и 12 мес после лечения.

Статистический анализ данных проводился с использованием Microsoft Excel и пакета прикладных статистических программ SPSS 13.0. Данные представлены как абсолютные частоты и процентные доли.

### Результаты исследования и обсуждение

Оценка эффективности лечения осуществлялась с учетом анализа изменений следующих параметров: размеров опухоли, степени инфильтрации парацервикальной клетчатки, вовлечения матки и смежных органов, характеристики накопления контрастного вещества тканью опухоли, состояния регионарных лимфоузлов. До лечения во всех слу-



Рис. 1. МРТ органов малого таза. Пациентка И., 42 года. До начала лечения в области шейки матки визуализируется циркулярно расположенное мягкотканное опухолевое образование, инфильтрирующее все слои шейки, цервикальный канал и парацервикальную клетчатку. Эндоцервикс замещен опухолевой тканью, цервикальный канал не визуализируется, с признаками опухолевой инфильтрации на всем протяжении опухоли. Визуализируется нечеткость и прерывистость наружного слоя шейки матки в области передней губы, интенсивность парацервикальной клетчатки на этом уровне в T2-режиме снижена

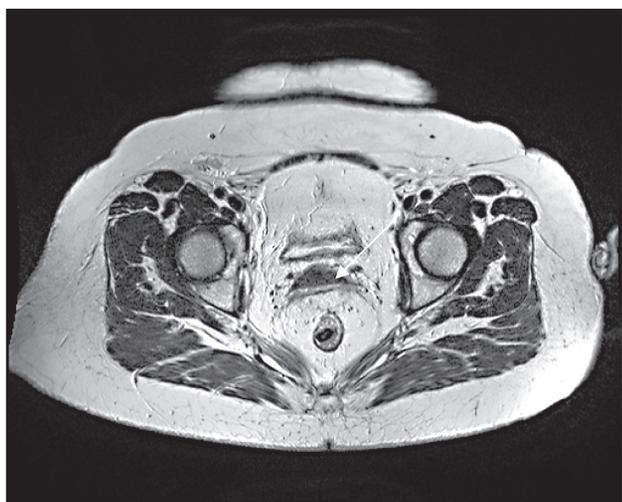


Рис. 2. МРТ органов малого таза. Пациентка И., 42 года. Через 3 мес после химиолучевого лечения в области шейки матки опухолевое образование не визуализируется, шейка матки с фиброзными изменениями. Интенсивность сигнала от парацервикальной клетчатки не изменена

чаях имелось поражение стромы шейки матки, характеризующееся очагом повышения МР-сигнала на T2-ВИ, разрывающим кольцо гипоинтенсивной стромы. Размеры опухоли варьировали от 5 до 60 мм, в среднем –  $32 \pm 3$  мм. Переход опухоли шейки на тело матки определялся в 44,1 % случаев, при этом на томограммах визуализировалось распространение опухолевых масс через внутренний зев в полость матки с нарушением ее нормальной зональной анатомии с изменением интенсивности МР-сигнала на T2-ВИ. Распространение опухоли на парацервикальную клетчатку отмечено в 60,4 %, что характеризовалось прерыванием целостности гипоинтенсивной полоски стромы шейки матки в сочетании с неровностью и размытостью контуров опухоли в этом месте (рис. 1). Распространение опухолевой инфильтрации на смежные органы (мочевой пузырь, прямую кишку) выявлено в 18,6 %. При проведении болюсного контрастного усиления в большинстве случаев (65,1 %) визуализировалось интенсивное неравномерное накопление контрастного вещества опухолью, что свидетельствовало о наличии развитой сети внутриопухолевых сосудов, в остальных случаях отмечалось умеренное и слабое накопление контрастного вещества тканью опухоли – 27,9 % и 7 % случаев соответственно. В 88,3 % при контрастном усилении было отмечено повышение четкости контуров опухоли, что позволило исключить или подтвердить наличие инфильтрации смежных органов.

При динамическом наблюдении через 3 мес после химиолучевого лечения в 21 % случаев по данным МРТ у больных исчезла инфильтрация стромы шейки матки. Размеры опухоли через 3 мес после лечения уменьшились в 88,3 % случаев. Частота выявления инфильтрации парацервикальной клетчатки уменьшалась с 60 до 32 % (рис. 2). Переход опухолевого процесса на тело матки сохранился в 34,8 % случаев и визуализировался в виде участка повышенной интенсивности на T2-ВИ без четких контуров в области нижнего сегмента матки с нарушением ее нормальной зональной анатомии. У половины женщин с исходным распространением опухоли на смежные органы зафиксирована положительная динамика в виде уменьшения степени инфильтрации.

Через 6 и 9 мес после окончания лечения продолжали наблюдаться явления регрессии размеров опухоли (с  $25 \pm 3$  мм до  $15 \pm 3$  мм), уменьшения размеров инфильтрации парацервикальной клетчатки (у 9,3 % больных), переход опухолевого процесса на тело матки сохранился в 18 % и 11,6 % случаев соответственно.

Через 12 мес после лечения инфильтрация стромы шейки матки исчезла у 41,9 % больных (рис. 3). Распространение опухоли на парацервикс сохранилось в 9,3 % случаев. Частота перехода опухоли на тело матки уменьшилась с 34,8 до 11,6 % случаев. Уменьшение опухолевой инфильтрации на смежные

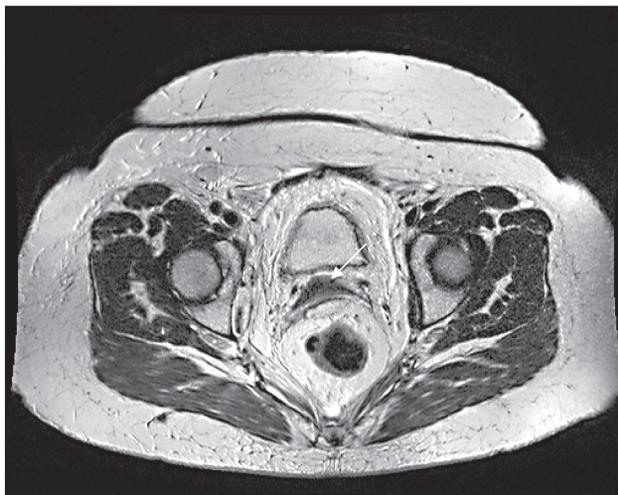


Рис. 3. МРТ органов малого таза. Пациентка И., 42 года. Через 12 мес после химиолучевого лечения в области шейки матки опухолевое образование не визуализируется, шейка матки с фиброзными изменениями. Интенсивность сигнала от парацервикальной клетчатки не изменена

органы зафиксировано в 7 % случаев. Динамика регрессии первичной опухоли в процессе химиолучевого лечения представлена в табл. 1.

По данным МРТ-мониторинга у большей части пациенток отмечена значительная регрессия опухолевого процесса. При этом уменьшение размеров опухоли после химиолучевого лечения более 50 % отмечено у 21 (48,8 %), от 25 до 50 % – у 13 (30,2 %), менее 25 % – у 9 (20,9 %) больных, у 2 (4,6 %) пациенток на фоне лечения наблюдалась отрицательная динамика. Полная регрессия опухоли

достигнута у 14 (32,5 %), частичная регрессия – у 7 (16,3 %), стабилизация процесса – у 13 (30,2 %) пациенток (табл. 2).

По нашим данным, в процессе и после окончания лечения определялось уменьшение степени инфильтративных изменений. Структура опухоли визуализировалась как неоднородная с наличием множественных T1 и T2-гиподенсных включений линейной формы или участка сниженной интенсивности, так называемой зоны инициального фиброза. У большинства больных уменьшение размеров опухоли в процессе комбинированного химиолучевого лечения происходило параллельно и пропорционально снижению степени накопления контрастного вещества, что свидетельствовало об уменьшении кровоснабжения опухоли. При полной ремиссии отмечалось восстановление нормальной анатомической структуры шейки матки и проксимального участка влагалища, что определялось картиной восстановления однородного сигнала низкой интенсивности от стромы, визуализацией ровной слизистой оболочки на фоне уменьшения в размерах шейки матки. При проведении болюсного контрастного усиления было установлено, что в проекции ранее определяемой опухоли (в зоне сохраняющегося умеренно повышенного MR-сигнала на T2-ВИ) на постконтрастных T1-ВИ отмечалось накопление контраста, визуально идентичное неизменной строме.

Оценка состояния лимфоузлов также является одной из важнейших задач MR-исследования при РШМ. К сожалению, точность традиционной МРТ в диагностике метастатического поражения лимфо-

Таблица 1

#### Динамика регрессии первичной опухоли у больных местнораспространенным раком шейки матки

МР-локализация	До лечения	Сроки наблюдения после лечения			
		3 мес	6 мес	9 мес	12 мес
Строма шейки матки	43 (100 %)	34 (79 %)	28 (65,1 %)	25 (58,1 %)	25 (58,1 %)
Парацервикальная клетчатка	26 (60,4 %)	14 (32,5 %)	9 (20,9 %)	4 (9,3 %)	4 (9,3 %)
Тело матки	19 (44,1 %)	15 (34,8 %)	8 (18,6 %)	5 (11,6 %)	5 (11,6 %)
Смежные органы	8 (18,6 %)	4 (9,3 %)	1(2,3 %)	1(2,3 %)	1(2,3 %)

Таблица 2

#### Степень регрессии опухоли шейки матки через 12 мес после химиолучевого лечения в зависимости от стадии и размеров

Стадия РШМ	Размеры опухоли	Степень регрессии опухоли шейки матки		
		<25 %	≥25–50 %	≥50–100 %
IIB	5–20 мм	2 (4,6 %)	2 (4,6 %)	7 (16,3 %)
	21–30 мм	1 (2,3 %)	3 (6,9 %)	4 (9,3 %)
	31–60 мм	1 (2,3 %)	1 (2,3 %)	1 (2,3 %)
IIIA	5–20 мм	-	1 (2,3 %)	2 (4,6 %)
	21–30 мм	-	1 (2,3 %)	-
	31–60 мм	2 (4,6 %)	1 (2,3 %)	-
IIIB	5–20 мм	-	-	4 (9,3 %)
	21–30 мм	-	4 (9,3 %)	3 (6,9 %)
	31–60 мм	3 (6,9 %)	-	-
Всего		9 (20,9 %)	13 (30,2 %)	21 (48,8 %)

**Динамика изменений размеров регионарных лимфоузлов  
у больных местнораспространенным раком шейки матки**

Группы лимфоузлов	До лечения	Сроки наблюдения после лечения			
		3 мес	6 мес	9 мес	12 мес
Парацервикальные	2 (4,6 %)	-	-	-	-
Параректальные	5 (11,6 %)	3 (6,9 %)	-	-	-
Наружные подвздошные	37 (86 %)	12 (27,9 %)	10 (23,2 %)	7 (16,2 %)	9 (20,9 %)
Внутренние подвздошные	11 (25,5 %)	7 (16,2 %)	5 (11,6 %)	5 (11,6 %)	3 (6,9 %)
Общие подвздошные	23 (53,4 %)	17 (39,5 %)	15 (34,8 %)	14 (32,5 %)	12 (27,9 %)
Паховые	17 (39,5 %)	12 (27,9 %)	9 (20,9 %)	7 (16,2 %)	7 (16,2 %)
Парааортальные	17 (39,5 %)	7 (16,2 %)	6 (13,9 %)	6 (13,9 %)	6 (13,9 %)
Паракавальные	5 (11,6 %)	3 (6,9 %)	2 (4,6 %)	2 (4,6 %)	2 (4,6 %)

узлов оценивается как невысокая. Использование контрастного усиления препаратами гадолиния не дает дополнительной информации для определения состояния лимфоузлов, а органоспецифичные лимфотропные контрастные препараты на основе ультрамелких суперпарамагнитных частиц оксида железа пока остаются недоступными для клинического применения.

Основным критерием оценки лимфоузлов с помощью любого томографического метода служит размер, причем предпочтение отдается поперечному размеру. В качестве точки разделения используют значения в интервале от 6 до 15 мм, но наиболее часто верхней границей нормы для тазового лимфоузла считают 10 мм. Минимальный диаметр более 10 мм служит наиболее достоверным критерием метастатического поражения лимфоузла, хотя некоторые авторы считают подозрительными тазовые лимфоузлы с максимальным размером, превышающим 10 мм [2, 20]. Кроме того, имеются данные о том, что при метастатическом поражении лимфоузла его форма округляется [21]. Поэтому в качестве косвенного признака метастатического поражения лимфоузла предлагается использовать критерий увеличения отношения меньшего к большему диаметра более 0,8 [19]. Однако даже мелкие лимфоузлы могут оказаться пораженными метастазами, а увеличенные лимфоузлы могут не содержать опухолевой ткани [19, 24]. Вместе с тем при выявлении больших конгломератов лимфоузлов (более 20 мм) с наличием в их структуре участков распада и кровоизлияний метастатический характер их поражения не вызывает сомнений. Есть данные о том, что наличие центрального некроза в лимфоузле может быть использовано для диагностики его метастатического поражения. Положительное прогностическое значение этого признака независимо от размера узла составляет 100 %. Некроз проявляется на МРТ сигналом, изоинтенсивным жидкости в режимах T1 и T2 [22].

Изменения, выявленные при МРТ в лимфатических узлах, позволили адекватно стратифицировать

лимфогенное распространение процесса по критерию N системы TNM (табл. 3). При этом в 4,6 % случаев было обнаружено увеличение лимфоузлов больше чем на 10 мм в поперечнике в парацервикальной клетчатке, в 11,6 % – в параректальной клетчатке. Лимфоузлы по ходу наружных подвздошных сосудов были увеличенными в 86,0 %, по ходу внутренних подвздошных сосудов – в 25,5 %, по ходу общих подвздошных сосудов – в 53,4 % случаев; увеличение парааортальных лимфоузлов отмечалось в 39,5 %, паракавальных – в 11,6 %, паховых – в 39,5 % наблюдений. Контуры лимфоузлов были бугристыми в 82 %. В большинстве (74,2 %) случаев лимфоузлы подавали T1- и T2-гипоинтенсивный сигнал, их структура была неоднородной за счет наличия жидкостных включений в 16,6 %.

При контрольной МРТ через 3 мес после лечения было установлено, что лимфоузлы в парацервикальной клетчатке не визуализировались в 100 %, в параректальной клетчатке лимфоузлы сохранялись в 6,9 % случаев. Увеличение лимфоузлов по ходу наружных подвздошных сосудов сохранилось в 27,9 %, по ходу внутренних подвздошных сосудов – в 16,2 %, по ходу общих подвздошных сосудов – в 39,5 % случаев, увеличение парааортальных лимфоузлов продолжало определяться у 16,2 %, паракавальных – у 6,9 %, паховых – у 27,9 % больных.

Через 12 мес после лечения увеличение лимфоузлов по ходу наружных подвздошных сосудов наблюдалось в 20,9 %, по ходу внутренних подвздошных сосудов – в 6,9 %, по ходу общих подвздошных сосудов – в 27,9 % случаев; увеличение лимфоузлов парааортальной группы сохранилось у 13,9 %, паракавальной группы – у 4,6 %, паховой группы – у 16,2 % больных. Контуры лимфоузлов сохранялись бугристыми в 43 %. В большинстве (87,2 %) случаев сохранялся T1 и T2-гипоинтенсивный сигнал лимфоузлов, в 4,6 % случаев их структура оставалась неоднородной за счет наличия жидкостных включений.

## Заключение

Таким образом, результаты исследования свидетельствуют о том, что МРТ с применением болюсного контрастного усиления является высокоинформативным диагностическим методом, который может быть использован для мониторинга при комбинированном химиолучевом лечении больных местнораспространенным раком шейки матки, позволяющим получать объективную информацию о динамике регресса размеров, степени изменения кровоснабжения опухоли и состоянии регионарных лимфоузлов.

Анализ динамики распространенности опухоли в процессе мониторинга показал, что максимальное уменьшение размеров новообразования было зафиксировано через 3 мес после лечения, уменьшение инфильтрации парацервикальной клетчатки и восстановление структуры стенок тела

матки – в сроки от 3 до 6 мес после лечения. В то же время в процессе динамического наблюдения удалось определить прогрессирование заболевания через 12 мес после лечения, что проявлялось увеличением размеров опухоли на 25 % и более и появлением множественных метастазов в печень у 2 (4,6 %) пациенток.

Реакция лимфоузлов после химиолучевого лечения была наиболее выраженной в сроки от 3 до 6 мес, при этом наиболее выраженные изменения были зафиксированы в группах наружных подвздошных и параректальных/парацервикальных лимфоузлов, которые не визуализировались через 3 мес после химиолучевой терапии.

Полученные данные позволяют оптимизировать сроки проведения МРТ-мониторинга при химиолучевом лечении местнораспространенного рака шейки матки.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Аирафян Л.А., Антонова И.Б., Басова О.И., Ивашина С.В., Люстик А.В., Антошечкина М.А. Возможные пути реорганизации первичной медико-санитарной помощи в гинекологии в аспекте эффективной ранней диагностики рака репродуктивных органов // Опухоли женской репродуктивной системы. 2008. № 4. С. 57–63.
2. Березовская Т.П. Магнитно-резонансная томография в стадировании рака шейки матки // Вопросы онкологии. 2003. Т. 49, № 2. С. 227–231.
3. Канаев С.В. Принципы обоснования химиолучевого лечения злокачественных опухолей // Практическая онкология. 2008. Т. 9, № 1. С. 1–8.
4. Козаченко В.П. Современные возможности предупреждения рака шейки матки // Опухоли женской репродуктивной системы. 2007. № 3. С. 47–48.
5. Коломиец Л.А., Чуруксаева О.Н., Штилева О.В., Уразова Л.Н., Родичева Н.В. Особенности распространения различных типов вирусов папилломы человека (ВПЧ) у пациенток с цервикальными неоплазиями и раком шейки матки в г. Томске // Сибирский онкологический журнал. 2012. № 3. С. 41–45.
6. Практическая онкогинекология: избранные лекции / Под ред. А.Ф. Урманчевой, С.А. Тюляндина, В.М. Моисеенко. СПб., 2008. С. 168–180.
7. Рубцова Н.А., Новикова Е.Г., Синицын В.Е. Возможности МРТ в предоперационной оценке местной распространенности рака шейки матки // Акушерство, гинекология, репродукция. 2012. Т. 6, № 3. С. 6–13.
8. Статистика злокачественных новообразований в России и странах СНГ в 2012 г. / Под ред. М.И. Давыдова, Е.М. Аксель. М., 2014.
9. Танвердиева Э.К., Захарова Т.И., Баринев В.В., Жордания К.И., Приходько Е.В., Мамедова Л.Т. Сравнительный анализ клинико-прогностических факторов железисто-плоскоклеточного рака шейки матки IВ и IА стадии после хирургического и комбинированного метода лечения // Паллиативная медицина и реабилитация. 2012. № 4. С. 18–22.
10. Титова В.А., Харченко Н.В., Добровольская Н.Ю., Крейнина Ю.М. Стратегия и тактика современной лучевой терапии рака шейки и тела матки // Вопросы онкологии. 2009. № 4. С. 471–473.
11. Трухачёва Н.Г., Фролова И.Г., Коломиец Л.А., Усова А.В., Григорьев Е.Г., Величко С.А., Чернышова А.Л., Чуруксаева О.Н. Оценка распространенности рака шейки матки при использовании МРТ // Сибирский онкологический журнал. 2015. № 2. С. 64–69.
12. Чойизонов Е.Л., Писарева Л.Ф., Бояркина А.П., Одинцова И.Н., Тахауов Р.М. Онкологическая заболеваемость населения Томской области. Томск: Изд-во Том. ун-та, 2004. 253 с.
13. Чойизонов Е.Л., Писарева Л.Ф., Жуйкова Л.Д. Злокачественные новообразования в Томской области в 2004–2009 гг. Оценка качества диагностики // Сибирский онкологический журнал. 2011. № 3. С. 29–34.
14. Чуруксаева О.Н., Коломиец Л.А. Неoadьювантная химиотерапия при лечении местнораспространенных форм рака шейки матки // Сибирский онкологический журнал. 2013. № 2. С. 18–24.
15. Шавладзе З.Н., Березовская Т.П., Прошин А.А. Клинико-диагностические аспекты магнитно-резонансного стадирования рака шейки матки // Медицинская визуализация. 2009. № 5. С. 80–90.
16. Allen D., Narayan K. Managing advanced stage cervical cancer // Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol. 2005. Vol. 19 (4). P. 591–609.
17. Chiang S.H., Quek S.T. Carcinoma of the cervix: role of MR imaging // Ann. Acad. Med. Singapore. 2003. Vol. 32 (4). P. 550–556.
18. Choi H.J., Roh J.W., Seo S.S., Lee S., Kim J.Y., Kim S.K., Kang K.W., Lee J.S., Jeong J.Y., Park S.Y. Comparison of the accuracy of magnetic resonance imaging and positron emission tomography/computed tomography in the presurgical detection of lymph node metastases in patients with uterine cervical carcinoma // Cancer. 2006. Vol. 106 (4). P. 914–922. doi:10.1002/cncr.21641.
19. Hong K.S., Ju W., Choi H.J., Kim J.K., Kim M.H., Cho K.S. Differential Diagnostic Performance of Magnetic Resonance Imaging in the Detection of Lymph Node Metastases According to the Tumor Size in Early Stage Cervical Cancer Patients // Int. J. Gynecol. Cancer. 2010. Vol. 20 (5). P. 841–846. doi: 10.1111/IGC.0b013e3181db5140.
20. Hricak H., Brenner D.J., Adelstein S.J., Frush D.P., Hall E.J., Howell R.W., McCollough C.H., Mettler F.A., Pearce M.S., Suleiman O.H., Thrall J.H., Wagner L.K. Managing radiation use in medical imaging: a multifaceted challenge // Radiology. 2011. Vol. 258 (3). P. 889–905. doi:10.1148/radiol.10101157.
21. Mitchell D.G., Snyder B., Coakley F., Reinhold C., Thomas G., Amendola M.A., Schwartz L.H., Woodward P., Pannu H., Atri M., Hricak H. Early invasive cervical cancer: MRI and CT predictors of lymphatic metastases in the ACRIN 6651 / GOG 183 intergroup study // Gynecol. Oncol. 2009. Vol. 112 (1). P. 95–103. doi: 10.1016/j.ygyno.2008.10.005.
22. Narayan K., Fisher R.J., Bernshaw D. Patterns of failure and prognostic factor analyses in locally advanced cervical cancer patients staged by magnetic resonance imaging and treated with curative intent // Int. J. Gynecol. Cancer. 2008. Vol. 18 (3). P. 525–533. doi: 10.1111/j.1525-1438.2007.01050.x.
23. Parker K., Gallop-Evans E., Hanna L., Adams M. Five-year experience treating locally advanced cervical cancer with concurrent chemoradiotherapy and high-dose-rate brachytherapy: results from a single institution // Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 2009. Vol. 74 (1). P. 140–146. doi: 10.1016/j.ijrobp.2008.06.1920.
24. Zand K.R., Reinhold C., Abe H., Maheshwari S., Mohamed A., Upegui D. Magnetic resonance imaging of the cervix // Cancer Imag. 2007. Vol. 28 (7). P. 69–76. doi:10.1102/1470-7330.2007.0011.

Получена 7.07.15

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**Трухачева Наталия Геннадьевна**, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отделения лучевой диагностики, Томский НИИ онкологии (г. Томск), Российская Федерация. E-mail: nataly-tru@yandex.ru. SPIN-код: 5707-6093

**Фролова Ирина Георгиевна**, доктор медицинских наук, профессор, заведующая отделением лучевой диагностики, Томский НИИ онкологии (г. Томск), Российская Федерация. E-mail: frolovaig@oncology.tomsk.ru. SPIN-код: 9800-9777

**Коломиец Лариса Александровна**, доктор медицинских наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, заведующая отделением гинекологии с группой профилактики, Томский НИИ онкологии (г. Томск), Российская Федерация. E-mail kolomietsla@oncology.tomsk.ru. SPIN-код: 6316-1146

**Усова Анна Владимировна**, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отделения лучевой диагностики, Томский НИИ онкологии (г. Томск), Российская Федерация. E-mail: afina.tsk@gmail.com. SPIN-код: 3000-6564

**Григорьев Евгений Геннадьевич**, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отделения лучевой диагностики, Томский НИИ онкологии (г. Томск), Российская Федерация. SPIN-код: 2079-2370

**Величко Светлана Андреевна**, доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник отделения лучевой диагностики, Томский НИИ онкологии (г. Томск), Российская Федерация. SPIN-код: 3424-1996

**Чуруксаева Ольга Николаевна**, доктор медицинских наук, старший научный сотрудник отделения гинекологии с группой профилактики, Томский НИИ онкологии (г. Томск), Российская Федерация. SPIN-код: 4769-0636

**Шпилева Ольга Владимировна**, младший научный сотрудник отделения гинекологии с группой профилактики, Томский НИИ онкологии (г. Томск), Российская Федерация. SPIN-код: 1441-0681

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие финансовой поддержки / конфликта интересов, о котором необходимо сообщить

## MRI IN THE ASSESSMENT OF TUMOR RESPONSE TO CHEMORADIOTHERAPY IN PATIENTS WITH LOCALLY ADVANCED CERVICAL CANCER

**N.G. Trukhacheva<sup>1</sup>, I.G. Frolova<sup>1</sup>, L.A. Kolomiets<sup>1,2</sup>, A.V. Usova<sup>1</sup>, E.G. Grigorjev<sup>1</sup>, S.A. Velichko<sup>1</sup>, O.N. Churuksaeva<sup>1</sup>, O.V. Shpileva<sup>1</sup>**

Tomsk Cancer Research Institute, Tomsk<sup>1</sup>  
Siberian State Medical University, Tomsk<sup>2</sup>  
5, Kooperativny per., 634009-Tomsk, Russia, e-mail: nataly-tru@yandex.ru<sup>1</sup>

### Abstract

**Objective:** to evaluate the ability of high-field MRI to assess tumor response to chemoradiotherapy in patients with locally advanced cervical cancer. **Material and methods.** The study involved 43 patients. MRI was performed using a 1.5 Tesla MAGNETOM ESSENZA scanner (SIEMENS, Germany) with a magnetic field strength of 1.5 T. Intravenous bolus injection of paramagnetic contrast agent was used to assess the tumor spread and determine the tumor boundaries and its structure. Dynamic series of sections and delayed scans in standard T1-weighted sequence were obtained. **Results.** Dynamic contrast-enhanced MRI was shown to be a highly informative method that can be used to monitor the process of combined chemotherapy and radiation therapy in the treatment of patients with cervical cancer. It permits the objective assessment of the dynamics of tumor regression, changes in tumor vascularity and regional lymph node status.

**Key words:** magnetic resonance imaging, cervical cancer, response to chemoradiotherapy.

### REFERENCES

1. Ashrafyan L.A., Antonova I.B., Basova O.I., Ivashina S.V., Lustik A.B., Antoshechkina M.A. Ways of the primary medical care reorganization in gynecology in the aspect of early detection of reproductive system cancer // Female reproductive system tumors. 2008. № 4. P. 57–63. [in Russian]
2. Berezovskaya T.P. Magnetic resonance imaging in the staging of cervical cancer // Problems of Oncology. 2003. Vol. 49 (2). P. 227–231. [in Russian]
3. Kanaev S.V. The principles of justification of chemoradiation therapy of malignant tumors // Practical Oncology. 2008. Vol. 9 (1). P. 1–8. [in Russian]
4. Kozachenko V.P. Current cervical cancer prevention strategies // Female reproductive system tumors. 2007. № 3. P. 47–48. [in Russian]
5. Kolomiets L.A., Churuksaeva O.N., Shpilyeva O.V., Urazova L.N., Rodicheva N. W. Distribution characteristics of different types of human papillomavirus in patients with cervical dysplasia and cervical cancer

in Tomsk city // Siberian Journal of Oncology. 2012. № 3. P. 41–45. [in Russian]

6. *Practical gynecological oncology: selected lectures* / Eds. A.F. Urmanceeva, S.A. Tyulyandin, V.M. Moiseenko. Spb., 2008. P. 168–180. [in Russian]

7. Rubtsova N.A., Novikova E.G., Sinityn V.E. MRI in preoperative assessment of locally advanced cervical cancer // Obstetrics, gynecology, reproduction. 2012. Vol. 6 (3). P. 6–13. [in Russian]

8. *Cancer statistics in Russia and CIS countries in 2012* / Eds. M.I. Davydov, E.M. Aksel. M., 2014. [in Russian]

9. Tanriverdieva E.K., Zakharova T.I., Barinov V.V., Zhordania K.I., Prikhodko E.V., Mamedova J.I.T. Comparative analysis of clinical-prognostic factors of stage 1B и 1A glandular squamous cell cervical carcinoma after surgical and combined modality treatment // Palliative medicine and rehabilitation. 2012. № 4. P.18–22. [in Russian]

10. Titova V.A., Kharchenko N.V., Dobrovolskaya N.Yu., Kreinina Yu.M. Strategy and tactics of the modern radiation therapy for cancer

of the uterine cervix and corpus // *Problems of Oncology*. 2009. № 4. P. 471–473. [in Russian]

11. *Trukhacheva N.G., Frolova I.G., Kolomiets L.A., Usova A.V., Grigoryev E.G., Velichko S.A., Chernyshova A.L., Churuksaeva O.N.* Assessment of cervical cancer spread using MRI // *Siberian Journal of Oncology*. 2015. № 2. P. 64–69. [in Russian]

12. *Choinzonov E.L., Pisareva L.F., Boyarkina A.P., Odintsova I.N., Takhaov R.M.* Cancer incidence in Tomsk in 2004. Tomsk, 2004. 253 p. [in Russian]

13. *Choinzonov E.L., Pisareva L.F., Zhuikova L.D.* Cancer incidence in Tomsk during 2004 to 2009. Assessment of diagnostic accuracy // *Siberian Journal of Oncology*. 2011. № 3. P. 29–34. [in Russian]

14. *Churuksaeva O.N., Kolomiets L.A.* Neoadjuvant chemotherapy for locally advanced cervical cancer // *Siberian Journal of Oncology*. 2013. № 2. P. 18–24. [in Russian]

15. *Shavladze Z.N., Berezovskaya T.P., Proshin A.A.* Clinical and diagnostic aspects of magnetic resonance imaging in staging of cervical cancer // *Medical visualization*. 2009. № 5 P. 80–90. [in Russian]

16. *Allen D., Narayan K.* Managing advanced stage cervical cancer // *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.* 2005. Vol. 19 (4). P. 591–609.

17. *Chiang S.H., Quek S.T.* Carcinoma of the cervix: role of MR imaging // *Ann. Acad. Med. Singapore*. 2003. Vol. 32 (4). P. 550–556.

18. *Choi H.J., Roh J.W., Seo S.S., Lee S., Kim J.Y., Kim S.K., Kang K.W., Lee J.S., Jeong J.Y., Park S.Y.* Comparison of the accuracy of magnetic resonance imaging and positron emission tomography/computed tomography in the presurgical detection of lymph node metastases in patients with uterine cervical carcinoma // *Cancer*. 2006. Vol. 106 (4). P. 914–922. doi:10.1002/encr.21641.

19. *Hong K.S., Ju W., Choi H.J., Kim J.K., Kim M.H., Cho K.S.* Differential Diagnostic Performance of Magnetic Resonance Imaging in the Detection of Lymph Node Metastases According to the Tumor Size in Early Stage Cervical Cancer Patients // *Int. J. Gynecol. Cancer*. 2010. Vol. 20 (5). P. 841–846. doi: 10.1111/IGC.0b013e3181db5140.

20. *Hricak H., Brenner D.J., Adelstein S.J., Frush D.P., Hall E.J., Howell R.W., McCollough C.H., Mettler F.A., Pearce M.S., Suleiman O.H., Thrall J.H., Wagner L.K.* Managing radiation use in medical imaging: al multifaceted challenge // *Radiology*. 2011. Vol. 258 (3). P. 889–905. doi:10.1148/radiol.10101157.

21. *Mitchell D.G., Snyder B., Coakley F., Reinhold C., Thomas G., Amendola M.A., Schwartz L.H., Woodward P., Pannu H., Atri M., Hricak H.* Early invasive cervical cancer: MRI and CT predictors of lymphatic metastases in the ACRIN 6651 / GOG 183 intergroup study // *Gynecol. Oncol.* 2009. Vol. 112 (1). P. 95–103. doi: 10.1016/j.ygyno.2008.10.005.

22. *Narayan K., Fisher R.J., Bernshaw D.* Patterns of failure and prognostic factor analyses in locally advanced cervical cancer patients staged by magnetic resonance imaging and treated with curative intent // *Int. J. Gynecol. Cancer*. 2008. Vol. 18 (3). P. 525–533. doi: 10.1111/j.1525-1438.2007.01050.x.

23. *Parker K., Gallop-Evans E., Hanna L., Adams M.* Five-year experience treating locally advanced cervical cancer with concurrent chemoradiotherapy and high-dose-rate brachytherapy: results from a single institution // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2009. Vol. 74 (1). P. 140–146. doi: 10.1016/j.ijrobp.2008.06.1920.

24. *Zand K.R., Reinhold C., Abe H., Maheshwari S., Mohamed A., Upegui D.* Magnetic resonance imaging of the cervix // *Cancer Imag.* 2007. Vol. 28 (7). P. 69–76. doi:10.1102/1470-7330.2007.0011.

#### ABOUT THE AUTHORS

**Trukhacheva Natalia Gennadievna**, MD, PhD, Senior Researcher, Diagnostic Imaging Department, Tomsk Cancer Research Institute (Tomsk), Russian Federation. E-mail: nataly-tru@yandex.ru. SPIN-code: 6707-6093

**Frolova Irina Georgievna**, MD, Professor, Head of the Diagnostic Imaging Department, Tomsk Cancer Research Institute (Tomsk), Russian Federation. Phone: +7 (3822) 42-00-57. E-mail: FrolovaIG@oncology.tomsk.ru. SPIN-code: 9800-9777

**Kolomiets Larisa Alexandrovna**, MD, Professor, Honored Science Worker of Russian Federation, Head of Gynecology Department, Tomsk Cancer Research Institute (Tomsk), Russian Federation. E-mail: kolomietsla@oncology.tomsk.ru. SPIN-code: 6316-1146

**Usova Anna Vladimirovna**, MD, PhD, Senior Researcher, Diagnostic Imaging Department, Tomsk Cancer Research Institute (Tomsk), Russian Federation. E-mail: afina.tsk@gmail.com. SPIN-code: 3000-6564

**Grigorjev Evgeny Gennadievich**, MD, PhD, Senior Researcher, Diagnostic Imaging Department, Cancer Research Institute (Tomsk), Russian Federation. E-mail: adresprostoy@gmail.com. SPIN-code: 2079-2370

**Velichko Svetlana Andreevna**, MD, Professor, Principal Researcher, Diagnostic Imaging Department, Tomsk Cancer Research Institute (Tomsk), Russian Federation. SPIN-code: 3424-1996

**Churuksaeva Olga Nikolaevna**, MD, DSc, Senior Researcher, Department of Gynecology with the Group of Cancer Prevention, Tomsk Cancer Research Institute (Tomsk), Russian Federation. SPIN-code: 4769-0636

**Shpileva Olga Vladimirovna**, Researcher, Department of Gynecology with the Group of Cancer Prevention, Tomsk Cancer Research Institute (Tomsk), Russian Federation. SPIN-code: 1441-0681

## ОПЫТ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ КОМБИНАЦИИ РАДИОХИРУРГИИ И РЕЗЕКЦИИ ПЕЧЕНИ ПРИ ОБШИРНОМ МЕТАСТАТИЧЕСКОМ ПОРАЖЕНИИ

А.А. Зайков, А.В. Важенин, Д.В. Чайченко, Ю.В. Галямова

ГБУЗ «Челябинский областной клинический онкологический диспансер», г. Челябинск  
454087, г. Челябинск, ул. Блюхера, 42, e-mail: roc\_chel@mail.ru

### Аннотация

Представлен первый опыт использования на Урале комбинации радиохирургии и оперативного вмешательства при обширном метастатическом поражении. Данная методика позволяет проводить терапию, не боясь развития послеоперационной печеночной недостаточности, что дает возможность провести лечение в объеме R0 нерезектабельной группе больных.

**Ключевые слова:** радиохирургия, послеоперационная печеночная недостаточность, нерезектабельная группа больных.

Колоректальный рак (КРР) занимает лидирующие позиции по заболеваемости и смертности от злокачественных опухолей в мире. В России в 2009 г. зарегистрировано 57 363 новых случая КРР, 38 343 больных умерли по этой причине [2]. На момент постановки диагноза метастазы в печени выявляются у 15–25 % больных и у 35–50 % – в различные сроки после удаления первичной опухоли [7]. В настоящее время резекция печени как этап комплексной терапии позволяет достичь излечения либо добиться увеличения продолжительности жизни больных КРР с метастазами в печени [3, 5]. Большое количество пациентов имеет множественное поражение печени либо обширную опухоль, распространяющуюся на обе доли, что часто препятствует проведению резекции. Мультидисциплинарный подход повысил безопасность и резектабельность у пациентов с изначально нерезектабельными новообразованиями печени. Стремление сохранить адекватный остаток печени, чтобы избежать послеоперационной печеночной недостаточности, является главным лимитирующим фактором для выполнения резекции печени в объеме R0 [1, 4, 8].

В последнее десятилетие были пересмотрены критерии резектабельности у больных с метастазами колоректального рака в связи с появлением новых методик лечения. Комбинация хирургического и стереотаксического методов позволила провести полноценное лечение пациентов данной группы. В этом случае проводится хирургическая резекция обширно пораженной доли печени. Лечение остающихся очагов производится на системе «Кибернож» с предварительной установкой маркеров в паренхиму печени. По данным зарубежных авторов, 1-, 2-летние показатели локального контроля

при применении стереотаксической радиохирургии у больных с метастатическим поражением печени достигают 95 % и 92 % [6]. Наше учреждение обладает определенным опытом применения данной методики.

*Пациент С., 64 года, поступил в онкоабдоминальное отделение Челябинского областного клинического онкологического диспансера в августе 2014 г. по поводу прогрессирования рака сигмовидной кишки III стадии. По данным компьютерной томографии в печени было выявлено 2 очага: в SIV – размером 19 мм, SVII – 54 мм.*

*Пациенту было запланировано хирургическое лечение, 11.08.2014, при операционной ревизии в проекции VIII сегмента печени с переходом на VII и диафрагму определялся метастаз до 6,5 см в диаметре, кроме того, имелся очаг до 2,5 см в IVb. При интраоперационном УЗИ метастазов в остальных сегментах печени и других органах брюшной полости не выявлено. С учетом обширного метастатического распространения, проведения химиотерапии в анамнезе пациенту решено провести комбинированное лечение (операция + стереотаксическое облучение). Была выполнена операция в объеме трисегментэктомии (SVI, VII, VIII) с введением в паренхиму печени рентген-контрастных меток для последующей стереотаксической терапии метастаза в SIVb. Для чего вокруг остающегося метастаза установлено 5 меток: на расстоянии 2–3 см от метастаза и друг от друга, так чтобы угол между метками не был меньше 90°. Интраоперационная кровопотеря составила 300 мл. Время операции 3 ч 10 мин. Послеоперационный период без осложнений. Дренажи удалены на 7-е сут. Рана зажила первичным натяжением.*

*Гистологическое заключение № 44586-88/14: метастазы аденокарциномы интестинального типа в печень. По краям резекции фрагментов печени опухолевого роста нет.*

*Через 2 нед выполнена КТ разметка, данные импортированы на планирующую систему «КиберНож». Для лечения образований печени использовалась система контроля дыхательных движений Synchrony®, которая синхронизирует облучение с перемещением цели при дыхании. Работа системы основана на создании корреляционной модели между дыхательной моделью пациента, отслеживаемой в режиме реального времени, и локализацией цели в различных точках дыхательного цикла. Локализация цели определяется путем получения рентгеновского изображения, позволяющего визуализировать внутренние маркеры, при этом модель дыхания отслеживается по наружным маркерам (светодиодные световодные датчики) в режиме реального времени.*

*Пациенту проведен курс гипофракционной роботизированной радиохирургии на метастаз в печень в SIVb на системе «КиберНож» с энергией 6 МэВ: 3 фракции с РОД 15 Гр, СОД 45 Гр. По данным контрольной магнитно-резонансной томографии через месяц после лечения очаг не копил контрастное вещество.*

*В настоящее время больному, согласно консультации химиотерапевта, проводится цитостатическая терапия по схеме FL (Мейо) до 6 циклов, планируется оценка эффекта после 3 циклов.*

Таким образом, индивидуализация лечения больных диссеминированным раком толстой кишки с использованием мультидисциплинарного подхода позволяет выполнить максимальную циторедукцию. Дальнейшее применение в клинической практике представленной методики комбинированного лечения больных с метастатическим поражением печени позволит оценить ее эффективность.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Афанасьев С.Г., Добродеев А.Ю. Циторедуктивные операции (Нужно ли удалять первичную опухоль? Где предел разумной циторедукции?) // Практическая онкология. 2014. Т. 15, № 2. С. 93–100.
2. Давыдов М.И., Аксель Е.М. Статистика злокачественных новообразований в России и странах СНГ в 2009 г. // Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН. 2011. Т. 22, № 3, прил. 1. 172 с.
3. Патютко Ю.И. Хирургическое лечение злокачественных опухолей печени. М.: Практическая медицина, 2005. 312 с.
4. Adam R., Laurent A., Azoulay D., Castaing D., Bismuth H. Two-stage hepatectomy: a planned strategy to treat irresectable liver tumors // Ann. Surg. 2000. Vol. 232 (6). P. 777–785.

5. Agrawal S., Belghiti J. Oncologic resection for malignant tumors of the liver // Ann. Surg. 2011. Vol. 253 (4). P. 656–665. doi: 10.1097/SLA.0b013e3181fc08ca.

6. Herfarth K.K., Debus J., Wannemacher M. Stereotactic radiation therapy of liver metastases: update of the initial phase-I/II trial // Front. Radiat. Ther. Oncol. 2004. Vol. 38. P. 100–105.

7. Jemal A., Bray F., Center M.M., Ferlay J., Ward E., Forman D. Global cancer statistics // CA Cancer J. Clin. 2011. Vol. 61 (2). P. 69–90. doi: 10.3322/caac.20107.

8. Pawlik T.M., Schulick R.D., Choti M.A. Expanding criteria for resectability of colorectal liver metastases // Oncologist. 2008. Vol. 13 (1). P. 51–64. doi: 10.1634/theoncologist.2007-0142.

Поступила 13.04.15

#### СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**Зайков Алексей Анатольевич**, врач-онколог онкоабдоминального отделения, Государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Челябинский областной клинический онкологический диспансер» (г. Челябинск), Российская Федерация. E-mail: Azaykov174@mail.ru

**Чайченко Денис Владимирович**, врач-онколог, заместитель главного врача по онкологии, Муниципальное бюджетное учреждение здравоохранения «Городская больница № 2» (г. Миасс), Российская Федерация. E-mail: Denis76doc@yandex.ru. SPIN-код: 3400-6185

**Важенин Илья Андреевич**, врач-радиолог, Государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Челябинский областной клинический онкологический диспансер» (г. Челябинск), Российская Федерация. E-mail: vindellmann@mail.ru

**Галямова Юлия Валерьевна**, заведующая радиотерапевтическим дневным стационаром, Государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Челябинский областной клинический онкологический диспансер» (г. Челябинск), Российская Федерация. E-mail: Cyber\_knife74@mail.ru

**Авторы данной статьи подтвердили отсутствие финансовой поддержки / конфликта интересов, о котором необходимо сообщить**

## EXPERIENCE OF USING COMBINATION OF RADIOSURGERY AND RESECTION OF THE LIVER IN PATIENTS WITH EXTENSIVE METASTATIC DISEASE

**A.A. Zaykov, I.A. Vazhenin, D.V. Chaychenko, Yu.V. Galyamova**

Chelyabinsk Regional Oncology Center, Chelyabinsk  
24, Blucher Street, 454087- Chelyabinsk, Russia, roc\_chel@mail.ru

## Abstract

The paper presents the first experience of using a combination of radiosurgery and resection of the liver in patients with extensive metastatic disease treated at the Chelyabinsk Regional Oncology Center. This technique results no in postoperative liver failure, thus allowing R0 resection to be performed for unresectable patients.

**Key words:** radiosurgery, postoperative liver failure, unresectable patients.

## REFERENCES

1. *Afanas'ev S.G., Dobrodeev A.Ju.* Cytoreductive surgery (Should the primary tumor be removed? (What is the optimal cytoreduction?) // *Prakticheskaja onkologija*. 2014. Vol. 15 (2). P. 93–100. [in Russian]
2. *Davydov M.I., Aksel E.M.* Cancer statistics in Russia and CIS countries in 2009 // *Vestnik RONC im. N.N. Blohina RAMN*. 2011. Vol. 22 (3), pril. 1. 172 p. [in Russian]
3. *Patyutko Yu.I.* Surgical treatment of liver cancer. M.: *Prakticheskaja medicina*, 2005. 312 p. [in Russian]
4. *Adam R., Laurent A., Azoulay D., Castaing D., Bismuth H.* Two-stage hepatectomy: a planned strategy to treat irresectable liver tumors // *Ann. Surg.* 2000. Vol. 232 (6). P. 777–785.
5. *Agrawal S., Belghiti J.* Oncologic resection for malignant tumors of the liver // *Ann. Surg.* 2011. Vol. 253 (4). P. 656–665. doi: 10.1097/SLA.0b013e3181fc08ca.
6. *Herfarth K.K., Debus J., Wannemacher M.* Stereotactic radiation therapy of liver metastases: update of the initial phase-I/II trial // *Front. Radiat. Ther. Oncol.* 2004. Vol. 38. P. 100–105.
7. *Jemal A., Bray F., Center M.M., Ferlay J., Ward E., Forman D.* Global cancer statistics // *CA Cancer J. Clin.* 2011. Vol. 61 (2). P. 69–90. doi: 10.3322/caac.20107.
8. *Pawlik T.M., Schulick R.D., Choti M.A.* Expanding criteria for resectability of colorectal liver metastases // *Oncologist*. 2008. Vol. 13 (1). P. 51–64. doi: 10.1634/theoncologist.2007-0142.

## ABOUT THE AUTHORS

**Zaykov Alexey Anatolyevich**, oncologist, Abdominal Oncology Department, Chelyabinsk Regional Clinical Oncology Center (Chelyabinsk), Russian Federation. E-mail: Azaykov174@mail.ru

**Chaichenko Denis Vladimirovich**, Deputy Chief Physician, oncologist, Abdominal Oncology Department, City hospital № 2 (Mias), Russian Federation. E-mail: Denis76doc@yandex.ru. SPIN-code: 3400-6185

**Vazhenin Ilya Andreevich**, radiologist, Chelyabinsk Regional Clinical Oncology Center (Chelyabinsk), Russian Federation. E-mail: vindellmann@mail.ru

**Galyamova Yulia Valeryevna**, Chief of Radiology Department, Chelyabinsk Regional Clinical Oncology Center (Chelyabinsk), Russian Federation. E-mail: Cyber\_knife74@mail.ru

УДК: 616-006.04-036.22

## ЭПИДЕМИОЛОГИЯ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ В МИРЕ

И.Н. Одинцова<sup>1</sup>, Л.Ф. Писарева<sup>1</sup>, А.В. Хряпенков<sup>2</sup>

Томский НИИ онкологии, г. Томск<sup>1</sup>

Бюджетное учреждение здравоохранения Республики Алтай «Чойская центральная районная больница», Республика Алтай, Чойский район, с. Чоя<sup>2</sup>

634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5, e-mail: OdintsovaIN@oncology.tomsk.ru<sup>1</sup>

### Аннотация

В обзоре представлены данные о заболеваемости и смертности от злокачественных новообразований и о факторах риска их развития в различных странах мира.

**Ключевые слова:** злокачественные новообразования, заболеваемость, смертность.

Согласно данным МАИР, в 2012 г. было зарегистрировано более 14,1 млн новых случаев злокачественных новообразований (без немеланомного рака кожи) и около 8,2 млн смертей от них (~22 000 смертей в день). При этом 57,0 % (8 млн) заболевших и 65,0 % (5,3 млн) умерших зафиксировано в развивающихся странах, где проживает ~82 % населения земного шара [2]. В мире каждый седьмой смертельный случай – от рака; от него умирает больше, чем от СПИДа, туберкулеза и малярии вместе взятых. Злокачественные новообразования (ЗНО) (25 %) – вторая ведущая причина смерти после сердечно-сосудистых болезней (38 %) в странах с высоким уровнем дохода и третья (12 %) – после сердечно-сосудистых заболеваний (30 %), инфекционных и паразитарных болезней (14 %) в странах с низким и средним уровнем дохода [23]. В дополнение к человеческим потерям весьма существен экономический ущерб от рака. Точные прямые и косвенные экономические потери неизвестны, но, вероятно, они исчисляются в сотнях миллиардов долларов ежегодно. В США предполагаемые общие затраты в 2009 г. составили \$216,6 млрд, прямые затраты (медицинские) – \$86,6 млрд [19]. В Европе в 2008 г. потери, связанные с преждевременной смертностью, приблизились к €75 млрд [14], и в будущем эти цифры будут увеличиваться в связи с ростом заболеваемости и стоимости лечения одного случая рака [3, 9]. По прогнозам, к 2030 г. в связи с ростом и старением населения число новых случаев заболевания может составить 21,7 млн, и 13 млн человек умрет от него. Вероятно, это число будет большим из-за распространения «западного» образа жизни в развивающихся странах.

В структуре онкологической заболеваемости населения мира ведущие позиции занимают новообразование трахеи, бронхов, легкого (13,0 %), молочной железы (11,9 %), колоректальный рак (9,7 %), опухоли предстательной железы (7,8 %), желудка (6,8 %), печени (5,6 %), шейки матки (3,8 %), пищевода (3,2 %) и мочевого пузыря (3,1 %) [12]. Из 7 410 376 новых случаев злокачественных новообразований, зарегистрированных у мужчин, 16,8 % приходится на рак легкого, 14,8 % – на опухоли предстательной железы, 10,1 % – на колоректальный рак. Удельный вес рака желудка составляет 8,5 %, печени – 7,5 %, мочевого пузыря – 4,5 %, пищевода – 4,4 %. Рак молочной железы (25,1 %) занимает первое место в структуре онкозаболеваемости женского населения мира, далее следуют опухоли толстой кишки (9,2 %), легкого (8,8 %), шейки матки (7,9 %), желудка (4,8 %), тела матки (4,8 %) и яичника (3,6 %).

География заболеваемости ЗНО неоднородна, что обусловлено различиями в возрастной структуре населения, в распространенности факторов риска, в объеме и качестве проводимых профилактических мероприятий (скрининг), доступности и качестве лечения. Наибольшее число заболевших регистрируется в Западно-Тихоокеанском (WPRO) (32,3 % от общего числа) и Европейском (EURO) (26,4 %) регионах, наименьшее – в Ближневосточной зоне и Северной Африке (EMRO) (3,8 %).

Наблюдаются отличия в частоте встречаемости опухолей различных локализаций. Так, у мужчин в развитых странах наиболее часто регистрируется рак предстательной железы (удельный вес – 23,0 %), трахеи, бронхов, легкого (15,2 %), толстой кишки (12,4 %) и мочевого пузыря (6,1 %), за ис-

Показатели заболеваемости и смертности от злокачественных новообразований, 2012 г.  
(на 100 тыс. населения мировой стандарт) [14]

Локализация	Мужчины				Женщины			
	Развитые страны		Развивающиеся страны		Развитые страны		Развивающиеся страны	
	Заболеваемость	Смертность	Заболеваемость	Смертность	Заболеваемость	Смертность	Заболеваемость	Смертность
Мочевой пузырь	16,9	4,5	5,3	2,6	3,7	1,1	1,5	0,7
Головной мозг, нервная система	5,9	4,0	3,3	2,6	4,4	2,7	2,7	1,9
Молочная железа	–	–	–	–	74,1	14,9	31,3	11,5
Шейка матки	–	–	–	–	9,9	3,3	15,7	8,3
Толстая кишка	36,3	14,7	13,7	7,8	23,6	9,3	9,8	5,6
Тело матки	–	–	–	–	14,7	2,3	5,5	1,5
Пищевод	6,4	5,2	10,1	9,0	1,2	0,9	4,1	3,6
Ходжкинская лимфома	2,3	0,4	0,8	0,4	1,9	0,3	0,5	0,3
Почка	12,6	4,2	3,4	1,7	6,2	1,7	1,8	0,9
Гортань	5,1	2,2	3,5	2,0	0,6	0,2	0,4	0,3
Лейкемия	8,8	4,6	4,4	3,4	5,8	2,8	3,2	2,6
Губа, полость рта	7,0	2,3	5,0	2,8	2,6	0,6	2,5	1,4
Печень	8,6	7,1	17,8	17,0	2,7	2,5	6,6	6,4
Легкое	44,7	36,8	30,0	27,2	19,6	14,3	11,1	9,8
Меланома кожи	10,2	2,0	0,8	0,4	9,3	1,2	0,7	0,3
Неходжкинская лимфома	10,3	3,5	4,3	2,8	7,1	2,0	2,8	1,8
Яичник	–	–	–	–	9,1	5,0	5,0	3,1
Поджелудочная железа	8,6	8,3	3,3	3,2	5,9	5,5	2,4	2,3
Предстательная железа	69,5	10,0	14,5	6,6	–	–	–	–
Желудок	15,6	9,2	18,1	14,4	6,7	4,2	7,8	6,5
Щитовидная железа	3,6	0,3	14,4	0,4	11,1	0,4	4,7	0,7
Все ЗНО	308,7	138,0	163,0	120,1	240,6	86,2	135,8	79,8

ключением отдельных стран Южной и Восточной Европы (на первом месте: рак трахеи, бронхов, лёгкого), Словакии (колоректальный рак) и Японии (рак желудка). В развивающихся странах лидируют рак трахеи, бронхов, лёгкого (18,0 %), печени (11,1 %) и желудка (10,9 %). Новообразования легкого и желудка являются главными формами рака в Азии. Опухоли предстательной железы (19,5 %), печени (9,4 %), саркома Капоши (8,7 %), рак легкого и пищевода, неходжкинская лимфома и лейкемия наиболее распространены у мужчин в Африке. В Западно-Тихоокеанском регионе лидируют опухоли легкого (22,3 %), желудка (15,0 %), печени (13,9 %), в Египте высока заболеваемость раком мочевого пузыря [12, 13].

В женской популяции после рака молочной железы, наиболее часто диагностируемого в большинстве частей мира (27,9 % в структуре онкозаболеваемости в развитых и 23,0 % – в развивающихся странах), включая Австралию, Западную Азию, Северную Африку, Северную Америку и часть Южной Америки, вторым по частоте встречаемости в Африканском регионе и

Юго-Восточной Азии является рак шейки матки, за исключением Китая и Северной Кореи (рак легкого), Южной Кореи (рак щитовидной железы), Монголии, Вьетнама и Лаоса (рак печени). В Европе на втором месте располагается колоректальный рак, в Западно-Тихоокеанском регионе – новообразование легкого [11, 12, 15]. В развитых странах чаще диагностируются колоректальный рак (12,0 против 7,2 %), опухоли легкого (9,5 против 8,2 %) и тела матки (5,9 против 4,0 %), в развивающихся странах выше удельный вес рака шейки матки (11,6 против 2,9 %), печени (4,9 против 1,5 %) и желудка (5,8 против 3,5 %).

В 2012 г. стандартизованный показатель заболеваемости ЗНО в мире составил 182,07 на 100 тыс. населения, в развитых странах – 267,2 ‰, в развивающихся – 147,7 ‰, смертности от них – 102,4 ‰, 108,5 ‰ и 98,4 ‰ соответственно [12]. В табл. 1 приведены показатели заболеваемости и смертности от ЗНО населения стран в зависимости от уровня экономического развития. Заболеваемость выше в развитых странах как у мужчин (308,7 против 163,0 соответственно), так и

у женщин (240,6 против 135,8). Смертность практически одинакова, при минимальной разнице у женщин (86,2 против 79,8). Различия в показателе смертности обусловлены как уровнем заболеваемости, так и отличиями в ранней диагностике, качестве и объеме лечения.

Заболеваемость в мужской популяции на 24,0 % выше, чем в женской: 204,9 и 165,2  $\frac{\text{‰}}{10000}$  соответственно. У мужчин разница в показателях практически пятикратно: 78,7  $\frac{\text{‰}}{10000}$  в Западной Африке и 365,3  $\frac{\text{‰}}{10000}$  в Австралии/Новой Зеландии, у женщин – трехкратно: 103,3  $\frac{\text{‰}}{10000}$  в Юго-Центральной Азии и 295,4  $\frac{\text{‰}}{10000}$  в Северной Америке. Наиболее высокие уровни фиксируются в Австралии/Новой Зеландии (мужчины – 365,3; женщины – 277,9  $\frac{\text{‰}}{10000}$ ), Северной Америке (мужчины – 344,2; женщины – 295,4  $\frac{\text{‰}}{10000}$ ), Океании (мужчины – 338,5; женщины – 264,8  $\frac{\text{‰}}{10000}$ ), Западной (мужчины – 334,7; женщины – 264,8  $\frac{\text{‰}}{10000}$ ) и Северной (мужчины – 298,4; женщины – 263,9  $\frac{\text{‰}}{10000}$ ) Европе, относительно низкие – в Западной (мужчины – 78,7; женщины – 112,4  $\frac{\text{‰}}{10000}$ ) и Центральной (мужчины – 91,8; женщины – 110,7  $\frac{\text{‰}}{10000}$ ) Африке, Юго-Центральной Азии (мужчины – 98,4; женщины – 103,3  $\frac{\text{‰}}{10000}$ ) и Восточной Африке (мужчины – 120,7; женщины – 154,7  $\frac{\text{‰}}{10000}$ ) (рис. 1).

На африканском континенте показатели колеблются от 63,4 (Нигер) и 68,2 (Гамбия) до 190,3

(Зимбабве) и 187,7  $\frac{\text{‰}}{10000}$  (Реюньон, Франция). Высокая заболеваемость – в ЮАР (187,1) и Кении (181,8). В странах Латинской Америки и Карибского бассейна показатель составил 177,0  $\frac{\text{‰}}{10000}$ . Наибольшим он был в Барбадосе (263,1) и Мартинике (245,0), низким – в Гаити (106,9). Высокая заболеваемость зарегистрирована в США (318,0) и Канаде (295,7). В странах Азии максимальный показатель отмечался в Республике Корея (340,0) и Израиле (318,0), значительно ниже он в Омане (78,6) и Йемене (81,2). Наибольшая заболеваемость среди европейских стран регистрировалась в Норвегии (368,7), Бельгии (364,8), Дании (354,3), Ирландии (343,3), более низкие показатели – в странах Южной Европы: в Боснии и Герцеговине (180,0), Албании (185,0), Греции (194,8) [12, 13].

Злокачественные опухоли – болезнь преимущественно второй половины жизни. 89 % новых случаев заболевания диагностируется у лиц 50 лет и старше, из них 43 % – в 70 лет и старше, 28 % – в 60–69 лет и 18 % – в 50–59 лет [10]. Около половины случаев рака легкого и толстой кишки регистрируется в 70 лет и старше, опухоли молочной железы наиболее часты в 50–69 лет (52 %), около 30 % их диагностируется в 60 лет и старше и 18 % – в возрасте меньше 50 лет, до 40 % новообразований простаты встречается в 60–69 лет [5, 20]. Показатели заболеваемости у 85-летних мужчин в Англии

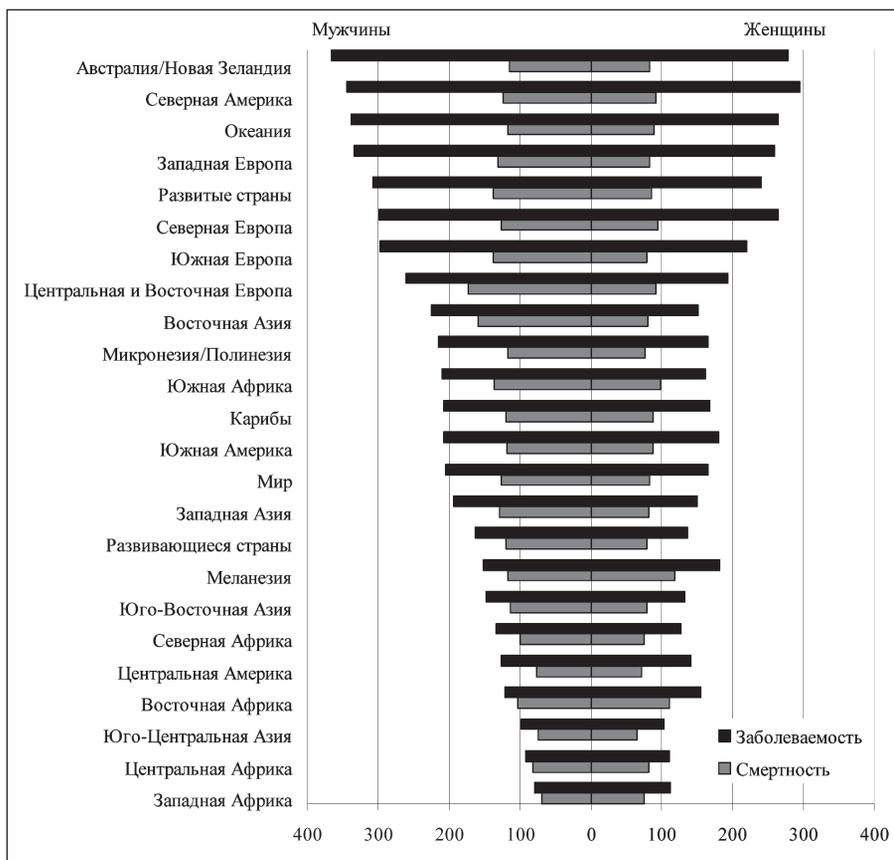


Рис. 1. Стандартизованные показатели заболеваемости и смертности от злокачественных новообразований (без немеланомного рака кожи, мировой стандарт на 100 тыс. населения) [14]

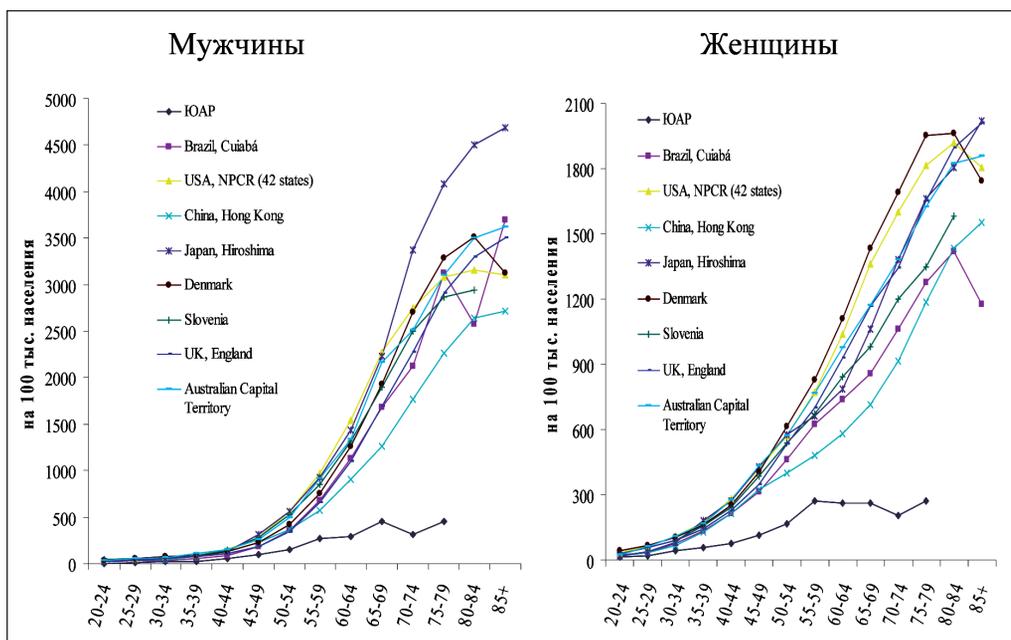


Рис. 2. Повозрастные показатели заболеваемости раком [14]

выше, чем у 70-летних, в 1,4 раза, у 40-летних – в 31,8 раза, у женщин – в 1,5 и в 8,8 раза соответственно [6]. Притом, что есть опухоли, которые встречаются только в детском возрасте (нефробластома) или чаще у молодых (саркома Юинга), они составляют незначительную долю от общего числа злокачественных новообразований.

Заболеваемость растет с возрастом, наиболее быстро показатели увеличиваются у мужчин после 55 лет, а у женщин после 45 лет (рис. 2). В экономически развитых странах 58 % всех новых случаев злокачественных опухолей регистрируется в 65 лет и старше, по сравнению с 40 % в развивающихся странах, связано это с тем, что в развивающихся странах в возрастной структуре населения удельный вес лиц старше 65 лет значительно ниже, чем в развитых: в странах с высоким уровнем дохода их 16 %, со средним уровнем дохода – 8 %, с низким – 4 % [21]. В развивающихся странах, где

более 40 % жителей моложе 15 лет, а лиц в возрасте 60 лет и старше 5–8 % населения, показатели заболеваемости низкие (государства Африки, Азии, Южной Америки, Восточно-Средиземноморского региона). В странах Северного полушария, где продолжительность жизни населения больше (в Европе и Северной Америке лиц в возрасте 65 лет и старше – более 10 % населения, средний возраст жителей более 35 лет: Германия – 45 лет, Дания – 41 год, Япония – 46 лет, США – 37 лет, Англия – 40 лет), они значительно выше [24].

В странах Африки, Азии и Латинской Америки, где продолжительность жизни населения невелика, борьба с инфекционными болезнями и снижение детской смертности ведут к заметному росту этого показателя. По данным ВОЗ, в 2012 г. в странах с низким экономическим развитием продолжительность жизни увеличилась на 3 дня в неделю, у мужчин достигла 60,2, у женщин – 63,1 года.

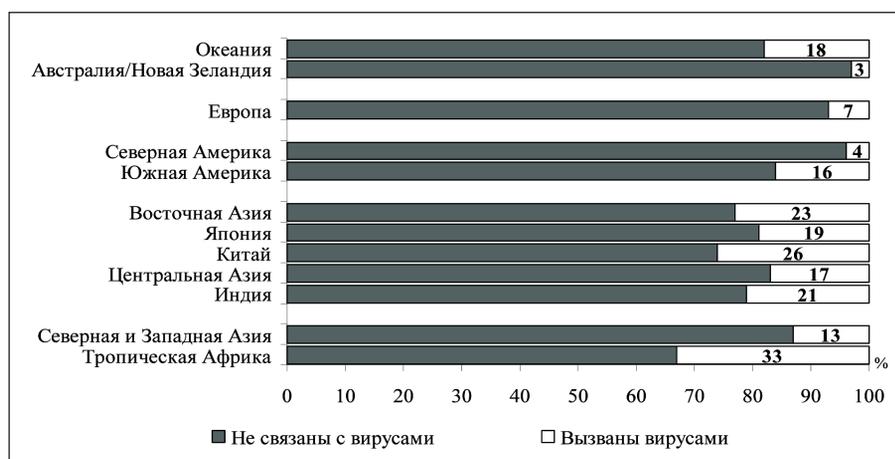


Рис. 3. Частота злокачественных новообразований, вызванных вирусами, в мире [15]

Соответственно, растет и число лиц, для которых риск заболеть раком более высок. Кроме того, увеличение продолжительности жизни повышает и вероятность экспозиции различных канцерогенных воздействий [24].

Для 10–16 % всех злокачественных новообразований в мире фактором риска является хроническая инфицированность, этот показатель более чем в три раза выше в развивающихся странах (23 %), чем в развитых странах (7 %) [4, 8, 10, 17, 22] (рис. 3). В 2012 г. две из пяти основных форм злокачественных новообразований у мужчин (печени и желудка) и женщин (шейки матки и желудка) в развивающихся странах были вызваны инфекционными агентами.

Заболеваемость злокачественными новообразованиями в мире растет, однако есть государства, где этот показатель снижается или наблюдается его стабилизация (рис. 4). Так, в Иордании число заболевших ЗНО по сравнению с 2000 г. увеличилось на 42,0 % (4,8 % ежегодно): у мужчин – на 36,0 % (3,5 % ежегодно), у женщин – на 49,4% (4,6% ежегодно); интенсивный показатель вырос на 21,3 % (2,2 % ежегодно): у мужчин – на 16,4 % (1,7 % ежегодно), у женщин – на 24,0 % (2,4 % ежегодно) [20]. В Канаде заболеть раком в течение жизни могут двое из пяти человек, притом, что у женщин с 2001 по 2010 г. ежегодный прирост заболеваемости ЗНО составил 0,5 %, у мужчин с 2006 г. отмечалось снижение показателя на 1,3 % ежегодно. Рост заболеваемости связывают с ранним выявлением и постарением населения, а снижение – с профилактической работой в плане борьбы с курением и злоупотреблением алкоголем. По прогнозам, заболеваемость населения Канады будет расти, и в 2014 г. в течение часа приблизительно у 22 человек будет диагностироваться рак [5]. В Японии с 1985 г. регистрируется рост заболеваемости с ежегодным

темпом прироста в 0,7 % (0,6 % – у мужчин, 0,8 % – у женщин) [16]. Продолжает повышаться число новых случаев рака у жителей Уэльса, в 2013 г. их на 12 % стало больше по сравнению с 2004 г. Наибольшее увеличение наблюдалось у 65–69- и 70–74-летних [7].

Тренд показателя смертности от ЗНО в различных государствах также разнонаправлен. Так, если за период с 2009 по 2015 г. в целом у населения Европы показатель снижался как у мужчин, так и у женщин на 7,5 и 6,0 % соответственно, то в Польше, например, согласно прогнозам, в 2020 г. у мужчин он может увеличиться на 12,0 %, у женщин – на 13,9 %, как результат демографических изменений, модификации факторов риска и усовершенствования программ скрининга [2, 12, 18].

Показатель 5-летней выживаемости больных ЗНО зависит от многих факторов, в том числе от локализации, гистологического типа, стадии, на которой было диагностировано заболевание, адекватности проведенного лечения и качества учета. Показатели значительно отличаются в развитых и развивающихся странах при новообразованиях, для которых существуют эффективные методы скрининга, например, таких как рак молочной железы, колоректальный рак и некоторые опухоли у детей. Например, 5-летняя выживаемость больных раком молочной железы в США в 2005–2009 гг. составляла 89 % по сравнению с 53 % в Южной Африке и 60 % в Алжире. При острой лимфобластной лейкемии у детей показатель менее чем 60 % в большинстве стран и 90 % – в Канаде. Наблюдается рост показателя на 10–20 % при раке предстательной железы в 22 странах Южной Америки, Азии и Европы, но диапазон остается достаточно широким от 53,4 % в Болгарии и Таиланде до 95 % в Бразилии, Пуэрто-Рико и США. При злокачественных новообразованиях шейки матки

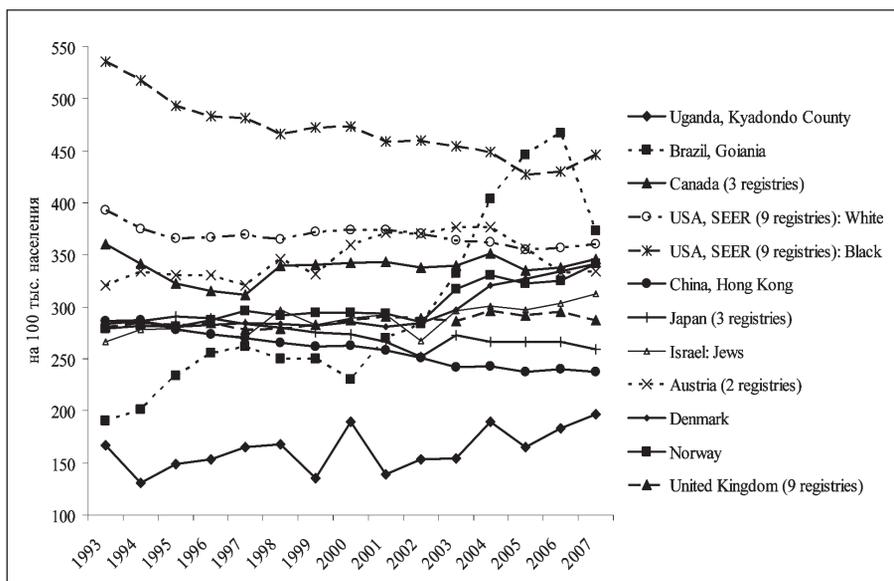


Рис. 4. Динамика стандартизованных показателей заболеваемости злокачественными новообразованиями мужского населения [13]

выживаемость колеблется от менее 50 до 74 %. И, напротив, при опухолях, наиболее часто диагностируемых на поздних стадиях и не имеющих достаточно эффективных методов лечения, таких как рак пищевода, печени, поджелудочной железы, легкого, выживаемость больных в развитых и развивающихся странах различается незначительно. 5-летняя выживаемость при раке печени и легкого равна ~ 20 % в странах Европы, 15–19 % – в Северной Америке и 7–9 % – в Монголии и Таиланде. У женщин, больных раком яичников, 5-летняя выживаемость выше 40 % только в Эквадоре, США и 17 странах Азии [1].

## ЛИТЕРАТУРА

1. Allemani C., Weir H.K., Carreira H., Harewood R., Spika D., Wang X.S., Bannon F., Ahn J.V., Johnson C.J., Bonaventure A., Marcos-Gragera R., Stiller C., Azevedo e Silva G., Chen W.Q., Ogunbiyi O.J., Rachet B., Soeberg M.J., You H., Matsuda T., Bielska-Lasota M., Storm H., Tucker T.C., Coleman M.P.; CONCORD Working Group. Global surveillance of cancer survival 1995–2009: analysis of individual data for 25, 676, 887 patients from 279 population-based registries in 67 countries (CONCORD-2) // *The Lancet*. 2015. Vol. 385 (9972). P. 977–1010. doi: 10.1016/S0140-6736(14)62038-9.
2. Bosetti C., Bertuccio P., Levi F., Lucchini F., Negri E., La Vecchia C. Cancer mortality in the European Union, 1970–2003, with a joinpoint analysis // *Ann. Oncol.* 2008. Vol. 19 (4). P. 631–640. doi: 10.1093/annonc/mdm597.
3. Bray F., Jemal A., Grey N., Ferlay J., Forman D. Global cancer transitions according to the Human Development Index (2008–2030): a population-based study // *Lancet Oncol.* 2012. Vol. 13 (8). P. 790–801. doi: 10.1016/S1470-2045(12)70211-5.
4. Butel J.S., Fan H. The diversity of human cancer viruses // *Curr. Opin. Virol.* 2012. Vol. 2 (4). P. 449–452. doi: 10.1016/j.coviro.2012.07.002.
5. Canadian Cancer Statistics 2014. URL: <http://www.cancer.ca/~media/cancer.ca/CW/cancer%20information/cancer%20101/Canadian%20cancer%20statistics/Canadian-Cancer-Statistics-2014-EN.pdf>. (28.04.2015).
6. *Cancer Incidence in Five Continents* / Ed. by D. Forman, F. Bray, D.H. Brewster, C. Gombe Mbalawa, B. Kohler, M. Piñeros, E. Steliarova-Foucher, R. Swaminathan, J. Ferlay Lyon: IARC, 2013. Vol. X. URL: [http://www.iarc.fr/en/publications/pdfs-online/epi/sp164/C15volX\\_Full.pdf](http://www.iarc.fr/en/publications/pdfs-online/epi/sp164/C15volX_Full.pdf). (28.04.2015).
7. *Cancer in Wales: 2001–2013*. URL: <http://www.wcisuwales.nhs.uk/sitesplus/documents/1111/WCISUW%20Official%20Stats%20Report%20Final%20English.pdf>. (28.04.2005).
8. De Martel C., Ferlay J., Franceschi S., Vignat J., Bray F., Forman D., Plummer M. Global burden of cancers attributable to infections in 2008: a review and synthetic analysis // *Lancet Oncol.* 2012. Vol. 13 (6). P. 607–615. doi: 10.1016/S1470-2045(12)70137-7.
9. Elkin E.B., Bach P.B. Cancer's next frontier: addressing high and increasing costs // *JAMA*. 2010. Vol. 303 (11). P. 1086–1087. doi: 10.1001/jama.2010.283.
10. El-Serag H.B. Epidemiology of viral hepatitis and hepatocellular carcinoma // *Gastroenterology*. 2012. Vol. 142 (6). P. 1264–1273. doi: 10.1053/j.gastro.2011.12.061.
11. Ferlay J., Steliarova-Foucher E., Lortet-Tieulent J., Rosso S., Combergh J.W., Comber H., Forman D., Bray F. Cancer incidence and mortality patterns in Europe: Estimates for 40 countries in 2012 // *Eur. J. Cancer*. 2013. Vol. 49 (6). P. 1374–1403. doi: 10.1016/j.ejca.2012.12.027.
12. GLOBOCAN 2012. URL: <http://globocan.iarc.fr>. (08.05.2015).
13. *Global Cancer Facts & Figures*. 3rd Edition is a publication of the American Cancer Society, Atlanta, Georgia. URL: <http://www.cancer.org/acs/groups/content/@research/documents/document/acspc-044738.pdf>. (08.05.2015).
14. Hanly P., Soerjomataram I., Sharp L. Measuring the societal burden of cancer: The cost of lost productivity due to premature cancer-related mortality in Europe // *Int. J. Cancer*. 2015. Vol. 136 (4). P. 136–145. doi: 10.1002/ijc.29105.
15. Jemal A., Center M.M., De Santis C., Ward E.M. Global patterns of cancer incidence and mortality rates and trends // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2010. Vol. 19 (8). P. 1893–1907. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-10-0437.
16. Katanoda K., Matsuda T., Matsuda A., Shibata A., Nishino Y., Fujita M., Soda M., Ioka A., Sobue T., Nishimoto H. An updated report of the trends in cancer incidence and mortality in Japan // *Jpn. J. Clin. Oncol.* 2013. Vol. 43 (5). P. 492–507. doi: 10.1093/jjco/hyt038.
17. Kutok J.L., Wang F. Spectrum of Epstein-Barr virus-associated disease // *Annu Rev. Pathol.* 2006. Vol. 1. P. 375–404.
18. Malvezzi M., Bertuccio P., Rosso T., Rota M., Levi F., La Vecchia C., Negri E. European cancer mortality predictions for the year 2015: does lung cancer have the highest death rate in EU women? // *Ann Oncol.* 2015. Vol. 26 (4). P. 779–786. doi: 10.1093/annonc/mdv001.
19. *National Healthcare Quality Report*. 2013. URL: <http://www.ahrq.gov/sites/default/files/publications/files/2013nhqr.pdf>. (08.05.2015).
20. Tarawneh M., Nimri O., Arkoob K., Al Zaghaf M. Cancer Incidence in Jordan 2009. URL: <http://www.moh.gov.jo/MOH/arabic/publications.php>. (28.04.2015).
21. *The World Bank* (2015). Data: Population ages 65 and above (% of total). URL: <http://data.worldbank.org/indicator>. (08.09.2015).
22. *Viruses and Human Cancer*. From Basic Science to Clinical Prevention // Ed. by M.H. Chang, K.-T. Jeang. Springer, 2014. 290 p. doi: 10.1007/978-3-642-38965-8.
23. *World Health Organization Global Health Observatory Data Repository, Mortality and Global Health Estimates 2012*. URL: [apps.who.int/gho/data](http://apps.who.int/gho/data). (24.08.2014).
24. *World Health Statistics 2014*. URL: [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/112738/1/9789240692671\\_eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/112738/1/9789240692671_eng.pdf). (22.04.2015).

Поступила 13.05.15

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**Одинцова Ирина Николаевна**, доктор медицинских наук, заведующая лабораторией эпидемиологии, Томский НИИ онкологии (г. Томск), Российская Федерация. E-mail: [OdintsovaIN@oncology.tomsk.ru](mailto:OdintsovaIN@oncology.tomsk.ru). SPIN-код: 4631-9100

**Писарева Любовь Филипповна**, доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории эпидемиологии, Томский НИИ онкологии (г. Томск), Российская Федерация. E-mail: [PisarevaLF@oncology.tomsk.ru](mailto:PisarevaLF@oncology.tomsk.ru). SPIN-код: 3529-0202

**Хряпенок Александр Владимирович**, главный врач, Бюджетное учреждение здравоохранения Республики Алтай «Чойская центральная районная больница» (Республика Алтай, Чойский район, с. Чоя), Российская Федерация

**Авторы данной статьи подтвердили отсутствие финансовой поддержки / конфликта интересов, о котором необходимо сообщить**

## WORLDWIDE CANCER EPIDEMIOLOGY

I.N. Odintsova<sup>1</sup>, L.F. Pisareva<sup>1</sup>, A.V. Khryapenkov<sup>2</sup>Tomsk Cancer Research Institute, Tomsk<sup>1</sup>«Choya Central District Hospital», the Altai Republic, Choya District, Choi<sup>2</sup>5, Kooperativny Street, 634009-Tomsk, Russia, e-mail: OdintsovaIN@oncology.tomsk.ru<sup>1</sup>

## Abstract

The review presents the worldwide data on the cancer incidence and mortality and risk factors for cancer.

Key words: cancer, incidence, mortality, worldwide.

## REFERENCES

1. Allemani C., Weir H.K., Carreira H., Harewood R., Spika D., Wang X.S., Bannon F., Ahn J.V., Johnson C.J., Bonaventure A., Marcos-Gragera R., Stiller C., Azevedo e Silva G., Chen W.Q., Ogumbiyi O.J., Rachet B., Soeberg M.J., You H., Matsuda T., Bielska-Lasota M., Storm H., Tucker T.C., Coleman M.P.; CONCORD Working Group. Global surveillance of cancer survival 1995–2009: analysis of individual data for 25, 676, 887 patients from 279 population-based registries in 67 countries (CONCORD-2) // *The Lancet*. 2015. Vol. 385 (9972). P. 977–1010. doi: 10.1016/S0140-6736(14)62038-9.
2. Bosetti C., Bertuccio P., Levi F., Lucchini F., Negri E., La Vecchia C. Cancer mortality in the European Union, 1970–2003, with a joinpoint analysis // *Ann. Oncol.* 2008. Vol. 19 (4). P. 631–640. doi: 10.1093/annonc/mdm597.
3. Bray F., Jemal A., Grey N., Ferlay J., Forman D. Global cancer transitions according to the Human Development Index (2008–2030): a population-based study // *Lancet Oncol.* 2012. Vol. 13 (8). P. 790–801. doi: 10.1016/S1470-2045(12)70211-5.
4. Butel J.S., Fan H. The diversity of human cancer viruses // *Curr. Opin. Virol.* 2012. Vol. 2 (4). P. 449–452. doi: 10.1016/j.coviro.2012.07.002.
5. Canadian Cancer Statistics 2014. URL: <http://www.cancer.ca/~media/cancer.ca/CW/cancer%20information/cancer%20101/Canadian%20cancer%20statistics/Canadian-Cancer-Statistics-2014-EN.pdf>. (28.04.2015).
6. Cancer Incidence in Five Continents // Ed. by D. Forman, F. Bray, D.H. Brewster, C. Gombé Mbalawa, B. Kohler, M. Piñeros, E. Steliarova-Foucher, R. Swaminathan, J. Ferlay. Lyon: IARC, 2013. Vol. X. URL: [http://www.iarc.fr/en/publications/pdfs-online/epi/sp164/C15volX\\_Full.pdf](http://www.iarc.fr/en/publications/pdfs-online/epi/sp164/C15volX_Full.pdf). (28.04.2015).
7. Cancer in Wales: 2001–2013. URL: <http://www.wcisuwales.nhs.uk/sitesplus/documents/1111/WCISU%20Official%20Stats%20Report%20Final%20English.pdf>. (28.04.2015).
8. De Martel C., Ferlay J., Franceschi S., Vignat J., Bray F., Forman D., Plummer M. Global burden of cancers attributable to infections in 2008: a review and synthetic analysis // *Lancet Oncol.* 2012. Vol. 13 (6). P. 607–615. doi: 10.1016/S1470-2045(12)70137-7.
9. Elkin E.B., Bach P.B. Cancer's next frontier: addressing high and increasing costs // *JAMA*. 2010. Vol. 303 (11). P. 1086–1087. doi: 10.1001/jama.2010.283.
10. El-Serag H.B. Epidemiology of viral hepatitis and hepatocellular carcinoma // *Gastroenterology*. 2012. Vol. 142 (6). P. 1264–1273. doi: 10.1053/j.gastro.2011.12.061.
11. Ferlay J., Steliarova-Foucher E., Lortet-Tieulent J., Rosso S., Combergh J.W., Comber H., Forman D., Bray F. Cancer incidence and mortality patterns in Europe: Estimates for 40 countries in 2012 // *Eur. J. Cancer*. 2013. Vol. 49 (6). P. 1374–1403. doi: 10.1016/j.ejca.2012.12.027.
12. GLOBOCAN 2012. URL: <http://globocan.iarc.fr>. (08.05.2015).
13. Global Cancer Facts & Figures. 3<sup>rd</sup> Edition is a publication of the American Cancer Society, Atlanta, Georgia. URL: <http://www.cancer.org/acs/groups/content/@research/documents/document/acspc-044738.pdf>. (08.05.2015).
14. Hanly P., Soerjomataram I., Sharp L. Measuring the societal burden of cancer: The cost of lost productivity due to premature cancer-related mortality in Europe // *Int. J. Cancer*. 2015. Vol. 136 (4). P. 136–145. doi: 10.1002/ijc.29105.
15. Jemal A., Center M.M., De Santis C., Ward E.M. Global patterns of cancer incidence and mortality rates and trends // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2010. Vol. 19 (8). P. 1893–1907. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-10-0437.
16. Katanoda K., Matsuda T., Matsuda A., Shibata A., Nishino Y., Fujita M., Soda M., Ioka A., Sobue T., Nishimoto H. An updated report of the trends in cancer incidence and mortality in Japan // *Jpn. J. Clin. Oncol.* 2013. Vol. 43 (5). P. 492–507. doi: 10.1093/jcco/hyt038.
17. Kutok J.L., Wang F. Spectrum of Epstein-Barr virus-associated disease // *Annu Rev. Pathol.* 2006. Vol. 1. P. 375–404.
18. Malvezzi M., Bertuccio P., Rosso T., Rota M., Levi F., La Vecchia C., Negri E. European cancer mortality predictions for the year 2015: does lung cancer have the highest death rate in EU women? // *Ann Oncol.* 2015. Vol. 26 (4). P. 779–786. doi: 10.1093/annonc/mdv001.
19. National Healthcare Quality Report, 2013. URL: <http://www.ahrq.gov/sites/default/files/publications/files/2013nhqr.pdf>. (08.05.2015).
20. Tarawneh M., Nimri O., Arkoob K., Al Zagher M. Cancer Incidence in Jordan 2009. URL: <http://www.moh.gov.jo/MOH/arabic/publications.php>. (28.04.2015).
21. The World Bank (2015). Data: Population ages 65 and above (% of total). URL: <http://data.worldbank.org/indicator>. (08.09.2015).
22. Viruses and Human Cancer. From Basic Science to Clinical Prevention // Ed. by M.H. Chang, K-T. Jeang. Springer, 2014. 290 p. doi: 10.1007/978-3-642-38965-8.
23. World Health Organization Global Health Observatory Data Repository, Mortality and Global Health Estimates 2012. URL: <apps.who.int/gho/data>. (24. 08. 2014).
24. World Health Statistics 2014. URL: [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/112738/1/9789240692671\\_eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/112738/1/9789240692671_eng.pdf). (22.04.2015).

## ABOUT THE AUTHORS

**Odintsova Irina Nikolaevna**, MD, DSc, Head of Epidemiology Laboratory, Tomsk Cancer Research Institute (Tomsk), Russian Federation. E-mail: OdintsovaIN@oncology.tomsk.ru. SPIN-code: 4631-9100

**Pisareva Ljubov Filippovna**, MD, DSc, Professor, Principle Investigator, Epidemiology Laboratory, Tomsk Cancer Research Institute (Tomsk), Russian Federation. E-mail: PisarevaLF@oncology.tomsk.ru. SPIN-код: 3529-0202

**Khryapenkov Alexandr Vladimirovich**, Head Physician, Choya Central District Hospital (the Altai Republic, Choya District, Choi), Russian Federation

## ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ И ПРЕДИКТИВНАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ДИНАМИКИ ИЗМЕНЕНИЯ ИНДЕКСА ПРОЛИФЕРАЦИИ Ki67 В МОДЕЛИ ПРЕДОПЕРАЦИОННОЙ ГОРМОНОТЕРАПИИ БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

М.В. Родионова<sup>1</sup>, И.К. Воротников<sup>1</sup>, В.В. Родионов<sup>2</sup>, Е.А. Дудко<sup>1</sup>,  
Н.В. Чхиквадзе<sup>1</sup>, В.В. Кометова<sup>2</sup>, Д.А. Рябчиков<sup>1</sup>, Е.В. Ошкина<sup>1</sup>,  
А.С. Ожерельев<sup>1</sup>, Т.А. Богуш<sup>1</sup>

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва<sup>1</sup>  
ФГБОУ ВПО «Ульяновский государственный университет», г. Ульяновск<sup>2</sup>  
115478, г. Москва, Каширское шоссе, 24, e-mail: miss.rodionova@gmail.com<sup>1</sup>

### Аннотация

В современном здравоохранении прослеживается четкая тенденция в сторону улучшения ранней диагностики рака молочной железы, что позволяет выявлять пациентов с крайне низким риском рецидива заболевания, которым обоснованно можно не проводить адъювантную химиотерапию. В связи с этим возникла необходимость проведения исследований, направленных на поиск биологических маркеров неблагоприятного прогноза в группе больных гормонозависимым раком молочной железы. Для широкого внедрения в клиническую практику данные маркеры должны быть валидированы в хорошо спланированных клинических исследованиях, предоставлять дополнительную предиктивную информацию и быть легко воспроизводимыми. В качестве таких маркеров могут выступать стандартные иммуногистохимические показатели: рецепторы эстрогенов и прогестерона, индекс пролиферации Ki67. Однако для индивидуализации гормонотерапии имеет большее значение не исходный уровень их экспрессии в опухоли, а динамика изменения в процессе тестовой гормонотерапии.

**Ключевые слова:** рак молочной железы, гормонотерапия, Ki67, гормоночувствительность.

Внедрение в клиническую практику адъювантной терапии рака молочной железы (РМЖ) привело к существенному снижению смертности от этой опухоли [17]. Выбор метода адъювантной терапии, в соответствии с современными стандартами, основывается на знании молекулярно-биологического портрета опухоли. Эстрогеновые рецепторы альфа (ЭР), рецепторы прогестерона (ПР), рецептор эпидермального роста Her2 в настоящее время являются общепризнанными прогностическими факторами риска развития отрицательного события (рецидив заболевания, смерть) и маркерами, предсказывающими чувствительность или резистентность опухоли к конкретной терапии.

Одновременно ведется поиск новых прогностических и предиктивных маркеров. В частности, отличительной чертой опухолевых клеток является их способность к постоянному делению [13]. Наиболее распространенным способом измерения степени пролиферации является иммуногистохимическое определение негистонного нуклеопротеина Ki67. Его точная функция в настоящее время достоверно не определена, хотя считается, что он связан с синтезом рибосомальной РНК [2, 16]. Наблюдение, что Ki67 присутствует только в пролиферирующих

клетках, привело к тому, что данный маркер был одобрен для оценки доли пролиферирующих клеток в опухоли. В 2013 г. панелью экспертов St Gallen International Breast Cancer Conference было рекомендовано использование в клинической практике порогового значения Ki67 – 20 % для разграничения опухолей с высокой и низкой пролиферативной активностью. Одновременно было предложено деление гормон-рецептор позитивных люминальных опухолей на два подтипа: подтип А (Ki67 < 20 %) и подтип В (Ki67 ≥ 20 %) [12].

### Роль неоадъювантных клинических исследований в оценке чувствительности опухоли к системной терапии

Проведение неоадъювантной системной терапии не только делает возможным выполнение операции в случае местнораспространенного РМЖ и уменьшение объема хирургического вмешательства в случае первично-операбельного РМЖ, но и позволяет *in vivo* оценить чувствительность опухоли к проводимой системной терапии. Отсутствие опухолевых клеток в гистологических препаратах у пациенток, получивших неоадъювантную системную терапию, описывается как полный

лечебный патоморфоз и является независимым маркером более высоких отдаленных результатов лечения [10, 20]. Неoadьювантный дизайн клинических исследований по изучению эффективности лекарственных средств, основанный на анализе частоты полного лечебного патоморфоза, был одобрен как метод, требующий меньшего количества пациентов и более коротких сроков наблюдения по сравнению с адьювантным. Однако полный лечебный патоморфоз в результате проводимой неoadьювантной химиотерапии, особенно в группе опухолей с высокой экспрессией ЭР, достигается достаточно редко, что приводит к затруднению интерпретации полученных результатов. Полный лечебный патоморфоз является редким явлением и в случае неoadьювантной эндокринотерапии РМЖ, несмотря на доказанную прогностическую и предиктивную значимость высокого уровня экспрессии ЭР и ПР в опухоли. В литературе описаны редкие случаи полного лечебного патоморфоза ЭР-позитивного РМЖ на фоне предоперационной эндокринотерапии: 0–2 % случаев – после приема тамоксифена в течение 4 мес, 2 % – после 3-месячного приема летрозолола, 3 % – после 3-месячного приема анастрозолола и 5–7 % – после 3–6 мес терапии экземестаном [7, 8, 11, 18, 19]. Результаты рандомизированного исследования В.Ф. Семглазова и др., включавшего 121 большую местнораспространенным ЭР-позитивным РМЖ в постменопаузе, показали сопоставимую частоту полного лечебного патоморфоза в группах неoadьювантной химиотерапии (4 курса АТ) и 3-месячной гормонотерапии (анастрозолол или экземестан) – 7 и 5 % соответственно [19].

В настоящее время ведется активный поиск новых биологических маркеров в первичной и резидуальной опухолях, способных не только прогнозировать отдаленные результаты лечения, но и ускорить разработку и внедрение новых лекарственных средств в группе пациенток высокого риска.

#### **Предиктивная и прогностическая роль динамического мониторинга молекулярных маркеров в оценке гормоночувствительности опухоли**

Впервые попытка оценить чувствительность опухоли к неoadьювантной гормонотерапии с использованием индекса пролиферации Ki67 была предпринята М. Dowsett et al. в 1998 г. [15]. В пилотное исследование были включены пациентки (n=21) первично-операбельным РМЖ, у которых иммуноцитохимически в материале аспирационной биопсии определяли исходные показатели экспрессии ЭР, ПР и Ki67, а также методом проточной цитофлуориметрии – плоидность и фракцию клеток в S-фазе (SPF). Повторное аналогичное исследование проводилось через 14 дней и 8 нед после ежедневного приема тамоксифена в дозе 20 мг/сут. Объективный ответ оценивался клинически

с использованием критериев UICC. Двенадцать пациенток ответили на лечение (в 2 случаях был зарегистрирован полный ответ, в 10 – частичный), у 7 больных наблюдалось прогрессирование заболевания. Клинический ответ был зарегистрирован преимущественно у пациенток с положительным статусом ЭР (p=0,002), ПР (p=0,006) и низкой фракцией SPF (p=0,06). После 14 дней приема тамоксифена в группе пациенток, ответивших на терапию, показатель Ki67 (процент окрашенных клеток) снизился в среднем в 4,8 раза, а в группе не ответивших на терапию средний показатель остался практически без изменения (p=0,005). В то же время статистически достоверного изменения SPF зарегистрировано не было. Снижение уровня ЭР относительно исходного значения было отмечено у 3 из 15 пациенток, причем все они ответили на лечение. Повышение экспрессии ПР наблюдалось у 7 из 17 пациенток, у 6 из которых наблюдался объективный ответ. Похожие изменения уровня экспрессии ЭР и ПР были получены и через 8 нед приема тамоксифена, однако снижение Ki67 и SPF в этом временном интервале не коррелировало с клиническим ответом. Авторами был сделан вывод, что снижение Ki67 и уровня экспрессии ЭР, а также повышение экспрессии ПР на фоне краткосрочного приема тамоксифена могут прогнозировать терапевтический ответ на гормонотерапию.

В 2000 г. опубликованы результаты исследования аналогичного дизайна, в котором у 54 больных РМЖ изменение маркеров оценивалось на 14-й день, 60-й день или на 14-й и 60-й дни [4]. Результаты однофакторного анализа показали, что исходные уровни ЭР и ПР являются достоверными предиктивными факторами ответа на гормонотерапию (p<0,0001 и p<0,003 соответственно). Повышение уровня экспрессии ПР и снижение Ki67 через 2 нед приема тамоксифена достоверно свидетельствовали о чувствительности опухоли к гормонотерапии (p<0,03 и p<0,04 соответственно). Напротив, отсутствие эстрогеновых рецепторов, наличие метастатических лимфоузлов и отсутствие снижения Ki67 после 14 дней приема тамоксифена достоверно коррелировали с повышенным риском рецидивирования (p<0,05). В данном исследовании хирургическое лечение пациенткам не проводилось из-за наличия сопутствующей патологии или преклонного возраста, а безрецидивный период оценивался от начала лечения до появления отдаленных метастазов.

Попытка оценить информативность динамики изменения Ki67 относительно исходного уровня в прогнозировании клинического ответа и в оценке эффективности гормонотерапии была предпринята в крупном мультицентровом двойном слепом рандомизированном исследовании IMPACT [7]. В исследование вошло 330 постменопаузальных пациенток с первично-операбельным или местнораспространенным условно-операбельным

ЭР-положительным РМЖ. Пациентки были рандомизированы в группы терапии тамоксифеном 20 мг/сут, аримидексом 1 мг/сут и комбинации этих препаратов в равной пропорции. Иммуногистохимическое определение ЭР, ПР, Her2 и Ki67 проводилось в материале кор-биопсии до начала лечения и через 2 нед, а также в операционном материале через 12 нед терапии. Окончательно в анализируемую группу были включены 259 пациенток. Во всех группах показано статистически достоверное снижение Ki67 после 2 и 12 нед лечения. Причем снижение было достоверно выше в группе анастрозола в сравнении с группой тамоксифена ( $p=0,004$ ,  $p=0,001$  соответственно), в то время как между группами тамоксифена и комбинации тамоксифена и анастрозола достоверных различий получено не было ( $p=0,6$ ,  $p=0,912$ ). Авторами была предпринята попытка оценить чувствительность опухолей различных люминальных подтипов к проводимой гормонотерапии. За исключением группы комбинированного приема препаратов снижения Ki67 на 2-й и 12-й нед наблюдения было достоверно больше в случае ПР-положительного статуса опухоли.

В процессе гормонотерапии изменялся и рецепторный статус опухолей. На 12-й нед отмечалось снижение уровня экспрессии ЭР как в группе тамоксифена, так и в группе анастрозола ( $p<0,05$ ). В группе анастрозола также было отмечено значимое снижение экспрессии ПР на 2-й и на 12-й нед наблюдения – в 41 и 82 % случаев соответственно. В то же время в группе тамоксифена уровень экспрессии ПР повышался в 48 % случаев на 2-й нед лечения, а к 12-й нед практически возвращался к исходным значениям.

Кроме того, в работе была выявлена статистически значимая корреляция между снижением уровня Ki67 и увеличением экспрессии ПР в группе тамоксифена, однако в группе анастрозола достоверной взаимосвязи получено не было. Отмеченное повышение уровня ПР в группе тамоксифена контрастирует со значительным подавлением экспрессии данных рецепторов в группе анастрозола. Однако разнонаправленное изменение уровня ПР в обеих группах прямо и статистически значимо коррелирует с подавлением пролиферативной активности опухоли. Снижение уровня экспрессии ПР на фоне приема анастрозола говорит об эффективности депривации эстрогенов вследствие зависимости ПР от эстрогенов. А повышение уровня ПР в группе тамоксифена является индикатором агонистического эффекта на его ген, что также является индикатором биологической чувствительности опухоли. Феномен раннего повышения уровня экспрессии ПР и повышенной чувствительности данных опухолевых клеток к гормонотерапии был описан A. Howel et al. еще в 1987 г. [14].

Снижение Ki67 относительно исходного уровня отмечено на 2-й (75,3 vs 61,7 %) и на 12-й нед

(73,2 vs 67,3 %) терапии в группах анастрозола и тамоксифена. Обращает на себя внимание тот факт, что эти изменения были более выражены в группе пациенток, у которых регистрировался объективный ответ. Вместе с тем только в группе тамоксифена снижение Ki67 в группе пациенток с объективным ответом было статистически значимым ( $p=0,013$ ).

При сравнительном анализе результатов неoadъювантной гормональной терапии РМЖ в исследовании IMPACT с данными эффективности адъювантной гормональной терапии в исследовании АТАС выявляются следующие закономерности: в первом случае критерием эффективности терапии были объективный ответ и динамика изменения молекулярных маркеров, во втором – показатель безрецидивной выживаемости. При медиане наблюдения 100 мес в исследовании АТАС, включавшем 9 366 ЭР-положительных пациенток в постменопаузе, показано увеличение безрецидивной выживаемости на 27 % в группе анастрозола по сравнению с группой тамоксифена [1]. Характер изменения уровня Ki67 в исследовании IMPACT как через 2 нед, так и через 12 нед приема препаратов гормонотерапии зеркально коррелировал с показателями безрецидивной выживаемости в исследовании АТАС. Таким образом, краткосрочные пилотные исследования с оценкой молекулярных опухолевых маркеров в динамике могут быть рекомендованы для обоснования проведения в дальнейшем крупномасштабных дорогостоящих исследований. Тем не менее невозможно полностью отказаться от рандомизированных исследований III фазы, так как только результаты исследования АТАС не выявили статистически достоверных различий в эффективности тамоксифена и анастрозола по показателю общей выживаемости при сроке наблюдения 100 мес ( $p=0,7$ ) [1].

#### **Ki67 как маркер первичной и приобретенной резистентности**

В отличие от стандартных адъювантных исследований, оценивающих отдаленные показатели выживаемости, неoadъювантная модель с оценкой молекулярных опухолевых маркеров в качестве предиктивных факторов позволяет выявить резистентность опухоли к гормонотерапии уже на ранних этапах лечения. В рассмотренном выше исследовании IMPACT в группе анастрозола у 52/56 пациенток с ЭР-положительным РМЖ после двухнедельного приема препарата отмечалось снижение пролиферации опухолевых клеток, что свидетельствовало о том, что терапия ингибиторами ароматазы в подавляющем числе случаев оказалась эффективной. Однако характер динамических изменений показателей Ki67 в период от 2 до 12 нед терапии существенно различался внутри этой группы пациенток (рис. 1А). У большинства из них (85 %) снижение показателя Ki67, отмечен-

ное спустя 2 нед после начала терапии, нарастало вплоть до 12-й нед на фоне продолжившейся неoadъювантной терапии. У 15 % больных, напротив, к 12-й нед от начала лечения снижение Ki67 останавливалось, а в некоторых случаях был отмечен рост маркера, что может являться биологическим свидетельством ранней приобретенной резистентности к проводимой терапии. Это теоретическое предположение было подтверждено клиническими данными: безрецидивная выживаемость пациенток с приобретенной резистентностью не отличалась от таковой у пациенток с резистентностью de novo и была достоверно ниже по сравнению с группой больных, у которых наблюдалось длительное стойкое снижение Ki67 (рис. 1Б) [5]. Таким образом, динамическая оценка пролиферативной активности опухоли делает возможным использование биомаркеров в исследованиях таргетных препаратов по преодолению приобретенной опухоли гормонорезистентности.

### Ki67 в составе прогностических моделей

Номограмма представляет собой прогностический алгоритм, позволяющий оценить вероятность определенного исхода индивидуально для каждого конкретного пациента, используя набор определенных «входных» данных (например, размер узла, гормональный статус опухоли и т. п.). Не вызывает

сомнений тот факт, что прогнозирование на основе сочетания нескольких прогностических параметров дает более точный результат, нежели прогнозирование, использующее только 1 маркер [21].

Точное определение риска рецидивирования у пациенток, получающих гормонотерапию, позволяет обоснованно отказаться от проведения токсичной химиотерапии в группе пациенток низкого риска. Разработано несколько прогностических мультигенных сигнатур, показывающих преимущество дополнительного проведения химиотерапии у больных ЭР-позитивным раком молочной железы групп низкого и среднего риска (Oncotype DX, MammaPrint). Однако это дорогостоящие методики, применение которых не всегда обосновано. Традиционные иммуногистохимические маркеры часто обладают достаточной прогностической и предиктивной информативностью. Номограмма ИНС4 объединила иммуногистохимические параметры (ЭР, ПР, Ki67 и Her2) и клинико-морфологические параметры (размер опухолевого узла, количество пораженных лимфоузлов, степень злокачественности, возраст пациентки) в математический индекс, позволяющий прогнозировать агрессивность заболевания у ЭР-позитивных пациенток, получающих эндокринотерапию. Данная номограмма была валидирована в исследовании TransATAC в когорте 1 125 пациенток, и ее про-

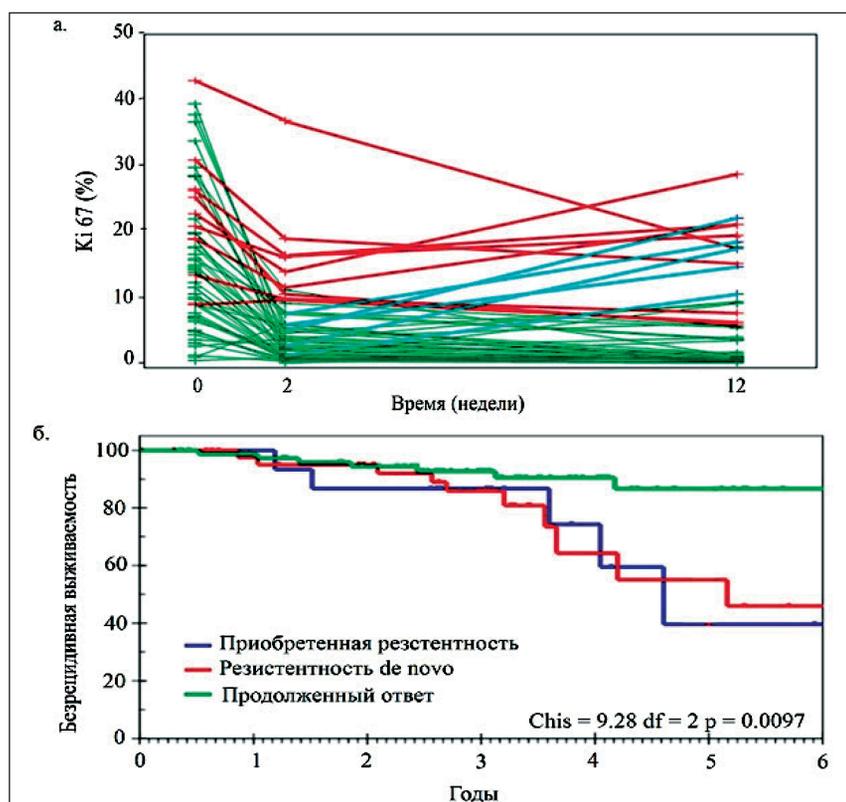


Рис. 1. А. Изменение маркера пролиферации Ki67 на фоне 12-недельной терапии анастрозолом; Б. Безрецидивная выживаемость пациенток ЭР-положительным раком молочной железы, получавших анастрозол, тамоксифен или их комбинацию в течение 12 нед (резистентность de novo – снижение Ki67 < 50 % за 2 нед терапии; приобретенная резистентность – снижение Ki67 > 50 % за 2 нед терапии, и ≤ 50 % снижение со 2-й по 12-ю нед терапии; продолженный ответ – снижение Ki67 < 50 % за 2 нед терапии и > 50 % со 2-й по 12-ю нед терапии). Модифицировано из статьи M. Dowsett et al., 2011 [4]

гностическая информативность не отличалась от таковой для Oncotype DX [4].

Предоперационный прогностический индекс РЕР1 был предложен в качестве номограммы, позволяющей оценить отдаленные результаты лечения больных РМЖ, в рамках исследования IMPACT. Индекс РЕР1 включает морфологические и молекулярные характеристики опухоли: статус ЭР, размер опухолевого узла, статус регионарных лимфоузлов, уровень Ki67 [9]. Авторами было показано, что после проведения в течение 12 нед неoadъювантной эндокринотерапии можно выделить группу пациенток чрезвычайно низкого риска рецидива, для которой является достаточным проведение только гормонотерапии, а также группу пациенток с высоким индексом РЕР1, в которой не-

обходимо дополнительно провести адъювантную химиотерапию. Таким образом, показатели Ki67 и динамика их изменения в ходе неoadъювантной гормональной терапии являются важным ориентиром в выборе тактики дальнейшего лекарственного лечения РМЖ.

### Заключение

Таким образом, оценка уровня Ki67 в процессе короткого предоперационного курса гормонотерапии позволяет получить оперативную информацию о биологии опухоли, ее чувствительности к проводимой терапии и обладает большой прогностической значимостью в оценке отдаленных результатов лечения.

### ЛИТЕРАТУРА

1. *Arimidex, Tamoxifen, Alone or in Combination (ATAC) Trialists' Group, Forbes J.F., Cuzick J., Buzdar A., Howell A., Tobias J.S., Baum M.* Effect of anastrozole and tamoxifen as adjuvant treatment for early-stage breast cancer: 100-month analysis of the ATAC trial // *Lancet Oncol.* 2008. Vol. 9 (1). P. 45–53.
2. *Bullwinkel J., Baron-Lühr B., Lüdemann A., Wohlenberg C., Gerdes J., Scholzen T.* Ki-67 protein is associated with ribosomal RNA transcription in quiescent and proliferating cells // *J. Cell Physiol.* 2006. Vol. 206 (3). P. 624–635.
3. *Chang J., Powles T.J., Allred D.C., Ashley S.E., Makris A., Gregory R.K., Osborne C.K., Dowsett M.* Prediction of clinical outcome from primary tamoxifen by expression of biologic markers in breast cancer patients // *Clin. Cancer Res.* 2000. Vol. 6 (2). P. 616–621.
4. *Cuzick J., Dowsett M., Pineda S., Wale C., Salter J., Quinn E., Zabaglo L., Mallon E., Green A.R., Ellis I.O., Howell A., Buzdar A.U., Forbes J.F.* Prognostic value of a combined estrogen receptor, progesterone receptor, Ki-67, and human epidermal growth factor receptor 2 immunohistochemical score and comparison with the Genomic Health recurrence score in early breast cancer // *J. Clin. Oncol.* 2011. Vol. 29 (32). P. 4273–4278. doi: 10.1200/JCO.2010.31.2835.
5. *Dowsett M., Smith I., Robertson J., Robison L., Pinhel I., Johnson L., Salter J., Dunbier A., Anderson H., Ghazoui Z., Skene T., Evans A., A'Hern R., Iskender A., Wilcox M., Bliss J.* Endocrine Therapy, New Biologicals, and New Study Designs for Presurgical Studies in Breast Cancer // *J. Natl. Cancer Inst. Monogr.* 2011. Vol. 2011 (43). P. 120–123. doi: 10.1093/jncimonographs/lgr034.
6. *Dowsett M., Smith I.E., Ebbs S.R., Dixon J.M., Skene A., Griffith C., Boeddinghaus I., Salter J., Detre S., Hills M., Ashley S., Francis S., Walsh G.; IMPACT Trialists.* Short-term changes in Ki-67 during neoadjuvant treatment of primary breast cancer with anastrozole or tamoxifen alone or combined correlate with recurrence-free survival // *Clin. Cancer Res.* 2005. Vol. 11 (2 Pt 2). P. 951s–958s.
7. *Eiermann W., Paepke S., Apfelstaedt J., Llombart-Cussac A., Ermin J., Vinholes J., Mauriac L., Ellis M., Lassus M., Chaudri-Ross H.A., Dugan M., Borgs M.; Letrozole Neo-Adjuvant Breast Cancer Study Group.* Preoperative treatment of postmenopausal breast cancer patients with letrozole: A randomized double-blind multicenter study // *Ann. Oncol.* 2001. Vol. 12 (11). P. 1527–1532.
8. *Ellis M.J., Coop A., Singh B., Mauriac L., Llombart-Cussac A., Jänicke F., Miller W.R., Evans D.B., Dugan M., Brady C., Quebe-Fehling E., Borgs M.* Letrozole is more effective neoadjuvant endocrine chemotherapy than tamoxifen for ErbB-1- and/or ErbB-2-positive, estrogen receptor-positive primary breast cancer: evidence from a phase III randomized trial // *J. Clin. Oncol.* 2001. Vol. 19 (18). P. 3808–3816.
9. *Ellis M.J., Tao Y., Luo J., A'Hern R., Evans D.B., Bhatnagar A.S., Chaudri Ross H.A., von Kameke A., Miller W.R., Smith I., Eiermann W., Dowsett M.* Outcome prediction for estrogen receptor-positive breast cancer based on postneoadjuvant endocrine therapy tumor characteristics // *J. Natl. Cancer Inst.* 2008. Vol. 100 (19). P. 1380–1388. doi: 10.1093/jnci/djn309.
10. *Fayanju O.M., Nwaogu I., Jeffe D.B., Margenthaler J.A.* Pathological complete response in breast cancer patients following neoadjuvant

chemotherapy at a Comprehensive Cancer Center: The natural history of elusive prognosticator // *Mol. Clin. Oncol.* 2015. Vol. 3. P. 775–780.

11. *Gil M.J., Barnadas A., Cirera L., Tusquets I., Muñoz M., Arcusa A., Prieto L., Moreno A., Graupera J., Margeli M.* Primary hormonal therapy with exemestane in patients with breast tumors >3 cm in diameter: Results of a Spanish multicenter phase II trial // *J. Clin. Oncol.* 2004. Vol. 22 (14S). P. 603.
12. *Goldhirsch A., Winer E.P., Coates A.S., Gelber R.D., Piccart-Gebhart M., Thürlimann B., Senn H.J.; Panel members.* Personalizing the treatment of women with early breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2013 // *Ann. Oncol.* 2013. Vol. 24 (9). P. 2206–2223. doi: 10.1093/annonc/mdt303.
13. *Hanahan D., Weinberg R.A.* Hallmarks of cancer: the next generation // *Cell.* 2011. Vol. 144 (5). P. 646–674. doi: 10.1016/j.cell.2011.02.013.
14. *Howell A., Harland R.N., Barnes D.M., Baidam A.D., Wilkinson M.J., Hayward E., Swindell R., Sellwood R.A.* Endocrine therapy for advanced carcinoma of the breast: relationship between the effect of tamoxifen upon concentrations of progesterone receptor and subsequent response to treatment // *Cancer Res.* 1987. Vol. 47 (1). P. 300–304.
15. *Makris A., Powles T., Allred D.C., Ashley S., Ormerod M.G., Tittle J.C., Dowsett M.* Changes in hormone receptors and proliferation markers in tamoxifen treated breast cancer patients and the relationship with response // *Breast Cancer Res. Treat.* 1998. Vol. 48 (1). P. 11–20.
16. *Romero Q., Bendahl P.-O., Ferno M., Grabau D., Borgquist S.* A novel model for Ki67 assessment in breast cancer // *Diagnostic pathology.* 2014. Vol. 9. P. 118. doi: 10.1186/1746-1596-9-118.
17. *Rossi L., Stevens D., Pierga J., Lerebours F., Reyat F., Robain M., Asselain B., Rouzier R.* Impact of Adjuvant Chemotherapy on Breast Cancer Survival: A Real-World Population // *PLoS One.* 2015. Vol. 10 (7): e0132853. doi: 10.1371/journal.pone.0132853.
18. *Sachelarie I., Grossbard M.L., Chadha M., Feldman S., Ghesani M., Blum R.H.* Primary Systemic Therapy of Breast Cancer // *The Oncologist.* 2006. Vol. 11 (6). P. 574–589.
19. *Semiglazov V.F., Semiglazov V.V., Ivanov V.G., Bozhok A., Ziltzova E.K., Paltuev R.M., Dashian G.A., Kletzel A., Topuzov E.E., Berstein L.* The relative efficacy of neoadjuvant endocrine therapy versus chemotherapy in postmenopausal women with ER-positive breast cancer // *J. Clin. Oncol.* 2004. Vol. 22 (14S). P. 519.
20. *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., Nekljudova 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. Vol. 30 (15). P. 1796–1804. doi: 10.1200/JCO.2011.38.8595.
21. *Witteveen A., Vliegen I.M., Sonke G.S., Klaase J.M., IJzerman M.J., Siesling S.* Personalisation of breast cancer follow-up: a time-dependent prognostic nomogram for the estimation of annual risk of locoregional recurrence in early breast cancer patients // *Breast Cancer Res. Treat.* 2015. Vol. 152 (3). P. 627–636. doi: 10.1007/s10549-015-3490-4.

Поступила 26.06.15

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**Родионова Мария Валерьевна**, аспирант, хирургическое отделение опухолей молочных желез, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Москва), Российская Федерация. E-mail: miss.rodionova@gmail.com. SPIN-код: 8186-9358

**Воротников Игорь Константинович**, доктор медицинских наук, профессор, заведующий хирургическим отделением опухолей молочных желез, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Москва), Российская Федерация. E-mail: i.vorotnikov@mail.ru

**Родионов Валерий Витальевич**, доктор медицинских наук, профессор, ФГБОУ ВПО «Ульяновский государственный университет»; заведующий хирургическим отделением № 2, Государственное учреждение здравоохранения «Областной клинический онкологический диспансер» (г. Ульяновск), Российская Федерация. E-mail: dr.valery.rodionov@gmail.com

**Дудко Евгений Александрович**, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, лаборатория медицинской химии, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Москва), Российская Федерация. E-mail: e.a.dudko@gmail.com. SPIN-код: 3046-5833

**Чхиквадзе Нино Валерьяновна**, кандидат медицинских наук, врач хирургического отделения опухолей молочных желез, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Москва), Российская Федерация. E-mail: nchkh@gmail.com

**Кометова Влада Владимировна**, кандидат медицинских наук, врач-патологоанатом патологоанатомического отделения, Государственное учреждение здравоохранения «Областной клинический онкологический диспансер» (г. Ульяновск), Российская Федерация. E-mail: vladastasiatema@mail.ru. SPIN-код: 2390-4253

**Рябчиков Денис Анатольевич**, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник, хирургическое отделение опухолей молочных желез, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Москва), Российская Федерация. E-mail: dr.denisr@mail.ru

**Ошкина Елена Викторовна**, младший научный сотрудник, отделение эпидемиологии и профилактики опухолей, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Москва), Российская Федерация. E-mail: elen.oshkina@yandex.ru

**Ожерельев Александр Святославович**, доктор медицинских наук, профессор, ведущий научный сотрудник, хирургическое отделение № 2 (диагностики опухолей), Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Москва), Российская Федерация. E-mail: labmedchem@mail.ru

**Богуш Татьяна Анатольевна**, доктор биологических наук, профессор, заведующая лабораторией медицинской химии, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Москва), Российская Федерация. E-mail: bogush@orc.ru. SPIN-код: 4050-0061

**Авторы данной статьи подтвердили отсутствие финансовой поддержки / конфликта интересов, о котором необходимо сообщить**

## PROGNOSTIC AND PREDICTIVE SIGNIFICANCE OF KI67 DYNAMIC CHANGE DURING PREOPERATIVE ENDOCRINE THERAPY IN BREAST CNACER PATIENTS

**M.V. Rodionova<sup>1</sup>, I.K. Vorotnikov<sup>1</sup>, V.V. Rodionov<sup>2</sup>, E.A. Dudko<sup>1</sup>,  
N.V. Chkhivadze<sup>1</sup>, V.V. Kometova<sup>2</sup>, D.A. Ryabchikov<sup>1</sup>, E.V. Oshkina<sup>1</sup>,  
A.S. Ozherelyev<sup>1</sup>, T.A. Bogush<sup>1</sup>**

N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Moscow<sup>1</sup>

Ulyanovsk State University, Ulyanovsk<sup>2</sup>

24, Kashirskoe shosse, 115478-Moscow, Russia, e-mail: miss.rodionova@gmail.com<sup>1</sup>

### Abstract

Currently, there is a marked tendency towards improvement of early detection of breast cancer that allows patients at extremely low risk for developing recurrent disease to be identified. Therefore, it is necessary to search for biological markers of unfavorable prognosis for patients with hormone-dependent breast cancer. In order to introduce these markers into routine clinical practice, they should be validated in well-designed clinical studies, provide additional predictive information and be easily reproducible. The standard immunohistochemical parameters (estrogen and progesterone receptors and Ki67 cell proliferation index) can be served as these markers. However, the dynamic changes in these parameters during hormone therapy

rather than their initial expression levels in the tumor are of great significance for the individualized hormone therapy.

**Key words: breast cancer, hormone therapy, Ki67, hormone sensitivity.**

## REFERENCES

1. *Arimidex, Tamoxifen, Alone or in Combination (ATAC) Trialists' Group, Forbes J.F., Cuzick J., Buzdar A., Howell A., Tobias J.S., Baum M.* Effect of anastrozole and tamoxifen as adjuvant treatment for early-stage breast cancer: 100-month analysis of the ATAC trial // *Lancet Oncol.* 2008. Vol. 9 (1). P. 45–53.
2. *Bullwinkel J., Baron-Lühr B., Lüdemann A., Wohlenberg C., Gerdes J., Scholzen T.* Ki-67 protein is associated with ribosomal RNA transcription in quiescent and proliferating cells // *J. Cell Physiol.* 2006. Vol. 206 (3). P. 624–635.
3. *Chang J., Powles T.J., Allred D.C., Ashley S.E., Makris A., Gregory R.K., Osborne C.K., Dowsett M.* Prediction of clinical outcome from primary tamoxifen by expression of biologic markers in breast cancer patients // *Clin. Cancer Res.* 2000. Vol. 6 (2). P. 616–621.
4. *Cuzick J., Dowsett M., Pineda S., Wale C., Salter J., Quinn E., Zabaglo L., Mallon E., Green A.R., Ellis I.O., Howell A., Buzdar A.U., Forbes J.F.* Prognostic value of a combined estrogen receptor, progesterone receptor, Ki-67, and human epidermal growth factor receptor 2 immunohistochemical score and comparison with the Genomic Health recurrence score in early breast cancer // *J. Clin. Oncol.* 2011. Vol. 29 (32). P. 4273–4278. doi: 10.1200/JCO.2010.31.2835.
5. *Dowsett M., Smith I., Robertson J., Robison L., Pinhel I., Johnson L., Salter J., Dunbier A., Anderson H., Ghazoui Z., Skene T., Evans A., A'Hern R., Iskender A., Wilcox M., Bliss J.* Endocrine Therapy, New Biologicals, and New Study Designs for Presurgical Studies in Breast Cancer // *J. Natl. Cancer Inst. Monogr.* 2011. Vol. 2011 (43). P. 120–123. doi: 10.1093/jncimonographs/lgr034.
6. *Dowsett M., Smith I.E., Ebbs S.R., Dixon J.M., Skene A., Griffith C., Boeddinghaus I., Salter J., Detre S., Hills M., Ashley S., Francis S., Walsh G.; IMPACT Trialists.* Short-term changes in Ki-67 during neoadjuvant treatment of primary breast cancer with anastrozole or tamoxifen alone or combined correlate with recurrence-free survival // *Clin. Cancer Res.* 2005. Vol. 11 (2 Pt 2). 951s–958s.
7. *Eiermann W., Paepke S., Appfelstaedt J., Llombart-Cussac A., Ermin J., Vinholes J., Mauriac L., Ellis M., Lassus M., Chaudri-Ross H.A., Dugan M., Borgs M.; Letrozole Neo-Adjuvant Breast Cancer Study Group.* Preoperative treatment of postmenopausal breast cancer patients with letrozole: A randomized double-blind multicenter study // *Ann. Oncol.* 2001. Vol. 12 (11). P. 1527–1532.
8. *Ellis M.J., Coop A., Singh B., Mauriac L., Llombart-Cussac A., Jänicke F., Miller W.R., Evans D.B., Dugan M., Brady C., Quebe-Fehling E., Borgs M.* Letrozole is more effective neoadjuvant endocrine chemotherapy than tamoxifen for ErbB-1- and/or ErbB-2-positive, estrogen receptor-positive primary breast cancer: evidence from a phase III randomized trial // *J. Clin. Oncol.* 2001. Vol. 19 (18). P. 3808–3816.
9. *Ellis M.J., Tao Y., Luo J., A'Hern R., Evans D.B., Bhatnagar A.S., Chaudri H.A., von Kameke A., Miller W.R., Smith I., Eiermann W., Dowsett M.* Outcome prediction for estrogen receptor-positive breast cancer based on postneoadjuvant endocrine therapy tumor characteristics // *J. Natl. Cancer Inst.* 2008. Vol. 100 (19). P. 1380–1388. doi: 10.1093/jnci/djn309.
10. *Fayanju O.M., Nwaogu I., Jeffe D.B., Margenthaler J.A.* Pathological complete response in breast cancer patients following neoadjuvant

chemotherapy at a Comprehensive Cancer Center: The natural history of elusive prognosticator // *Mol. Clin. Oncol.* 2015. Vol. 3. P. 775–780.

11. *Gil M.J., Barnadas A., Cirera L., Tusquets I., Muñoz M., Arcusa A., Prieto L., Moreno A., Graupera J., Margeli M.* Primary hormonal therapy with exemestane in patients with breast tumors >3 cm in diameter: Results of a Spanish multicenter phase II trial // *J. Clin. Oncol.* 2004. Vol. 22 (14S). P. 603.
12. *Goldhirsch A., Winer E.P., Coates A.S., Gelber R.D., Piccart-Gebhart M., Thürlimann B., Senn H.J.; Panel members.* Personalizing the treatment of women with early breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2013 // *Ann. Oncol.* 2013. Vol. 24 (9). P. 2206–2223. doi: 10.1093/annonc/mdt303.
13. *Hanahan D., Weinberg R.A.* Hallmarks of cancer: the next generation // *Cell.* 2011. Vol. 144 (5). P. 646–674. doi: 10.1016/j.cell.2011.02.013.
14. *Howell A., Harland R.N., Barnes D.M., Baidam A.D., Wilkinson M.J., Hayward E., Swindell R., Sellwood R.A.* Endocrine therapy for advanced carcinoma of the breast: relationship between the effect of tamoxifen upon concentrations of progesterone receptor and subsequent response to treatment // *Cancer Res.* 1987. Vol. 47 (1). P. 300–304.
15. *Makris A., Powles T., Allred D.C., Ashley S., Ormerod M.G., Titley J.C., Dowsett M.* Changes in hormone receptors and proliferation markers in tamoxifen treated breast cancer patients and the relationship with response // *Breast Cancer Res. Treat.* 1998. Vol. 48 (1). P. 11–20.
16. *Romero Q., Bendahl P.-O., Ferno M., Grabau D., Borgquist S.* A novel model for Ki67 assessment in breast cancer // *Diagnostic pathology.* 2014. Vol. 9. P. 118. doi: 10.1186/1746-1596-9-118.
17. *Rossi L., Stevens D., Pierra J., Lerebours F., Rey F., Robain M., Asselain B., Rouzier R.* Impact of Adjuvant Chemotherapy on Breast Cancer Survival: A Real-World Population // *PLoS One.* 2015. Vol. 10 (7): e0132853. doi: 10.1371/journal.pone.0132853.
18. *Sachelarie I., Grossbard M.L., Chadha M., Feldman S., Ghossein M., Blum R.H.* Primary Systemic Therapy of Breast Cancer // *The Oncologist.* 2006. Vol. 11 (6). P. 574–589.
19. *Semiglazov V.F., Semiglazov V.V., Ivanov V.G., Bozhok A., Ziltzova E.K., Paltuev R.M., Dashian G.A., Kletzel A., Topuzov E.E., Berstein L.* The relative efficacy of neoadjuvant endocrine therapy versus chemotherapy in postmenopausal women with ER-positive breast cancer // *J. Clin. Oncol.* 2004. Vol. 22 (14S). P. 519.
20. *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., Nekljudova 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. Vol. 30 (15). P. 1796–1804. doi: 10.1200/JCO.2011.38.8595.
21. *Witteveen A., Vliegen I.M., Sonke G.S., Klaase J.M., IJzerman M.J., Siesling S.* Personalisation of breast cancer follow-up: a time-dependent prognostic nomogram for the estimation of annual risk of locoregional recurrence in early breast cancer patients // *Breast Cancer Res. Treat.* 2015. Vol. 152 (3). P. 627–636. doi: 10.1007/s10549-015-3490-4.

## ABOUT THE AUTHORS

**Rodionova Maria Valerievna**, postgraduate, Department of Breast Tumor Surgery, N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center (Moscow), Russian Federation. E-mail: miss.rodionova@gmail.com. SPIN-code: 8186-9358

**Vorotnikov Igor Konstantinovich**, MD, Professor, Head of Department of Breast Tumor Surgery, N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center (Moscow), Russian Federation. E-mail: i.vorotnikov@mail.ru

**Rodionov Valery Vitalievich**, Professor, Head of Surgical Department № 2, Ulyanovsk State University (Ulyanovsk), Russian Federation. E-mail: dr.valery.rodionov@gmail.com

**Dudko Evgeny Alexandrovich**, PhD, Senior Researcher, Laboratory of Medical Chemistry, N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center (Moscow), Russian Federation. E-mail: e.a.dudko@gmail.com. SPIN-code: 3046-5833

**Chkhvadze Nino Valerianovna**, MD, PhD, Department of Breast Tumor Surgery, N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center (Moscow), Russian Federation. E-mail: nchkh@gmail.com

**Kometova Vlada Vladimirovna**, MD, PhD, pathologist, Department of Anatomic Pathology, Ulyanovsk State University (Ulyanovsk), Russian Federation. E-mail: vladastasiatema@mail.ru. SPIN-code: 2390-4253

**Ryabchikov Denis Anatolievich**, MD, PhD, Senior Researcher, Department of Breast Tumor Surgery, N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center (Moscow), Russian Federation. E-mail: dr.denisr@mail.ru

**Oshkina Elena Viktorovna**, Researcher, Department of Epidemiology and Cancer Prevention, N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center (Moscow), Russian Federation. E-mail: elen.oshkina@yandex.ru

**Ozherelyev Alexandr Svyatoslavovich**, Professor, Principal Researcher, Surgery Department, N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center (Moscow), Russian Federation. E-mail: labmedchem@mail.ru

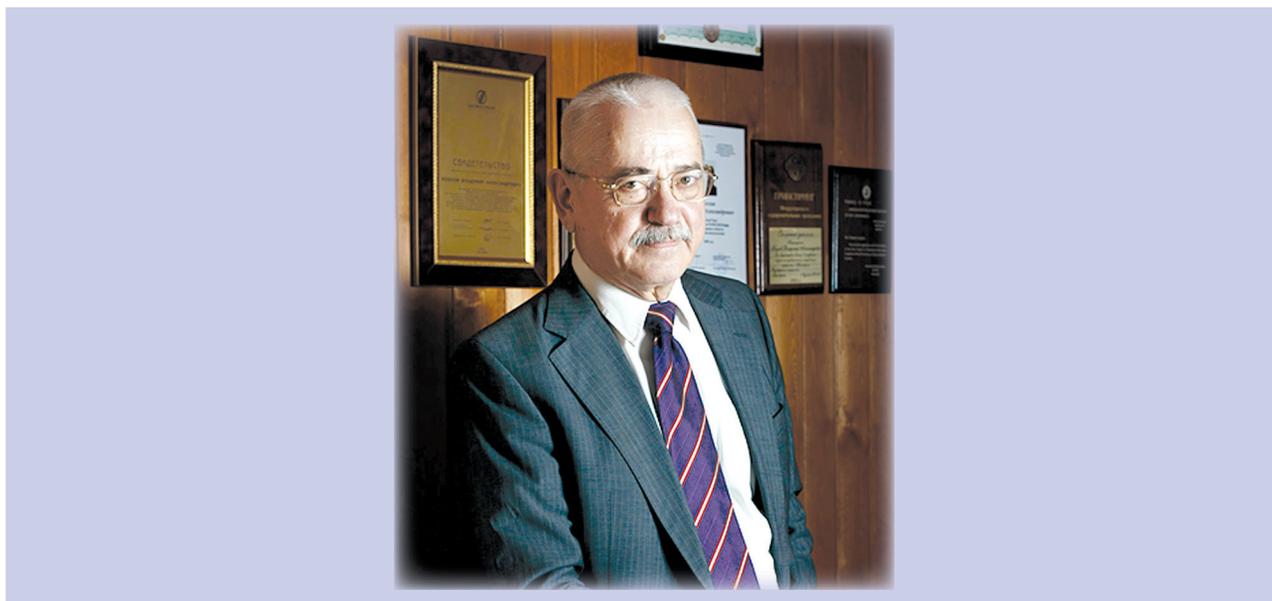
**Bogush Tatiana Anatolievna**, Professor, Head of Medical Chemistry Laboratory, N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center (Moscow), Russian Federation. E-mail: bogush@orc.ru. SPIN-code: 4050-0061

---

## ЮБИЛЕИ

---

### АКАДЕМИК ВЛАДИМИР АЛЕКСАНДРОВИЧ КОЗЛОВ (к 75-летию со дня рождения)



20 июля 2015 года исполнилось 75 лет со дня рождения Владимира Александровича Козлова – крупного учёного-иммунолога, академика Российской академии наук, профессора, доктора медицинских наук, заведующего кафедрой клинической иммунологии Новосибирского государственного медицинского университета, директора Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» (НИИФКИ), заведующего лабораторией клинической иммунопатологии этого же института.

В.А. Козлов родился в городе Новосибирске. В 1963 году Владимир Александрович Козлов окончил Новосибирский государственный медицинский институт. С 1963 года он последовательно прошел путь ординатора, аспиранта, младшего и старшего научного сотрудника, заведующего лабораторией, заместителя директора по научной работе, директора института, заместителя председателя Сибирского отделения Российской академии медицинских наук.

В 1969 году Владимир Александрович Козлов защитил диссертацию на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по теме «Постэмбриональные и пострадиационные сдвиги в иммунокомпетентной ткани животных разных генотипов», в 1981 году им была защищена докторская диссертация на тему «Гуморально-клеточные уровни регуляции основных этапов антителигенеза».

В 1986 году ему было присвоено звание «профессор» по специальности «аллергология и иммунология», в 1994 году избран членом-корреспондентом РАМН по специальности «иммунология», в 2002 году – действительным членом (академиком) Российской академии медицинских наук по специальности «иммунология».

Академик В.А. Козлов – признанный специалист по проблемам регуляции иммунного гомеостаза во взаимодействии с нервной, эндокринной и кровяной системами в норме и патологии. Он внес большой вклад в развитие экспериментальной иммунологии. В настоящее время под его руководством ведутся работы по приоритетному направлению развития науки: клеточные биотехнологии в медицине (трансплантация стволовых клеток костного мозга, разработка новых лекарственных препаратов на основе рекомбинантных цитокинов, экстракорпоральная иммунотерапия, получение Т-клеточных вакцин, антигенспецифическая иммунотерапия). В.А. Козловым создана школа высококвалифицированных специалистов в области иммунологии.

Основными направлениями научных исследований, разрабатываемых В.А. Козловым и возглавляемым им коллективом, являются:

- молекулярно-генетические основы регуляции процессов дифференцировки, активации и пролиферации клеток иммунной системы и стволовых клеток;

- интегративная роль иммунной системы во взаимодействии с основными регуляторными системами организма;

- клеточные и молекулярно-генетические механизмы формирования иммунопатологических состояний при развитии основных заболеваний человека.

В.А. Козлов внес большой вклад в развитие экспериментальной иммунологии. Им разработаны фундаментальные основы учения о разнонаправленных конкурентных механизмах регуляции, дифференцировки и пролиферации стволовых кроветворных клеток, открыты новые закономерности о тесной взаимосвязи клеточного цикла стволовых кроветворных клеток с их способностью отвечать на различные дифференцировочные стимулы, сформулирован целый ряд концепций, обогативших науку новыми знаниями. Впервые в мире выдвинута и обоснована гипотеза об участии полипотентных стволовых кроветворных клеток в процессе формирования иммунного ответа.

Впервые в мире В.А. Козловым с сотрудниками описаны иммунорегуляторные функции эритроидных клеток. По результатам этих исследований в 1990 году Госкомитетом СССР по делам изобретений зарегистрировано открытие «Явление регуляции гуморального иммунного ответа гетерогенной популяцией клеток эритроидного ряда». Впоследствии из эритробластов был выделен иммунодепрессивный фактор, обладающий ингибирующим эффектом на пролиферацию В-лимфоцитов.

Под руководством В.А. Козлова разработан новый иммуноактивный препарат, не имеющий аналогов в России и за рубежом, Hb $\beta$  (цепь гемоглобина) со свойствами модулятора эритро- и иммунопоэза. Обоснована возможность применения нового ингибитора пролиферации стволовых кроветворных клеток (Hb $\beta$ , а также входящего в

его состав пептида PN951) в качестве химиопротекторного средства.

В.А. Козлов – автор более 1230 научных публикаций, 26 патентов, 1 открытия. Под его руководством подготовлено 18 докторов наук и 54 кандидата наук.

В течение ряда лет В.А. Козлов является председателем специализированного диссертационного совета Д.001.01.01 при НИИФКИ, г. Новосибирск, по специальности – клиническая иммунология и аллергология; главным редактором журнала «Клеточная трансплантология и тканевая инженерия», заместителем главного редактора журнала «Цитокины и воспаление», членом редакционных коллегий журналов «Сибирский научный медицинских журнал» (Новосибирск), «Российский иммунологический журнал» (Москва), «Медицинская иммунология» (Санкт-Петербург), «Аллергология и иммунология», членом редакционного совета журнала «Клеточные технологии в биологии и медицине».

Владимир Александрович Козлов удостоен премии РАМН им. Н.И. Пирогова, награжден почетным знаком им. акад. РАМН В.И. Йоффе, является кавалером золотого почетного знака «Общественное признание», ему присвоено почетное звание «Заслуженный ветеран Сибирского отделения РАН», он награжден золотой медалью Российского научного общества иммунологов, Государственной премией Правительства Российской Федерации в области образования, знаком отличия «За заслуги перед Новосибирской областью» и Знаком «Отличник здравоохранения».

*Редакция «Сибирского онкологического журнала» присоединяется к многочисленным поздравлениям в адрес академика В.А. Козлова и желает ему творческого долголетия и активной работы на благо развития медицинской науки.*

## ПРОФЕССОР ЮРИЙ АЛЕКСАНДРОВИЧ ДЫХНО ( к 75-летию со дня рождения)



Юрий Александрович Дыхно – заслуженный врач России, доктор медицинских наук, профессор в третьем поколении, представитель династии врачей, общий стаж работы которых более 700 лет.

В 1964 г. Ю.А. Дыхно окончил с отличием лечебный факультет Красноярского государственного медицинского института и был рекомендован в клиническую ординатуру Института хирургии им. А.В. Вишневского АМН (1964–1966 гг.), в 1966–1969 гг. он аспирант, в 1974–1976 гг. – докторант того же института. В 1969 г. Ю.А. Дыхно защитил кандидатскую диссертацию «Силиконовый каучук и объемная пластика мягких тканей», в 1980 г. – докторскую диссертацию «Кишечная пластика нейрогенного мочевого пузыря в сочетании с электростимуляцией кишечного трансплантата у больных травматической болезнью спинного мозга». В 1967 г., Ю.А. Дыхно совместно с проф. Т.Т. Дауровой впервые в СССР применил силиконовый каучук для инъекционной объемной пластики мягких тканей, а в 1974 г. с проф. А.В. Лившицем (впервые в мире) – электростимуляцию кишечного трансплантата при пластике нейрогенного склерозированного мочевого пузыря у больных травматической болезнью спинного мозга.

После окончания аспирантуры в 1969 г., Ю.А. Дыхно был принят ассистентом на кафедру госпитальной хирургии им. проф. А.М. Дыхно Красноярского мединститута. С 1971 г. началась научно-педагогическая и практическая деятельность Ю.А. Дыхно, связанная с онкологией, в 1977 г. им был сформирован доцентский курс по онкологии, в 1981 г. создана кафедра клинической онкологии с курсом последипломного образования. С 1983 г. профессор Ю.А. Дыхно организовал обуче-

ние на циклах тематического и общего усовершенствования «Современные принципы диагностики и лечения злокачественных новообразований» и «Принципы ранней диагностики злокачественных опухолей». В 2006 г. в состав кафедры был включен курс лучевой терапии. Важным аспектом подготовки кадров по онкологии является последипломная подготовка, за последние 5 лет кафедра ежегодно выпускает более 20 клинических ординаторов и интернов.

Лекции профессора Ю.А. Дыхно играют существенную роль в процессе обучения студентов, интернов, ординаторов, врачей. Они пользуются популярностью и собирают большие аудитории. Многие поколения врачей получили образование под руководством Ю.А. Дыхно. Сегодня они трудятся в Красноярском краевом клиническом онкологическом диспансере, в районах края и за его пределами.

Под его руководством и при его непосредственном участии создано 12 учебно-методических пособий, из которых 6 получили гриф УМО, а 5 признаны КрасГМУ лучшими учебными пособиями 2004–2013 гг. Кафедра неоднократно входила в число лучших клинических кафедр КрасГМУ, и всегда получает положительные отзывы врачей и организаторов здравоохранения на циклах усовершенствования по онкологии. Базой кафедры является Красноярский краевой клинический онкологический диспансер, в котором Ю.А. Дыхно в течение 30 лет руководил клиникой. Одновременно он 16 лет заведовал отделением торакальной хирургии.

Юрий Александрович Дыхно – высококвалифицированный онколог высшей категории и

разносторонний хирург. Владея полным объемом операций на органах головы и шеи, грудной и брюшной полостях, органах мочевыделительной системы, при гинекологических заболеваниях, опухолях мягких тканей, он глубоко знает вопросы комбинированного и комплексного лечения онкологических больных.

Ю.А. Дыхно внедрил в работу онкологического диспансера 48 новых методов диагностики и лечения онкобольных, из которых 22 – впервые в Красноярске. Им выполнены эксклюзивные операции с одномоментным удалением гортани и пищевода и восстановлением естественного прохождения пищи за счет желудка, резекцию 9 колец трахеи. Ю.А. Дыхно внедрил симультанные операции, что позволило сократить пребывание онкологических больных в стационаре, экономить лекарственные средства и устранить психологическую травму больного от повторной госпитализации и операции. В 1977 г. он впервые за Уралом выполнил тонкокишечную пластику склерозированного нейрогенного мочевого пузыря. Под руководством профессора Ю.А. Дыхно были сформированы научные направления деятельности кафедры: эпидемиология, диагностика и лечение злокачественных опухолей, иммунология, реабилитация и качество жизни онкологических больных. Результаты эпидемиологических исследований были опубликованы в методических рекомендациях Красноярского минздрава, препринте 119Б «Экологические структуры Красноярска» (Институт биофизики СО АН), в Атласе онкологической заболеваемости населения Сибири и Дальнего Востока, в ряде монографий.

Под руководством профессора Ю.А. Дыхно защищено 9 кандидатских и 2 докторские диссертации. Он является автором более 500 статей, опубликованных в отечественных и зарубежных изданиях, 12 монографий. Неоднократно получал гранты РГНФ, Красноярского фонда науки. Ю.А. Дыхно – автор 17 рационализаторских предложений, 6 патентов.

Ю.А. Дыхно осуществляет важную санитарно-просветительную работу и пропаганду знаний по онкологии в СМИ – постоянно выступает по радио и на телевидении. Авторитет Ю.А. Дыхно признан среди коллег. Он член правления Всероссийского общества онкологов, учебно-методической комиссии по преподаванию онкологии при Минздраве РФ, Проблемной комиссии по онкологии при Томском НИИ онкологии, двух специализированных ученых советов по защите докторских и кандидатских диссертаций. В течение 30 лет (1977–2007 гг.) Ю.А. Дыхно был председателем правления краевого общества онкологов.

В 2001 г. профессору Ю.А. Дыхно присвоено звание «Заслуженный врач РФ». За заслуги перед городом он награжден золотым знаком «Герб города Красноярска», грамотами Министерства здравоохранения РФ, губернатора Красноярского края, администрации г. Красноярска, Федерального медико-биологического агентства, благодарственными письмами и дипломами КрасГМУ. Ассоциацией ветеранов боевых действий органов внутренних дел и внутренних войск России награжден медалью «За мужество и гуманизм». Ассоциацией врачей Красноярского края профессор Ю.А. Дыхно признан лучшим хирургом 2000 года с вручением «Золотого скальпеля». Его имя внесено в энциклопедические справочники «Звезды Красного Яра», «Деятели российской онкологии» и др.

Ю.А. Дыхно пользуется уважением и доверием сотрудников КрасГМУ, ККОД, практических врачей, больных. Отличительные черты его характера – отзывчивость и человеколюбие.

*Редакция «Сибирского онкологического журнала», коллеги и друзья от всей души поздравляют Юрия Александровича Дыхно с юбилеем и желают долгих лет жизни, успехов в научно-практической деятельности и личного счастья.*

## ПЕТРУ ГРИГОРЬЕВИЧУ БАЙДАЛЕ – 80 ЛЕТ



2 октября 2015 г. исполнилось 80 лет кандидату медицинских наук, доценту кафедры онкологии Сибирского государственного медицинского университета, заслуженному врачу РФ Петру Григорьевичу Байдале.

П.Г. Байдала родился в 1935 г. в местечке Семёновка Черниговской области. В 1959 г. окончил 1-й Ленинградский медицинский институт им. И.П. Павлова и по распределению был направлен в МСЧ № 81 г. Томска-7 (ныне г. Северск), где три года работал в качестве хирурга. В 1962 г. он получил ординатуру на кафедре госпитальной хирургии под руководством академика А.Г. Савиных. С этого времени деятельность П.Г. Байдалы неразрывно связана с Томским медицинским институтом, впоследствии Сибирским государственным медицинским университетом. В то же время, в 1965–1967 гг., он продолжал трудиться хирургом в МСЧ № 81. Петра Григорьевича с благодарностью вспоминают сотни прооперированных и поставленных на ноги пациентов.

Свою практическую деятельность П.Г. Байдала успешно сочетает с педагогической и научно-исследовательской работой. В 1967 г. он был избран на должность ассистента кафедры госпитальной хирургии Томского мединститута и в 1969 г. защитил кандидатскую диссертацию на тему «Моторно-эвакуаторная деятельность желудка и кишечника после резекции кардиального отдела желудка с частичным сохранением задней хорды блуждающего нерва». В 1979 г. избран по конкурсу на кафедру онкологии на должность доцента, где работает и по настоящее время. П.Г. Байдала – автор 110 публикаций. Под его редакцией издан библиографический указатель работ учёных ТМИ по онкологии (1977 г.) и три монографии. Он участник отечественных симпозиумов, съездов хирургов и онкологов.

Петр Григорьевич Байдала – опытный педагог и талантливый воспитатель молодых научных кадров. Более тридцати пяти лет он руководит в СибГМУ работой студенческого научного кружка при кафедре госпитальной хирургии «Онколог». За долгие годы существования кружка из его воспитанников вышло большое количество специалистов-онкологов, среди них известные в Томске врачи, кандидаты и доктора медицинских наук. Кроме этого, в рамках постдипломной подготовки врачей по онкологии П.Г. Байдала организовал цикл лекций для врачей области и города Томска. Он проводит обучение интернов и ординаторов разных специальностей по онкологии.

Петр Григорьевич Байдала награждён медалью «Ветеран труда» (1984 г.), юбилейными медалями «400 лет городу Томску» (2004 г.) и «70 лет Томской области» (2015 г.). В 2001 г. он удостоен звания «Заслуженный врач РФ», в 2010 г. награждён медалью «За заслуги перед Сибирским медицинским университетом». В 2014 г. решением Думы г. Томска П.Г. Байдала награждён почётным знаком «За заслуги перед городом Томском».

Свой юбилей Петр Григорьевич встречает с большим запасом творческих планов. Он полон энергии и инициативы, пользуется большой любовью и уважением коллег, студентов, учеников и многочисленных пациентов и с успехом передает свой большой педагогический, хирургический и научный опыт молодому поколению врачей.

*Редакция «Сибирского онкологического журнала» сердечно поздравляет Петра Григорьевича Байдалу с 80-летием, желает ему дальнейших успехов в работе и доброго здоровья.*

---

# НЕКРОЛОГИ

---

## ПАМЯТИ ЛЬВА МОИСЕЕВИЧА НЕПОМНЯЩИХ

---



23 августа 2015 г. после тяжелой болезни ушел из жизни научный руководитель Научно-исследовательского института региональной патологии и патоморфологии, заведующий отделом молекулярной патологии и патоморфологии и заведующий лабораторией общей патологической анатомии, главный патологоанатом Минздравсоцразвития России в Сибирском федеральном округе, заслуженный деятель науки РФ, член-корреспондент РАН, действительный член Российского отделения Международной академии патологии, доктор медицинских наук, профессор Лев Моисеевич Непомнящих.

Лев Моисеевич Непомнящих родился 25 февраля 1937 г. в г. Ромны Сумской области. По окончании Новосибирского медицинского института в 1963 г. Л.М. Непомнящих избирает специальность врача-патологоанатома. После специализации по патологической анатомии его назначают заведующим патологоанатомическим отделением Новосибирской городской клинической больницы № 2, где он стал организатором прозектуры и патоморфологической лаборатории. Будучи практикующим патологоанатомом, Л.М. Непомнящих не прекращал заниматься научной работой и в 1966 г. защитил кандидатскую диссертацию на тему «Гистохимия и морфология острой ишемии миокарда в эксперименте и клинике».

С 1968 г. Л.М. Непомнящих работает ассистентом на кафедре патологической анатомии Новосибирского государственного медицинского института. В 1970 г. он организует лабораторию патологической анатомии и отдел патоморфологии и морфометрии в Институте клинической и экспери-

ментальной медицины Сибирского филиала АМН СССР. Отдел стал крупным патологоанатомическим научным подразделением на Востоке страны, центром биопсийной диагностики в Сибири.

В 1992 г. Л.М. Непомнящих создал НИИ региональной патологии и патоморфологии Сибирского отделения РАМН, в котором под его руководством проводились основные морфологические исследования по изучению особенностей адаптации, экологии и патологии человека и животных в регионах Сибири и Севера. Л.М. Непомнящих принадлежит приоритет в разработке ряда актуальных медико-биологических проблем, в частности, ультраструктурных и молекулярно-клеточных механизмов развития острой и хронической сердечной недостаточности, хронизации патологических процессов и индукции регенераторных реакций, структурных основ адаптации к экстремальным экологическим факторам. Под его руководством создана новая концепция морфогенеза хронических патологических процессов в современных экологических условиях, в основе которой лежит развитие альтернативной и пластической недостаточности органов и тканей. Им было сформулировано и разработано учение о ведущей роли типов повреждения и форм гибели паренхиматозных клеток в морфогенезе острых и хронических патологических процессов (альтеративная и регенераторно-пластическая недостаточность). Выделен и изучен универсальный синдром регенераторно-пластической недостаточности, сущность которого заключается в несостоятельности пластического обеспечения функций и снижении уровня регенераторных реакций. Представлена современная концепция о стратегиях

репаративной регенерации миокарда как высоко-специализированной и высокодифференцированной тканевой системы. Особое внимание уделено оценке пролиферативного потенциала популяции кардиомиоцитов. Установлены важнейшие самостоятельные типы острых повреждений мышечных клеток сердца метаболического и ишемического генеза. Исследованы подходы к восполнению погибших кардиомиоцитов за счет стимуляции с помощью клеточных технологий тканеспецифической регенерации миокарда.

Л.М. Непомнящих уделял большое внимание методике научного исследования в области морфологии. На протяжении многих лет он успешно развивал и внедрял в практику методы гистохимии, поляризационной и электронной микроскопии, радиоавтографии, морфометрии и стереологии; он автор 8 методических рекомендаций, утвержденных Минздравом.

В 1986 г. Л.М. Непомнящих защитил докторскую диссертацию на тему «Морфогенез и ультраструктурные основы общепатологических процессов в сердце: Комплексное патологоанатомическое и экспериментальное исследование». В 1987 г. Л.М. Непомнящих был утвержден в звании профессора по специальности «патологическая анатомия». В 1993 г. ему было присвоено почетное звание «Заслуженный деятель науки Российской Федерации». В 2004 г. он был избран членом-корреспондентом РАМН по специальности «патологическая анатомия». Л.М. Непомнящих опубликовано более 500 научных работ; он автор и соавтор 6 открытий, 23 монографий, 3 учебно-методических пособий по патологической анатомии для преподавателей медицинских вузов, патента на изобретение.

Важной частью деятельности профессора Л.М. Непомнящих была подготовка научных кадров. В Сибири он создал научную школу морфологов и патологоанатомов, под его руководством было защищено 28 докторских и более 60 кандидатских диссертаций.

Интенсивную научно-практическую и педагогическую деятельность Л.М. Непомнящих совмещал с большой научно-общественной работой в России и за рубежом. Он являлся вице-президентом Российского национального пироговского комитета, вице-президентом Европейской академии естественных наук, членом Научного совета РАМН по морфологии человека, заместителем председателя проблемной комиссии «Морфология» Межведомственного научного совета по медицинским проблемам Сибири, Дальнего Востока и Крайнего Севера, членом президиума Российского общества патологоанатомов, членом редакционных коллегий журналов «Бюллетень экспериментальной биологии и медицины», «Клеточные технологии в биологии и медицине», «Сибирский научный вестник» и членом редакционных советов журналов «Архив патологии» и «Библиотека патологоанатома».

За заслуги в научной деятельности профессор Л.М. Непомнящих был награжден медалью им. К.Э. Циолковского (1990 г.), медалью им. академика С.П. Королева (2002 г.), Международным суверенным орденом Св. Станислава III степени (1998 г.), Европейским орденом Н.И. Пирогова «За выдающиеся достижения в медицине» (2005 г.), медалью Чести «За признание заслуг в науке» (Англия, 2000 г.), медалью Почета «За научные достижения на Государственном и Международном уровнях» (США, 2002 г.), Европейской медалью Р. Вирхова «За особые заслуги в фундаментальной медицине и патологии» (Германия, 2003 г.). За цикл работ, включающий монографию «Морфогенез важнейших общепатологических процессов в сердце» (1991 г.), Л.М. Непомнящих был награжден золотой медалью и дипломом премии РАМН имени Н.И.Пирогова по медицине (1994 г.).

Светлая память о Льве Моисеевиче надолго сохранится в сердцах близких, учеников, коллег, друзей. Выражаем глубокие соболезнования родным и близким.

*Редакционная коллегия «Сибирского онкологического журнала»*