

ТОМСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ ЦЕНТР
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК
НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ОНКОЛОГИИ

ФУНДАМЕНТАЛЬНАЯ И КЛИНИЧЕСКАЯ ОНКОЛОГИЯ: ДОСТИЖЕНИЯ И ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ

Российская научно-практическая конференция,
посвященная 40-летию НИИ онкологии Томского НИМЦ

Сборник материалов секции молодых ученых

22–24 мая 2019 г.

ИЗДАТЕЛЬСТВО ТОМСКОГО УНИВЕРСИТЕТА

2019

УДК: 616-006

Фундаментальная и клиническая онкология: достижения и перспективы развития: российская научно-практическая конференция, посвященная 40-летию НИИ онкологии Томского НИМЦ. 22–24 мая 2019 г.: сборник материалов секции молодых ученых / под ред. Е.Л. Чойнзонова, Н.В. Чердынцевой, В.И. Чернова. – Томск: Изд-во Том. ун-та, 2019. – 267 с.

ISBN 978-5-7511-2591-2

Сборник содержит материалы секции молодых ученых конференции «Фундаментальная и клиническая онкология: достижения и перспективы развития», посвященной 40-летию НИИ онкологии Томского НИМЦ, и отражает основные достижения исследований молодых специалистов разных уровней – от студентов, практических врачей до докторов наук. В сборнике представлены научные статьи по направлениям онкология, химиотерапия, радиология, молекулярная биология, генетика, а также смежным специальностям. Сборник материалов Конгресса молодых ученых предназначен для ученых в области как фундаментальной, так и клинической онкологии.

УДК: 616-006

Рецензенты:

проф. И.В. Кондакова, д.б.н. Н.В. Литвяков, проф. Л.А. Коломиец,
проф. Е.М. Слонимская, проф. С.Г. Афанасьев, проф. И.Г. Фролова,
проф. РАН Ж.А. Старцева

ISBN 978-5-7511-2591-2

© Научно-исследовательский институт онкологии,
Томский национальный исследовательский
медицинский центр Российской академии наук, 2019

TOMSK NATIONAL RESEARCH MEDICAL CENTER
RUSSIAN ACADEMY OF SCIENCES
CANCER RESEARCH INSTITUTE

BASIC AND CLINICAL CANCER RESEARCH ACHIEVEMENTS AND PROSPECTS

Russian Scientific and Practical Conference dedicated to the 40th anniversary of
Cancer Research Institute of Tomsk National Research Medical Center

Proceedings of Conference of Young Scientists.

22–24 may 2019

TOMSK UNIVERSITY PRESS

2019

UDC: 616-006

Russian Scientific and Practical Conference on Basic and Clinical Cancer Research: Achievements and Prospects dedicated to the 40th anniversary of Cancer Research Institute of Tomsk National Research Medical Center, 22–24 May 2019: proceedings of the conference of young scientists /edited by E.L. Choynzonov, N.V. Cherdyntseva, V.I. Chernov.– Tomsk: Tomsk University press, 2019. – 267 p.

ISBN 978-5-7511-2591-2

The proceedings of the Conference of Young Scientists on Basic and Clinical Cancer Research: Achievements and Prospects for the Future Development are devoted to the 40-th anniversary of the Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences. The conference proceedings reflect the latest achievements of young scientists in cancer research and contain papers on recent advances in cancer chemotherapy, radiology, molecular biology, and genetics. The Proceedings of the Conference of Young Scientists is intended for researches in the field of basic and clinical oncology.

UDC: 616-006

Reviewers:

Prof. I.V. Kondakova, Prof. N.V. Litvyakov, Prof. L.A. Kolomiets, Prof. E.M. Slonimskaya,
Prof. S.G. Afanasyev, Prof. I.G. Frolova, Prof. Zh.A. Startseva

ISBN 978-5-7511-2591-2

© Cancer Research Institute,
Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy
of Sciences, Tomsk, Russia, 2019

АНТИТЕЛА К БЕНЗО[А]ПИРЕНУ, ЭСТРАДИОЛУ, ПРОГЕСТЕРОНУ И РИСК РАЗВИТИЯ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА

А.В. Аверьянов

Федеральный исследовательский центр угля и углекислоты СО РАН, г. Кемерово, Россия

Аннотация

Колоректальный рак находится на 3-м месте в мире по распространенности и на 2-м по смертности. Известно, что химические канцерогены и стероидные гормоны являются инициаторами и промоторами канцерогенеза, в том числе участвуют в неопластических процессах в ЖКТ. При этом роль иммунной системы в регуляции иммунохимического гомеостаза при колоректальном раке (КРР) изучена недостаточно. **Целью работы** стало исследование иммунных реакций на химические канцерогены и стероидные гормоны у больных КРР. В результате исследований было установлено, что у больных КРР чаще встречались высокие значения IgA антител к бензо[а]пирену (IgA-Bp). Наиболее высокий риск развития КРР был обнаружен при повышенных уровнях IgA-Bp у некурящих мужчин (OR=2,6, 95 % CI 1,54,4, p=0,001). По уровню IgA-Es, IgA-Pg больные КРР от здоровых мужчин значимо не отличались (p>0,05). Выявлены достоверные корреляционные взаимосвязи между IgA-Bp и IgA-Es или IgA-Pg ($r_s=0,720,85$) у больных КРР и здоровых мужчин вне зависимости от фактора курения.

Ключевые слова: антитела, бензо[а]пирен, эстрадиол, прогестерон, колоректальный рак.

ANTIBODIES TO BENZO[A]PYRENE, ESTRADIOL, PROGESTERONE AND THE RISK OF COLORECTAL CANCER

A.V. Averianov

Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry of SB RAS, Kemerovo, Russia

Abstract

Colorectal cancer is in third most common cancer and the second most leading cause of cancer death worldwide. It is known that chemical carcinogenic and steroid hormones are initiators and promoters of carcinogenesis, including those involved in neoplastic processes in the gastrointestinal tract. However, the role of the immune system in the regulation of immune-chemical homeostasis in colorectal cancer (CRC) has been little studied. The **Aim** of the study was to investigate immune reactions to chemical carcinogens and steroid hormones in patients with CRC. It was found that high IgA values of antibodies to benzo[a]pyrene (IgA-Bp) were more common in CRC patients. The highest risk of CRC was detected in non-smoking men with elevated levels of IgA-Bp (OR = 2.6, 95 % CI 1.54.4, p=0.001). In terms of IgA-Es, IgA-Pg, CRC patients did not significantly differ from healthy men (p>0.05). Significant correlations between IgA-Bp and IgA-Es or IgA-Pg ($r_s=0.720.85$) were found in CRC patients and healthy men, regardless of the smoking factor.

Key words: antibodies, benzo[a]pyrene, estradiol, progesterone, colorectal cancer.

Согласно статистике, приведенной Всемирной организацией здравоохранения на 2018 г., колоректальный рак (КРР) находится на 3-м месте в мире по распространенности и на 2-м по смертности. Известно, что химические канцерогены и стероидные гормоны являются инициаторами и промоторами канцерогенеза, в том числе участвуют в неопластических процессах в ЖКТ [1]. А. Агудо et al. [2] была показана взаимосвязь аддуктов бензо[а]пирена (Bp) с риском развития КРР, кроме того, аддукты были ассоциированы с фактором курения.

С другой стороны, экспериментальные и клинические исследования подтверждают протективную функцию эстрогенов [3, 4] и прогестерона (Pg) в неопластических процессах в клетках кишечника [5]. А.Н. Глушковым и соавт. [6] было показано, что высокие уровни АТ к Bp чаще встречались у больных раком желудка и кишечника и ассоциированы с риском возникновения онкопатологии. Поэтому представляется перспективным изучение иммунных реакций на химический канцероген Bp и стероидные гормоны при злокачественных новообразованиях кишечника.

Целью работы стало изучение особенностей образования АТ Вр к стероидным гормонам и как маркерному соединению ПАУ при КРР.

Нами были обследованы 172 мужчины с диагнозом КРР, проходившие лечение в Областном клиническом онкологическом диспансере г. Кемерово. Диагноз в каждом случае был подтвержден эндоскопически и гистологически. Среди них 75 (43 %) курящих и 97 (53 %) некурящих пациентов. Средний возраст больных КРР 63 ± 10 лет. В группу сравнения были включены 217 условно здоровых мужчин, доноры станции переливания крови, средний возраст 48 ± 7 лет. Группа состояла из 90 (41 %) курящих и 127 (59 %) некурящих мужчин. Все лица, участвовавшие в исследовании, дали информированное письменное согласие на участие в нем.

Исследование иммуноглобулинов класса А к Вр, Es, Pg (IgA-Вр, IgA-Es, IgA-Pg) проводили с помощью неконкурентного иммуноферментного анализа, подробная методика описана в работе [7]. Уровни АТ выражались в относительных единицах и рассчитывались по отношению связывания АТ с гаптеном (за вычетом фоновое связывания) к белку-носителю.

Статистический анализ полученных результатов проводился с помощью пакета статистических программ Statistica 8.0 (StatSoftInc., USA). Ненормальный характер распределения количественных показателей определили с помощью критерия Шапиро – Уилка. Для выявления пороговых значений уровней АТ был проведен ROC-анализ [8]. Ассоциацию АТ с КРР оценивали с помощью величины отношения шансов (OR) с доверительным интервалом (CI) при 95 % уровне значимости, рассчитанной с поправкой на возраст логистическим регрессионным анализом, за критический уровень значимости принималось значение $p < 0,05$. Для оценки взаимосвязи АТ с гаптенами, использовали ранговую корреляцию Спирмена и линейный регрессионный анализ.

С помощью ROC-анализа были определены границы пороговых значений уровней исследуемых АТ между нормой и патологией: IgA-Вр=3, IgA-Es=2, IgA-Pg=3. Было обнаружено, что частота встречаемости высоких уровней IgA-Вр >3 у больных РКК статистически выше таковой у здоровых мужчин (66 % против 48 % соответственно, $p=0,004$). При этом риск развития КРР увеличивается в 2 раза (OR=2,1, 95 % CI 1,43,2). По уровню IgA-Es и IgA-Pg между больными КРР и здоровыми мужчинами достоверных отличий обнаружено не было ($p > 0,05$).

При анализе исследуемых АТ с учетом фактора курения было выявлено следующее. По уровню АТ ко всем гаптенам между курящими больными КРР и курящими здоровыми мужчинами достоверных отличий обнаружено не было ($p > 0,05$). Наиболее значимые различия по уровням АТ к гаптенам были выявлены среди некурящих больных КРР и здоровых мужчин (рис. 1).

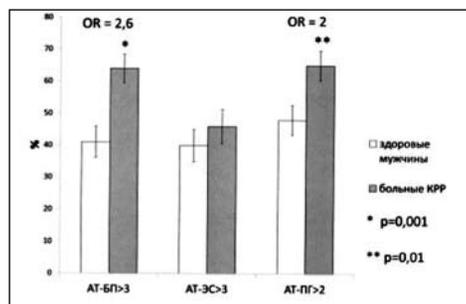


Рис. 1. Частота встречаемости высоких уровней АТ к бензо[а]пирену (IgA-Вр), эстрадиолу (IgA-Es), прогестерону (IgA-Pg) у некурящих здоровых мужчин и больных колоректальным раком (КРР). По оси абсцисс – высокие уровни АТ к бензо[а]пирену (Вр), эстрадиолу (Es) и прогестерону (Pg). По оси ординат – встречаемость высоких уровней АТ, выраженная в процентах, OR – отношение шансов, p – уровень значимости

У некурящих больных КРР чаще встречались высокие уровни IgA-Вр >3 по сравнению со здоровыми мужчинами (66 % и 41 % соответственно), при этом риск развития КРР возрастал более чем в 2 раза (OR=2,6, 95 % CI 1,54,4, $p=0,001$). Высокие уровни IgA-Pg >2 также выявлялись чаще у некурящих больных РКК по сравнению с некурящими здоровыми мужчинами (65 % и 48 % соответственно), риск развития КРР также возрастал в 2 раза (OR=2,0, 95 % CI 1,23,5, $p=0,01$). При сравнении уровней IgA-Es >3 достоверных различий выявлено не было ($p > 0,05$).

С помощью ранговой корреляции и линейной регрессии были изучены взаимосвязи между АТ к Вр, с одной стороны, и АТ к стероидным гормонам – с другой, данные приведены в таблице.

Таблица

Уравнения линейной регрессии и коэффициенты корреляции Спирмена (r_s) между антителами к бензо[а]пирену и стероидным гормонам у больных КРР и здоровых мужчин

АТ		КРР (N=172)		Здоровые мужчины (N=217)	
x	y	r_s (p)	y=ax+b	r_s (p)	y=ax+b
IgA-Bp	IgA-Es	0,76 (<0,001)	y = 0,55x + 1,1	0,82 (<0,001)	y = 0,63x + 0,8
IgA-Bp	IgA-Pg	0,67 (<0,001)	y = 0,44x + 0,9	0,68 (<0,001)	y = 0,46x + 1,0
IgA-Es	IgA-Pg	0,72 (<0,001)	y = 0,66x + 0,4	0,77 (<0,001)	y = 0,70x + 0,5
Курящие					
x	y	r_s (p)	y=ax+b	r_s (p)	y=ax+b
IgA-Bp	IgA-Es	0,61 (<0,001)	y = 0,34x + 2,1	0,85 (<0,001)	y = 0,66x + 0,8
IgA-Bp	IgA-Pg	0,54 (<0,001)	y = 0,38x + 1,0	0,66 (<0,001)	y = 0,56x + 0,8
IgA-Es	IgA-Pg	0,65 (<0,001)	y = 0,64x + 0,4	0,74 (<0,001)	y = 0,77x + 0,4
Некурящие					
x	y	r_s (p)	y=ax+b	r_s (p)	y=ax+b
IgA-Bp	IgA-Es	0,84 (<0,001)	y = 0,67x + 0,6	0,79 (<0,001)	y = 0,61x + 0,9
IgA-Bp	IgA-Pg	0,76 (<0,001)	y = 0,48x + 0,8	0,70 (<0,001)	y = 0,39x + 1,1
IgA-Es	IgA-Pg	0,78 (<0,001)	y = 0,68x + 0,5	0,78 (<0,001)	y = 0,64x + 0,5

В ходе анализа было обнаружено, что высокая корреляция ($r_s > 0,7$) между парами IgA-Bp – IgA-Es, IgA-Bp – IgA-Pg, IgA-Es – IgA-Pg присутствовала практически во всех исследуемых группах с высокой статистической значимостью ($p < 0,001$). Исключение составили корреляции между АТ в группе курящих здоровых мужчин, где коэффициенты между парами IgA-Bp – IgA-Es, IgA-Bp – IgA-Pg, IgA-Es – IgA-Pg, были $< 0,7$ ($p < 0,001$).

При сравнении коэффициентов α уравнений регрессии АТ в группе КРР и здоровых мужчин, а также некурящих больных КРР и некурящих здоровых, отличий обнаружено не было.

Взаимосвязь между уровнем IgA-Bp и IgA-Es, IgA-Bp и IgA-Pg, IgA-Es и IgA-Pg была более выражена у курящих здоровых мужчин по сравнению с курящими больными КРР: коэффициент уравнения регрессии α в 1,5–2 раза больше у здоровых мужчин, чем у больных КРР.

В результате исследования было установлено, что высокие уровни IgA-Bp ассоциированы с риском возникновения КРР. Выявлена ассоциация высоких уровней IgA-Bp > 3 и IgA-Pg > 3 с риском развития КРР у некурящих мужчин (OR=2,6, 95 % CI 1,54,4, $p=0,001$; OR=2,0, 95 % CI 1,23,5, $p=0,01$ соответственно). По уровню исследуемых АТ между курящими больными КРР и курящими здоровыми мужчинами значимых различий не выявлено. Обнаружена сильная взаимосвязь ($r_s > 0,7$) между уровнями IgA АТ к Bp и стероидным гормонам (Es, Pg) как у больных КРР, так и у здоровых мужчин. Однако у здоровых мужчин эта взаимосвязь более выраженная.

Иммуноанализ АТ к Bp, Es и Pg может быть полезен для оценки индивидуальной чувствительности к воздействию химических канцерогенов, благодаря чему возможно выявление групп риска развития КРР.

ЛИТЕРАТУРА

1. Clendenen T.V., Koenig K.L., Shore R.E., Levitz M., Arslan A.A., Zeleniuch-Jacquotte A. Postmenopausal levels of endogenous sex hormones and risk of colorectal cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2009 Jan;18(1): 27581. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-08-0777.
2. Agudo A., Peluso M., Munnia A., Luján-Barroso L., Sánchez M.J., Molina-Montes E., Sánchez-Cantalejo E., Navarro C., Tormo M.J., Chirlaque M.D., Barricarte A., Ardanaz E., Amiano P., Dorronsoro M., Quirós J.R., Piro S., Bonet C., Sala N., González C.A. Aromatic DNA adducts and risk of gastrointestinal cancers: a case-cohort study within the EPIC-Spain. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2012 Apr; 21(4): 68592. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-11-1205.
3. Fernandez E., La Vecchia C., Braga C., Talamini R., Negri E., Parazzini F., Franceschi S. Hormone replacement therapy and risk of colon and rectal cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 1998; 7: 329–33.
4. Nelson H.D., Humphrey L.L., Nygren P., Teutsch S.M., Allan J.D. Postmenopausal hormone replacement therapy: scientific review. *JAMA* 2002; 110: 219–27.
5. Meijer B.J., Wielenga M.C.B. I Hoyer P.B., Amos-Landgraf J.M., Hakvoort T.B.M., Muncan V., Heijmans J., van den Brink G.R. Colorectal tumor prevention by the progestin medroxyprogesterone acetate is critically dependent on postmenopausal status. *Oncotarget.* 2018 Jul 17; 9(55): 30561–30567. doi: 10.18632/oncotarget.25703.

6. Глушков А.Н., Аносова Т.П., Небесная Н.Г., Железнова Л.Я. Изотипические особенности антител к полициклическим ароматическим углеводородам у больных раком молочной железы, желудка, толстой и прямой кишки. Экспериментальная онкология. 1996; 18: 426428.

7. Глушков А.Н., Поленок Е.Г., Магарилл Ю.А., Аносова Т.П., Антонов А.В., Вержбицкая Н.Е. Антитела к бензо[а]пирену, эстрадиолу и прогестерону у больных раком молочной железы в постменопаузе. Сибирский онкологический журнал. 2016; 15(6): С. 28–34. doi: 10.21294/1814-4861-2016-15-6-28-34.

8. Hajian-Tilaki O., Hanley A. Comparison of Three Methods for Estimating the Standard Error of the Area under the Curve in ROC Analysis of Quantitative Data. AcadRadilol. 2002; 9(11): 1278–85.

ОПТИМИЗАЦИЯ ФАРМАКОТЕРАПИИ БОЛЬНЫХ ГАСТРОИНТЕСТИНАЛЬНЫМИ СТРОМАЛЬНЫМИ ОПУХОЛЯМИ

С.Т. Адлейба, Л.М. Когония, А.В. Сидоров

ФГБОУ ВО ЯГМУ Минздрава России, г. Ярославль, Россия

Аннотация

Гастроинтестинальные стромальные опухоли (ГИСО) относятся к числу редких злокачественных новообразований желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), составляя 0,1–3 % от всех опухолей данной локализации. Несмотря на это, на их долю приходится 80 % от всех мезенхимальных опухолей системы пищеварения. Существенный вклад в конкретизацию классификации был внесен лишь в 1998 г. после публикаций результатов исследований, посвященных патогенезу ГИСО, в которых была продемонстрирована идентичность фенотипических характеристик клеток Кахала с ГИСО и наличие мутации рецептора *c-kit*, приводящей к его безлигандной активации. Патогенез ГИСО оказался уникальным: среди солидных новообразований опухолевая прогрессия вызвана одиночной мутацией гена *c-kit* или PDGFR-альфа. Наиболее часто ГИСО развивается в желудке (60 %) и тонкой кишке (25 %). Реже встречается в толстой кишке (8 %), прямой кишке (5 %) и пищеводе (2 %). Гистологический спектр ГИСО представлен веретеноклеточным (70 %), эпителиоидным (20 %) и смешанным типом (10 %). Терапия пациентов с ГИСО является мультидисциплинарной задачей и включает в себя хирургическое вмешательство и лекарственное лечение. Новая эра в терапии ГИСО наступила благодаря таргетному препарату иматинибумезилата, который в настоящее время используется для проведения неoadъювантной, адъювантной терапии и первой линии химиотерапии неоперабельных и/или метастатических ГИСО. Для достижения терапевтического эффекта при проведении таргетной терапии иматинибом пациентов с ГИСО необходима определенная концентрация данного препарата в плазме крови. В ряде работ было продемонстрировано, что у пациентов с ГИСО при концентрации активных метаболитов иматиниба менее 1100 нг/мл медиана времени до прогрессирования и частота объективного эффекта статистически ниже по сравнению с другими группами пациентов. Высокоточным и специфичным методом определения концентрации иматиниба в плазме крови пациентов с ГИСО в настоящее время является высокоэффективная жидкостная хроматографии с детекцией методом тандемной масс-спектрометрии. Тщательный контроль режима приема препарата и при необходимости индивидуальный подбор суточной дозы с учётом данных мониторинга концентрации иматиниба в плазме крови может помочь своевременно выявить недостаточную лечебную концентрацию препарата и увеличить вероятность достижения продолжительности эффекта в терапии пациентов с ГИСО и тем самым увеличить продолжительность их жизни.

Ключевые слова: гастроинтестинальные стромальные опухоли, CD117, DOG1, химиотерапия, таргетная терапия, ингибиторы тирозинкиназ.

OPTIMIZATION OF PHARMACOTHERAPY OF PATIENTS WITH GASTROINTESTINAL STROMAL TUMORS

S.T. Adleyba, L.M. Kogoniya, A.V. Sydorov

Yaroslavl State Medical University, Yaroslavl, Russia

Abstract

Gastrointestinal stromal tumors (GIST) are rare malignant neoplasms of the gastrointestinal tract (GIT), accounting for 0.1–3 % of all tumors of this localization. These tumors account for 80 % of all mesenchymal tumors of the digestive system. A significant contribution to the specification of the classification was made

only in 1998 after the publication of the results of studies on the pathogenesis of GIST, in which the identity of the phenotypic characteristics of Kahal cells with GIST and the presence of the c-kit receptor mutation, leading to its ligand-free activation, was demonstrated. The pathogenesis of GISTs was unique: among solid tumors, tumor progression is caused by a single mutation of the c-kit gene or PDGFR-alpha. GISTO most often develops in the stomach (60 %) and small intestine (25 %) and less common in the colon (8 %), rectum (5 %) and esophagus (2 %). The histological spectrum of GIST is represented by spindle cell (70 %), epithelioid (20 %) and mixed type (10 %). Therapy of patients with GISTO includes surgery and drug treatment. A new era in the therapy of GISTO has come due to Imatinibmesylate, the targeted drug, which is currently used for neoadjuvant, adjuvant therapy and first-line chemotherapy for inoperable and / or metastatic GIST. To achieve a therapeutic effect in patients with GIST, a certain concentration of imatinib in blood plasma is necessary. In a number of studies, it was demonstrated that in patients with GIST with a concentration of imatinib active metabolites less than 1100 ng/ml, the median time to progression and the frequency of objective effect are statistically lower compared with other patient groups. A highly accurate and specific method for determining the concentration of imatinib in the blood plasma of patients with GISTs today is high-performance liquid chromatography with detection by tandem mass spectrometry. Careful monitoring of the mode of administration of the drug and, if necessary, individual selection of the daily dose, taking into account the monitoring data on imatinib plasma levels, can help to identify insufficient therapeutic concentration of the drug in time and increase the likelihood of achieving the duration of effect in therapy of patients with GIST, and thereby increase their lifespan.

Key words: gastrointestinal stromal tumors, CD117, DOG1, chemotherapy, targeted therapy, tyrosine kinase inhibitors.

Актуальность. Желудочно-кишечные стромальные опухоли (GIST) – редкие опухоли, с оценкой нескорректированной заболеваемости около 1/100 000 в год ГИСО встречается у пациентов в достаточно широком возрастном диапазоне (возрастная медиана – 55–65 лет), однако пик заболеваемости приходится на шестую декаду жизни, а менее 10 % опухолей развиваются в возрасте до 40 лет. ГИСО несколько чаще преобладают у мужчин. [1] Наиболее часто ГИСО развивается в желудке (60 %) и тонкой кишке (25 %). Реже встречается в толстой кишке (8 %), прямой кишке (5 %) и пищеводе (2 %). Гистологический спектр ГИСО представлен веретенноклеточным (70 %), эпителиоидным (20 %) и смешанным (10 %) типами [2]. Развитие гастроинтестинальных стромальных опухолей (GISTs) в значительной степени обусловлено мутациями в генах KIT и PDGFRA. 80–85 % ГИСО имеют мутации в гене KIT (9, 11, 13 и 17 экзоны), 10–15 % – в гене PDGFRA (12, 14 и 18 экзоны). В 5 % ГИСО в данных генах не выявляются мутации – так называемый дикий тип [3]. Гастроинтестинальные стромальные опухоли до сих пор представляют собой сложную проблему современной онкологии. Международные руководства, такие как ESMO и NCCN, представляют разнообразие тех или иных методик лечения, однако оптимальных критериев выбора нет [4]. В настоящее время лечение пациентов с ГИСО базируется на мультидисциплинарном подходе, включающем хирургическое вмешательство и таргетную терапию. Иматиниб успешно применяется в лечении больных ГИСО с 2001 г., являясь лекарственным средством неoadъювантной, адъювантной терапии и препаратом первой линии неоперабельных и/или метастатических ГИСО. Иматиниб представляет собой пероральный малый ингибитор молекулярной тирозинкиназы, который в основном нацелен на abl, c-KIT и PDGFR α [5]. К сожалению, в настоящее время в клинической практике с ростом числа таргетных препаратов современный онколог все чаще сталкивается с необходимостью перехода на терапию второй линии в связи с развитием резистентности опухоли к тому или иному лекарственному средству первой линии. Данная проблема не обошла стороной и больных ГИСО, проходящих терапию иматинибом. Несмотря на то, что первичная резистентность к иматинибу или его непереносимость имеют лишь у 15 % больных ГИСО [6], у большинства пациентов, первоначально дававших ответ на таргетную терапию, заболевание прогрессирует в результате приобретенной резистентности. Однако в ряде случаев причиной прогрессирования ГИСО является отнюдь не приобретенная резистентность, а факторы, препятствующие длительному непрерывному приему иматиниба, такие как несоблюдение режима лечения, псевдопрогрессирование или другие причины (например, гастрэктомия). В связи с этим до перехода на терапию второй линии целесообразно обратить особое внимание на факторы прогрессирования ГИСО и исключить другие причины резистентности к иматинибу. Было продемонстрировано, что у пациентов с ГИСО при концентрации активных метаболитов иматиниба менее 1100 нг/мл медиана времени до прогрессирования и частота объективного эффекта статистически ниже, чем у пациентов с более высокими показателями концентрации метаболитов [7].

Материал и методы. В исследование был включен 71 пациент с верифицированным диагнозом ГИСО. Всем пациентам на первом этапе было выполнено хирургическое лечение. Больные были рандомизированы в две группы в зависимости от формы заболевания. В I группу вошли пациенты с генерализованными формами заболевания, которым проводилась таргетная терапия иматинибом в лечебном режиме (n=23). Пациенты, имеющие на момент включения в исследование локализованную форму ГИСО, составили II группу (n=48). Пациенты второй группы были разделены на 2 подгруппы: в подгруппу II А (n=27) вошли больные, получающие адьювантную терапию иматинибом, в подгруппу II Б (n=21) – пациенты, находящиеся под динамическим контролем после проведенного хирургического лечения. Терапия иматинибом проводилась пациентам I и II А группы в дозе 400 мг в сутки перорально ежедневно. Исследование концентрации активных метаболитов иматиниба в плазме крови больных проводилось методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с детекцией методом тандемной масс-спектрометрии. При концентрации препарата в крови, соответствующей рамкам терапевтического диапазона, повторные исследования не проводились. В случае же сниженной концентрации иматиниба далее проводилась коррекция дозы препарата с последующим повторным контрольным определением концентрации препарата в сыворотке крови. Пациентам, в крови которых уровень концентрации активных метаболитов был ниже терапевтического, выполнялась эскалация суточной дозы иматиниба до 600 мг или 800 мг с последующей оценкой эффективности оптимизации методики лекарственной терапии.

Результаты. Данное исследование было проведено 71 пациенту. Медиана общей выживаемости у больных с локализованными формами заболевания составила 48 мес, при медиане прослеженности 13,0 мес. В этой группе больных средняя продолжительность жизни составила 19,5 мес. Медиана общей выживаемости у больных с генерализованными формами заболевания составила 83,3 мес, при медиане прослеженности 30,7 мес. В этой группе больных средняя продолжительность жизни составила 43,6 мес. Медиана безрецидивной выживаемости у больных с локализованными формами заболевания составила 42 мес, при медиане прослеженности 13 мес. В этой группе больных средний безрецидивный период 15,4 мес. Медиана безрецидивной выживаемости больных с генерализованными формами заболевания составила 79,9 мес, при медиане прослеженности 24 мес.

Выводы. Полученные в ходе исследования данные позволяют сделать вывод о высокой эффективности мониторинга концентрации иматиниба в плазме крови больных ГИСО методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с детекцией методом тандемной масс-спектрометрии. Благодаря данному способу исследования становится возможным своевременное обнаружение недостаточного уровня препарата в крови, что может стать причиной пониженной эффективности таргетной терапии и, как следствие, раннего прогрессирования заболевания. Также мониторинг концентрации препарата позволяет выявить случаи недостаточной комплаентности пациентов к проводимой терапии, что может привести к раннему рецидиву ГИСО.

ЛИТЕРАТУРА

1. ESMO/European Sarcoma Network Working Group. Gastrointestinal stromal tumours: ESMO clinical practice guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2014 Sep; 25 Suppl 3: iii216. doi: 10.1093/annonc/mdl255.
2. Анурова О.А. Морфологическая и иммуногистохимическая диагностика гастроинтестинальных опухолей ЖКТ. Современная онкология. Экстра. 2007; 79–99.
3. Spitaleri G., Biffi R., Barberis M., Fumagalli C., Toffalorio F., Catania C., Noberasco C., Lazzari C., de Marinis F., De Pas T. Inactivity of imatinib in gastrointestinal stromal tumors (GISTs) harboring a KIT activation-loop domain mutation (exon 17 mutation pN822K). *OncoTargets Ther.* 2015; 8: 1997–2003.
4. Каиценко В.А., Карачун А.М., Орлова Р.В., Пелипась Ю.В., Петрова В.В., Непомнящая С.Л., Глузман М.И., Бескровный Е.Г. Особенности хирургического подхода в лечении гастроинтестинальных стромальных. Вестник хирургии имени И.И. Грекова. 2017; 176(2): 22–27.
5. Bruix J., Merle P., Granito A. 18-th World Congress on Gastrointestinal Cancer. Abstract number LBA-03. Presented 30 June 2016.
6. Bolton A.E., Peng B., Hubert M., Krebs-Brown A., Capdeville R., Keller U., Seiberling M. Effect of rifampicin on the pharmacokinetics of imatinib mesylate (Gleevec, ST1571) in healthy subjects. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2004 Feb; 53(2): 102–6.
7. Адлейба С.Т., Когония Л.М., Сидоров А.В. Улучшение качества жизни пациентки с ГИСО на фоне проведения таргетной терапии препаратом-ингибитором рецепторных и нерцепторных тирозинкиназ. Сборник научных работ 44й Международной научной конференции Евразийского Научного Объединения (г. Москва, октябрь 2018). Москва: ЕНО, 2018. 83–86.

МАЛОИНВАЗИВНАЯ ХИРУРГИЯ НЕЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ ОПУХОЛЕЙ ПИЩЕВОДА

С.А. Аксенов, А.Б. Рябов, И.В. Колобаев, В.М. Хомяков, В.В. Черемисов

Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Россия

Аннотация

Неэпителиальные новообразования желудочно-кишечного тракта представляют собой опухоли, происходящие из тканей производных мезенхимы, имеющие дисэмбриогенетическое происхождение. Все эти виды новообразований встречаются намного реже, чем эпителиальные опухоли, и не обладают органной специфичностью. Как правило, они выявляются случайно при эндоскопическом исследовании в виде округлых образований, покрытых в большинстве случаев неизменной слизистой. Подслизистые образования составляют порядка 5 % всех новообразований верхних отделов желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) [1]. Наиболее распространенными формами неэпителиальных новообразований ЖКТ являются гастроинтестинальные стромальные опухоли (ГИСО) и лейомиомы [25]. ГИСО встречаются лишь в 1–2 % наблюдений среди всех новообразований ЖКТ [1]. Однако среди всех мезенхимальных опухолей ЖКТ они занимают лидирующую позицию, составляя 80 %. ГИСО пищевода встречаются в 2–7 %, в то время как лейомиомы – в 70–95 % всех наблюдений мезенхимальных опухолей данной локализации [2–7]. Данная подгруппа имеет свои клинико-патологоанатомические особенности, а также подходы к диагностике и выбору тактики лечения. В данной работе изложен опыт торакоабдоминального хирургического отделения МНИОИ им. П.А. Герцена в лечении пациентов неэпителиальными новообразованиями пищевода с использованием различных методик малоинвазивной хирургии.

Ключевые слова: неэпителиальные опухоли, лейомиома пищевода, ГИСО пищевода, гастроинтестинальные стромальные опухоли, малоинвазивная хирургия.

MINIMALLY INVASIVE SURGERY FOR NON-EPITHELIAL TUMORS OF THE ESOPHAGUS

S.A. Aksenov, A.B. Ryabov, I.V. Kolobaev, V.M. Khomyakov, V.V. Cheremisov

P.A. Hertsen Moscow Oncology Research Institute branch of the National Medical Research Centre of Radiology of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

Abstract

Non-epithelial tumors of the gastrointestinal tract are neoplasms originating from mesenchymal tissue derivatives and having disembryogenetic origin. All these types of tumors are much less common than epithelial tumors and do not have organ specificity. Submucosal tumors make up about 5 % of all tumors of the upper gastrointestinal tract (GIT) [1]. The most common forms of non-epithelial gastrointestinal tumors are gastrointestinal stromal tumors (GIST) and leiomyomas [25]. According to Joensuu H. et al., GIST are found only in 12 % of cases among all tumors of the GIT. However, among all gastrointestinal mesenchymal tumors, they occupy a leading position, accounting for 80 %. Esophageal GIST are found in 27 %, while leiomyomas occur in 70–95 % of all cases of mesenchymal tumors of this localization [27]. This subgroup has its own clinical and pathological features, as well as approaches to the diagnosis and choice of treatment tactics. In this paper, we describe the experience of the thoracic-abdominal surgical Department of P.A. Hertsen Moscow oncology research institute in the treatment of patients with non-epithelial tumors of the esophagus using various methods of minimally invasive surgery.

Key words: non-epithelial tumors, esophageal leiomyoma, esophageal GIST, gastrointestinal stromal tumors, minimally invasive surgery.

Актуальность. Основным методом лечения неэпителиальных новообразований пищевода является хирургический. Недостатками открытого доступа являются травматичность (торакотомия, лапаротомия), высокий риск бронхо-легочных осложнений и длительная реабилитация. Малоинвазивные технологии позволяют в значительной степени уменьшить

операционную травму, снизить риск осложнений и сократить сроки пребывания больного в стационаре. Выбор объема малоинвазивного вмешательства зависит от локализации и размеров неэпителиального образования в пищеводе, в связи с чем мы предлагаем демонстрацию различных видов малоинвазивных хирургических вмешательств, применяемых нами при лечении неэпителиальных новообразований пищевода.

Цель исследования – оценить возможности малоинвазивной хирургии в лечении пациентов с неэпителиальными новообразованиями пищевода.

Материал и методы. В торако-абдоминальном отделении МНИОИ им. П.А. Герцена были проанализированы клинико-диагностические данные 18 пациентов с неэпителиальными новообразованиями пищевода, подвергшихся хирургическому лечению, среди них – 11 женщин, 7 мужчин. Возраст – от 40 до 67 лет, средний возраст – 56 лет. Размер опухоли варьировался от 20 до 88 мм. У 9 (50 %) пациентов диагностирована лейомиома, у 7 (39 %) – гастроинтестинальная стромальная опухоль, у 1 (5,5 %) – нейрофиброма, у 1 (5,5 %) – шваннома. Вариантами хирургического лечения были: VATS нуклеорезекция – 12 (67 %); видеоассистированная (торакоскопия+лапаротомия) одномоментная резекция и пластика пищевода – 2 (11 %), подслизистая туннельная эндоскопическая резекция (STER) – 1 (5,5 %), эндоскопическая петлевая электроэксцизия – 1 (5,5 %), трансгастральная резекция опухоли кардиоэзофагеального перехода – 2 (11 %). Время операции составило от 100 до 680 мин.

Результаты. Частота послеоперационных осложнений (по Clavien-Dindo) I степени составила 11 %, III степени – 5 %. Медиана безрецидивной и общей выживаемости не достигнута. Сроки наблюдения составляют от 4 до 84 мес. У 1 пациента отмечено прогрессирование заболевания (ГИСО), спустя 4 мес с момента операции больной умер. Из наблюдения вышел 1 пациент.

Выводы. Применение малоинвазивных технологий при опухолях пищевода позволяет снизить риск легочных осложнений (при сопоставимой частоте общих осложнений), кровопотерю, выраженность болевого синдрома с сокращением сроков реабилитации после операции. Применение всего арсенала современных технологий диагностики, малоинвазивной хирургии с использованием таргетной терапии позволяет обеспечить хорошие непосредственные и отдаленные результаты лечения пациентов с неэпителиальными новообразованиями пищевода.

ЛИТЕРАТУРА

1. Старков Ю.Г., Солоднина Е.Н., Новожилова А.В. Подслизистые новообразования желудочно-кишечного тракта в эндоскопической практике. Хирургия. 2010; 2: 51–59.
2. O'leary T., Berman J.J. Gastrointestinal stromal tumors: answers and questions. Hum. Pathol. 2002; 33: 456–458.
3. Kumbum K. Esophageal Leiomyoma Treatment & Management. Medscape [Internet]. URL: <https://emedicine.medscape.com/article/174599-treatment>. (cited 8.03.2019).
4. Howells J.B. Leiomyoma of the Oesophagus. Postgrad Medicine Journal. 1962; 38(440): 354–355.
5. Братанчук С.Ю., Мацко Д.Е., Имяитов Е.Н., Иевлева А.Г., Петровичев Н.Н., Анурова О.А., Моисеенко В.М. Гастроинтестинальная стромальная опухоль пищевода. Архив патологии. 2010; 69(1): 47–48.
6. Богомолов Н.И., Бурдинская Т.В., Гончарова М.А., Гончаров А.Г., Томских Н.Н. Особенности диагностики и лечения стромальных опухолей желудочно-кишечного тракта. Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. 2018; 28(3): 45–53. doi: 10.22416/1382-4376-2018-28-3-45-53.
7. Rutkowski P., Gronchi A., Hohenberger P., Bonvalot S., Schöffski P., Bauer S., Fumagalli E., Nyckowski P., Nguyen B.P., Kerst J.M., Fiore M., Bylina E., Hojczyk M., Cats A., Casali P.G., Le Cesne A., Treckmann J., Stoeckle E., de Wilt J.H., Sleijfer S., Telen K., van der Graaf W., Verhoef C., van Coevorden F. Neoadjuvant Imatinib in Locally Advanced Gastrointestinal Stromal Tumors (GIST): The EORTC STBSG Experience. Ann Surg Oncol. 2013 Sep; 20(9): 2937–43. doi: 10.1245/s10434-013-3013-7.

АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ, СОПРЯЖЕННЫХ С LIMCN1, В РАЗЛИЧНЫХ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ СТРУКТУРАХ ИНВАЗИВНОЙ КАРЦИНОМЫ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОГО ТИПА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

В.В. Алифанов, Л.А. Таширева, Т.С. Геращенко

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

Аннотация

Известно, что белок LIMCN1 может регулировать экспрессию генов, путем связывания LIM-домена с ядерным актином. Ядерный актин – белок, участвующий в различных процессах, включая базальную

транскрипцию, активацию транскрипции, движение хромосом, ремоделирование хроматина, апоптоз, клеточный цикл, репарацию ДНК. Был проведен литературный анализ и выбраны гены, ассоциированные с белком LIMCH1. Используя полученные ранее уникальные данные микроматричного экспрессионного профилирования разных морфологических структур инвазивной карциномы молочной железы неспецифического типа, были аннотированы дифференциально экспрессирующиеся гены, ассоциированные с белком LIMCH1. Показана гетерогенность экспрессии генов, ассоциированных с белком LIMCH1, в различных морфологических структурах. Полученные результаты позволяют лучше понять процессы развития и прогрессирования опухоли, а также их связь с морфологической гетерогенностью.

Ключевые слова: LIMCH1, инвазивная карцинома молочной железы неспецифического типа, морфологическая гетерогенность, ядерный актин.

ANALYSIS OF GENE EXPRESSION ASSOCIATED WITH LIMCH1 IN VARIOUS MORPHOLOGICAL STRUCTURES OF INVASIVE BREAST CANCER OF NOT SPECIAL TYPE

V.V. Alifanov, L.A. Tashireva, T.S. Gerashchenko

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

Abstract

LIMCH1 protein is known can regulate gene expression by binding the LIM domain to nuclear actin. Nuclear actin is a protein involved in various processes, including basal transcription, activation of transcription, movement of chromosomes, chromatin remodeling, apoptosis, cell cycle and DNA repair. We reviewed the literature and selected genes associated with the LIMCH1 protein. We used data of micromatrix expression profiling of different morphological structures of invasive breast cancer of not special type and annotated differentially expressed genes associated with LIMCH1 protein. The heterogeneity of gene expression associated with LIMCH1 protein was shown in various morphological structures. The results obtained allowed a better understanding of the development and progression of the tumor, as well as their connection with morphological heterogeneity.

Key words: LIMCH1, invasive breast cancer of not special type, morphological heterogeneity, nuclear actin.

Актуальность. Белок LIMCH1 (Lim and calpoin-homology domains 1) выполняет множество функций, связанных с активацией белков, которые реализуются как в цитоплазме, так и в ядре. Основным его действием в цитоплазме является активация немышечного миозина и регуляция миграции клеток. В ядре белок LIMCH1 влияет на уровень экспрессии генов [1]. Функцию регуляции экспрессии генов белок LIMCH1 может осуществлять, вероятно, благодаря наличию LIM-домена, способного связываться с актином [2]. В обзоре S. Misu, M. Takebayashi, K. Miyamoto указывается на участие ядерного актина в различных процессах, включая базальную транскрипцию, активацию транскрипции, движение хромосом, ремоделирование хроматина, апоптоз, клеточный цикл, репарацию ДНК. Важно отметить, что молекулярные механизмы транскрипции связаны как с полимерной, так и с мономерной формами ядерного актина [3]. Роль белка LIMCH1 в развитии и прогрессировании карцином остается не до конца изученной.

Цель исследования – изучить уровень экспрессии генов, сопряженных с LIMCH1, сигнальным путем в различных морфологических структурах инвазивной карциномы неспецифического типа.

Материал и методы. В исследование было включено 3 больных с инвазивной карциномой неспецифического типа молочной железы (ИКНТ). В работе были использованы полученные ранее уникальные данные микроматричного экспрессионного профилирования разных морфологических структур инвазивной карциномы молочной железы неспецифического типа, размещенные в базе данных GEO (номер GSE80754) [4]. Для этого были использованы замороженные образцы нативной ткани инвазивной карциномы молочной железы неспецифического типа и ткани нормальной молочной железы. Тубулярные, солидные, альвеолярные, трабекулярные структуры и дискретные группы опухолевых клеток были

изолированы с помощью PALM MicroBeam (Carl Zeiss, Germany), как описано ранее [5]. Затем с использованием пакета программ IPA (Qiagen, США) были аннотированы дифференциально экспрессирующиеся гены в морфологических структурах и среди них идентифицированы ассоциированные с LIMCH1. Для статистической обработки был использован пакет программ Statistica 10.0.

Результаты. Диаграмма уровней экспрессии ассоциированных с LIMCH1 белков в различных морфологических структурах представлена на рис. 1.

Гены, связанные с Limch1	Альвеолярные структуры	Дискретные опухолевые клетки	Солидные структуры	Трабекулярные структуры	Тубулярные структуры
ANLN	1,017	1,64	1,83	1,51	ND
APP	-0,73	ND	-0,98	0,78	-0,49
CAPZA2	ND	-0,62	-0,69	-1,48	-1,22
CDH1	0,36	ND	ND	ND	0,54
CDK2	ND	0,57	ND	0,4	1,64
CEP120	-0,27	-1,43	-0,52	-1,73	-1,64
CUTC	2,55	0,48	2,59	ND	0,48
DIABLO	ND	0,5	ND	ND	ND
GABPA	ND	ND	0,32	ND	0,99
ELAVL1	0,99	-1,05	0,72	1,04	ND
GJA1	0,99	2,54	3,34	2,68	3,23
GNB4	1,34	2,37	1,42	1,27	1,01
HUWE1	-0,16	0,72	0,23	ND	-0,3
IQGAP1	-0,38	-0,39	-0,16	-0,78	0,76
KLHL15	2,54	0,5	1,24	2,22	0,77
KPNA1	0,35	-0,6	0,26	0,35	1,14
LIMCH1	0,61	-0,53	1,02	ND	0,45
MYH9	-0,27	0,49	-0,68	ND	ND
MYO18A	ND	-0,45	-0,4	ND	-2,41
MYO19	ND	0,57	1,02	2,4	ND
NAGK	0,36	ND	1,54	1,39	ND
NMP1	ND	ND	ND	ND	ND
NTRK1	0,38	0,44	ND	-0,3	0,28
ODF2	ND	-1,89	0,46	1,11	-0,5
OTUD6B	ND	-1,36	0,41	1,39	-1,77
PPP1CB	ND	-1,58	ND	-0,74	-0,33
RFC2	-0,51	0,97	0,98	ND	ND
RPA1	-0,3	-0,59	-0,5	-1	-0,24
RPA2	-0,6	-2,59	-1,28	-1,72	-1,66
RPA3	-0,95	-1,09	0,53	0,58	0,29
SH3BP1	-1,46	0,78	1,77	0,54	ND
TFCP2	-0,3	-0,99	ND	-0,97	ND
TRMT61A	0,3	0,68	-0,28	-0,53	ND
UNK	-1,43	-1,36	-0,72	-1,48	-0,88
XPO1	1,6	2,35	2,83	0,9	1,61
YES1	1,75	1,61	1,05	ND	1,61

Рис. 1. Уровни экспрессии ассоциированных с LIMCH1 генов в различных морфологических структурах инвазивной карциномы неспецифического типа молочной железы по сравнению с нормальной тканью молочной железы

В проведенном исследовании впервые были показаны достоверные различия в экспрессии генов, сопряженных с сигнальным путем LIMCH1, в различных морфологических структурах. Так, ген GJA1, кодирующий белок коннексин 43 – мембранный белок из семейства белков щелевых контактов коннексинов – гипохэкспрессирован в альвеолярных структурах (в 2–3 раза) по сравнению с другими структурами. Хорошо известно, что коннексины являются опухолевыми супрессорами, действие которых опосредовано влиянием на дифференцировку и ангиогенез. Это свойство ярко проявляется в экспериментах при 3D культивировании клеток молочной железы. Опираясь на эти факты и данные о том, что наличие альвеолярных структур в опухоли связано с лимфогенным метастазированием [6], можно предполагать, что потеря коннексина 43 в альвеолярных структурах позволяет им стимулировать ангиогенез и тем самым промотировать метастазирование. Еще одним свидетельством в пользу описанных свойств альвеолярных структур может являться обнаруженная гиперэкспрессия гена RPA2. Известно о туморогенных свойствах указанного гена, опосредованных усилением активности NF-κB [7]. Ген KLHL15, кодирующий соответствующий белок, который участвует в репарации повреждений ДНК, гиперэкспрессирован в альвеолярных и трабекулярных структурах в 2 раза по сравнению с другими структурами. Экспрессия гена ODF2 была в 3 раза ниже в одиночных клетках по сравнению с клетками трабекулярных структур. Известно, что транскрипция гена Odf2 репрессируется в делящихся клетках [8]. Данный факт может свидетельствовать о большей злокачественности одиночных опухолевых клеток. Ген OTUD6B был гипохэкспрессирован в одиночных клетках и тубулярных структурах по

сравнению с другими. Показано, что при немелкоклеточном раке легкого сплайс-вариант гена по-разному влияет на пролиферацию клеток, так, вариант OTUD6B-1 подавляет синтез ДНК, а OTUD6B-2 промотирует его [9]. Экспрессия гена SH3KBP1 была в 3 раза выше в солидных структурах по сравнению с альвеолярными. Известно, что белковый продукт, кодируемый данным геном, способен предотвращать разрушение рецептора к эпидермальному фактору роста [10]. Можно предположить, что подобный механизм может реализовываться в клетках, формирующих солидные структуры, делая их более восприимчивыми к сигналам пролиферации. Ген XPO1 был гипоекспрессирован в трабекулярных структурах в 2,5 раза по сравнению с другими структурами. Показано, что ингибирование указанного гена приводит к подавлению пролиферации и миграции клеток рака поджелудочной железы [11]. Подобное наблюдение дает основание полагать, что трабекулярные структуры могут иметь сниженные потенции к делению клеток и их движению.

Выводы. Полученные данные показали, что морфологические структуры инвазивной карциномы обладают существенной функциональной гетерогенностью, связанной с проявлениями инвазии и пролиферации, регулируемой белком LIMCH1.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ, №18-515-16001.

ЛИТЕРАТУРА

1. Eckel-Passow J.E., Serie D.J., Bot B.M., Joseph R.W., Chevillat J.C., Parker A.S. ANKS1 Bis a smoking-related molecular alteration in clear cell renal cell carcinoma. *BMC Urol.* 2014 Jan 31; 14: 14. doi: 10.1186/1471-2490-14-14.
2. Thomas C., Hoffmann C., Gatti G., Steinmetz A. LIM proteins: a novel class of actin cytoskeleton organizers in plants. *Plant Signal Behav.* 2007 Mar; 2(2): 99–100.
3. Gegenfurtner F.A., Jahn B., Wagner H., Ziegenhain C., Enard W., Geistlinger L., Rädler J.O., Vollmar A.M., Zahler S. Micropatterning as a tool to identify regulatory triggers and kinetics of actin-mediated endothelial mechanosensing. *J Cell Sci.* 2018 May 29; 131(10). pii: jcs212886. doi: 10.1242/jcs.212886.
4. Denisov E.V., Skryabin N.A., Gerashchenko T.S., Tashireva L.A., Wilhelm J., Buldakov M.A., Sleptcov A.A., Lebedev I.N., Vtorushin S.V., Zavyalova M.V., Cherdynseva N.V., Perelmuter V.M. Clinically relevant morphological structures in breast cancer represent transcriptionally distinct tumor cell populations with varied degrees of epithelial-mesenchymal transition and CD44+CD24- stemness. *Oncotarget.* 2017 May 19; 8(37): 61163–61180. doi: 10.18632/oncotarget.18022.
5. Denisov E.V., Gerashchenko T.S., Zavyalova M.V., Litviakov N.V., Tsyganov M.M., Kaigorodova E.V., Slonimskaya E.M., Kzhyshkowska J., Cherdynseva N.V., Perelmuter V.M. Invasive and drug resistant expression profile of different morphological structures of breast tumors. *Neoplasma.* 2015; 62(3): 405–11. doi: 10.4149/neo_2015_041.
6. Перельмутер В.М., Завьялова М.В., Вторушин С.В., Слонимская Е.М., Савенкова О.В. Взаимосвязь морфологической гетерогенности инфильтрирующего протокового рака молочной железы с различными формами опухолевой прогрессии. *Сибирский онкологический журнал.* 2007; 3: 58–63.
7. Chen C.C., Kass E.M., Yen W.F., Ludwig T., Moynahan M.E., Chaudhuri J., Jasin M. ATM loss leads to synthetic lethality in BRCA1 BRCT mutant mice associated with exacerbated defects in homology-directed repair. *PNAS.* 2017; 114: 7665–70.
8. Glauer J., Pletz N., Schön M., Schneider P., Liu N., Ziegelbauer K., Emmert S., Wulf G.G., Schön M.P. A novel selective small-molecule PI3K inhibitor is effective against human multiple myeloma in vitro and in vivo. *Blood Cancer J.* 2013 Sep 6; 3:e141. doi: 10.1038/bcj.2013.37.
9. Parker W.P., Davis B.J., Park S.S., Olivier K.R., Choo R., Nathan M.A., Lowe V.J., Welch T.J., Evans J.D., Harmsen W.S., Zaid H.B., Sobol I., Moreira D.M., Haloi R., Tollefson M.K., Gettman M.T., Boorjian S.A., Mynderse L.A., Karnes R.J., Kwon E.D. A. Identification of site-specific recurrence following primary radiation therapy for prostate cancer using C-11 choline positron emission tomography/computed tomography: a nomogram for predicting extrapelvic disease. *Eur Urol.* 2017 Mar; 71(3): 340–348. doi: 10.1016/j.eururo.2016.08.055.
10. Cirak S., Arechavala-Gomez V., Guglieri M., Feng L., Torelli S., Anthony K., Abbs S., Garralda M.E., Bourke J., Wells D.J., Dickson G., Wood M.J., Wilton S.D., Straub V., Kole R., Shrewsbury S.B., Sewry C., Morgan J.E., Bushby K., Muntoni F. Exon skipping and dystrophin restoration in patients with Duchenne muscular dystrophy after systemic phosphorodiamidate morpholino oligomer treatment: an open-label, phase 2, dose-escalation study. *Lancet.* 2011 Aug 13; 378(9791): 595–605. doi: 10.1016/S0140-6736(11)60756-3.
11. Azmi A.S., Li Y., Muqbil I., Aboukameel A., Senapedis W., Baloglu E., Landesman Y., Shacham S., Kauffman M.G., Philip P.A., Mohammad R.M. Exportin 1 (XPO1) inhibition leads to restoration of tumor suppressor miR-145 and consequent suppression of pancreatic cancer cell proliferation and migration. *Oncotarget.* 2017; 8(47): 82144–82155.

ОЦЕНКА ДОЗОВЫХ НАГРУЗОК ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОГО СОЧЕТАННОГО КУРСА ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ РАКА ЭНДОМЕТРИЯ

**М.И. Аубакиров¹, М.А. Добрыгина², А.А. Красных¹, И.А. Милойчикова^{1,2},
О.М. Стахова^{1,3}, Ж.А. Старцева², Н.Д. Тургунова²**

Национальный исследовательский Томский политехнический университет, г. Томск, Россия¹

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

Многопрофильный клинический медицинский центр «Медицинский город», г. Тюмень, Россия³

Аннотация

В работе представлены результаты расчета дозовых нагрузок на критические органы для послеоперационного сочетанного курса лучевой терапии рака эндометрия. Рассмотрены уровни доз на мочевой пузырь, прямую кишку и стенку прямой кишки. Представлены результаты расчета для проведения этапа дистанционной лучевой терапии двумя способами: конвенциональным и конформным. Для этапа внутриволостной лучевой терапии проведена оценка дозовых нагрузок с учетом экранирования критических органов и без экранирования. Показано, что применение защитного блока на область прямой кишки позволяет снизить дозу до уровня толерантности.

Ключевые слова: сочетанная лучевая терапия, дозовые нагрузки, линейно-квадратичная модель, 2D планирование, 3D планирование.

DOSE ESTIMATION FOR POSTOPERATIVE COMBINATION OF EXTERNAL BEAM RADIOTHERAPY AND BRACHYTHERAPY FOR ENDOMETRIAL CANCER

**M.I. Aubakirov¹, M.A. Dobrygina², A.A. Krasnykh¹, I.A. Miloichikova^{1,2},
O.M. Stakhova^{1,3}, Z.A. Startseva², N.D. Turgunova²**

National Research Tomsk Polytechnic University, Tomsk, Russia¹

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

Multidisciplinary clinical medical center «Medical Campus City», Tyumen, Russia³

Abstract

The paper presents the results of calculation of radiation doses delivered to the critical organs (the bladder, rectum and intestinal wall) in postoperative radiotherapy for endometrial cancer. The dose calculation results for conventional and conformal external beam radiation therapy were presented. For brachytherapy, radiation doses with and without shielding of critical organs were assessed. It is shown that the shielding block application for the intestinal wall allows reducing the dose to the tolerant level.

Key words: combined course of radiation therapy, radiation dose, linear-quadratic model, 2D-planning, 3D-planning.

Введение. Рак тела матки занимает первое место среди злокачественных новообразований женских половых органов, а в структуре всей женской онкопатологии – промежуточное место между раком молочной железы и раком шейки матки [1]. Тенденция к росту заболеваемости раком эндометрия в гинекологии отчасти объясняется увеличением общей продолжительности жизни женщин и времени их нахождения в постменопаузе, а также стремительным нарастанием частоты такой патологии, как хроническая гиперэстрогения, ановуляция, бесплодие, миома матки, эндометриоз и другие. Чаше рак тела матки развивается у женщин перименопаузального и постменопаузального периода (средний возраст – 60–63 года) [1]. Лечение рака тела матки – комбинированное, включающее хирургический (пангистерэктомию), лучевой, гормональный, химиотерапевтический компоненты [2].

В соответствии с рекомендациями к лечению лучевая терапия для послеоперационного этапа рака эндометрия представляет собой сочетанный курс облучения, включающий в себя два дистанционных этапа и внутриволостной [2]. В современном быстроразвивающемся технологическом оснащении сеансов лучевой терапии на первый план выходит поиск оптимального сочетания топометрической подготовки с планированием и доставкой лечения для достижения основной цели – максимального облучения очага с минимальным поражением нормальных тканей. Снижение дозовых нагрузок на критические органы является важной и актуальной задачей [2, 3].

«Золотым стандартом» топометрической подготовки для послеоперационного сочетанного курса лучевой терапии является разметка на компьютерном томографе – для дистанционного этапа и разметка на С-дуге – для внутриволостного этапа [2]. Однако два рентгеновских снимка, получаемых на аппарате С-дуга, не позволяют в полной мере оценить дозовые нагрузки на критические органы. Поэтому в настоящей работе предложено использовать ком-

пьютерную томографию для визуализации внутренних структур и положения аппликатора для разметки сочетанного курса облучения.

Цель исследования – оценка дозовых нагрузок на критические органы для послеоперационного сочетанного курса лучевой терапии рака эндометрия, реализованного различными методами.

Материал и методы. Курс сочетанной лучевой терапии реализовывался в виде комбинации дистанционной лучевой терапии с разовой дозой (РОД) 2 Гр и внутрисполостной лучевой терапией с РОД 5 Гр [2].

Сочетанная лучевая терапия проводилась в два этапа: I этап – дистанционный: в зону облучения входит послеоперационная область и зоны регионарного лимфотока, сеансы проводились ежедневно 5 раз в неделю; 11 фракций; II этап – чередование внутрисполостной и дистанционной лучевой терапии. Внутрисполостная лучевая терапия послеоперационной области проводилась на аппарате «MultiSource» (изотоп Co-60 с $E\gamma = 1,25$ МэВ) [4] в режиме: 2 раза в неделю (вторник, четверг), 5 фракций, система дозиметрического планирования HDRPlus [5]. II этап дистанционной лучевой терапии на зоны регионарного лимфотока проводился в режиме: 3 раза в неделю, 13 фракций.

Планирование сеансов конвенциональной лучевой терапии (2D) проводилось в системе XiO [6] для гамма-терапевтического аппарата «Theratron Equinox 80» (изотоп Co-60 с $E\gamma = 1,25$ МэВ) [7] в статическом режиме для послеоперационной области – четырехпольное облучение двумя парами встречных полей, для зон регионарного лимфотока – попарно встречными полями.

Для конформной лучевой терапии (3D) планирование осуществлялось в системе XiO [6] в описанном выше режиме для аппарата «Elekta Synergy» (6 МэВ) [8].

Топометрическая подготовка проходила на медицинском компьютерном томографе Siemens Somatom Emotion [9]. Оценка дозовых нагрузок проводилась с помощью линейно-квадратичной модели [10]. Уровни толерантных доз определялись в соответствии с рекомендациями QUANTEC [10].

Результаты и обсуждение. В рамках работы была проведена оценка дозовых нагрузок на критические органы от каждой составляющей сочетанного курса облучения. Также дополнительно рассчитаны дозы на стенку прямой кишки, прямую кишку и мочевого пузыря для 2D и 3D планирования этапов дистанционного облучения.

В качестве уровня дозовой нагрузки от одного сеанса облучения была выбрана модальная доза ($D_{\text{мод}}$), представленная в работе [11] в качестве критерия по оценке степени радиационного воздействия на наибольший объем облучаемого органа, и определяемая из дифференциальной гистограммы доза-объем.

Исходя из данных, полученных в системах планирования, были определены модальные дозы для стенки прямой кишки, прямой кишки и мочевого пузыря. Полученные значения представлены в табл. 1.

Таблица 1

Значения модальных доз, определенные для критических органов

		I этап ДЛТ		II этап ДЛТ		ВПЛТ	
		Доза	Объем	Доза	Объем	Доза	Объем
Стенка прямой кишки	2D	1,95 Гр	65 %	0,05 Гр	95 %	5 Гр	100 %
	3D	1,9 Гр	40 %	0,15 Гр	90 %	5 Гр	100 %
Прямая кишка	2D	1,95 Гр	35 %	0,05 Гр	90 %	1,3 Гр	100 %
	3D	1,35 Гр	30 %	0,15 Гр	80 %	1,3 Гр	100 %
Мочевой пузырь	2D	2,05 Гр	70 %	0,05 Гр	78 %	1 Гр	100 %
	3D	1,95 Гр	20 %	0,15 Гр	58 %	1 Гр	100 %

После этого с использованием линейно-квадратичной модели были рассчитаны суммарные дозы для каждого органа, изоэффективные стандартному курсу [10].

Таблица 2

Суммарные дозы сочетанного курса лучевой терапии для критических органов

		1 Этап ДЛТ (Гр)		2 Этап ДЛТ (Гр)		ВПЛТ (Гр)	СОД(Гр)		Толерантные дозы (Гр)
		2D	3D	2D	3D		2D+ ВПЛТ	3+ ВПЛТ	
Стенка прямой кишки	Ранние реакции	21,36	20,72	0,54	1,65	31,25	53,15	53,62	45
	Поздние реакции	21,32	20,4	0,368	1,15	41,66	63,348	63,21	45
Прямая кишка	Ранние реакции	21,36	14,04	0,54	1,65	6,12	28,02	21,81	60
	Поздние реакции	21,32	12,07	0,368	1,15	5,48	27,168	19,33	60
Мочевой пузырь	Ранние реакции	21,64	21,36	0,54	1,65	4,58	27,76	27,59	65
	Поздние реакции	21,8	21,32	0,368	1,15	3,88	27,048	26,35	65

Из табл. 2 видно, что дозовая нагрузка на область стенки прямой кишки превышает толерантный уровень, что может привести к постлучевым осложнениям [10, 11]. Во избежание подобных реакций можно использовать дополнительные экранирующие блоки при проведении внутриволостной лучевой терапии (рис. 1). Модальная доза для стенки прямой кишки в плане облучения с блоком составила 3,6 Гр.

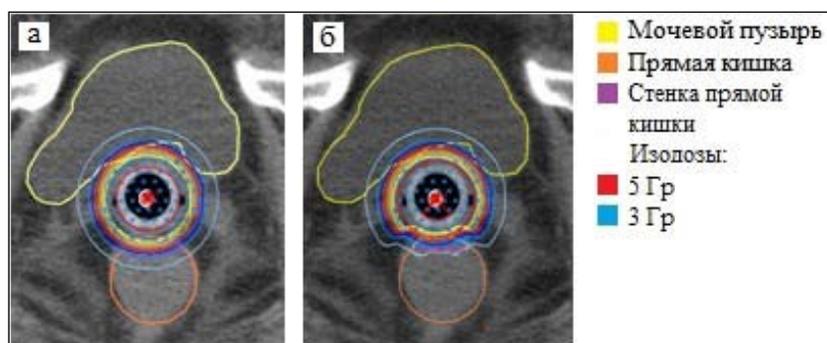


Рис. 1. Дозное распределение сеанса послеоперационной внутриволостной лучевой терапии: а – без блока; б – с блоком.

Использование дополнительного блока позволяет снизить суммарную дозовую нагрузку на область стенки прямой кишки для 2D до 44 Гр, для 3D до 40 Гр, что входит в толерантный уровень.

Выводы. В рамках данной работы было определено, что проведение конформной лучевой терапии на дистанционном этапе сочетанного курса позволяет уменьшить объем критических органов, вовлеченный в поле облучения, в два-три раза, что, безусловно, позволит снизить риск возникновения острых постлучевых осложнений по сравнению с конвенциональным облучением. Использование данных компьютерной томографии для визуализации объемов облучения при проведении сеансов внутриволостной лучевой терапии позволило провести количественную оценку уровня дозовой нагрузки на критические органы, что невозможно при использовании стандартного аппарата С-дуга. Показано, что применение дополнительных блоков при проведении сеансов внутриволостной лучевой терапии не только позволяет снизить дозу на критический орган (на примере стенки прямой кишки), но и является необходимым, так как без экранирования уровень дозовой нагрузки превышает толерантный.

ЛИТЕРАТУРА

1. Венедиктова М.Г., Доброхотова Ю.Э., Морозова К.В. Рак тела матки. М.: ГЭОТАР – Медиа. 2019; 64.
2. Клинические рекомендации [Интернет]. URL: <http://cr.rosminzdrav.ru/#!/schema/320> 04.02.2019 (дата обращения 1.03.2019).
3. Miloichikova I., Krasnykh A., Danilova I., Stuchebrov S., Kudrina V. Formation of electron beam fields with 3D printed filters. AIP Conference Proceedings. 2016; 1772(1): Article number 060018.

4. *MultiSource* User Manual [Internet]. URL: bebig.eu. (cited 12.01.2019).
5. *HDRplus* User Manual. sonoTECH GmbH. 2009. 289.
6. *XiO* [Интернет]. URL: <https://www.elekta.com/software-solutions/treatment-management/external-beam-planning/xio.html#XiO-related> (дата обращения 12.01.2019).
7. *Equinox 80* [Интернет]. URL: http://www.theratronics.ca/product_equinox.html (дата обращения 12.01.2019).
8. *Elekta Synergy* [Интернет]. URL: <https://www.elekta.com/radiotherapy/treatment-delivery-systems/elekta-synergy/> (дата обращения 12.01.2019).
9. *SOMATOM Emotion 6/16* [Интернет]. URL: https://w5.siemens.com/web/ua/ru/medecine/detection_diagnosis/computed_tomography/multisllice_ct/somatom_emotion/pages/emotion.aspx (дата обращения 12.01.2019).
10. *Joiner M., Kogel A.* Basic Clinical Radiobiology. CRC Press. 2009. 391.
11. *Солодкий В.А., Ставицкий Р.В.* Рак шейки матки. М.: ГАПТ. 2011. 159.

РЕКТАЛЬНОЕ ВВЕДЕНИЕ ХИМИОТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ НЕОАДЪЮВАНТНОЙ ХИМИОЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ МЕСТНОРАСПРОСТРАНЕННОГО РАКА ПРЯМОЙ КИШКИ

**А.Р. Ахтемзянов, Л.И. Корытова, О.В. Корытов, А.В. Мешечкин,
Н.Д. Олтаржевская, И.В. Гусев, В.Г. Мешечкина**

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий имени академика А.М. Гранова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Санкт-Петербург, Россия

Аннотация

Высокие показатели и неуклонный рост заболеваемости, неудовлетворительные результаты лечения, калечащие операции, частые местные рецидивы – все это определяет необходимость поиска новых методов комбинированного лечения местно-распространенного рака прямой кишки. В связи с этим нами был предложен способ ректального введения стерильного гидрогелевого материала (диск) на основе альгината натрия с 5-фторурацилом «Колетекс-5-фтур-диск» с **Целью** радиомодификации при проведении неоадъювантной химиолучевой терапии. В исследование были включены 39 пациентов с морфологически подтвержденным диагнозом рака прямой кишки, из которых 19 пациентам проводилась предоперационная лучевая терапия до суммарной очаговой дозы 50–56 Гр с системным приемом Кселоды или Фторафура и ректальным введением «Колетекс-5-фтур-диск». Контрольную группу составили 20 человек, которым химиолучевое лечение проводилось в том же режиме, но без использования материала «Колетекс-5-фтур-диск». В процессе лечения лучевые реакции в двух группах были сопоставимы. В исследуемой группе полный ответ опухоли диагностирован у 3 пациентов и у 16 – частичный ответ. У 7 пациентов это позволило уменьшить объем оперативного вмешательства и выполнить сфинктерсохраняющую операцию. Лечебный патоморфоз 3-й и 4-й степени был выявлен у 17 из 19 пациентов. Вследствие этого можно сделать вывод, что применение гидрогелевого материала «Колетекс-5-фтур-диск» не увеличивает частоту и тяжесть лучевых реакций и позволяет повысить качество жизни пациентов и увеличить эффективность лечения.

Ключевые слова: местнораспространенный рак прямой кишки, химиолучевая терапия, гидрогелевый материал, лечебный патоморфоз.

RECTAL ROUTE OF ADMINISTRATION OF CHEMOTHERAPEUTIC AGENTS DURING NEOADJUVANT CHEMORADIOTHERAPY FOR LOCALLY ADVANCED COLORECTAL CANCER

**A.R. Akhtemzyanov, L.I. Korytova, O.V. Korytov, A.V. Meshechkin,
N.D. Oltarzhetskaya, I.V. Gusev, V.G. Meshechkina**

Federal State Budgetary Institution «Russian Scientific Center of Radiology and Surgical Technologies named after Academician A.M. Granova» of the Ministry of Health of the Russian Federation, St. Petersburg, Russia

Abstract

A steady increase in the incidence rate, unsatisfactory treatment outcomes, mutilation, and frequent local recurrences dictate the necessity for identifying new approaches to the treatment of locally advanced colorectal cancer. In this regard, we proposed a method for rectal administration of sterile hydrogel material (disk) based on sodium alginate with 5-fluorouracil «Koletex-5-fluor-disk» for the purpose of radio modification during neoadjuvant chemoradiation therapy. The study included 39 patients with a morphologically confirmed diagnosis of colorectal cancer. Of these, 19 patients underwent pre-operative radiation therapy up to a total focal dose of 5056 Gy with systemic Xeloda or Ftorafur and rectal administration of Coletex-5-Fur-disk. The control group consisted of 20 people who underwent chemoradiation treatment in the same mode, but without using the Coletex-5-Ftur-disk material. In the course of treatment, the radiation reactions in the two groups were comparable. In the study group, complete tumor response was diagnosed in 3 patients and partial response in 16 patients. In 7 patients, this made it possible to reduce the volume of surgery and perform sphincter-preserving surgery. Pathological tumor response of grade 3 and 4 was detected in 17 of the 19 patients. As a result, it can be concluded that the use of the Coletex-5-Ftur-disk hydrogel material does not increase the frequency and severity of radiation reactions and improves the quality of life of patients and increases the effectiveness of treatment.

Key words: locally advanced rectal cancer, chemoradiation therapy, hydrogel material, medical pathomorphosis.

Актуальность. В 2017 году показатель распространенности злокачественных новообразований в России составляет 2 475,3 на 100 000 населения, что выше уровня 2007 г. (1783,9) на 38,8 %. Из всего контингента больных с впервые в жизни установленным диагнозом злокачественного новообразования рак прямой кишки составляет 4,4 % (26 455 человек) [1]. У пациентов с морфологически подтвержденным диагнозом I стадия заболевания установлена у 12,3 %, II стадия – у 39,4 %, III стадия – у 24,0 %, IV стадия – у 22,4 %. Показатель одно-годовой летальности составляет 22,5 %, что в большей степени объясняется недостаточным использованием комплексных методов лечения.

В терапии местнораспространенного рака прямой кишки (T1-2N1-2M0, T3-4N0-2M0) неотъемлемой составляющей комбинированного лечения является предоперационная химиолучевая терапия, что позволяет снизить агрессивный потенциал опухоли, создать условия для проведения радикальных операций в объеме R-0 и увеличить число сфинктеросохраняющих операций [2, 3, 4], а в последующем провести радикальное хирургическое лечение в объеме тотальной или парциальной мезоректумэктомии [5].

При проведении неoadъювантной и адъювантной терапии рака прямой кишки предпочтение отдается препаратам фторпиримидинового ряда как в монорежиме (5-фторурацил, капецитабин, Фторафур), так и в сочетании с другими группами препаратов (оксаллиплатин+капецитабин, иринотекан+капецитабин, 5-фторурацил+лейковорин и др.) [4, 6].

Эффективность 5-фторурацила, как и всех антиметаболитов, зависит от возможности создания длительной терапевтической концентрации активного вещества в ткани-мишени.

Радиомодификация, то есть управление тканевыми реакциями на облучение, является актуальной проблемой для клиницистов в настоящее время [7]. В связи с этим продолжаются работы по изучению возможности использования химиотерапевтических препаратов в качестве радиомодификаторов при проведении лучевой терапии местно-распространенных форм злокачественных новообразований [8, 9].

Таким образом, непосредственное ректальное подведение к опухоли химиопрепаратов с целью радиомодификации может повысить эффективность комбинированного лечения больных местнораспространенным раком прямой кишки.

Цель исследования – оценить терапевтический эффект использования стерильного гидрогелевого материала (диск) на основе альгината натрия с 5-фторурацилом «Колетекс-5-фтур-диск» в процессе проведения неoadъювантной химиолучевой терапии местнораспространенного рака прямой кишки.

Материал и методы. В исследование были включены 39 пациентов с морфологически подтвержденным диагнозом рака прямой кишки. Новообразование локализовалось в средне- и нижеампулярном отделе.

Исследуемая группа составила 19 пациентов, 10 из которых неoadъювантная лучевая терапия проводилась с разовой очаговой дозой 2 Гр, до суммарной дозы 50 Гр (25 фракций). Остальным (9 пациентов) лучевая терапия проводилась в режиме динамического фракционирования, разовой очаговой дозой 4 Гр, 3 Гр и 2 Гр, 16 фракций (суммарная доза 45

Гр (эквивалент 56 Гр)). В качестве химиотерапии пациенты принимали препарат Кселода 3000 мг/сут, в 2 приема, в течение 14 дней или препарат Фторафур 800 мг, 2 раза в сутки, в течение 10 дней. Также этим пациентам ежедневно ректально вводился гидрогелевый материал (диск) на основе альгината натрия с 5-фторурацилом («Колетекс-5-фтур-диск»), 2 раза в сутки (утром и за час до сна), с временем экспозиции 6–8 часов.

Контрольную группу составили 20 пациентов, химиолучевая терапия им проводилась в тех же режимах и в тех же дозировках, но без ректального введения гидрогелевого материала.

Пациенты двух групп были сопоставимы по стадии патологического процесса, гендерной принадлежности (мужчины:женщины – 1:1), средний возраст составил 65 лет. При возникновении лучевых реакций применяли стандартные методы профилактики и лечения.

Частоту и степень тяжести лучевых реакций и осложнений оценивали по шкале СТСАЕ v4.0 (Common Terminology Criteria for Adverse Events) от 28.05.2009 г. Эффективность проведенного лечения оценивалась по результатам объективных методов диагностики (уменьшение опухоли в объеме), степени лечебного патоморфоза опухолевой ткани после оперативного вмешательства.

Результаты. Во время проведения исследования тошнота была отмечена у 3 пациентов из контрольной группы и у 4 из исследуемой, лучевой ректит 2-й степени возник у 12 и 13 пациентов соответственно, радиоэпителит – по 7 человек в каждой группе. Аллергические реакции, связанные с введением материала «Колетекс-5-фтур-диск», отмечены не были.

По результатам объективных методов диагностики, выполненных перед оперативным вмешательством, в контрольной группе полный ответ был достигнут у 1 пациента, частичный ответ – у 15 пациентов, стабилизация – у 3 и прогрессирование – у 1, т.е. клинический эффект был отмечен у 19 пациентов из 20. В исследуемой группе полный ответ диагностирован у 3 пациентов, частичный ответ – у 16. То есть у всех пациентов исследуемой группы был значимый клинический эффект от проведенного лечения, что позволило изменить объем оперативного вмешательства и выполнить сфинктерсохраняющую операцию 7 пациентам. По результатам морфологического исследования опухолевой ткани после операции 3-я и 4-я степень лечебного патоморфоза была выявлена у 17 из 19 пациентов в исследуемой группе.

Выводы. 1. Использование гидрогелевого материала «Колетекс-5-фтур-диск» при проведении неoadъювантной химиолучевой терапии у больных местнораспространенным раком прямой кишки не увеличивает частоту и степень лучевых реакций и осложнений. 2. Применение гидрогелевого материала увеличивает частоту объективного ответа опухоли на лечение, тем самым повышая частоту проведения сфинктерсохраняющих операций и повышая качество жизни больных.

ЛИТЕРАТУРА

1. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Состояние онкологической помощи населению России в 2017 году. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2018. 236.
2. Алиев В.А., Артамонова Е.В., Барсуков Ю.А., Глебовская В.В., Гордеев С.С., Карачун А.М., Личиницер М.Р., Расулов А.О., Сагайдак И.В., Сидоров Д.В., Ткачев С.И., Трякин А.А., Федянин М.Ю., Шельгин Ю.А. Клинические рекомендации по диагностике и лечению больных раком прямой кишки. М.: Общероссийский союз общественных объединений. Ассоциация онкологов России. 2014. 23.
3. Li Y., Wang J., Ma X., Tan L., Yan Y., Xue C., Hui B., Liu R., Ma H., Ren J. A Review of Neoadjuvant Chemoradiotherapy for Locally Advanced Rectal Cancer. *Int J Biol Sci.* 2016; 12(8): 1022–1031.
4. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN Guidelines®). Rectal Cancer. Version 3. 2018.
5. Федянин М.Ю., Гладков О.А., Гордеев С.С., Рыков И.В., Трякин А.А., Черных М.В. Практические рекомендации по лекарственному лечению рака прямой кишки. Практические рекомендации по лечению злокачественных опухолей Российского общества клинической онкологии. М. 325–362.
6. Переводчикова Н.И., Горбунова В.А. Руководство по химиотерапии опухолевых заболеваний. М.: Практическая медицина, 2018. 687.
7. Добродеев А.Ю., Завьялов А.А., Мусабеева Л.И. Радиомодификация при комбинированном лечении немелкоклеточного рака легкого. *Сибирский онкологический журнал.* 2006; 4(20): 63–67.
8. Li Y., Wang J., Ma X., Tan L., Yan Y., Xue C., Hui B., Liu R., Ma H., Ren J. Concomitant use of radiotherapy and gemcitabine: preclinical findings and clinical practice. *Cancer Radiother.* 2004; 8 Suppl. 1: S106–113.
9. Blackstock A.W., Richards F., White D., Lesser G. Twice-weekly gemcitabine and concurrent thoracic radiation for advanced non small-cell lung cancer. *Clin. Lung Cancer.* 1999; 1(2): 153–154.

ЗАМЕЩЕНИЕ ДЕФЕКТОВ КОСТНОЙ ТКАНИ ИНДИВИДУАЛЬНЫМИ ИМПЛАНТАТАМИ. ПЕРВЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

**В.А. Базлов, В.В. Павлов, Т.З. Мамуладзе,
М.В. Ефименко, А.А. Пронских, А.А. Панченко**

ФГБУ «Новосибирский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьяна» Минздрава России, г. Новосибирск, Россия

Ежегодно увеличивается число пациентов с тяжелыми разрушениями вертлужной впадины в результате онкологических процессов, протекающих в области тазобедренного сустава, в таких случаях достижение стабильности эндопротеза тазобедренного сустава становится трудной или недостижимой задачей [1, 2]. Мы имеем возможность изготавливать для таких пациентов индивидуальные имплантаты, замещающие дефект вертлужной впадины. В Новосибирском НИИТО разработан способ замещения дефектов костей таза индивидуальными имплантатами, напечатанными из медицинского титана LPW-Ti64-GD23-TYPE5 по ASTM F136 с помощью технологии 3D-печати [3]. В Новосибирском НИИТО проведено более 40 подобных операций, первые оперативные вмешательства выполнялись в 2016 г., эффективность подтвердилась в результате динамического наблюдения в течение более двух лет.

Ключевые слова: замещение дефектов вертлужной впадины, 3D-принтер, эндопротезирование тазобедренного сустава, ВАШ, опросник WOMAC.

RECONSTRUCTION OF BONE DEFECTS WITH INDIVIDUAL IMPLANTS. EARLY TREATMENT OUTCOMES

**V.A. Bazlov, V.V. Pavlov, T.Z. Mamuladze,
M.V. Efimenko, A.A. Pronskih, A.A. Panchenko**

Novosibirsk Scientific Research Institute of Traumatology and Orthopedics named after Ya.L. Tsvyvan, Novosibirsk, Russia

Abstract

The incidence of severe destructions of the acetabulum in patients with cancer occurring in the hip region has been increasing steadily. The achievement of the hip implant stability in such cases becomes challenging [1, 2]. We have developed a method for replacing pelvic bone defects with individual implants printed from medical titanium LPW-Ti64-GD23-TYPE5 by ASTM F136 using 3D printing technology [3]. More than 40 such surgeries (the first surgery in 2016) were performed. At a follow-up of 2 years, the method was proved to be effective.

Key words: replacement of defects of the acetabulum, and a 3D printer, a hip replacement, WAS questionnaire WOMAC.

Актуальность. В работе раскрыты перспективы использования метода индивидуальной контурной пластики при замещении крупных дефектов костей таза. Проведен анализ эффективности как с точки зрения оценки клинической составляющей применения индивидуальных имплантатов (опросник ВАШ, Харисса, оценка контрольных рентгенограмм в динамике), так и с точки зрения социальной адаптации пациентов (опросник WOMAC).

Цель – обосновать клиническую эффективность применения индивидуальных имплантатов, напечатанных на 3D-принтере, с **Целью** замещения костных дефектов ацетабулярной впадины.

Материал и методы. Рассмотрен ряд клинических случаев (6 мужчин, 57±6 лет; 4 женщины, 44±10 лет) при сроках наблюдения более одного года. Оперативные вмешательства проводились в плановом порядке на второй день после госпитализации пациента, в среднем такая операция длится 80 мин с использованием стандартного хирургического инструментария. При этом не используется дополнительный инструментарий (аугменты, тестовые

шаблоны, специализированный ревизионный инструментарий), имплантация происходит в один этап. Пациенты активизируются на вторые сутки после операции, как правило, находятся в стационаре не более 10 сут, на 11–12-е сут выписываются с опорой на костылях в реабилитационный центр или под наблюдение врача по месту жительства. Такой подход дает возможность сократить время оперативного лечения, минимизировать хирургический инструментарий, освободить средний и младший персонал операционной.

Результаты. В Новосибирском НИИТО проведено более 30 подобных операций, первые оперативные вмешательства выполнялись в 2016 г., эффективность подтвердилась в результате динамического наблюдения в течение года после операции, результаты представлены в табл. 1.

Таблица 1

Оценка клинической и социальной адаптации пациентов после оперативного лечения с использованием индивидуальных имплантатов

Пациент, пол, лет	До оперативного лечения, баллы			При выписке, баллы			Год после оперативного лечения, баллы		
	ВАШ	Опросник Харриса	WOMAC	ВАШ	Опросник Харриса	WOMAC	ВАШ	Опросник Харриса	WOMAC
Пациент М,55	7	67	71	5	75	57	2	87	35
Пациент Ж,65	8	63	78	6	77	55	2	88	37
Пациент М,73	7	62	77	5	73	50	1	86	36
Пациент М,64	9	54	81	6	70	54	3	81	37
Пациент Ж,34	8	55	79	5	74	55	2	81	36
Пациент М,54	7	61	71	5	81	49	3	83	34
Пациент Ж,61	8	63	82	5	75	54	2	86	38
Пациент М,54	7	67	77	4	78	52	2	84	34
Пациент М,66	9	52	81	6	71	52	3	82	35
Пациент Ж,56	7	64	82	5	73	53	2	88	40

Наблюдение пациентов в течение года: при выписке, через 6 и 12 мес (с проведением контрольной рентгенографии и заполнением опросников VAS, Харриса, WOMAC) – показало эффективность предлагаемого метода лечения. Интенсивность болевого синдрома у пациентов после проведенного оперативного вмешательства уменьшалась в 1,5 раза, через год – в 3,5 раза, что оценивается по шкале VAS как значительное снижение болевого синдрома. Увеличение показателя оценки функции тазобедренного сустава (клиническая адаптация) по опроснику Харриса через год после оперативного лечения с 60,8 до 84,6 оценивается как «хорошие» **Результаты.** Показатель по опроснику WOMAC снизился с 69,7 до 53,1 балла, что характеризуется как значительная положительная динамика в отношении социальной адаптации пациентов. По контрольным рентгенограммам через 6 и 12 мес от момента оперативного лечения осложнений в виде дислокации индивидуального имплантата, вывиха эндопротеза тазобедренного сустава, резорбции костной ткани в зоне контакта «кость – индивидуальный имплантат» не отмечается. Корректность установки вертлужного индивидуального имплантата определяли по следующим параметрам: угол антеверсии, угол инклинации, пространственное положение центра ротации в сравнении с анатомическим по данным рентгенографии в прямой и боковой проекции, МСКТ (толщина слоя 0,5 мм, лучевая нагрузка 2,0±0,9 мЗв, 32-срезовый аппарат PHILIPS). Все планируемые положения установки вертлужного имплантата находились в safe zone Lewinnek (40±10 инклинации и 15±10° антеверсии) [4]. Сравнили полученные данные с планируемыми пространственными параметрами с помощью u-критерия Манна – Уитни при достоверности p<0,05, представлены в табл. 2.

Таблица 2

Пространственные параметры индивидуального имплантата

Пациент, пол, лет	Фактические параметры имплантации				Планируемые параметры имплантации			
	Анте- версия	Инкли- нация	Центр ротации	Латера- лизация	Анте- версия	Инкли- нация	Центр ротации	Латера- лизация
Пациент М,55	20,4	29	2	2	20	30	0	0
Пациент Ж,65	2,6	42	11,8	19,6	5	45	10	15
Пациент М,73	7,2	35	6	9,6	5	40	5	10
Пациент М,64	4,3	41	4,9	17,8	5	40	5	15
Пациент Ж,34	6,7	40	1	2	5	40	0	0
Пациент М,54	6,3	27	22	1	5	30	15	0
Пациент Ж,61	12,5	33	7,9	9,7	10	35	5	10
Пациент М,54	11,6	34	2	1	10	35	0	0
Пациент М,66	14,8	29	11	10	15	30	10	10
Пациент Ж,56	24	41	2	2	20	40	0	0
Пациент М,27	15	42	5	2	15	40	5	0
Пациент Ж,76	12,6	38	2	2	15	40	0	0

Средний угол антеверсии индивидуального вертлужного компонента составил $11030^{\circ}+1048^{\circ}$ (min 2036° , max 240°) при планируемом среднем положении в $100+1042^{\circ}$, (min 50° , max 200°). Средний угол инклинации составил $35054^{\circ}+1034^{\circ}$ (min 270° , max 420°) при среднем планируемом $370+1052^{\circ}$ (min 300° , max 450°). Среднее положение центра ротации имплантированного индивидуального вертлужного компонента составило $0,6+1,75$ мм краниализации и $6,6+1,85$ мм латерализации от анатомического центра ротации при планируемом $0,4+1,4$ мм краниализации и $5+1,77$ мм латерализации. Разница между результатами была статистически незначима. Из 12 случаев имплантации было выявлено 1 осложнение в виде рецидивирующего вывиха.

Выводы. Первые результаты применения индивидуальных имплантатов показали высокую эффективность как с клинической точки зрения, так и с экономической. В течение всего периода наблюдения индивидуальные конструкции оставались стабильными, создавая надежную опору для стандартных компонентов эндопротеза тазобедренного сустава. Использование индивидуальных имплантатов позволяет сократить время оперативного лечения, минимизировать хирургический инструментарий, освободить средний и младший персонал операционной.

ЛИТЕРАТУРА

1. Маланин Д.А., Черезов Л.Л. Первичные опухоли костей и костные метастазы. Диагностика и принципы лечения. Учебное пособие. III издание. Волгоград, 2014. 3–4.
2. Антонов А.К., Цымбал М.В., Антонов Ю.К., Оситов А.В., Гречко А.Т. Металлополимерное эндопротезирование костей при первичных и вторичных опухолях опорно-двигательного аппарата у больных пожилого возраста. Клиническая геронтология. 2008; 14(4): 34–38.
3. Баитов В.С., Мамуладзе Т.З., Базлов В.А. Возможности использования объемного моделирования и 3D печати с целью создания индивидуальных артродезирующих конструкций в ревизионном эндопротезировании коленного сустава. Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2016; 12(7): 11891193.
4. Han G., Wang Y., Bi W., Jia J., Wang W., Xu M., Zheng X., Mei L., Yang M. Reconstruction using massive allografts after resection of extremity osteosarcomas the study design: A retrospective cohort study. Int J Surg. 2015 Sep; 21: 10811. doi: 10.1016/j.ijso.2015.07.686.

НЕОАДЪЮВАНТНАЯ ХИМИОТЕРАПИЯ В КОМБИНИРОВАННОМ ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ РАКОМ ГОРТАНИ И ГОРТАНОГЛОТКИ

Ю.В. Белевич, Е.А. Дудникова, Н.М. Гончарова

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

Аннотация

В статье представлены результаты по оценке эффективности комбинированного лечения 126 больных с морфологически верифицированным плоскоклеточным раком гортани и гортаноглотки II–IV (T2–4N0–2M0) стадии опухолевого процесса за период с 2006 по 2019 г. Пациентам группы исследования (n=30) проводилось 2 курса неoadъювантной химиотерапии по схеме: доцетаксел + цисплатин, с последующей лучевой терапией в режиме мультифракционирования дозы по 1,3 Гр 2 раза в день и хирургическое лечение (по показаниям). Больным, включённым в группу сравнения (n=96), проводилось 2 курса неoadъювантной химиотерапии по схеме: паклитаксел + карбоплатин, с последующей лучевой терапией в режиме мультифракционирования дозы по 1,3 Гр 2 раза в день и хирургическое лечение (по показаниям). Общая эффективность проведённого лечения в основной группе составила 69,9±3,1 % (полная регрессия 43,3±2,6 %, частичная регрессия – 26,6±4,0 %), в группе контроля – 81,3±4,0 % (полная регрессия – 34,4±4,8 %, частичная регрессия – 46,9±5,1 %).

Ключевые слова: рак гортани и гортаноглотки, комбинированное лечение, неoadъювантная химиотерапия, лучевая терапия в режиме мультифракционирования дозы.

NEOADJUVANT CHEMOTHERAPY IN COMBINED MODALITY TREATMENT OF PATIENTS WITH CANCER OF THE LARYNX AND HYPOPHARYNX

Yu.V. Belevich, E.A. Dudnikova, N.M. Goncharova

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

Abstract

The article presents the results of evaluating the effectiveness of combined modality treatment of 126 patients with histologically verified stage IIIV (T₂₋₄N₀₋₂M₀) squamous cell carcinoma of the larynx and hypopharynx for the period from 2006 to 2019. Patients of the study group (n=30) underwent 2 courses of neoadjuvant chemotherapy according to the scheme: docetaxel + cisplatin, followed by radiotherapy in the mode of multifractionation at a dose of 1.3 Gy 2 times a day and surgical treatment (according to indications). Patients included in the comparison group (n=96) underwent 2 courses of neoadjuvant chemotherapy according to the scheme: paclitaxel + carboplatin, followed by radiotherapy in the mode of multifractionation at a dose of 1.3 Gy 2 times a day and surgical treatment (according to indications). The overall response rate in the study group was 69.9±3.1 % (complete regression – 43.3±2.6 %, partial regression – 26.6±4.0 %). The corresponding value in the comparison group was 81.3±4.0 % (complete regression – 34.4±4.8 %, partial regression – 46.9±5.1%).

Key words: cancer of the larynx and hypopharynx, combined modality treatment, neoadjuvant chemotherapy, multifraction radiation therapy.

Актуальность. В последние годы имеется тенденция к увеличению темпов прироста заболеваемости раком гортани и гортаноглотки и летальности вследствие этих заболеваний. В России на конец 2017 г. показатель заболеваемости раком гортани составил 30,4 на 100 тыс. населения, раком гортаноглотки – 12,0. В настоящее время среди впервые выявленных больных раком гортани в 59,3 % случаев диагностируются III–IV стадии опухолевого процесса, рак гортаноглотки – в 82,3 %. Однако только 8,8 % больных раком гортани и 20,1 % раком гортаноглотки получают химиолучевое лечение в составе комбинированного метода вследствие распространенности опухолевого процесса [2]. Это связано с тем, что по-прежнему традиционным методом лечения остается сочетание лучевой терапии с оперативным вмешательством в объеме комбинированной ларингэктомии. В связи с этим в настоящее время наиболее перспективным является включение в комбинированный этап лечения неoadъювантной химиотерапии [1].

Цель исследования – повышение эффективности комбинированного лечения больных раком гортани и гортаноглотки за счёт использования современных режимов противоопухолевой химиотерапии и модифицированных вариантов лучевой терапии.

Материал и методы. В исследование включено 126 больных раком гортани и гортаноглотки II–IV (T2–4N0–2M0) стадии опухолевого процесса, получивших комбинированное

лечение в НИИ онкологии Томского НИМЦ за период с 2006 по 2019 г. В группу исследования вошло 30 пациентов, из них мужчин – 25, женщин – 5, средний возраст – 56,8 года. У всех пациентов морфологически верифицированный плоскоклеточный рак гортани (90 % пациентов) и гортаноглотки (10 % пациентов). Пациентам I группы (n=30) проводилось 2 курса неoadъювантной химиотерапии с интервалом 3–4 нед по схеме: доцетаксел – 75 мг/м² + цисплатин – 75 мг/м² с последующей лучевой терапией в режиме мультифракционирования дозы по 1,3 Гр 2 раза в день с интервалом в 4 ч с оценкой эффекта на СОД=65,0 изоГр. Пациентам с эффектом лечения – частичная регрессия и стабилизация процесса – следующим этапом комбинированного лечения выполнялось оперативное лечение. Пациентам II группы (n=96) проводилось 2 курса неoadъювантной химиотерапии с интервалом 3–4 нед по схеме: паклитаксел – 175 мг/м² + карбоплатин – АУС – 6, с последующей лучевой терапией в режиме мультифракционирования дозы по 1,3 Гр 2 раза в день с интервалом в 4 ч, с оценкой эффекта на СОД= 65,0 изоГр. Эффект лечения оценивался по аналогичным критериям, как и в I группе.

Всем пациентам проводилась морфологическая верификация опухолевого процесса с определением гистотипа, степени дифференцировки, лечебного патоморфоза. Для оценки эффекта лечения (до лечения, после 2 курсов неoadъювантной химиотерапии, после лучевой терапии в режиме мультифракционирования дозы на СОД = 65 изоГр) проводились: видеоларингоскопия, ультразвуковое исследование, спиральная компьютерная томография с болюсным контрастированием, однофотонная эмиссионная компьютерная томография с ^{99m}Tc-Технетрилом.

Результаты. У пациентов I группы полная регрессия наблюдалась у 13 больных (43,3±2,6 %), что подтверждалось данными видеоларингоскопии с морфологическим контролем (зарегистрирован лечебный патоморфоз IV степени). Во II группе полная регрессия опухоли отмечалась у 33 (34,4±4,8 %) пациентов. Больным I группы, эффект лечения которых был оценен как частичная регрессия (26,6±4,0 %) и стабилизация процесса (16,6±3,1 %), было выполнено хирургическое вмешательство, в том числе в 25,0±2,3 % случаев – органосохраняющие операции, в 75,0±4,1 % случаев – радикальные операции (ларингэктомия или комбинированная ларингэктомия с или без лимфодиссекции). Больным II группы, эффект лечения которых оценен как частичная регрессия (46,9±5,1 %) и стабилизация процесса (18,7±3,9 %), также проводилось хирургическое лечение, в том числе в 31,7±5,8 % случаев – органосохраняющие операции, в 68,3±5,8 % случаев – радикальные операции (ларингэктомия или комбинированная ларингэктомия с или без лимфодиссекции).

Практически все пациенты I группы удовлетворительно переносили лечение. Основными осложнениями, развившимися после проведения химиотерапии, были аллопеция в 100 % случаев, тошнота I–II ст. – у 11 (36,6±2,6 %) пациентов, лейкопения I–II ст. – у 3 (10,0±3,3 %) пациентов, что связано с фармакологическими особенностями применяемых цитостатиков. Во II группе основными осложнениями были тошнота I–II ст. – у 7 (7,3±2,7 %) пациентов, артралгия/миалгия – у 15 (15,6±3,7 %) больных, аллергические реакции – у 3 (3,1±1,7 %) пациентов, аллопеция также наблюдалась в 100 % случаев. Все осложнения были купированы в короткие сроки. Полученные результаты свидетельствуют о том, что проведенные курсы химиотерапии в сравнимых режимах, переносятся больными удовлетворительно. После проведения курса лучевой терапии в режиме мультифракционирования дозы у 7 (23,3±3,8 %) пациентов I группы и 31 (32,3±4,8 %) пациента II группы было зарегистрировано появление на коже полей облучения эритемы (I степень лучевых реакций по RTOG/EORTC), что не требовало специального лечения и прерывания курса облучения. У 12 пациентов (40,0±5,1 %) в I группе и 21 (21,9±4,2 %) больного во II группе на коже отмечался сухой эпидермит, а на слизистой – эпителит, что соответствовало II степени выраженности лучевых реакций по RTOG/EORTC, купированные магнитолазерной терапией. Частота и выраженность лучевых реакций в обеих группах статистически значимо не отличались.

Полученные результаты позволяют предположить, что применение режима неoadъювантной химиотерапии по схеме: доцетаксел + цисплатин и модифицированного режима лучевой терапии, в 43,3±2,6 % случаев позволяет избежать операции за счет полной регрессии опухоли, а в 25,0±2,3 % случаев выполнить органосохраняющие и функционально щадящие операции, что способствует улучшению качества жизни пациентов.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Переводчикова Н.И., Горбунова В.А.* Руководство по химиотерапии опухолевых заболеваний. М.: Практическая медицина. 4-е изд. 2018. 156.
2. *Чиссов В.И., Старинский В.В., Петрова Г.В.* Состояние онкологической помощи населению России в 2017 году. М.: МНИОИ им. А.П. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России. 2018; 30–31.

СВЯЗЬ УРОВНЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ БЕЛКОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С КЛЕТОЧНОЙ ПОДВИЖНОСТЬЮ, С РАЗВИТИЕМ РАКА ГОРТАНИ И ГОРТАНОГЛОТКИ

А.В. Белозерова, М.О. Болтрушевич

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

Аннотация

Работа посвящена изучению молекулярных особенностей развития рака гортани и гортаноглотки. Для этого оценивали уровень экспрессии генов белков клеточной подвижности SNAIL1, виментина (VIM), Rho-ГТФазы 3 (RND3), кальпаина 2 (CAPN2) и актин-связывающих белков фасцина (FSCN1), эзрина (EZR), профилина (PFN1), кофилина 1 (CFL1) и аденилилциклаза-ассоциированного протеина 1 (CAP1) в образцах больных хроническим гиперпластическим ларингитом и больных раком гортани и гортаноглотки с метастазами и без. Выявили, что ранний этап развития опухолевого процесса связан с изменением уровня экспрессии генов маркеров клеточной подвижности VIM и RND3. Уровень экспрессии генов актин-связывающих белков также был различен: в группе больных с метастазами экспрессия мРНК CFL1 повысилась в 3 раза. Полученные данные могут служить базой для разработки новых методов прогноза рака гортани и гортаноглотки.

Ключевые слова: актин-связывающие белки, плоскоклеточный рак головы и шеи, локомоция, метастазирование, мезенхимальный тип, амeboидный тип.

RELATIONSHIP BETWEEN THE LEVEL OF GENE EXPRESSION OF PROTEINS ASSOCIATED WITH CELL MOBILITY AND THE DEVELOPMENT OF LARYNGEAL AND HYPOPHARYNGEAL CANCER

A.V. Belozerova, M.O. Boltrushevich

Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

Abstract

The study was dedicated to the analysis of molecular features of laryngeal and hypopharyngeal cancer development. We assessed the expression level of protein genes of cellular mobility SNAIL1, vimentin (VIM), Rho-GTPase 3 (RND3), fascin (FSCN1), ezrin (EZR), profilin (PFN1), cofilin 1 (CFL1) and adenylyl cyclase-associated protein 1 (CAP1) in samples of laryngeal and hypopharyngeal cancer patients with and without metastases. It was revealed that early cancer development was associated with changes in the level of gene expression of cell mobility markers VIM and RND3. The level of gene expression of actin-binding proteins was also different. A 3-fold increase in the expression level of mRNA of CFL1 was observed in the group of patients with metastases. The data obtained can be the base for finding new prognostic markers for laryngeal and hypopharyngeal cancer.

Key words: actin-binding proteins, head and neck squamous cell carcinoma, locomotion metastasis, mesenchymal type of cell movement, amoeboid type of cell movement.

Актуальность. Рак гортани и гортаноглотки является одним из самых агрессивных видов рака с высоким метастатическим потенциалом, связанным с приобретением клетками локомоторных свойств [1, 2]. В реализации способности к передвижению участвуют регуляторные, адгезивные молекулы, различные протеазы и белки цитоскелета, в том числе актин-связывающие. Описано множество регуляторных молекул-маркеров: транскрипционные факторы Snail, Slug, ZEB1, Twist; сигнальные белки (белки семейства малых ГТФаз RhoA, RhoE, RhoC и др.), участвующих в регуляции процессов локомоции [3]. Также известно, что актин-связывающие белки (кофилин, фасцин, эзрин, аденилилциклаза-ассоциированный протеин 1 и др.) обеспечивают ремоделирование актинового цитоскелета [4]. Однако связь актин-связывающих белков с этими маркерами клеточного движения мало изучена. В частности, неизвестно, на каком этапе злокачественной трансформации появля-

ются признаки локомоторной активности. Поэтому определение уровня экспрессии генов актин-связывающих белков FSCN1, EZR, PFN1, CFL1 и CAP1 в зависимости от уровня экспрессии маркеров клеточного движения при развитии и метастазировании рака гортани и гортаноглотки является актуальным.

Цель исследования: оценить уровень экспрессии генов, кодирующих актин-связывающие белки FSCN1, EZR, PFN1, CFL1 и CAP1, в тканях рака и предопухолевых заболеваний гортани и гортаноглотки в зависимости от маркеров клеточного движения SNAIL1, VIM, CAPN2, RND3.

Материал и методы. В исследование вошли 48 больных плоскоклеточным раком гортани и гортаноглотки (ПРГГ) (T2–4N1–2M0, n=21; T1–4N0M0, n=27) и 7 пациентов с хроническим гиперпластическим ларингитом (ХГЛ), осложненным диспластическими изменениями слизистой оболочки (DII–III). У всех больных ПРГГ был морфологически верифицирован диагноз плоскоклеточный рак гортани и гортаноглотки. Пациенты проходили обследование и лечение в отделении опухолей головы и шеи НИИ онкологии ТНМИЦ РАН. Уровень экспрессии мРНК белков SNAIL1, VIM, CAPN2, RND3, FCSN, EZR, PFN1, CFL1, CAP1 анализировали методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени. Анализ уровня экспрессии генов проводили по методу $2\Delta\Delta CT$. Статистический анализ результатов проводился с использованием пакета программ IBM SPSS 22.

Результаты. Определен уровень экспрессии мРНК маркеров клеточной локомоции SNAIL1 и VIM, характеризующих мезенхимальный тип локомоции, а также CAPN2 и RND3 – амебoidalный тип (табл. 1). В опухолевой ткани больных ПРГГ (T1–4N0M0) уровни экспрессии мРНК VIM и RND3 были выше в 9 и 27 раз, соответственно, чем в образцах пациентов ХГЛ, DII–III. Изменение экспрессии мРНК маркеров клеточной подвижности у больных с метастазами было на уровне тенденций. Для большей достоверности необходимо увеличить выборку. Таким образом, полученные результаты говорят о том, что развитие ПРГГ связано с клеточной подвижностью [5]. При определении уровня экспрессии мРНК FCSN, EZR, PFN1, CFL1, CAP1 в группах больных ХГЛ, DII–III и пациентов с ПРГГ (T2–4N1–2M0 и T1–4N0M0) также были отмечены изменения на уровне тенденций. Статистически значимо уровень экспрессии CFL1 в опухолевой ткани у больных с метастазами был выше в 3 раза по сравнению с группой больных без метастазов (табл. 2).

Таблица 1

Уровень экспрессии мРНК маркеров клеточного движения в диспластически измененном эпителии и ткани плоскоклеточного рака гортани и гортаноглотки

мРНК	ХГЛ, D(II–III), M±m	ПРГГ (T1–4N0M0), M±m	ПРГГ (T2–4N1–2M0), M±m
<i>SNAIL1</i>	0,48±0,31	2,93±1,32	3,77±1,75
<i>VIM</i>	2,56±2,50	22,26±7,54*	6,00±2,82
<i>CAPN2</i>	4,74±2,69	3,52±1,39	4,34±1,69
<i>RND3</i>	0,22±0,11	6,00±2,44*	12,70±6,71

Примечание: здесь и в табл. 2 *p≤0,05.

Таблица 2

Уровень экспрессии мРНК генов, кодирующих белки клеточной подвижности, в диспластически измененном эпителии и ткани плоскоклеточного рака гортани и гортаноглотки

мРНК	ХГЛ, D(II–III), M±m	ПРГГ (T1–4N0M0), M±m	ПРГГ (T2–4N1–2M0), M±m
<i>FCSN</i>	4,11±2,83	5,46±1,83	3,95±1,70
<i>EZR</i>	2,82±2,37	15,41±2,05	7,91±3,10
<i>PFN1</i>	12,01±10,51	12,30±4,16	7,04±2,21
<i>CFL1</i>	2,38±2,18	8,17±4,48	24,83±7,38*
<i>CAP1</i>	13,39±8,94	19,68±5,85	18,75±4,13

Полученные результаты не противоречат литературным данным, где экспрессии кофилина в метастазировании отводится важная роль [3, 4]. Высокая экспрессия маркеров клеточного движения, отвечающих за оба типа локомоции VIM и RND3, также согласуется с литературными данными [6].

Методом корреляционного анализа в общей выборке больных ПРГГ были отмечены слабые взаимосвязи экспрессии мРНК: SNAIL1-PFN1 ($r=0,4$), PFN1-RND3-CAP1 ($r=0,4$), VIM-CAP1 ($r=0,5$). В группе больных ПРГГ без метастазов отмечена сильная корреляция CAP1 –VIM ($r=0,6$) и CAPN2-EZR ($r=0,6$). В группе больных с метастазами наблюдалась сильная корреляция CAP1-CAPN2 ($r=0,8$). Наличие регионарных метастазов также влияло на взаимосвязь актин-связывающих белков: сильная корреляция CAP1-CFL1 ($r=0,7$).

Выводы. В целом результаты работы указывают на то, что развитие плоскоклеточного рака гортани и гортаноглотки связано с клеточным движением, что сопровождается изменением уровня экспрессии белков клеточной подвижности. Полученные данные подтверждают необходимость дальнейших исследований экспрессионного профиля генов, участвующих в реализации клеточной подвижности для разработки новых методов прогнозирования заболевания.

ЛИТЕРАТУРА

1. Какурина Г.В., Кондакова И.В., Чойзонов Е.Л. Постгеномные технологии в прогнозе метастазирования плоскоклеточных карцином головы и шеи. Российский биотерапевтический журнал. 2011; 10(3): 31–36.
2. Какурина Г.В., Кондакова И.В., Черемисина О.В., Шишкин Д.А., Чойзонов Е.Л. Аденилилциклаза-ассоциированный протеин 1 в развитии плоскоклеточных карцином головы и шеи. Биолетень экспериментальной биологии и медицины. 2015; 160(11): 648–651.
3. Крахмаль Н.В., Завьялова М.В., Денисов Е.В., Вторушин С.В., Перельмутер В.М. Инвазия опухолевых эпителиальных клеток: механизмы и проявления. Acta Naturae. 2015; 7(2(25)): 18–26.
4. Бочкарева Н.В., Кондакова И.В., Коломиец Л.А. Роль актинсвязывающих белков в клеточном движении в норме и при опухолевом росте. Молекулярная медицина. 2011; 6: 1418.
5. Александрова А.Ю. Пластичность миграции опухолевых клеток: приобретение новых свойств или возврат к «хорошо забытым» старым? Биохимия. 2014; 79(9): 1169–1187.
6. Sroka J., Krecioch I., Zimolag E., Lasota S., Rak M., Kedracka-Krok S., Borowicz P., Gajek M., Madeja Z. Lamellipodia and Membrane Blebs Drive Efficient Electrotactic Migration of Rat Walker Carcinosarcoma Cells WC 256. PLoS One. 2016 Feb 10; 11(2): e0149133.

АКТИВНОСТЬ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ СЛЮНЫ ПРИ ОПУХОЛЯХ ГОЛОВЫ И ШЕИ

Л.В. Бельская

Омский государственный педагогический университет, г. Омск, Россия

Аннотация

Проведено сопоставление активности ферментов слюны (ЩФ, ЛДГ, ГГТ, СОД, каталаза, α -амилаза) при опухолях головы и шеи в зависимости от гистологического типа (плоскоклеточный рак, аденокарцинома). В исследовании случай–контроль приняли участие 232 добровольца, которые были разделены на 3 группы: основную (рак полости рта и слюнных желез, $n=68$), группу сравнения (незлокачественные патологии, $n=50$) и контрольную (условно здоровые, $n=114$). Всем участникам было проведено биохимическое исследование слюны, гистологическая верификация диагноза. Межгрупповые различия оценены непараметрическим критерием. Показано, что на фоне незлокачественных патологий и на фоне рака головы и шеи наблюдается рост активности метаболитических ферментов (ЩФ, ЛДГ, ГГТ и α -амилазы), незначительно увеличивается активность СОД. Отмечено уменьшение активности каталазы. Установлено, что активность большинства ферментов выше для аденокарцином слюнных желез, тогда как максимальное уменьшение активности каталазы отмечено для плоскоклеточного рака полости рта. Статистически достоверные отличия активности ферментов между исследуемыми группами выявлены для каталазы ($p=0,0432$) и α -амилазы ($p=0,0232$). Наиболее перспективным, на наш взгляд, является изучение активности α -амилазы слюны для выявления аденокарцином слюнных желез.

Ключевые слова: слюна, опухоли головы и шеи, слюнные железы, онкология, диагностика, ферменты.

ACTIVITY OF METABOLIC ENZYMES OF SALIVA IN HEAD AND NECK CANCER

L.V. Belskaya

Omsk State Pedagogical University, Omsk, Russia

Abstract

Comparison of the activity of salivary enzymes (ALP, LDH, GGT, SOD, catalase, α -amylase) in head and neck cancer was carried out depending on the histological type (squamous cell carcinoma, adenocarcinoma). 232 volunteers took part in the case-control study, they were divided into 3 groups: primary (cancer of the oral cavity and salivary glands, $n = 68$), comparison group (non-cancerous pathologies, $n = 50$) and control (conditionally healthy, $n = 114$). All participants had a biochemical study of saliva and histological verification of the diagnosis. Intergroup differences were assessed by a non-parametric criterion. It was shown that in patients with non-malignant pathologies and in head and neck cancer patients, an increase in the activity of metabolic enzymes (ALP, LDH, GGT and α -amylase) and slight increase in the SOD activity were observed. However, a decrease in the catalase activity was noted. It was established that the activity of most enzymes was higher for salivary adenocarcinoma, whereas the maximum decrease in the catalase activity was noted for squamous cell carcinoma of the oral cavity. Statistically significant differences in the enzyme activity between the studied groups were revealed for catalase ($p = 0.0432$) and α -amylase ($p = 0.0232$). The study of the salivary α -amylase activity to detect salivary adenocarcinoma seems to be most promising.

Key words: saliva, head and neck cancer, salivary glands, oncology, diagnostics, enzymes.

Под термином «опухоль головы и шеи» описываются злокачественные новообразования различной гистологической структуры, локализующиеся на слизистой оболочке губ, в полости рта, глотке, гортани и шейном отделе пищевода, полости носа и параназальных синусов, слюнных железах. Абсолютное большинство злокачественных новообразований слизистой полости рта и губы представлено плоскоклеточным раком. Наиболее частыми морфологическими формами злокачественных опухолей слюнных желез являются мукоэпидермоидный рак, ациноклеточный рак, аденокистозный рак и неспецифическая аденокарцинома.

Перспективным направлением является исследование особенностей метаболических процессов при злокачественных новообразованиях, в частности активности ряда ферментов. В качестве потенциально информативных можно рассматривать щелочную фосфатазу (ЩФ), лактатдегидрогеназу (ЛДГ), гаммаглутамилтрансферазу (ГГТ), каталазу, супероксиддисмутазу (СОД) и α -амилазу [1–4]. Существуют единичные исследования, посвященные изучению активности ферментов в слюне пациентов с опухолями головы и шеи, однако исследований активности ферментов при разных гистологических типах до настоящего времени не проводилось.

Цель исследования – сопоставление активности ферментов слюны при опухолях головы и шеи в зависимости от гистологического типа (плоскоклеточный рак, аденокарцинома).

Материал и методы. В исследовании приняли участие добровольцы, которые были разделены на 3 группы: основную, группу сравнения и контрольную. Основная группа включала пациентов с гистологически подтвержденным диагнозом рак полости рта ($n=53$, в том числе гортани и носоглотки – 32, слизистой полости рта – 11, языка – 10; во всех случаях гистологический тип опухоли – плоскоклеточный рак, стадии 1–4) и слюнных желез ($n=15$, гистологический тип опухоли – аденокарцинома). Группа сравнения включала пациентов с доброкачественными новообразованиями ротовой полости ($n=26$, в том числе полипы – 6, папилломы – 8, кисты – 3, аденомы – 9) и слюнных желез (аденомы, $n=24$). Контрольная группа включала условно здоровых пациентов ($n=114$). Включение в группы происходило параллельно.

В качестве критериев включения рассматривались: возраст пациентов 30–75 лет, отсутствие какого-либо лечения на момент проведения исследования, в том числе хирургического, химиотерапевтического или лучевого, отсутствие признаков активной инфекции (включая гнойные процессы), проведение санации полости рта. Критерии исключения: отсутствие гистологической верификации диагноза.

У всех участников до начала лечения проводили забор слюны в количестве 5 мл. Образцы собирали утром натощак путем сплевывания в стерильные пробирки, центрифугировали при 7 000 об/мин., определяли активность ферментов [5].

Исследование проведено в соответствии с Хельсинкской декларацией (принятой в июне 1964 г. (Хельсинки, Финляндия) и пересмотренной в октябре 2000 г. (Эдинбург, Шотландия)) и одобрено на заседании комитета по этике БУЗ Омской области «Клинический онкологический диспансер» от 21 июля 2016 г., протокол № 15.

Статистический анализ выполнен при помощи программ Statistica 10.0 (StatSoft, США) и пакета R (версия 3.2.3) непараметрическим методом с использованием в зависимых груп-

пах критерия Вилкоксона, в независимых группах – U-критерия Манна –Уитни. Описание выборки производили с помощью подсчета медианы (Me) и интерквартильного размаха в виде 25-го и 75-го перцентилей [LQ; UQ]. Различия считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

Результаты. На первом этапе полученные данные были обработаны методом дискриминантного анализа (рис. 1). Показано, что наблюдается достаточно четкое разделение между контрольной группой (слева от 0) и основной группой + группа сравнения (справа от 0). Разделение основной группы и группы сравнения не происходит, несмотря на то, что основная группа располагается в основном выше 0 на диаграмме рассеяния канонических значений, тогда как группа сравнения – ниже.

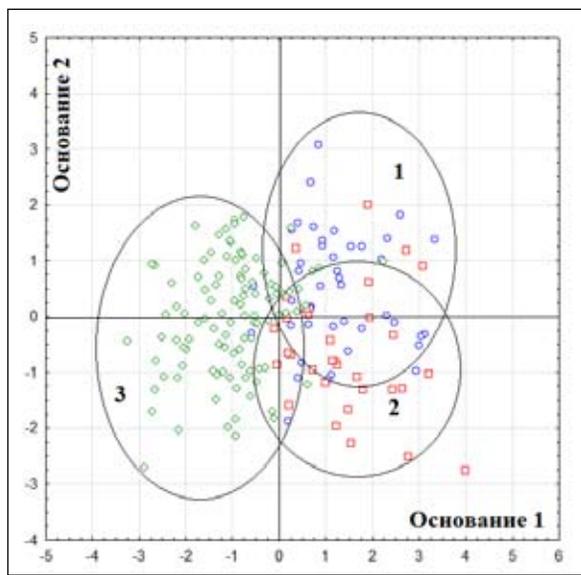


Рис.1. Результаты дискриминантного анализа (1 – основная группа, 2 – группа сравнения, 3 – контрольная группа)

Показаны статистически достоверные отличия активности ферментов слюны по сравнению с контрольной группой (табл.1). Так как и на фоне незлокачественных патологий, и на фоне рака головы и шеи наблюдается рост активности метаболических ферментов (ЩФ, ЛДГ, ГГТ и α -амилазы), незначительно увеличивается активность СОД. Однако активность каталазы в обеих группах статистически достоверно ниже (-23,0 % и -33,6 % для группы сравнения и основной соответственно). Между основной группой и группой сравнения статистически достоверных отличий по определяемым параметрам не выявлено.

Таблица 1

Результаты биохимического анализа слюны исследуемых групп

Показатель	Контроль, n=114	Группа сравнения, n=50	Основная группа, n=68
ЩФ, Е/л	60,84 [39,11; 84,75]	70,62 [47,81; 99,96]	73,88 [49,98; 109,74] $p=0,0439$
ЛДГ, Е/л	1008,0 [607,9; 1702,0]	1471,0 [1121,0; 2098,0] $p=0,0026$	1441,0 [864,8; 2028,0] $p=0,0153$
Каталаза, мкат/л	4,52 [3,60; 5,90]	3,48 [2,34; 5,13] $p=0,0005$	3,00 [2,18; 4,56] $p=0,0000$
ГГТ, Е/л	18,6 [15,4; 23,0]	22,4 [19,7; 24,7] $p=0,0002$	23,2 [17,9; 27,0] $p=0,0001$
СОД, у.е.	61,84 [36,84; 115,79]	63,16 [28,95; 131,58]	68,42 [26,32; 123,68]
α -амилаза, Е/л	178,8 [74,3; 382,9]	316,1 [127,2; 503,7] $p=0,0416$	315,1 [196,3; 519,5] $p=0,0100$

Примечание: p – статистически достоверные отличия по сравнению с контрольной группой.

На следующем этапе проведено сравнение активности ферментов слюны у пациентов с раком полости рта и слюнных желез, поскольку для этих групп характерны разные гистологические типы опухолей (табл. 2).

Таблица 2

Сравнение биохимического состава слюны в зависимости от гистологического типа

Показатель	Плоскоклеточный рак, n=53	Аденокарцинома, n=15
ЩФ, Е/л	73,42 [47,81; 108,65]	73,88 [54,33; 113,00]
ЛДГ, Е/л	1439,0 [785,5; 1928,0]	2040,0 [951,0; 2283,0]
		p=0,0202
Каталаза, мкат/л	2,88 [1,85; 4,26] p=0,0000	3,30 [2,84; 5,40]
ГГТ, Е/л	22,6 [17,6; 26,2] p=0,0012	25,0 [17,9; 27,8] p=0,0074
СОД, у.е.	67,11 [23,68; 111,84]	76,32 [52,63; 144,74]
α -амилаза, Е/л	315,05 [196,30; 491,35] p=0,0494	499,35 [150,35; 992,40] p=0,0001

Примечание: p – статистически достоверные отличия по сравнению с контрольной группой. Установлено, что активность большинства ферментов выше для аденокарцином слюнных желез, тогда как максимальное уменьшение активности каталазы отмечено для плоскоклеточного рака полости рта. Однако статистически достоверные отличия активности ферментов между исследуемыми группами выявлены для каталазы (p=0,0432) и α -амилазы (p=0,0232). Вероятной причиной выявленных отличий можно считать особенности метаболических процессов на фоне разных гистологических типов опухолей. Ранее нами показано, что при плоскоклеточном раке легкого и аденокарциноме наблюдаются схожие изменения активности ферментов слюны [6]. Так, для аденокарциномы легкого активность α -амилазы выше на 39,7 %, чем при плоскоклеточном раке [6], тогда как для аденокарцином головы и шеи – на 58,5 % (табл. 2). Известно, что клетки нормального легкого способны продуцировать α -амилазу, причем доказано, что речь идет именно о слюнной, а не панкреатической α -амилазе [7]. В частности, повышенная экспрессия α -амилазы характерна для аденокарциномы легкого [8].

Таким образом, можно предположить, что выявленные различия активности ферментов при опухолях головы и шеи различных гистологических типов могут быть характерны и для опухолей другой локализации, что требует подтверждения в ходе дальнейших исследований. Следует отметить, что большинство изменений активности ферментов слюны происходят уже на стадии незлокачественных патологий, в связи с чем выявить среди исследуемых показателей параметр, полезный в клинической лабораторной диагностике, достаточно сложно. Тем не менее перспективным, на наш взгляд, является изучение активности α -амилазы слюны для выявления аденокарцином как в слюнных железах, так и в ряде других органов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Xiao B., Guo J., Lou Y., Meng D., Zhao W., Zhang L., Yan C., Wang D. Inhibition of growth and increase of alkaline phosphatase activity in cultured human oral cancer cells by all-trans retinoic acid. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.* 2006; 35: 643–648. doi: 10.1016/j.ijom.2006.01.005.
2. Mafessoni T.P., Mazur C.E., Amenábar J.M. Salivary lactate dehydrogenase (LDH) as a tool for early diagnosis of oral cancer in individuals with Fanconi anemia. *Med Hypotheses.* 2018 Oct; 119: 2931. doi: 10.1016/j.mehy.2018.07.021.
3. Wu J.Y., Yi C., Chung H.R., Wang D.J., Chang W.C., Lee S.Y., Lin C.T., Yang Y.C., Yang W.C. Potential biomarkers in saliva for oral squamous cell carcinoma. *Oral Oncol.* 2010 Apr; 46(4): 226–31. doi: 10.1016/j.oraloncology.2010.01.007.
4. Choudhari S.K., Chaudhary M., Gadbail A.R., Sharma A., Tekade S. Oxidative and antioxidative mechanisms in oral cancer and precancer: A review. *Oral Oncol.* 2014 Jan; 50(1): 10–8. doi: 10.1016/j.oraloncology.2013.09.011.
5. Бельская Л.В., Сарф Е.А., Косенок В.К. Корреляционные взаимосвязи состава слюны и плазмы крови в норме. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2018; 63(8): 477–482.
6. Bel'skaya L.V., Kosenok V.K. The activity of metabolic enzymes in the saliva of lung cancer patients. *Natl J Physiol Pharm Pharmacol.* 2017; 7(6): 646–653.
7. Nakamura Y., Tomita N., Nishide T., Emi M., Horii A., Ogawa M., Mori T., Kosaki G., Okabe T., Fujisawa M., Ohsawa N., Kameya T., Matsubara K. Production of salivary type α -amylase in human lung cancer. *Gene.* 1989; 77: 107–112.
8. Turkeli S., Atici A.G., Kayhan S., Yilmaz Y.A. Analysis of pleural amylase levels in chest disease clinic. *Journal of Experimental and Clinic Medicine.* 2013; 30: 349–352.

ОЦЕНКА ПРОГНОСТИЧЕСКОЙ ЗНАЧИМОСТИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ БЕЛКОВ КЛЕТОЧНОЙ ПОДВИЖНОСТИ У БОЛЬНЫХ РАКОМ ГОРТАНИ И ГОРТАНОГЛОТКИ ПОСЛЕ КОМБИНИРОВАННОЙ ТЕРАПИИ

М.О. Болтрушевич, А.В. Белозерова

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

Аннотация

В работе оценивали прогностическую значимость уровня экспрессии генов белков клеточной подвижности Snail1 (SNAI1), виментина (VIM), Rho-ГТФазы 3 (RND3), фасцина (FSCN1), эзрина (EZR), профилина (PFN1), кофилина 1 (CFL1) и аденилилциклаза-ассоциированного протеина 1 (CAP1) в тканях рака гортани и гортаноглотки у больных с прогрессированием заболевания и без после комбинированной терапии. В результате исследования были определены наиболее значимые прогностические показатели – распространенность опухоли T и уровень экспрессии CFN1, на основании которых была составлена математическая модель. Результаты работы позволят сформировать фундаментальную базу для разработки новых способов прогноза заболевания.

Ключевые слова: актин-связывающие белки, рак гортани и гортаноглотки, прогнозирование, прогрессирование, маркеры, комбинированная терапия.

EVALUATION OF THE PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF THE EXPRESSION OF GENES ENCODING CELLULAR MOVEMENT PROTEINS IN PATIENTS WITH LARYNGEAL OR HYPOPHARYNGEAL CANCER AFTER COMBINATION THERAPY

M.O. Boltrushevich, A.V. Belozerova

Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

Abstract

In our study we assessed the prognostic significance of the expression of genes encoding cellular movement proteins, such as Snail1 (SNAI1), vimentin (VIM), Rho GTPase 3 (RND3), fascin (FSCN1), ezrin (EZR), profilin (PFN1), cofilin 1 (CFL1) and adenyl cyclase-associated protein 1 (CAP1) in tissues of laryngeal or hypopharyngeal cancer patients with and without disease progression after combination therapy. The size of the tumor (T) and CFN1 expression level were the most significant prognostic parameters, on the basis of which a mathematical model was created. The study results will allow the formation of a fundamental basis for the development of new approaches for prediction of laryngeal and hypopharyngeal cancer.

Key words: actin-binding proteins, laryngeal or hypopharyngeal cancer, prognosis, cancer progression, markers, combination therapy.

Актуальность. Рак гортани и гортаноглотки является тяжелой и прогностически неблагоприятной формой рака, характеризующейся высокой частотой регионарного метастазирования и рецидива после лечения [4–6], которые определяются изменением в составе и свойствах белков, в том числе актин-связывающих [1–3]. Поэтому изучение уровня экспрессии генов, кодирующих белки клеточной подвижности, а именно белки-маркеры мезенхимального (SNAI1, VIM) и амебоидного (RND3) типа клеточной локомоции и связанные с ними актин-связывающие белки (FSCN1, EZR, PFN1, CFL1 и CAP1) в качестве прогностических критериев эффективности комбинированной терапии рака гортани и гортаноглотки, представляется актуальным.

Цель исследования – оценить прогностическую значимость экспрессии генов белков клеточной подвижности Snail1 (SNAI1), виментина (VIM), Rho-ГТФазы 3 (RND3), фас-

цина (FSCN1), эзрина (EZR), профилина (PFN1), кофилина 1 (CFL1) и аденилилциклаза-ассоциированного протеина 1 (CAP1) у больных раком гортани и гортаноглотки в определении исходов заболевания после комбинированной терапии.

Материал. Использовали парные образцы ткани, взятые во время диагностической видеоларингоскопии до специализированного лечения у 41 больного плоскоклеточным раком гортани и гортаноглотки (ПРГГ) в стадии T1–4N0–2M0 с морфологически верифицированным диагнозом, которые проходили лечение в клинике НИИ онкологии Томского НИМЦ. Результаты исхода проведенной комбинированной терапии оценивали следующим образом: благоприятный исход (n=22) – больной жив как минимум в течение 24 мес после первичной гистологической верификации диагноза без прогрессирования заболевания; неблагоприятный исход (n=19) – больной жив, и у него установлено прогрессирование заболевания после проведенной комбинированной терапии, либо умер в эти же сроки. Уровень экспрессии мРНК белков, ассоциированных с клеточным движением мезенхимального типа (SNAIL1, VIM), амебоидного типа (RND3), и мРНК актин-связывающих белков FSCN1, EZR, PFN1, CFL1, CAP1 анализировали методом обратнo-транскриптазной ПЦР в режиме реального времени и рассчитывали методом $2^{-\Delta\Delta Ct}$. Статистический анализ результатов и построение математической модели проводились с помощью пакета программ SPSS 23.0. Результаты представлены в таблицах как $M \pm m$, где M – среднее, m – стандартное отклонение

Результаты. На представленной выборке больных установлено, что уровни экспрессии мРНК генов, кодирующих белки, участвующих в реализации клеточной подвижности, не имеют статистически значимых различий в группах больных с благоприятными и неблагоприятными исходами ПРГГ. Наблюдается тенденция к увеличению экспрессии CFL1 в 4,8 раза, $p=0,06$, в опухолях у больных с неблагоприятными исходами в отличие от больных с благоприятными исходами (таблица).

Таблица

Уровень экспрессии мРНК генов, кодирующих белки клеточной подвижности, в ткани у больных плоскоклеточным раком гортани и гортаноглотки в группах с благоприятным и неблагоприятным исходом после комбинированного лечения

Ген	Благоприятный исход, $M \pm m$	Неблагоприятный исход, $M \pm m$	p
SNAIL1	3,90±1,96	2,48±1,63	0,56
VIM	18,22±7,32	11,89±6,42	0,62
CALP2	2,76±2,56	5,46±4,48	0,85
RND3	8,79±5,35	4,52±2,74	0,46
FSCN1	8,38±3,53	6,42±2,41	0,63
EZR	20,43±8,76	13,82±6,10	0,13
PFN1	33,61±18,43	11,65±4,80	0,43
CFL1	3,66±2,35	19,75±7,06	0,06
CAP1	21,44±6,81	19,31±8,27	0,55

Примечание: p – значимость различий между группами.

Методом ROC-анализа показано, что для прогноза неблагоприятного исхода наиболее эффективно определить уровень FSCN1 (AUC=0,6; чувствительность 90%; специфичность 87%) и CFN1 (AUC=0,6; чувствительность 82%; специфичность 87%) у больных ПРГГ до начала проведения комбинированной терапии. Такой подход может позволить своевременно провести мониторинг прогрессирования основного заболевания.

В результате дискриминантного анализа были определены наиболее значимые показатели – распространенность опухоли T ($p=0,016$) и CFN1 ($p=0,002$), на основании которых была составлена математическая модель, представленная набором линейных дискриминантных функций, число которых равно числу групп:

$$Y1 = 11,88 \times X1 + 0,12 \times X2 - 8,92;$$

$$Y2 = 18,55 \times X1 + 0,23 \times X2 - 20,19,$$

где $Y1$ и $Y2$ – значения линейной дискриминантной функции для благоприятного и неблагоприятного исхода соответственно; $X1$ – распространенность опухоли T; $X2$ – уровень экспрессии CFN1.

Применение модели: если $Y1 > Y2$, то для больного наиболее вероятен благоприятный исход; если $Y1 < Y2$, то для больного наиболее вероятен неблагоприятный исход. Чувствительность и специфичность данной математической модели – 70 % и 89,5 % соответственно.

Выводы. Наибольшую прогностическую значимость имеют распространенность опухоли T и уровень экспрессии CFN1. Представленная математическая модель позволяет с вероятностью 71 % прогнозировать прогрессирование рака гортани и гортаноглотки у больных после комбинированной терапии. Полученные результаты показывают необходимость дальнейшего исследования белков клеточной подвижности в качестве прогностических факторов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Александрова А.Ю. Реорганизация актинового цитоскелета, лежащая в основе движения клеток: [автореф. дис. ... д-ра биол. наук]. М., 2011. 51.
2. Бочкарева Н.В., Кондакова И.В., Коломиец Л.А. Роль актинсвязывающих белков в клеточном движении в норме и при опухолевом росте. Молекулярная медицина. 2011. 6: 14–18.
3. Какурина Г.В., Кондакова И.В., Черемисина О.В., Шишкин Д.А., Чойнзонов Е.Л. Аденилициклаза-ассоциированный белок 1 в развитии плоскоклеточных карцином головы и шеи. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2016; 160(11): 648–651.
4. Какурина Г.В., Кондакова И.В., Спирина Л.В., Колегова Е.С., Шашиова Е.Е., Черемисина О.В., Новиков В.А., Чойнзонов Е.Л. Экспрессия генов, кодирующих белки клеточной подвижности, в развитии плоскоклеточного рака головы и шеи. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2018; 166(8): 209–212.
5. Крахмаль Н.В., Завьялова М.В., Денисов Е.В., Вторушин С.В., Перельмутер В.М. Инвазия опухолевых эпителиальных клеток: механизмы и проявления. Acta Naturae. 2015; 7(2(25)): 17–28.
6. Чижевская С.Ю., Чойнзонов Е.Л., Мещеряков Р.В. Прогнозирование исходов лечения больных раком гортани и гортаноглотки. Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН. 2011; 22(3): 97–102.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АЛЬТЕРНАТИВНЫХ КАРКАСНЫХ БЕЛКОВ В НАПРАВЛЕННОЙ РАДИОНУКЛИДНОЙ ДИАГНОСТИКЕ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОБРАЗОВАНИЙ С ГИПЕРЭКСПРЕССИЕЙ HER2/NEU

О.Д. Брагина¹, Р.В. Зельчан¹, М.С. Ларкина², Е.А. Шелихова³

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

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

Национальный исследовательский Томский политехнический университет, г. Томск, Россия³

Аннотация

Целью работы явилось изучение эффективности комплекса на основе меченных ^{99m}Tc адресных молекул DARPIn9_29 для радионуклидной диагностики злокачественных опухолей с гиперэкспрессией Her2/neu. Исследования продемонстрировали высокие показатели радиохимического выхода и чистоты, а также стабильность изучаемого соединения. Результаты *in vitro* и *in vivo* анализа показали специфичность и аффинность радиофармпрепарата к рецептору Her2/neu.

Ключевые слова: Her2/neu, диагностика, альтернативные каркасные белки.

SCAFFOLDS IN TARGETED RADIONUCLIDE DIAGNOSTICS OF MALIGNANCIES WITH HER2/NEU OVEREXPRESSION

O.D. Bragina¹, R.V. Zelchan¹, M.S. Larkina², E.A. Shelihova³

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

Siberian State Medical University, Tomsk, Russia²

National Research Tomsk Polytechnic University, Tomsk, Russia³

Abstract

The purpose of the study was to investigate the effectiveness of the radionuclide based on ^{99m}Tc-labeled targeted DARPIn9_29 molecules for radionuclide imaging of malignant tumors with overexpression of Her2/

neu. The study demonstrated high rates of radiochemical yield and purity, as well as the stability of the compound. In vitro and in vivo analysis showed the specificity and affinity of the radiopharmaceutical to the HER2/neu receptor.

Key words: Her2/neu, diagnostics, scaffolds.

Актуальность. Методы радионуклидной индикации нашли широкое применение в диагностике неврологических, кардиологических и онкологических заболеваний [1–5]. В последние годы все большую популярность получают таргетные радиофармпрепараты, обладающие высокой специфичностью к различным молекулярным мишеням [5–9]. В настоящее время для этих целей используются новые молекулярные структуры, получившие название «альтернативных каркасных белков» [10–13]. Одним из представителей адресных молекул неиммуноглобулиновой природы является DARPIn (Design Ankyrin Repeat Protein), к преимуществам которого относятся небольшой размер (14–20 кДа), стабильная структура, высокая специфичность и аффинность к антигену, а также значительно более низкая стоимость производства, обусловленная их экспрессией в бактериальных средах [14–19]. Одной из наиболее изучаемых молекулярных мишеней по-прежнему остается рецептор эпидермального роста Her2/neu, гиперэкспрессия которого определяется на поверхности опухолевых клеток при раке молочной железы, реже раке яичников, желудка, простаты и пр. и характеризуется неблагоприятным прогнозом относительно безрецидивной и общей выживаемости [20].

Целью исследования является изучение эффективности препарата на основе меченных ^{99m}Tc адресных молекул DARPIn9_29 для радионуклидной диагностики злокачественных опухолей с гиперэкспрессией Her2/neu.

Материал и методы. Кодированная последовательность DARPIn9_29 была амплифицирована с плазмиды pET-DARP-6HIS в клетках *E. coli* лабораторией молекулярной онкологии Института биоорганической химии им. академика М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН под руководством проф. С.М. Деева.

Мечение белка. Для приготовления трикарбонила технеция $[\text{}^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]^+$ использовался набор «CRS Isolink» (Швейцария). Элюат $^{99m}\text{TcO}_4^-$ (400–500 мкл, 4 ГБк) был добавлен в набор с последующей инкубацией при температуре 100 °С в течение 20 мин. В 40 мкл трикарбонила технеция было добавлено к 168 мкг DARPIn9_29 в 100 мкл PBS (натрий-фосфатный буфер) и инкубировано при температуре 40 °С в течение 60 мин. Радиохимические выход и чистота определялись с помощью тонкослойной радиохроматографии, очищение проводилось с использованием колонок NAP-5 (Швеция).

Клеточные линии и условия культивирования. Для изучения специфичности исследуемого радиофармацевтического соединения использовались клеточные линии с различным уровнем экспрессии Her2/neu: SKOV-3 > BT474 >> DU-145. Каждую клеточную линию высевали в 6 чашек Петри диаметром 3 см ($1,2 \times 10^6$ клеток на чашку) за 2 дня до исследования до образования монослоя. На первом этапе выполнялось блокирование рецептора Her2/neu путем добавления немеченого DARPIn9_29 (500 мкл, 1000 нмоль) в половину чашек Петри каждой клеточной линии с последующей инкубацией в течение 30 мин при температуре 37 °С. Затем в каждую чашку добавлялось меченое соединение (500 мкл, 20 нмоль) с последующей инкубацией в течение 30 мин при температуре 37 °С.

Исследование на животных. Для проведения *in vivo* исследования использовалась экспрессирующая Her2/neu клеточная линия SKOV-3, которая в количестве 5×10^7 клеток в 100 мкл среды подкожно вводилась в правую заднюю конечность самкам мышей BALB/c nu/nu. Исследования выполнялись через 2,5 недели после имплантации, средний вес животных составил 16 ± 1 г, средний вес опухоли – $0,26 \pm 0,16$ г.

Всем мышам проводилась инъекция препарата $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3\text{-DARPIn9}_29$ (4 мкг, 4,4 МБк), через 6 ч после внутривенного введения выполнялось исследование с использованием nanoScan ОФЭКТ/КТ (Mediso Medical Imaging System, Венгрия) после предварительной наркотизации, проводимой путем ингаляционного наркоза этиловым эфиром.

Результаты. При проведении мечения DARPIn9_29 трикарбонилем технеция радиохимический выход составил 72 ± 8 %, радиохимическая чистота после очищения – $98,7 \pm 1,0$ %. Показатели стабильности в растворе PBS через 1 ч составили $99,8 \pm 0,2$; через 3 ч – $98,2 \pm 0,1$. Данные *in vitro* исследований продемонстрировали, что накопление изучаемого соединения прямо пропорционально уровню экспрессии Her2/neu клеток, при этом при блокировании рецепторов избытком немеченого протеина отмечается значительное снижение связывания в

группе клеток. При анализе биораспределения радиофармпрепарата в организме животного BALB/c nu/nu через 6 ч после введения было отмечено быстрое его выведение из кровотока у всех исследуемых животных. Наряду с этим была выявлена высокая аккумуляция радиофармпрепарата в печени и почках. Результаты проведения ОФЭКТ/КТ для лабораторных животных подтвердили результаты биораспределения исследуемого соединения, при этом опухоль с гиперэкспрессией Her2/neu визуализировалась во всех случаях, также отмечалось отчетливое накопление $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3\text{-DARPin9_29}$ в печени, почках и мочевом пузыре.

Заключение. Проведенные исследования продемонстрировали высокие показатели радиохимического выхода и чистоты, а также стабильность изучаемого соединения. Результаты *in vitro* и *in vivo* анализа показали специфичность и аффинность радиофармпрепарата к рецептору Her2/neu.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ефимова Н.Ю., Чернов В.И., Ефимова И.Ю., Афанасьева Н.Л., Лишманов Ю.Б. Когнитивные дисфункции и состояние мозгового кровообращения у больных артериальной гипертонией: возможности медикаментозной коррекции. Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2008; 11(108): 10–15.
2. Карнов Р.С., Павлюкова Е.Н., Врублевский А.В., Чернов В.И., Усов В.Ю. Современные методы диагностики коронарного атеросклероза. Бюллетень Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. 2006; 2(26): 105–117.
3. Лишманов Ю.Б., Чернов В.И., Кривоногов Н.Г., Ефимова И.Ю., Веснина Ж.В., Завадовский К.В., Минин С.М., Сазонова С.И., Скуридин В.С., Панькова А.Н., Саушкин В.В., Ильюшенко Ю.Н., Ефимова Н.Ю. Радионуклидные методы исследования в диагностике сердечно-сосудистых заболеваний. Сибирский медицинский журнал. 2010; 4-1 (25): 8–13.
4. Чернов В.И., Гарганеева А.А., Веснина Ж.В., Лишманов Ю.Б. Перфузионная сцинтиграфия миокарда в оценке результатов курсового лечения триметагидинном больных ишемической болезнью сердца. Кардиология. 2001; 8(41): 14–16.
5. Чернов В.И., Медведева А.А., Синилкин И.Г., Зельчан Р.В., Брагина О.Д., Чойнзонов Е.Л. Ядерная медицина в диагностике и адресной терапии злокачественных новообразований. Бюллетень сибирской медицины. 2018; 1(17): 220–231.
6. De Vos J., Devoogdt N., Lahoutte T., Muyltermans S. Camelid single-domain antibody-fragment engineering for (pre)clinical *in vivo* molecular imaging applications: adjusting the bullet to its target. Expert Opin Biol Ther. 2013 Aug; 13(8): 1149–60. doi: 10.1517/14712598.2013.800478.
7. Miao Z., Levi J., Cheng Z. Protein scaffold-based molecular probes for cancer molecular imaging. Amino Acids. 2011 Nov; 41(5): 1037–47. doi: 10.1007/s00726-010-0503-9.
8. Чернов В.И., Брагина О.Д., Синилкин И.Г., Медведева А.А., Зельчан Р.В. Радионуклидная терапия в лечении злокачественных образований. Сибирский онкологический журнал. 2016; 2(15): 101–106.
9. Чернов В.И., Брагина О.Д., Зельчан Р.В., Медведева А.А., Синилкин И.Г., Ларькина М.С., Стасюк Е.С., Нестеров Е.А., Скуридин В.С. Меченные аналоги соматостатина в тераностике нейроэндокринных опухолей. Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2017; 3(62): 42–49.
10. Lindbo S., Garousi J., Mitran B., Altai M., Buijs J., Orlova A., Hober S., Tolmachev V. Radionuclide Tumor Targeting Using ADAPT Scaffold Proteins: Aspects of Label Positioning and Residualizing Properties of the Label. J. Nucl. Med. 2018; 1(59): 93–99.
11. Garousi J., Honarvar H., Andersson K.G., Mitran B., Orlova A., Buijs J., Löfblom J., Frejd F.Y., Tolmachev V. Comparative Evaluation of Affibody Molecules for Radionuclide Imaging of *in Vivo* Expression of Carbonic Anhydrase IX. Mol Pharm. 2016; 11(13): 3676–3687. doi: 10.1021/acs.molpharmaceut.6b00502.
12. Nicholes N., Date A., Beaujean P., Hauk P., Kanwar M., Ostermeier M. Modular protein switches derived from antibody mimetic proteins. Protein Eng Des Sel. 2016 Feb; 29(2): 77–85. doi: 10.1093/protein/gzv062.
13. Sorensen J., Sandberg D., Sandstrom M., Wennborg A., Feldwisch J., Tolmachev V., Åström G., Lubberink M., Garske-Román U., Carlsson J., Lindman H. First-in-human molecular imaging of HER2 expression in breast cancer metastases using the ^{111}In -ABY-025 affibody molecule. J Nucl Med. 2014 May; 55(5): 7305. doi: 10.2967/jnumed.113.131243.
14. Tamaskovic R., Simon M., Stefan N., Schwill M., Plückthun A. Designed ankyrin repeat proteins (DARPin) from research to therapy. Methods Enzymol. 2012; 503: 101–34. doi: 10.1016/B978-0-12-396962-0.00005-7.
15. Boersma Y.L., Plückthun A. DARPin and other repeat protein scaffolds: advances in engineering and applications. Curr Opin Biotechnol. 2011 Dec; 22(6): 849–57. doi: 10.1016/j.copbio.2011.06.004.
16. Goldstein R., Sosabowski J., Livanos M., Leyton J., Vigor K., Bhavsar G., Nagy-Davidescu G., Rashid M., Miranda E., Yeung J., Tolner B., Plückthun A., Mather S., Meyer T., Chester K. Development of the designed ankyrin repeat protein (DARPin) G3 for HER2 molecular imaging. Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2015 Feb; 42(2): 288–301. doi: 10.1007/s00259-014-2940-2.
17. Plückthun A. Designed ankyrin repeat proteins (DARPin): binding proteins for research, diagnostics, and therapy. Annu Rev Pharmacol Toxicol. 2015; 55: 489–511. doi: 10.1146/annurev-pharmtox-010611-134654.
18. Kramer L., Renko M., Završnik J., Turk D., Seeger M.A., Vasiljeva O., Grütter M.G., Turk V., Turk B. Non-invasive *in vivo* imaging of tumour-associated cathepsin B by a highly selective inhibitory DARPin. Theranostics. 2017 Jul 8; 7(11): 2806–2821. doi: 10.7150/thno.19081.
19. Vorobyeva A., Bragina O., Altai M., Mitran B., Orlova A., Shulga A., Proshkina G., Chernov V., Tolmachev V., Deyev S. Comparative Evaluation of Radioiodine and Technetium-Labeled DARPin 9_29 for Radionuclide Molecular Imaging of HER2 Expression in Malignant Tumors. Contrast Media Mol Imaging. 2018 Jun 6; 2018: 6930425. doi: 10.1155/2018/6930425.
20. Zavyalova M., Vtorushin S., Krakhmal N., Savelieva O., Tashireva L., Kaigorodova E., Perelmuter V., Telegina N., Denisov E., Bragina O., Slonimskaya E., Choyznov E. Clinicopathological features of nonspecific invasive breast cancer according to its molecular subtype. Experimental Oncology. 2016; 2(38): 122–127.

СОСТАВ ОПУХОЛЕВОЙ НИШИ, СПОСОБСТВУЮЩЕЙ ГЕМАТОГЕННУМУ МЕТАСТАЗИРОВАНИЮ ИНВАЗИВНОЙ КАРЦИНОМЫ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОГО ТИПА

А.В. Бузенкова, Л.А. Таширева, О.Е. Савельева, М.В. Завьялова

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

Аннотация

Гематогенное метастазирование является одной из наиболее распространённых причин летальных исходов при раке молочной железы. Согласно современным представлениям метастазирование возможно при выполнении двух условий: появлении опухолевых клеток – «семян» и наличия благоприятного микроокружения в месте будущего метастаза – «почвы». Полагают, что в основе возникновения условий для развития гематогенных метастазов во вторичном очаге лежит формирование «преметастатической ниши», важным компонентом которой являются костномозговые клетки-предшественники. На сегодняшний день прямая идентификация преметастатических ниш не доступна для исследователя. Поскольку преметастатические ниши формируются параллельно с опухолевыми нишами в первичной опухоли, изучение их клеточного состава и функционирования является особенно актуальным. В исследование было включено 14 больных инвазивной карциномой неспецифического типа молочной железы. В образцах свежемороженой опухолевой ткани с помощью панели специфических антител были идентифицированы мезенхимальные стволовые клетки (MSC), клетки-предшественники макрофагов (MFP), а также эндотелиальные (EPC) и гемопоэтические (HPC) клетки-предшественники. Было установлено, что высокий риск развития гематогенного метастазирования ассоциирован с количеством EPC и HPC в ткани опухоли.

Ключевые слова: рак молочной железы, костномозговые клетки-предшественники, опухолевая ниша, преметастатическая ниша, гематогенное метастазирование.

THE CELLULAR COMPOSITION OF THE TUMOR NICHE ASSOCIATED WITH HEMATOGENIC METASTASIS IN PATIENTS WITH INVASIVE CARCINOMA OF NO SPECIAL TYPE

A.V. Buzenkova, L.A. Tashireva, O.E. Savelyeva, M.V. Zavyalova

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

Abstract

Metastasis is one of the most common death causes in breast cancer. According to modern outlooks, metastasis is associated with seed (tumor cells) and soil (favorable microenvironment in the place of the future metastasis) availability. It is believed that the formation of a "premetastatic niche" (bone marrow progenitor cells are an important component of premetastatic niche) is the basis for the development of hematogenous metastases in the tumor nidus. To date, direct identification of premetastatic niches is not available to the researcher. The study of the tumor niche cellular composition and functioning is particularly true inasmuch as the premetastatic niches are a physiological prototype of the tumor niches. Our study included 14 patients with invasive breast carcinoma of non-specific type. Endothelial progenitor cells (EPC), mesenchymal stem cells (MSC), macrophage precursors (MFP) and hematopoietic progenitor cells (HPC) were detected using a specific antibodies panel in the cell-rich fluid from frozen tumor. It was found that the high risk of hematogenic metastasis in patients was associated with number of EPC and HPC in the tumor tissue.

Key words: breast cancer, bone marrow-derived cells, tumor niche, premetastatic niche, hematogenic metastasis.

Актуальность. Онкологические заболевания занимают второе место в общей структуре смертности после сердечнососудистых заболеваний. Самой распространенной формой он-

кологических заболеваний у женщин является рак молочной железы (РМЖ) [1], при этом преобладающая причина смертности при РМЖ – отдаленное метастазирование. Согласно гипотезе Стивена Педжета, метастазирование возможно при выполнении двух условий: наличия циркулирующих опухолевых клеток – «семян» и благоприятного микроокружения в месте будущего метастаза – «почвы» [2].

Позднее, ключевые параметры «почвы» были охарактеризованы Д. Лайденом в концепции премеастанатических ниш [3]. Премеастанатическая ниша является сложной системой: совокупностью различных клеточных элементов (костномозговых клеток-предшественников, рекрутируемых под влиянием синтезируемых опухолевыми клетками хемокинов; фибробластов, эндотелиальных клеток, клеток иммунной системы), а также компонентов внеклеточного матрикса и сосудистой сети [4]. Условия, создаваемые в премеастанатической нише, способствуют хомингу циркулирующих опухолевых клеток, поддержанию их пролиферативной активности, а также запускают процессы неангиогенеза во вторичном опухолевом очаге [5]. Гемопозитические клетки-предшественники (НРС) создают благоприятную среду для адгезии и инвазии опухолевых клеток, пришедших из первичного очага с током крови. Во вторичном очаге НРС взаимодействуют с другими клетками премеастанатической ниши: фибробластами и их предшественниками – MSC (на сегодняшний день известно, что MSC являются предшественниками фибробластов, формирующих строму опухоли [6]); с предшественниками эндотелия сосудов (ЕРС), клетками иммунной системы, в том числе и с предшественниками макрофагов (МФР) [4]. Стоит отметить, что место формирования премеастанатических ниш может определяться наличием так называемой «прениши» в органах, эндотелий сосудов которых имеет врожденную способность к интенсивному рекрутированию миелоидных клеток-предшественников макрофагов, особенно в условиях хронического воспаления, то есть в органах, богатых органоспецифическими макрофагами (лёгкие, печень, головной мозг) [7].

В связи с тем, что на сегодняшний день не существует методики, позволяющей осуществлять прямую идентификацию премеастанатических ниш, а описанные выше события аналогичны тем, что происходят в нише первичной опухоли, изучение клеточного состава опухолевой ниши и связи с развитием гематогенных метастазов может являться отражением событий, происходящих во вторичных органах и является особенно актуальным.

Цель исследования – изучение состава опухолевой ниши и его связи с развитием гематогенных метастазов у больных инвазивной карциномой неспецифического типа молочной железы.

Материал и методы. В исследование было включено 14 больных инвазивной карциномой неспецифического типа молочной железы в возрасте от 35 до 65 лет. Стадия и распространенность опухолевого процесса – IA – IIIB T1-3N0-3M0, все молекулярно-генетические подтипы. У 3 пациентов были обнаружены гематогенные метастазы, у 11 пациентов отсутствовали. Для определения субпопуляционного клеточного состава опухоли использовался свежемороженый опухолевый материал, из которого методом дезагрегации были изготовлены клеточные суспензии концентрацией 10^6 клеток/мл (с помощью BD Medimachine System (BD, США)). Общая клеточность полученных суспензий определялась счётчиком LUNAII (Logos Biosystems Inc., Корея).

В полученных суспензиях при помощи панели маркеров (антител против CD34, CD133, CD90, VEGFR1, CD11b, CD45, CD202) выявляли: ЕРС (эндотелиальные клетки-предшественники), НРС (гемопозитические клетки-предшественники), MSC (мезенхимальные стволовые клетки) и МФР (клетки-предшественники макрофагов). Опухолевые клетки окрашивали антителами Anti-CD34-PerCP/Cy5.5, Anti-CD133-APC, Anti-CD90-FITC, Anti-CD11b-PE, Anti-CD202-FITC, Anti-VEGFR1-PE, Anti-CD45-PE-Cy7 («Abcam», США) в течение 15 мин, согласно инструкции фирмы-производителя. Далее клетки однократно отмывали раствором BD CellWASH (10 мин при 3000 об/мин), удаляли надосадок, добавляли 1 мл раствора BD FACFlow и анализировали на цитометре BD FACS Canto II.

Статистическая обработка количественных данных проводилась с помощью пакета программ IBM SPSS Statistics 22. Все исследуемые параметры были проверены на соответствие нормальному закону распределения с помощью критерия Шапиро-Уилка. Параметры, не подчиняющиеся нормальному закону распределения, описывали с помощью медианы (Me) и интерквартильного интервала (Q1–Q3). Для оценки различий параметров применяли критерии Манна-Уитни и Фридмана, для предсказания риска развития гематогенного метастазирования применяли метод логистической регрессии. Различия считались достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты. На первом этапе исследования мы оценили количество различных клеток-предшественников у больных инвазивной карциномой молочной железы не специфического типа (ИКНТ). Поскольку опухолевая ниша – это не отдельные клеточные популяции, а функциональная совокупность клеток, находящаяся во взаимосвязи с опухолевыми клетками, нами была проведена стандартизация количества клеток-предшественников на 100 опухолевых клеток (табл. 1).

Таблица 1

Количество клеток-предшественников в ткани ИКНТ, рассчитанное на 100 опухолевых клеток

Клетки-предшественники / 100 опухолевых клеток	Количество клеток, Me (Q ₁ -Q ₃)
MSC	9,36 (4,1518,88)
НРС	6,48 (3,213,24) p ₁ =0,64
ЕРС	5,48 (2,797,61) p ₁ =0,062 p ₂ =0,42
МФР	3,67 (2,475,01) p ₁ =0,059 p ₂ =0,007 p ₃ =0,12 P _(Friedman) = 0,036

Примечание: p₁ – достоверность различий по сравнению с количеством MSC, p₂ – достоверность различий по сравнению с количеством НРС, p₃ – достоверность различий по сравнению с количеством ЕРС

Было показано, что количество клеток-предшественников в опухолевой нише различается (p=0,036), при этом количество НРС достоверно больше по сравнению с МФР (p=0,007).

На следующем этапе исследования мы оценивали связь количества костномозговых клеток-предшественников в опухоли со статусом гематогенного метастазирования больных ИКНТ (табл. 2).

Таблица 2

Количество костномозговых клеток-предшественников в ткани ИКНТ в зависимости от наличия или отсутствия гематогенных метастазов

Тип клеток	Количество клеток, Me (Q ₁ -Q ₃)	
	Гематогенные метастазы отсутствуют	Гематогенные метастазы присутствуют
MSC	8,41 (1,7113,31)	26,34 (9,2443,43) p=0,36
НРС	5,17 (1,8313,24)	9,78 (4,7615,22) p=0,57
ЕРС	4,83 (1,456,39)	11,34 (6,6127,44) p=0,0028
МФР	3,27 (1,785,01)	3,67 (3,195,26) p=0,69

Примечание: p – достоверность различий по сравнению с пациентами, у которых отсутствуют гематогенные метастазы

Оказалось, что количество ЕРС в группе больных с наличием гематогенных метастазов достоверно выше по сравнению с больными, у которых гематогенные метастазы отсутствуют (p=0,0028). Однако достоверных различий количества других клеточных популяций, локализованных в опухоли в группах пациентов с наличием и отсутствием гематогенных метастазов, не было обнаружено (p>0,05).

Используя регрессионный анализ, была построена математическая модель, характеризующая состав опухолевой ниши, ассоциированной с гематогенным метастазированием у пациенток с инвазивной карциномой неспецифического типа молочной железы. Было показано, что риск развития гематогенных метастазов у больных ИКНТ связан с количеством в опухоли эндотелиальных и гемопоэтических клеток-предшественников ($\chi^2 = 7,507225$, p = 0,023).

Выводы. В ткани инвазивной карциномы неспецифического типа молочной железы встречаются все четыре типа изучаемых костномозговых клеток-предшественников. Было показано, что в состав опухолевой ниши, ассоциированной с гематогенным метастазированием инвазивной карциномы молочной железы не специфического типа, входят эндотелиальные и гемопоэтические клетки-предшественники.

ЛИТЕРАТУРА

1. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Состояние онкологической помощи населению России в 2017 году. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России. 2018. 236.
2. Paget S. The distribution of secondary growths in cancer of the breast. *Cancer Metastasis Rev.* 1989; 133(3421): 571573.
3. Psaila B., Lyden D. The metastatic niche: adapting the foreign soil. *Nat Rev Cancer.* 2009 Apr; 9(4): 28593. doi: 10.1038/nrc2621.
4. Barcellos-Hoff M., Lyden D., Wang T. The evolution of the cancer niche during multistage carcinogenesis. *Nat Rev Cancer.* 2013 Jul; 13(7): 5118. doi: 10.1038/nrc3536.
5. Plaks V., Kong N., Werb Z. The Cancer Stem Cell Niche: How Essential is the Niche in Regulating Stemness of Tumor Cells. *Cell Stem Cell.* 2015 Mar 5; 16(3): 22538. doi: 10.1016/j.stem.2015.02.015.
6. Augsten M. Cancer-Associated Fibroblasts as Another Polarized Cell Type of the Tumor Microenvironment. *Front Oncol.* 2014 Mar 27; 4: 62. doi: 10.3389/fonc.2014.00062.
7. Perelmuter V.M., Manskikh V.N. Pre-niche as the link of metastatic niche concept explaining organ – preferential metastases formation and the type of metastatic disease. *Biochemistry (Mosc).* 2012 Jan; 77(1): 1118. doi: 10.1134/S0006297912010142.

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДИКИ БИОПСИИ СИГНАЛЬНЫХ ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛОВ ПРИ РАННЕМ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ. СОБСТВЕННЫЙ ОПЫТ ГБУЗ ЧОКЦОИЯМ

И.И. Важенина, О.С. Терешин, Н.Г. Афанасьева, Д.Н. Булынский, Н.В. Мигранова, И.В. Удовиченко, В.В. Самылов

ГБУЗ Челябинский областной клинический центр онкологии и ядерной медицины, г. Челябинск, Россия

Аннотация

Включены сведения о 47 пациентках с раком молочной железы cTis-2cN0M0 стадии, хирургическое лечение которых было проведено с биопсией сигнальных лимфоузлов. Всем пациенткам предоперационно выполнялось УЗИ регионарных лимфоузлов с последующим введением радиофармпрепарата (РФП) и лимфосцинтиграфией регионарных зон лимфооттока. Произведена ретроспективная оценка результатов визуализации сигнальных лимфоузлов по данным использованных клинических (УЗИ, лимфосцинтиграфии) и интраоперационного (GammaFinder) методов диагностики. Точность ультразвукового метода исследования составила 76,5 %, радионуклидного – 87,2 %. Частота ложноотрицательных результатов срочного гистологического заключения не превысила 3 %. Процент нахождения сигнального лимфоузла интраоперационно составил 70,2 %. При введении РФП накануне операции и при активности РФП от 180МБк вероятность интраоперационного выявления сигнального лимфоузла выше. У 51 % пациенток отмечено прекращение лимфорреи на 57 сутки после операции.

Ключевые слова: рак молочной железы, сигнальные лимфатические узлы, УЗИ, сцинтиграфия.

APPLICATION OF SENTINEL LYMPH NODE BIOPSY TECHNIQUES FOR EARLY BREAST CANCER. OWN EXPERIENCE

I.I. Vazhenina, O.S. Tereshin, N.G. Afanasyeva, D.N. Bulynsky, N.V. Migranova, I.V. Udovichenko, V.V. Samylov

Chelyabinsk regional clinical center of Oncology and nuclear medicine, Chelyabinsk, Russia

Abstract

The study included 47 patients with breast cancer (cTis-2cN0M0). The patients underwent surgery with biopsy of sentinel lymph nodes. Preoperative ultrasound examination of regional lymph nodes was followed by the injection of a radiopharmaceutical and lymphoscintigraphy for detection of regional lymph node involvement. A

retrospective assessment of the results of sentinel lymph node visualization was carried out using the data of clinical (ultrasound, lymphoscintigraphy) and intraoperative (GammaFinder) diagnostic methods. The accuracy of the ultrasound method was 76.5 %, radionuclide – 87.2 %. The frequency of false-negative results of urgent histological examination did not exceed 3 %. Sentinel lymph nodes were intraoperatively detected in 70.2 % of patients. The detection rate of sentinel lymph nodes was higher after injection of radiopharmaceuticals in a dose of 180MBq before surgery. Lymphorrhoea was eliminated on 57 days after surgery in 51 % of patients.

Key words: breast cancer, sentinel lymph nodes, ultrasound, scintigraphy.

Актуальность. Биопсия сигнальных лимфоузлов (БСЛУ) является стандартом диагностики и лечения раннего рака молочной железы (РМЖ) в западных странах уже около 20 лет. Впервые техника выполнения данной методики была описана в 1994 году [1]. В Российской Федерации (РФ) первое упоминание о целесообразности выполнения биопсии было опубликовано в 2010 году [2]. В настоящее время в РФ методика БСЛУ относится к числу базовых методов диагностики поражения регионарных лимфатических узлов при РМЖ и рекомендуется экспертами международного противоракового союза в качестве стандартного метода [3]. До сих пор актуальным остается вопрос об отсутствии четких рекомендаций по оптимальному размеру радиоколлоидов, применяемых для определения сигнальных лимфатических узлов, что может играть определенную роль в постановке самой методики [4]. На сегодняшний день, наиболее популярными для проведения БСЛУ считаются коллоидные радиофармпрепараты (РФП), меченые Технеций-99m [5].

Цель исследования – представить собственные результаты начала применения методики БСЛУ при раке молочной железы.

Материал и методы. За период с 1 августа 2017 года по 31 декабря 2018 года в онкологическом отделении опухолей молочной железы ГБУЗ ЧОКЦОиЯМ биопсия сигнальных лимфоузлов была выполнена 47 пациенткам с первичным раком молочной железы cTis-2cN0M0 (0–IIa стадии). Всем пациенткам предоперационно выполнялось УЗИ регионарных лимфоузлов, затем происходило введение коллоидного радиофармпрепарата Технефит-99 перитуморально или праареолярно (при непальпируемых опухолях) с последующей лимфосцинтиграфией регионарных зон лимфооттока. Введенная активность РФП составляла от 105МБк до 220МБк, исследование выполнялось на аппарате E.SAM Siemens. Во время операции поиск лимфоузлов был проведен аппаратом GammaFinder. Идентифицированные сигнальные лимфатические узлы были направлены на срочное гистологическое исследование. При наличии метастазов в них была выполнена полноценная лимфаденэктомия (ЛАЭ), при отсутствии метастазов объём лимфаденэктомии был ограничен, при ненахождении сигнального лимфоузла интраоперационно также выполнялась полноценная лимфаденэктомия.

Результаты. Средний возраст пациенток составил 55 лет. Распределение по стадиям заболевания до оперативного лечения было следующим: у 37 пациенток была установлена I стадия заболевания, II стадия у 8, у 2 пациенток 0 стадия (Tis) с подозрением на инвазию (по данным трепан-биопсии). После оперативного лечения повышение стадии заболевания произошло в 15 случаях: у 10 пациенток за счёт поражения лимфоузлов, в 1 случае был выявлен инвазивный компонент опухоли, в 3 случаях за счёт увеличения размера первичной опухоли по данным гистологического исследования, у 1 пациентки повышение стадии заболевания произошло и за счёт метастатического поражения лимфоузлов, и за счёт большего размера опухоли по данным гистологического заключения. Понижение стадии заболевания со II на I произошло у 4 пациенток, за счёт меньшего размера опухоли, выявленного гистологически. Таким образом, у 36 пациенток из 47 после оперативного лечения были подтверждены клинически интактные лимфоузлы (N0). Введение РФП и последующая лимфосцинтиграфия в 29 случаях были проведены за сутки до оперативного вмешательства, в 18 случаях непосредственно в день операции. При введении РФП в день операции интраоперационное выявление СЛУ – 66,6 % (сигнальный лимфоузел идентифицирован у 12 из 18). При введении РФП за сутки до операции интраоперационное выявление – 72,4 % (у 21 из 29 удалось картировать сигнальный лимфоузел). По данным лимфосцинтиграфии сторожевые лимфоузлы были выявлены в 37 случаях из 47. Интраоперационно при помощи гамма-зонда сигнальные лимфоузлы были найдены у 33 пациенток, что в 32 случаях соответствовало данным лимфосцинтиграфии. В 14 случаях, накапливающие РФП лимфатические узлы во время операции не были найдены, что соответствовало данным лимфосцинтиграфии в 9 случаях. При введенной активности РФП от 180МБк и выше в 8 случаях из 34 сигнальный лимфоузел не был найден интраоперационно, что составило 23,5 %. При активности РФП от 170МБк и ниже частота случаев невыявленных лимфоузлов составила 46,1 % (6 случаев

из 13). Расхождение интраоперационных данных и лимфосцинтиграфии произошло в 6 случаях (12,7%). Таким образом, в 29,7% случаев (14 пациентов) была выполнена стандартная лимфаденэктомия с учётом невыявленного сигнального лимфоузла во время операции. У 9 пациентов (19,1%) при срочном гистологическом исследовании были выявлены метастазы в сигнальных лимфоузлах, которые были подтверждены после плановой проводки, данной категории пациентов также была выполнена полноценная ЛАЭ. Прецизионное удаление только сторожевых лимфоузлов (при отсутствии метастатического поражения в них по данным срочного гистологического исследования) было выполнено в 15 случаях, что составило 31,9%. В 9 (19,1%) случаях при отсутствии поражения в сигнальных лимфоузлах по данным срочного гистологического заключения было удалено дополнительно от 5 до 7 лимфоузлов, которые макроскопически казались изменёнными по размеру и/или плотности. У данной группы пациентов был выполнен больший объём ЛАЭ, чем того требует методика БСЛУ, что мы считаем оправданным на этапе освоения методики. В 1 случае метастатическое поражение 2 лимфоузлов было выявлено только при плановом гистологическом исследовании, у данной пациентки во время операции было удалено 9 лимфатических узлов, таким образом, объём операции сочтён радикальным, реоперация не проводилась. Частота ложноотрицательных результатов срочного гистологического заключения составила 2,4%. В послеоперационном периоде у 24 пациенток (с ограниченным объёмом ЛАЭ) отмечено прекращение лимфорреи на 5–7-е сут после оперативного лечения. Послеоперационных осложнений при выполнении биопсии сигнальных лимфоузлов не отмечено.

Выводы. Биопсия сигнального лимфоузла является надёжным методом диагностики поражения региональных лимфоузлов при раннем раке молочной железы, который обладает рядом преимуществ перед стандартной лимфаденэктомией I–III уровней. Точность ультразвукового метода исследования составила – 76,5%, радионуклидного – 87,2%. Частота ложноотрицательных результатов срочного гистологического заключения не превысила 3%. Интраоперационная выявляемость сигнального лимфоузла оставила 70,2%. Процент нахождения сигнального лимфоузла интраоперационно выше при введении РФП накануне операции и при активности РФП от 180 МБк. У 51% пациенток отмечено прекращение лимфорреи на 5–7-е сут после операции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Giuliano A.E., Kirgan D.M., Guenther J.M., Morton D.L. Lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy for breast cancer. *Ann Surg.* 1994 Sep; 220(3): 391–8; discussion 398–401.
2. Семиглазов В.Ф., Семиглазов В.В., Дашян Г.А. Проблемы хирургического лечения рака молочной железы (Целесообразность биопсии сигнальных лимфатических узлов. Местное хирургическое лечение при определяемых отдаленных метастазах). *Практическая онкология.* 2010; 11(4): 217–220.
3. Криворотько П.В., Дашян Г.А., Шинкарев С.А., Новиков С.Н., Зернов К.Ю., Петровский С.Г., Манихас А.Г. Рекомендации РООМ по биопсии сигнальных лимфоузлов. Рекомендации Российского общества онкоммаммологов. РООМ. 2016; 1–8.
4. Криворотько П.В., Канаев С.В., Семиглазов В.Ф., Новиков С.Н., Крживицкий П.И., Семенов И.И., Пискунов Е.А. Методологические проблемы биопсии сигнальных лимфатических узлов у больных раком молочной железы. *Вопросы онкологии: научно-практический журнал.* 2015; 3: 418–423.
5. Криворотько П.В., Дашян Г.А., Палтубев Р.М., Зернов К.Ю., Бессонов А.А., Табагуа Т.Т., Труфанова Е.С. Биопсия сигнальных лимфатических узлов при раке молочной железы. *Злокачественные опухоли.* 2016; 4(спецвыпуск 1): 4–8.

СЦИНТИМММОГРАФИЯ В ТОМОГРАФИЧЕСКОМ РЕЖИМЕ С ^{99m}Tc-МИБИ

Р.Ю. Вернадский

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

Аннотация

В представленной работе выполнена ретроспективная оценка эффективности скинтиграфического исследования в томографическом режиме с радиофармпрепаратом ^{99m}TcМИБИ в диагностике рака молочной железы. Исследование продемонстрировало высокие показатели информативности скинтимаммографии в диагностике первичных опухолей молочной железы и регионального распространения процесса.

Ключевые слова: рак молочной железы, диагностика, ОФЭКТ, ^{99m}Tc-МИБИ.

SPECT SCINTIMAMMOGRAPHY WITH ^{99m}Tc-SESTAMIBI

R.Yu. Vernadsky

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Science, Tomsk, Russia

Abstract

Our goal was to determine the effectiveness of a single-photon-emission computed tomography with ^{99m}Tc-sestamibi in the diagnosis of breast cancer. The study demonstrated high rates of diagnostic accuracy of scintimammography in the detection of primary breast tumors and regional lymph node involvement.

Key words: breast cancer, diagnostics, SPECT, ^{99m}Tc-sestamibi.

Актуальность. Методы радионуклидной визуализации нашли широкое применение в диагностике онкологических заболеваний [1–4]. Все более актуальными при первичной диагностике рака молочной железы и оценке распространенности заболевания становятся различные методы радиоизотопной визуализации, такие как маммосцинтиграфия и позитронно-эмиссионная томография, позволяющие выполнять оценку особенностей перфузии и метаболические изменения опухолевой ткани [5–9]. Наиболее часто используемым радиофармпрепаратом для визуализации опухолей молочной железы является ^{99m}Tc-метоксиизобутилизонитрил [10, 11].

Цель исследования – ретроспективный анализ информативности ОФЭКТ маммосцинтиграфии с радиофармпрепаратом ^{99m}Tc-МИБИ в диагностике рака молочной железы.

Материал и методы. В исследование включено 50 пациенток с диагнозом инвазивный рак молочной железы T1–4N1–2M0. По категориям TNM пациентки распределились следующим образом: T1–4 (8 %), T2 – 39 пациенток (78 %), T3 – 3 (6 %), T4 – 4 (8 %). В 22 (44 %) случаях было выявлено метастатическое поражение региональных лимфатических узлов – N1–2, тогда как 28 (56 %) пациенток относились к категории N0. Пациентки с наличием отдаленных метастазов не были включены в исследование. Стандартное обследование для определения локорегионарной распространенности заболевания включало в себя проведение маммографии, ультразвукового исследования, core-биопсии опухоли и тонкоигольной пункции лимфатических узлов. Всем пациенткам выполнялась маммосцинтиграфия с ^{99m}TcМИБИ. Комбинированное лечение предполагало выполнение хирургического вмешательства в объеме радикальной мастэктомии или органосохраняющих методик с аксиллярной лимфодиссекцией и последующим морфологическим исследованием операционного материала. Маммосцинтиграфия проводилась на гамма-камере “Siemens” E.CAM Fixed 180 в режиме однофотонной эмиссионной компьютерной томографии (ОФЭКТ) грудной клетки. Радиофармпрепарат вводился в вену стопы или локтевую вену руки, противоположной стороне заболевания, в дозе 740 МБк.

При проведении исследования пациентки находились в положении «лежа на спине». В поле детектора входила грудная клетка, включая молочные железы, зоны регионарного лимфооттока и миокард. Проводилась запись 32 проекций с использованием матрицы 64×64 пиксела. Данные обрабатывались специализированной компьютерной системой E.Soft фирмы “Siemens” с получением поперечных, сагиттальных и коронарных срезов, а также трехмерного изображения грудной клетки. Оценка томографических изображений выполнялась визуально. Оценивалось накопление радиофармпрепарата в области молочных желез, а также в аксиллярных и парастеральных, надключичных и подключичных зонах.

Результаты. Узловое образование в проекции молочной железы было выявлено у 47 из 50 (94 %) пациенток. При размерах образования менее 1 см (n=3) патологическое накопление радиофармпрепарата в молочной железе было выявлено в двух случаях. Минимальный размер визуализированного очага составил 7 мм. У трех пациенток по данным ОФЭКТ не было выявлено патологического накопления радиофармпрепарата в молочных железах, что, по-видимому, связано с относительно малым размером и локализацией образования в зоне физиологического накопления – сосковоареолярного комплекса. Образования размером более 1 см и периферически расположенные опухоли визуализировались во всех случаях. Таким образом, основное ограничение в детекции первичной опухоли связано не только с разрешающей способностью метода, но и локализацией первичного очага. Чувствительность ОФЭКТ с ^{99m}Tc-МИБИ в выявлении первичной опухоли составила 94 %.

Также в большинстве случаев удалось визуализировать измененные аксиллярные лимфоузлы – у 20 из 22 (90,9 %) пациенток с доказанными метастазами определялось патологическое накопление радиофармпрепарата в зонах регионарного лимфооттока. В частности, были выявлены патологические изменения в проекции лимфатических узлов различных групп – пекторальной, подключичной и подлопаточной. В двух наблюдениях не было выявлено накопления радиофармпрепарата в подмышечной области, что, вероятнее всего, связано с размерами метастазов (4 и 6 мм). Таким образом, чувствительность метода в выявлении метастатического поражения лимфатических узлов составила 90,9 %.

Заключение. Результаты проведенного исследования свидетельствуют о высокой диагностической эффективности ОФЭКТ маммосцинтиграфии с использованием ^{99m}Tc-МИБИ в обнаружении первичной опухоли молочной железы и метастатического поражения зон регионарного лимфооттока. Основные ограничения в детекции связаны с небольшими размерами и особенностями локализации патологических образований.

ЛИТЕРАТУРА

1. Чернов В.И., Медведева А.А., Синилкин И.Г., Зельчан Р.В., Брагина О.Д., Чойнзонов Е.Л. Ядерная медицина в диагностике и адресной терапии злокачественных новообразований. Бюллетень сибирской медицины. 2018; 1(17): 220–231.
2. Вернадский Р.Ю., Медведева А.А., Гарбуков Е.Ю., Чернов В.И., Слонимская Е.М. Радиконуклидные методы исследования на этапах диагностики и лечения рака молочной железы. Сибирский медицинский журнал. 2018; 33(4): 44–53. doi: 10.29001/2073-8552-2018-33-4-44-53.
3. Titskaya A., Chernov V., Slonimskaya E., Sinilkin I., Zelchan R. Scintigraphy with ¹⁹⁹Tl in Diagnosis of Breast Cancer. Advanced Materials Research. 2015; 1084: 361–364.
4. Titskaya A., Chernov V., Slonimskaya E., Sinilkin I., Zelchan R. Radionuclide Diagnosis of Breast Cancers. Advanced Materials Research. 2015; 1084: 460–463.
5. Jafari S.H., Saadatpour Z., Salmaninejad A., Momeni F., Mokhtari M., Nahand J.S., Rahmati M., Mirzaei H., Kianmehr M. Breast cancer diagnosis: Imaging techniques and biochemical markers. J. Cell Physiol. 2018 Jul; 233(7): 5200–5213. doi: 10.1002/jcp.26379.
6. Grueneisen J., Nagarajah J., Buchbender C., Hoffmann O., Schaarschmidt B.M., Poeppel T., Forsting M., Quick H.H., Umuthu L., Kinner S. Positron Emission Tomography/Magnetic Resonance Imaging for Local Tumor Staging in Patients With Primary Breast Cancer: A Comparison With Positron Emission Tomography/Computed Tomography and Magnetic. Invest Radiol. 2015 Aug; 50(8): 505–513. doi: 10.1097/RLI.0000000000000197.
7. Giżewska A., Witkowska-Patena E., Osiecki S., Mazurek A., Stembrowicz-Nowakowska Z., Dziuk M. Utility of single-photon emission tomography/computed tomography for sentinel lymph node localization in breast cancer patients. Nucl Med Commun. 2017 Jun; 38(6):493–499. doi: 10.1097/MNM.0000000000000676.
8. Narayanan D., Berg W.A. Use of Breast-Specific PET Scanners and Comparison with MR Imaging. Magn Reson Imaging Clin N Am. 2018 May; 26(2): 265–272. doi: 10.1016/j.mric.2017.12.006.
9. Collarino A., de Koster E.J., Valdés Olmos R.A., de Geus-Oei L.F., Pereira Arias-Bouda L.M. Is Technetium-99m Sestamibi Imaging Able to Predict Pathologic Nonresponse to Neoadjuvant Chemotherapy in Breast Cancer? A Meta-analysis Evaluating Current Use and Shortcomings. Clin Breast Cancer. 2018 Feb; 18(1):9–18. doi: 10.1016/j.clbc.2017.06.008.
10. Goldsmith S. J., Parsons W., Guiberteau M.J., Stern L.H., Lankowsky L., Weigert J., Heston T.F., Jones E., Buscombe J., Stabin M. G.; Society of Nuclear Medicine. SNM practice guideline for breast scintigraphy with breast-specific gamma-cameras 1.0. J. Nucl. Med. Technol. 2010 Dec; 38(4): 219–224. doi: 10.2967/jnmt.110.082271.
11. Simanek M., Koranda P. SPECT/CT imaging in breast cancer - current status and challenges. Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub. 2016 Dec; 160(4): 474–483. doi:10.5507/bp.2016.036.

ТРЕХМЕРНАЯ ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ТЕХНИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ VMAT ПЛАНОВ НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ ГИПОФРАКЦИОНИРОВАННОЙ СТЕРЕОТАКСИЧЕСКОЙ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ РАКА ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

А.В. Вертинский^{1,2}, Е.С. Сухих^{1,2}, Л.Г. Сухих²

Томский областной онкологический диспансер, радиотерапевтическое отделение, г. Томск, Россия¹
 Национальный исследовательский Томский политехнический университет, г. Томск, Россия²

Аннотация

В работе представлены результаты исследования влияния технических параметров объемно модулированных планов лучевой терапии (VMAT) предстательной железы на эффективность лучевой терапии с использованием трехмерной оценки при помощи дозиметра ArcCHECK и ПО 3DVH (SunNuclearcorp). Дозиметрические планы облучения были выполнены в системе планирования Monaco версии 5.10.2 (ElektaAB) в режиме гипофракционирования (5 фракций по 7,25 Гр) [1–3]. Оценка планов проводилась по нескольким критериям трехмерного гамма-индекса.

Ключевые слова: трехмерная верификация дозиметрического плана, стереотаксическое облучение тела, объемная модуляция интенсивности ионизирующего излучения.

THREE-DIMENSIONAL ASSESSMENT OF THE IMPACT OF TECHNICAL PARAMETERS OF VMAT PLANS ON THE EFFECTIVENESS OF HYPOFRACTIONATED STEREOTACTIC RADIATION THERAPY FOR PROSTATE CANCER

A.V. Vertinsky^{1,2}, E.S. Sukhikh^{1,2}, L.G. Sukhikh¹

Tomsk Regional Oncology Center, Radiotherapy department, Tomsk, Russia¹
National Research Tomsk Polytechnic University, Tomsk, Russia²

Abstract

This paper presents the results of a research of volumetric modulated radiation therapy plans (VMAT) technical parameters influence on the effectiveness of prostate gland radiation therapy using a three-dimensional evaluation using the ArcCHECK dosimeter and 3DVH software (Sun Nuclear corp. both). Dosimetric irradiation plans were carried out in the planning system Monaco version 5.10.2 (Elekta AB) in hypofractionation mode (5 fractions of 7.25 Gy each). Evaluation of the plans was carried out according to several criteria of the three-dimensional gamma index.

Key words: three-dimensional verification of the treatment plan, Stereotactic body radiotherapy (SBRT), volumetric modulated arc therapy (VMAT).

Актуальность. Трёхмерная оценка планов лучевой терапии является более совершенным методом верификации, по сравнению с традиционным двумерным анализом, поскольку предоставляет информацию о количественном распределении дозовой нагрузки в пределах контуров пациента [4–7]. Наличие нескольких VMAT планов с различными техническими параметрами позволяет оценить влияние утечек между лепестками коллиматора на общее распределение дозы, что позволяет выбрать наиболее оптимальный план лечения [8].

Целью работы являлось исследование влияния технических характеристик VMAT планов лечения предстательной железы на результаты трёхмерной оценки дозового покрытия по различным критериям гамма-индекса в пределах общего контура пациента.

Материал и методы. Для исследования были взяты 12 случаев рака предстательной железы по методике VMAT, выполненные в станции планирования MONACO v5.10.02(ElektaAB). Облучение происходило на линейном ускорителе электронов ElektaSynergyPlatform(ElektaAB). На каждый случай были созданы две версии плана, которые включали в себя две взаимобратные арки с углами ротации 250 градусов гантри фотонами с энергией 10 МэВ. Различия в технических характеристиках заключались в общем угле разведения коллиматора между арками плана (40° и 90°) и ширине сегмента (1 см и 2 см). На каждый вариант плана лечения создавался QA план при помощи ArcCHECK(SunNuclearcorp.). Вычисление значения гамма-индекса по восьми комбинациям критериев \square (23 %, 2–3 мм, local-global) осуществлялось с помощью ПО 3DVH (SunNuclearcorp) [9–10]. Для каждого критерия было вычислено среднее значение процента гамма-индекса по всем пациентам.

Результаты. Результаты исследования показывают снижение результатов верификации планов с \square (3 %, 3мм, “G”)=98,3±0,4 % при глобальной нормализации в качестве самого «мягкого» критерия до «жесткого» \square (2 %, 2мм, “L”)=90,1±1,7 % с локальной нормализацией относительно первого варианта плана лечения. Для второго варианта лечения снижение показателей составляет с \square (3 %, 3мм, “G”)=99,3±0,2 % до \square (2 %, 2мм, “L”)=89,7±1,7 %. В целом в 6 вариантах критериев из 8 показатели сходимости выше при втором варианте технических характеристик плана лечения на 0,2–1,7 %.

Выводы. Анализ результатов трёхмерной верификации серии планов лучевой терапии предстательной железы в режиме гипофракционирования осуществлялся по нескольким критериям гамма-индекса. Было выявлено, что изменение технических характеристик плана относительно взаимного положения коллиматора полей облучения, а также ширины сегмента влияет на результат верификации и, следовательно, на эффективность реализации рассчитанного плана. Рост показателей по большинству критериев позволяет судить о предпочтительности второго варианта лечения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Benedict S.H., Yenice K.M., Followill D., Galvin J.M., Hinson W., Kavanagh B., Keall P., Lovelock M., Meeks S., Papiez L., Purdie T., Sadagopan R., Schell M.C., Salter B., Schlesinger D.J., Shiu A.S., Solberg T., Song D.Y., Stieber V., Timmerman R., Tomé W.A., Verellen D., Wang L., Yin F.F. Stereotactic body radiation therapy: The report of AAPM Task Group 101. *Med Phys.* 2010 Aug; 37(8): 4078–101. doi: 10.1118/1.3438081.
2. Diot Q., Kavanagh B., Timmerman R., Miften M. Biological – based optimization and volumetric modulated arc therapy delivery for stereotactic body radiation therapy. *Med Phys.* 2012 Jan; 39(1): 237–45. doi: 10.1118/1.3668059.
3. Ghandour S., Matzinger O., Pachoud A.M. Volumetric-modulated arc therapy planning using multicriteria optimization for localized prostate cancer. *J Appl Clin Med Phys.* 2015 May 8; 16(3): 5410. doi: 10.1120/jacmp.v16i3.5410.
4. Nelms B.E., Zhen H., Tomé W.A. Per-beam, planar IMRT QA passing rates do not predict clinically relevant patient dose error. *Med. Phys.* 2011; 38(2): 1037–1044.
5. Zhen H., Nelms B.E., and Tomé W.A. Moving from gamma passing rates to patient DVH-based QA metrics in pretreatment dose QA. *Med Phys.* 2011 Oct; 38(10): 5477–89. doi: 10.1118/1.3633904.
6. Nelms B.E., Opp D., Robinson J., Wolf T.K., Zhang G., Moros E., Feygelman V. VMAT QA: Measurement-guided 4D dose reconstruction on a patient. *Med Phys.* 2012 Jul; 39(7): 4228–38. doi: 10.1118/1.4729709.
7. Olch A.J. Evaluation of the accuracy of 3DVH software estimates of doseto virtual ion chamber and film in composite IMRT QA. *Med Phys.* 2012 Jan; 39(1): 81–6. doi: 10.1118/1.3666771.
8. Nelms B.E., Chan M.F., Jarry G., Lemire M., Lowden J., Hampton C., Feygelman V. Evaluating IMRT and VMAT dose accuracy: Practical examples of failure to detect systematic errors when applying a commonly used metric and action levels. *Med Phys.* 2013 Nov; 40(11): 111722. doi: 10.1118/1.4826166.
9. ArcCHECK® & 3DVH® [Internet]. URL: <https://www.sunnuclear.com/solutions/patientqa/arccheck3dvh> (cited 03.03.2018).
10. Kozelka J., Robinson J., Nelms B., Zhang G., Savitskij D., Feygelman V. Optimizing the accuracy of a helical diode array dosimeter: a comprehensive calibration methodology coupled with a novel virtual inclinometer. *MedPhys.* 2011 Sep; 38(9): 5021–32.

АНГИОПЛАСТИЧЕСКИЕ ОПЕРАЦИИ У ПАЦИЕНТОВ С МЕСТНОРАСПРОСТРАНЕННЫМИ НЕОРГАНЫМИ ЗАБРЮШИННЫМИ ОПУХОЛЯМИ

Ф.Р. Виндиза, А.Б. Рябов, В.В. Черемисов, В.М. Хомяков, Л.А. Вашакмадзе, И.В. Колобаев, А.В. Чайка, Д.Д. Соколев, А.К. Кострыгин, А.Н. Стецюк, С.А. Аксенов

Московский научно-исследовательский онкологический институт имени П.А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Россия

Аннотация

Основной причиной отказа от хирургического лечения при местнораспространенных забрюшинных опухолях является вовлечение в патологический процесс магистральных сосудов. Использование методов ангиохирургии и ангиопластики позволяет улучшить непосредственные и отдаленные результаты лечения данной категории пациентов.

Ключевые слова: неорганные забрюшинные опухоли, саркома, резекция магистральных сосудов.

ANGIOPLASTIC SURGERY IN PATIENTS WITH LOCALLY ADVANCED NON-ORGAN RETROPERITONEAL TUMORS

F.R. Vindiza, A.B. Ryabov, V.V. Cheremisov, V.M. Khomyakov, L.A. Vashakmadze, I.V. Kolobaev, A.V. Chayka, D.D. Sobolev, A.K. Kostrygin, A.N. Stetsyuk, S.A. Aksenov

P.A. Hertsen Moscow Oncology Research Institute Branch of the National Medical Research Centre of Radiology of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

Abstract

The main reason for refusal of surgical treatment for locally advanced retroperitoneal tumors is the involvement of the great vessels. The use of vascular surgery techniques can improve the immediate and long-term treatment results in these patients.

Key words: retroperitoneal tumor, sarcoma, resection of great vessels.

Актуальность. В настоящее время в отечественной и зарубежной литературе отсутствуют единые подходы к диагностике и лечению неорганных забрюшинных опухолей (НЗО). Публикуемые данные противоречивы и основываются на небольшом клиническом материале. Хирургический метод при НЗО является основным. Непосредственные и отдаленные результаты хирургического лечения НЗО остаются малоудовлетворительными. Несмотря на успехи в хирургическом лечении забрюшинных опухолей, частота радикальных и условно-радикальных операций колеблется от 43 до 95 %, при этом остается достаточно высокой доля эксплоративных вмешательств (до 10 %), а частота рецидивов заболевания после удаления опухоли превышает 50 % [1–4]. Основной причиной отказа от радикального хирургического лечения является связь опухоли с органами брюшной полости (50 %) и магистральными сосудами (40 %), в том числе – с нижней полой веной (НПВ) [5, 6]. Опыт МНИОИ им. П.А. Герцена демонстрирует возможность успешного выполнения радикальных операций у данного контингента больных.

Цель исследования – улучшить результаты хирургического лечения пациентов с распространенными неорганными забрюшинными опухолями с вовлечением магистральных сосудов.

Материал и методы. Изучены результаты хирургического лечения 48 пациентов с распространенными неорганными забрюшинными опухолями с вовлечением магистральных сосудов, оперированных в МНИОИ им. П.А. Герцена. В 9 (19 %) наблюдениях выполнены резекции подвздошных сосудов с различными вариантами ангиопластики, включая подвздошно-бедренное протезирование (1), протезирование наружной подвздошной артерии (4), аутовенозное протезирование наружной подвздошной артерии (1), циркулярную резекцию общей подвздошной артерии с формированием сосудистого анастомоза (1), протезирование ствола верхней брыжеечной артерии (1), пластику общей подвздошной артерии сегментом внутренней подвздошной артерии (1). У 39(81%) больных операция сопровождалась резекцией магистральных вен: нижняя полая вена (краевая резекция в 11 случаях, циркулярная – в 12), воротная вена (2), подвздошные вены (13), верхняя брыжеечная вена (1).

Результаты. У всех оперированных больных удалось обеспечить хирургический клиренс (R0) по стенке магистрального сосуда. Послеоперационные осложнения развились у шести больных, при этом одна больная скончалась. Сроки наблюдения за пациентами составили от 6 до 76 мес (медиана – 14 мес). Пятеро больных умерли от прогрессирования заболевания в сроки от 18 до 76 мес. Остальные – живы, без признаков прогрессирования. Медиана общей и безрецидивной выживаемости не достигнута. Вовлечение в патологический процесс крупного сосуда (более половины диаметра) или прямая инвазия стенки является показанием к его резекции с различными вариантами ангиопластики. Резекции крупных сосудов не сопровождаются высоким уровнем осложнений, в том числе тромбозомболических, и летальности, при условии полноценного планирования операции и проведения антикоагулянтной терапии. Выполнение хирургических вмешательств на магистральных сосудах требует не только подготовленной хирургической бригады, имеющей опыт ангиопластики, но и адекватного анестезиологического сопровождения.

Выводы. Истинная инвазия магистральных сосудов при забрюшинных опухолях не превышает 10 %, это сопровождается ухудшением прогноза и выживаемости. Дальнейшее внедрение методик сосудистой хирургии позволит значительно расширить возможности хирургического лечения пациентов с забрюшинными опухолями, вовлекающими магистральные сосуды и улучшить качество оказываемой помощи. Пациентам с неорганными забрюшинными опухолями с подозрением на вовлечение в патологический процесс магистральных сосудов необходимо проводить тщательное обследование, включающее, помимо изучения коморбидного статуса, оценку размеров, локализации опухоли, уровня и степени вовлечения магистрального сосуда, оценку кровотока, наличия внутрипросветного опухолевого компонента или тромба, функцию почек и степени компенсации коллатерального кровотока. Обязательные обследования включают: спиральную компьютерную томографию с контрастированием и 3Д-моделированием, ангиографию и ультразвуковое исследование, включая доплерографию.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Стилиди И.С., Губина Г.И., Неред С.Н., Клименков А.А., Сельчук В.Ю., Тюрин И.Е., Какиаивили Н.Н.* Непосредственные результаты хирургического лечения неорганных забрюшинных опухолей. Вестник Московского онкологического общества. 2006; 5: 3–5.
2. *Циркун В.В.* Неорганные забрюшинные образования: диагностика, хирургическое лечение [дис. на соиск. уч. ст. док. мед. наук]. М., 2000

3. Erzen D., Sencar M., Novak J. Retroperitoneal sarcoma: 25 years of experience with aggressive surgical treatment at the Institute of Oncology, Ljubljana. *J Surg Oncol.* 2005 Jul 1; 91(1): 1–9.

4. Ваиакмадзе Л.А., Черемисов В.В., Бутенко А.В. Онкология: национальное руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа. 2008. 739–748.

5. John E. Mullinax et al., 2011

6. Gronchi A., Casali P.G., Fiore M., Mariani L., Lo Vullo S., Bertulli R., Colecchia M., Lozza L., Olmi P., Santinami M., Rosai J. Retroperitoneal soft tissue sarcomas: patterns of recurrence in 167 patients treated at a single institution. *Cancer.* 2004; 100: 2448–55. doi: 10.1002/cncr.20269.

7. Lehnert T., Cardona S., Hinz U., Willeke F., Mechtersheimer G., Treiber M., Herfarth C., Buechler M.W., Schwarzbach M.H. Primary and locally recurrent retroperitoneal soft-tissue sarcoma: local control and survival. *Eur J Surg Oncol.* 2009 Sep; 35(9): 986–93. doi: 10.1016/j.ejso.2008.11.003.

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ АНТИ-CD19 CAR-T НА МОДЕЛИ ДИССЕМИНИРОВАННОЙ НЕХОДЖКИНСКОЙ ЛИМФОМЫ С ПОМОЩЬЮ НЕИНВАЗИВНОЙ БИОЛЮМИНЕСЦЕНТНОЙ ВИЗУАЛИЗАЦИИ

Е.В. Виноградова, А.А. Александров, Ю.В. Евдокимовская, А.В. Кононов, В.В. Соловьев, Я.Ю. Устюгов

ЗАО «Биокад», г. Санкт-Петербург, Россия

Аннотация

Представлены результаты разработки ксенографтной модели диссеминированной В-клеточной лимфомы и ее применения для оценки противоопухолевой активности генетически модифицированных человеческих Т-лимфоцитов, специфичных к CD19 (анти-CD19 CAR-T), производства ЗАО «Биокад» методом биолюминесцентной визуализации опухолей *in vivo*. Этот метод позволяет неинвазивным способом определить уровень опухолевой нагрузки у животного по люминесцентному сигналу, который пропорционален числу живых опухолевых клеток, экспрессирующих фермент люциферазу. В ходе нашей работы мы получили CD19⁺ клон Raji-luc-cl.9 клеточной линии человеческой лимфомы Беркитта Raji, стабильно экспрессирующий люциферазу светлячка. Модель диссеминированной лимфомы создавали путем внутривенной инъекции 500 тыс. опухолевых клеток Raji-luc-cl.9 мышам с тяжелым комбинированным иммунодефицитом линии NOG. Данные биолюминесцентной визуализации получали на установке Bruker In-Vivo system. На полученной экспериментальной модели было проведено исследование противоопухолевой активности анти-CD19 CAR-T, которое показало, что однократное введение препарата приводит к излечению всех опытных животных в течение 12 дней, и повторное появление опухолей не наблюдается на протяжении всего 13-недельного срока эксперимента. Таким образом, данная модель позволяет успешно проводить доклиническую оценку фармакодинамики анти-CD19 CAR-T и может в дальнейшем использоваться для доклинических исследований новых вариантов терапии В-клеточных неходжкинских лимфом.

Ключевые слова: биолюминесцентная визуализация *in vivo*, доклинические исследования, CAR-T.

ANTITUMOR EFFICACY ASSESSMENT OF THE ANTI-CD19 CAR-T CELLS IN THE DISSEMINATED NON-HODGKIN'S LYMPHOMA XENOGRAFT MODEL USING A METHOD OF BIOLUMINESCENT IN VIVO IMAGING

E.V. Vinogradova, A.A. Aleksandrov, A.V. Kononov, Yu.V. Evdokimovskaya, V.V. Solovyov, Ya.Yu. Ustyugov

Biocad joint-stock company, Saint-Petersburg, Russia

Abstract

The paper presents a design of a disseminated B-cell lymphoma xenograft model and its application to assess the antitumor efficacy of genetically modified human CD19 specific T-lymphocytes (anti-CD19 CAR-T) manufactured by Biocad joint-stock company, using a method of bioluminescent *in vivo* imaging. This method allows a non-invasive evaluation of the tumor load in an animal by a luminescent signal, which correlates

with the number of living tumor cells expressing the luciferase enzyme. In our work we established a CD19+ clone Raji-luc-cl.9 of the cell line of human lymphoma Berkitt Raji stably expressing a firefly luciferase. The disseminated lymphoma model was reproduced by intravenous injection of 0.5×10^6 Raji-luc-cl.9 tumor cells in mice with a severe combined immunodeficiency line (NOG). Bioluminescent imaging data was obtained using the Bruker In-Vivo system. Antitumor activity of the anti-CD19 CAR-T was studied on the established experimental model which showed that a single injection of the drug leads to a complete cure of all the experimental animals within 12 days, moreover tumor recurrence was not observed during following 13 weeks experiment. Thus, we designed a model for preclinical evaluation of the pharmacodynamics of anti-CD19 CAR-T, and it can be further used for preclinical studies of novel therapy options B-cell non-Hodgkin's lymphomas.

Key words: in vivo bioluminescent imaging, nonclinical studies, CAR-T.

Актуальность. В-клеточные неходжкинские лимфомы (НХЛ) являются наиболее распространенными гематологическими злокачественными опухолями. Несмотря на достигнутые успехи в лечении НХЛ, у значительной части пациентов случается рецидив заболевания после стандартной терапии, поэтому существует необходимость поиска новых методов лечения [1].

Модели подкожных ксенографтов служат основным инструментом для доклинической оценки противоопухолевых препаратов, но в случае НХЛ они не отражают диссеминированный характер этого заболевания у человека. В литературе описаны ксенографтные модели лимфом с внутривенным введением опухолевых клеток иммунодефицитным мышам [2, 3]; опухоль в этом случае инфильтрирует различные органы и ткани животного: легкие, почки, селезенку, костный мозг, позвоночник, жировую ткань и др. Основной проблемой таких моделей является выполнение повторных измерений опухолевой нагрузки у одного и того же животного для оценки динамики роста и ответа опухоли на терапию, в связи с чем **Цель** нашей работы заключалась в создании экспериментальной модели, которая воспроизводила бы клиническую картину лимфомы у пациентов и позволила бы неинвазивным способом оценить противоопухолевую активность анти-CD19 CAR-T.

Материал и методы. Для исследования были выбраны мыши линии NOG (Taconic Biosciences, США), которые имеют NOD (non-obese diabetic) генетический фон, обуславливающий дефицит компонентов системы комплемента и нарушение функций макрофагов; обладают спонтанной аутосомно-рецессивной мутацией $Prkdc^{scid}$, что приводит к нарушению развития зрелых Т- и В-лимфоцитов, а также имеют таргетированный нокаут гена IL2RG (CD132⁻), в связи с чем характеризуются минимальным цитокиновым сигналингом и отсутствием НК-клеток. Тяжелый комбинированный иммунодефицит этих мышей обуславливает возможность высокой степени приживления как человеческих опухолевых клеток, так и человеческих CAR-T клеток.

Для наблюдения за опухолью методом билюминесцентной визуализации мы создали клеточную линию, стабильно экспрессирующую билюминесцентный маркер – люциферазу светлячка. В качестве материнской линии была выбрана клеточная линия человеческой лимфомы Беркитта Raji (Российская коллекция клеточных культур). С помощью электропоратора Neon ThermoFisher Scientific клетки трансфецировали плазмидой, несущей ген люциферазы и ген устойчивости к пуромину. После селекции полученный стабильный пул клеток клонировали методом предельных разведений. Полученные клональные линии были охарактеризованы по уровням экспрессии люциферазы и поверхностного маркера CD19. Для работы был выбран клон Raji-luc-cl.9.

Перед введением животным клетки культивировали в среде RPMI, содержащей 10 % эмбриональной телячьей сыворотки, 0,05 мг/мл гентамицина и 4мМ L-глутамин. Культивирование проводили при 37 °C и 5 % CO₂. Клетки пересевали дважды в неделю, плотность посева $0,3 \times 10^6$ кл/мл. Подсчет клеток проводили в камере Горяева.

Данные билюминесценции получали и анализировали с помощью Bruker In-Vivo system (In-Vivo MS FX Pro, Bruker США). Перед съемкой животным подкожно вводили 0,1 мл субстрата люциферазы, СуcLuc1 (Calbiochem), растворенного в PBS в концентрации 0,3 мг/мл (данная концентрация субстрата была выбрана как оптимальная в ходе наших предыдущих *in vivo* исследований). Через 11 мин животных помещали в светонепроницаемую камеру прибора для получения билюминесцентных изображений. Использовались следующие параметры съемки: FOV 140 mm, exposure time 60120 sec, F-Stop 0,95; binning 4. Полученные сигналы билюминесценции отображались в виде псевдоцветового изображения, которое накладывалось на фотографию животного в сером цвете. При количественном анализе в

программе Bruker Molecular Imaging Software определяли суммарную интенсивность биолюминесценции в выбранной области (region of interest).

Для оценки жизнеспособности полученной клеточной линии *in vivo*, определения количества опухолевых клеток, необходимых для успешного энgraфтинга, и получения информации о динамике роста опухоли была проведена отработка модели. Клетки Raji-luc-cl.9 вводили в хвостовую вену мышей в трех дозах: $0,5 \times 10^6$, $1,0 \times 10^6$ и $2,0 \times 10^6$ клеток (4 животных на каждую концентрацию). Биолюминесцентные изображения получали через 3, 5, 8, 12 и 15 дней после трансплантации клеток. На 12–15-й день проводили эвтаназию животных с последующим вскрытием и гистологическим исследованием органов.

Для получения терапевтической модели мышам в боковую хвостовую вену вводили 500 тыс. клеток Raji-luc в 0,2 мл среды RPMI. После того как приживание опухолевых клеток было подтверждено у всех мышей с помощью биолюминесцентной визуализации, животные были распределены на 3 группы. Животным 1-й (n=4) и 2-й группы (n=4) внутривенно вводили по 5×10^6 анти-CD19 CAR-T или немодифицированных лимфоцитов соответственно. Третья группа (n=6) не получала терапии и являлась контрольной.

Результаты. На первом этапе работы было исследовано поведение полученной клеточной линии *in vivo*, и была определена подходящая концентрация опухолевых клеток для терапевтической модели.

У всех экспериментальных животных, независимо от количества подсаженных клеток, через 5 дней обнаруживался биолюминесцентный сигнал в области печени и задних конечностей (данные не приводятся). Следует отметить, что интенсивность биолюминесценции коррелировала с количеством первоначально введенных опухолевых клеток (на рис. 1 представлены данные, полученные на 12-е сут после введения клеток). Опухоль отличалась агрессивным ростом: животные погибали на 12-й день после введения высокой дозы клеток и на 15-й день после введения низкой дозы.

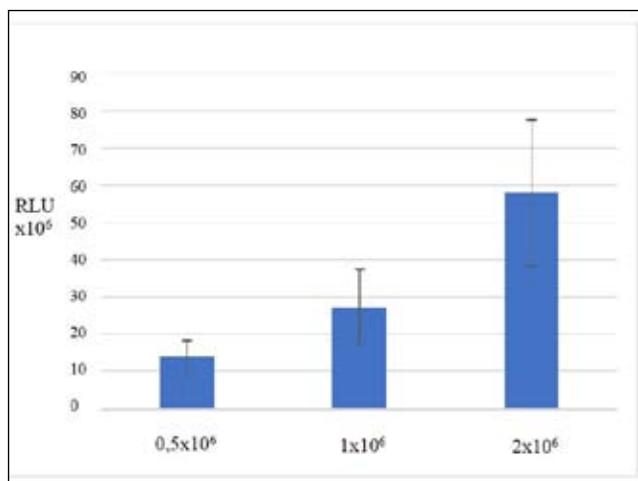


Рис. 1. Средние значения суммарной интенсивности биолюминесцентного сигнала у групп животных, отличающихся количеством введенных опухолевых клеток Raji-luc-cl.9

Клетки вводили мышам внутривенно в трех дозах: $0,5 \times 10^6$, $1,0 \times 10^6$ и $2,0 \times 10^6$, n=4 для каждой концентрации; данные получены на 12-й день после введения клеток. Интенсивность биолюминесценции выражена в RLU (relative luminometer units).

Гистологическое исследование показало, что опухолевые клетки в виде крупных инфильтратов обнаруживаются в печени, селезенке, почках, костном мозге позвонков, ребер, подвздошных и бедренных костей. В легких опухолевые клетки в небольшом количестве присутствуют в просвете крупных сосудов и в капиллярах.

В результате для дальнейшей работы была выбрана доза $0,5 \times 10^6$ опухолевых клеток/мышь. Введение исследуемого препарата и интактных лимфоцитов было запланировано на 5-е сут после введения опухолевых клеток.

Результаты исследования противоопухолевой активности анти-CD19 CAR-T показали, что однократное введение препарата приводит к излечению практически всех опытных животных уже на 3-е сут после начала лечения, на 12-е сут уже ни у одной мыши из 1-й группы не обнаруживается опухолевая нагрузка. Повторное появление опухолей не наблюдалось у леченных анти-CD19 CAR-T мышей на протяжении всего 13-недельного срока эксперимента

(рис. 2). У животных, которым вводили немодифицированные человеческие Т-лимфоциты, происходила регрессия опухоли на 20-е сут после инъекции, но спустя месяц у них появились новые очаги опухолевого роста, и к концу эксперимента все животные из этой группы имели высокую опухолевую нагрузку.

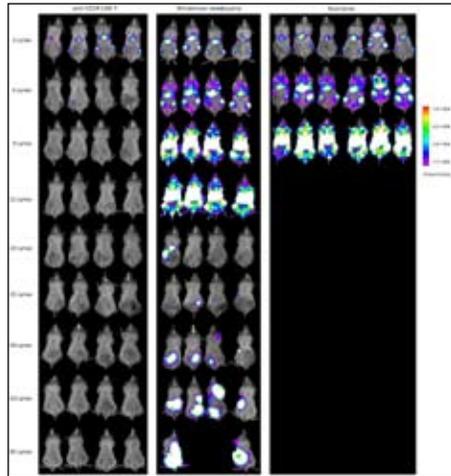


Рис. 2. Результаты биOLUMИнесцентной in vivo визуализации опухолевых клеток Raji-luc-cl.9 у мышей экспериментальной и контрольных групп. Слева указано время, прошедшее после введения животным анти-CD19 CAR-T или немодифицированных лимфоцитов. Шкала демонстрирует соответствие интенсивности биOLUMИнесценции, выраженной в фотонах/сек на мм², псевдоцветам на изображении

Выводы. Данная экспериментальная модель позволяет успешно проводить доклиническую оценку фармакодинамики анти-CD19 CAR-T методом прижизненной биOLUMИнесцентной визуализации опухолей и может в дальнейшем использоваться для доклинических исследований новых вариантов терапии В-клеточных неходжкинских лимфом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Roberts D., Goyal S., Chang Z., Flowers C.R., Lechowicz M.J., Langston A., Koff J.L. Evaluation of All Cause of Death after High Dose Chemotherapy and Autologous Stem Cell Transplant in Hodgkin Lymphoma and Non-Hodgkin Lymphoma. *Blood*. 2018; 132: 2157.
2. Runckel K., Barth M.J., Mavis C., Gu J.J., Hernandez-Ilizaliturri F.J. The SMAC mimetic LCL-161 displays antitumor activity in preclinical models of rituximab-resistant B-cell lymphoma. *Blood Adv*. 2018; 2(23): 3516–3525.
3. Rossi E.A., Goldenberg D.M., Cardillo T.M., Stein R., Chang C.H. CD20-targeted tetrameric interferon-alpha, a novel and potent immunocytokine for the therapy of B-cell lymphomas. *Blood*. 2009; 114(18): 3864–71.

НОКДАУН ГЕНА RAD50 СЕНСИБИЛИЗИРУЕТ РАКОВЫЕ КЛЕТКИ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ТРИЖДЫ-НЕГАТИВНОГО ПОДТИПА К КАРБОПЛАТИНУ

К. Гавриш, А. Нургалиева, Л. Минигулова, Д. Савенкова, В. Скрипова, Р. Киямова

Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, Россия

Аннотация

Высокоагрессивный рак молочной железы трижды-негативного молекулярного подтипа (ТНРМЖ) не имеет направленного (таргетного) лечения. Современные схемы терапии ТНРМЖ не всегда эффективны, что может быть следствием генетической гетерогенности опухолей пациентов. Таким образом, актуальными являются исследования, направленные на выявление генов, участвующих в регуляции чувствительности раковых клеток к применяемым в клинической практике химиопрепаратам, включая карбоплатин. **Цель исследования** – оценить влияние экспрессии гена RAD50 на чувствительность клеток ТНРМЖ к карбоплатину. В исследовании использовали клеточные линии ТНРМЖ, не имеющие мутаций генов BRCA1/2 (MDA-MB-231, MDA-MB-436_wtBRCA1 и MDA-MB-453). Нокдаун гена RAD50 проводили путём РНК-интерференции, для оценки влияния нокдауна гена RAD50 на чувствительность клеток к карбоплатину использовали тест на жизнеспособность. В результате исследования было выявлено, что нокдаун гена RAD50 в клетках ТНРМЖ человека увеличивает их чувствительность к об-

работке карбоплатином: IC50 в клеточных линиях с нокадаун гена RAD50 на 15,8–27,8 % ниже, чем в клеточных линиях без нокадауна. Таким образом, нокадаун гена RAD50 способствует сенсбилизации клеток ТНРМЖ, не несущих мутаций BRCA1/2, к карбоплатину, а RAD50 является потенциальным предиктивным маркером ТНРМЖ.

Ключевые слова: ТНРМЖ, RAD50, предиктивный маркер, карбоплатин, РНК-интерференция.

KNOCKDOWN OF THE RAD50 GENE SENSITIZES TRIPLE-NEGATIVE BREAST CANCER CELLS TO CARBOPLATIN

**K. Havrysh, A. Nurgalieva, L. Minigulova,
D. Savenkova, V. Skripova, R. Kiyamova**

Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan, Russia

Abstract

The most aggressive triple-negative molecular subtype of breast cancer (TNBC) doesn't have target treatment. Modern schemes of TNBC treatment are inefficient for a large group of patients, which could be attributed to the genetic heterogeneity of tumors. Thus, studies focused on the identification of genes involved in the regulation of cancer cells susceptibility to clinically used chemotherapeutics, including carboplatin, are relevant. The **Aim** of this study was to evaluate the RAD50 gene expression impact on the TNBC cells sensitivity to carboplatin. TNBC cell lines without mutations of BRCA1/2 genes (MDA-MB-231, MDA-MB-436_wtBRCA1 and MDA-MB-453) were used in this study; the knockdown of RAD50 gene was performed by RNA interference; cell viability test was used to evaluate the impact of the RAD50 gene silencing on cells sensitivity to carboplatin. As a result of the study, it was found that knockdown of the RAD50 gene in the TNBC cells could significantly increase their sensitivity to carboplatin: in the cell lines with RAD50 gene knockdown IC50 was 15.827.8 % lower than in cell lines without knockdown. Thus, the RAD50 gene silencing promotes the sensitization of TNBC cells without BRCA1/2 mutations to carboplatin and RAD50 could be considered as a potential predictive marker for TNBC.

Key words: TN breast cancer, RAD50, predictive marker, carboplatin.

Актуальность. ТНРМЖ является наиболее агрессивным молекулярным подтипом РМЖ [1], который только в 2018 г. был диагностирован более чем у 250 тысяч женщин (примерно 12 % от всех случаев РМЖ) во всем мире [2]. Пациенты с ТНРМЖ имеют более высокий риск возникновения рецидивов и плохой прогноз исхода заболевания, который обусловлен, в том числе отсутствием специфичных и валидированных мишеней для направленной (таргетной) терапии этого подтипа опухолей [1]. С ТНРМЖ ассоциированы мутации генов BRCA1/2, предсказывающие высокую чувствительность раковых клеток к ДНК-повреждающей химиотерапии (например, цисплатином, карбоплатином и т. д.) и терапии ингибиторами PARP. Однако BRCA1/2 мутации не являются частым событием, они встречаются только в 10 % случаев ТНРМЖ [3, 4]. За последние 5 лет многие клинические исследования были посвящены разработке новых схем лечения ТНРМЖ уже известными химиотерапевтическими препаратами и их комбинациями [5–11]. Многие из них включали карбоплатин в качестве основной мишени/одной из мишеней для изучения. Например, было выявлено, что введение карбоплатина в схему неoadъювантной химиотерапии ТНРМЖ увеличивает патологический полный ответ (pathological complete response – pCR) пациентов, получавших карбоплатин по сравнению с контрольной группой [7–11]. В клинических испытаниях показано, что пациенты ТНРМЖ по-разному реагируют на адъювантную химиотерапию карбоплатином [10–11], что может быть результатом исходной генетической гетерогенности опухолей пациентов. В наших предыдущих исследованиях RAD50, участвующий в репарации двухцепочечных разрывов ДНК, был идентифицирован как опухоль-ассоциированный антиген и потенциальный маркер РМЖ [12–14]. Было показано, что RAD50 имеет гетерогенную экспрессию в опухолях РМЖ [15].

Цель исследования – оценить влияние экспрессии гена RAD50 на чувствительность клеток ТНРМЖ к карбоплатину.

Материал и методы. Клетки ТНРМЖ, а именно MDA-MB-231, MDA-MB—453, были получены из Американской коллекции типичных культур клеток (ATCC). Модифицированные клетки MDA-MB-436, экспрессирующие дикий тип гена BRCA1 (MDA-MB-436_wtBRCA1),

были любезно предоставлены лабораторией И. Асцатурова (Центр Рака Фокс Чейз, США). Все клеточные культуры ТНPMЖ культивировали в среде DMEM, содержащей 10 % эмбриональной бычьей сыворотки, L-глутамин и пенициллин/стрептомицин (ПанЭко, Россия). Нокдаун гена RAD50 проводили путём обратной трансфекции клеток специфичными для этого гена малыми интерферирующими РНК (Invitrogen™, США) с использованием трансфецирующего реагента RNAiMAX (Invitrogen™, США) [16]. В качестве негативного контроля миРНК использовали Control siRNA-A (Santa Cruz Biotechnology, USA). Валидацию эффективности трансфекции проводили в 24-луночных планшетах. Влияние нокдауна гена RAD50 на восприимчивость клеток к обработке карбоплатином проводили в 96-луночных планшетах с помощью теста на жизнеспособность (AlamarBlue™, Invitrogen™, США) по стандартному протоколу [17]. Эффективность нокдауна гена оценивали при помощи мультиплексного ПЦР в режиме реального времени с использованием наборов TaqMan Gene Expression Assay (Invitrogen™, США) для гена RAD50 и референсного гена АСТВ [18]. Расчеты относительной экспрессии проводили по формуле: [19]. Кривые жизнеспособности сравнивали при помощи U-критерия Манна – Уитни. Статистическую обработку результатов проводили с использованием программного обеспечения GraphPad Prism 7.

Результаты и обсуждение. Нокдаун гена RAD50 путём РНК-интерференции был проведён в клеточных линиях трижды-негативного рака молочной железы (MDA-MB-231, MDA-MB-436_wtBRCA1 и MDA-MB-453) с генами BRCA1/2 дикого типа. Для нокдауна гена RAD50 на клеточной линии MDA-MB-231 были протестированы комбинации трёх миРНК, специфичных для гена RAD50. В результате была отобрана комбинация миРНК, наиболее эффективно вызывающая молчание гена RAD50 (69,3 %) (таблица).

Таблица

Эффективность нокдауна гена RAD50 различными комбинациями миРНК

Комбинация миРНК	Относительная экспрессия гена RAD50 ($\times 1000$)	Эффективность нокдауна гена RAD50
Silencer™Select siRNA s791+s792	2,1324	69,3 %
Silencer™Select siRNA s791+s793	4,0534	41,6 %
Silencer™Select siRNA s792+s793	3,4841	49,8 %
Негативный контроль	6,9441	0 %

Затем для всех клеточных линий ТНPMЖ с нокдауном и без нокдауна гена RAD50 был проведён анализ цитотоксической чувствительности клеток к обработке карбоплатином (3 биологических повтора). В результате IC₅₀ карбоплатина для клеточной линии MDA-MB-231 с нокдауном гена RAD50 составила 20,65 мкМ, что на 17,2 % больше, чем без нокдауна, – 24,93 мкМ (р-значение = 0,009); IC₅₀ для клеточной линии MDA-MB-436 с нокдауном гена RAD50 составила 7,497 мкМ, что на 27,8 % больше, чем без нокдауна, – 10,39 мкМ (р-значение = 0,01); IC₅₀ для клеточной линии MDA-MB-453 с нокдауном гена RAD50 составила 7,336 мкМ, что на 15,8 % больше, чем без нокдауна, – 8,711 мкМ (р-значение = 0,002) (рис. 1).

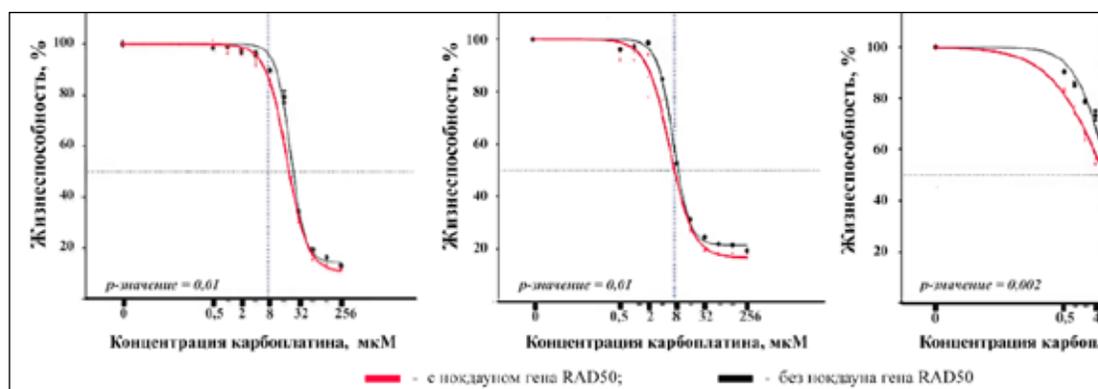


Рис. 1. Кривые жизнеспособности клеток ТНPMЖ с нокдауном и без нокдауна гена RAD50, зависящие от дозы карбоплатина (0,5–256 мкМ)

Полученные результаты свидетельствуют о том, что нокдаун гена RAD50 способствует сенсibilизации клеток ТНPMЖ, не несущих мутаций BRCA1/2, к обработке карбоплатином.

Таким образом, RAD50 является потенциальным предиктивным маркером эффективности терапии ТНРМЖ карбоплатином и мишенью для разработки новых противоопухолевых препаратов для лечения ТНРМЖ, в том числе в комбинации с карбоплатином. В дальнейшем предполагается валидация полученных нами результатов с использованием опухолевого материала больных ТНРМЖ и моделей ксенографтов.

Работа выполнена за счёт средств субсидии, выделенной в рамках государственной поддержки Казанского (Приволжского) федерального университета в целях повышения его конкурентоспособности среди ведущих мировых научно-образовательных центров

ЛИТЕРАТУРА

1. Anders C., Carey L.A. Understanding and treating triple-negative breast cancer. *Oncology (Williston Park)*. 2008 Oct; 22(11): 1233–9; discussion 1239–40, 1243.
2. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel R.L., Torre L.A., Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*. 2018 Nov; 68(6): 394–424. doi: 10.3322/caac.21492.
3. Peshkin B.N., Alabek M.L., Isaacs C. BRCA1/2 mutations and triple negative breast cancers. *Breast Dis*. 2010; 32(12): 25–33. doi: 10.3233/BD-2010-0306.
4. Guney Eskiler G., Cecener G., Egeci U., Tunca B. Triple negative breast cancer: new therapeutic approaches and BRCA status. *APMIS*. 2018 May; 126(5): 371–379. doi: 10.1111/apm.12836.
5. Loibl S., Weber K.E., Timms K.M., Elkin E.P., Hahnen E., Fasching P.A., Lederer B., Denkert C., Schneeweiss A., Braun S., Salat C.T., Rezaei M., Blohmer J.U., Zahm D.M., Jackisch C., Gerber B., Klare P., Kümmel S., Schem C., Paepke S., Schmutzler R., Rhiem K., Penn S., Reid J., Nekljudova V., Hartman A.R., von Minckwitz G., Untch M. Survival analysis of carboplatin added to an anthracycline/taxane-based neoadjuvant chemotherapy and HRD score as predictor of response-final results from GeparSixto. *Ann Oncol*. 2018 Dec 1; 29(12): 2341–2347. doi: 10.1093/annonc/mdy460.
6. Sharma P., López-Tarruella S., García-Saenz J.A., Khan Q.J., Gómez H.L., Prat A., Moreno F., Jerez-Gilarranz Y., Barnadas A., Picornell A.C., Monte-Millán M.D., González-Rivera M., Massarrah T., Pelaez-Lorenzo B., Palomero M., González Del Val R., Cortés J., Fuentes-Rivera H., Morales D.B., Márquez-Rodas I., Perou C.M., Lehn C., Wang Y.Y., Klemp J.R., Mammen J.V., Wagner J.L., Amin A.L., O’Dea A.P., Heldstab J., Jensen R.A., Kimler B.F., Godwin A.K., Martin M. Pathological Response and Survival in Triple-Negative Breast Cancer Following Neoadjuvant Carboplatin plus Docetaxel. *Clin Cancer Res*. 2018 Dec 1; 24(23): 5820–5829. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-18-0585.
7. Schneeweiss A., Möbus V., Tesch H., Hanusch C., Denkert C., Lübke K., Huober J., Klare P., Kümmel S., Untch M., Kast K., Jackisch C., Thomalla J., Ingold-Heppner B., Blohmer J.U., Rezaei M., Frank M., Engels K., Rhiem K., Fasching P.A., Nekljudova V., von Minckwitz G., Loibl S. Intense dose-dense epirubicin, paclitaxel, cyclophosphamide versus weekly paclitaxel, liposomal doxorubicin (plus carboplatin in triple-negative breast cancer) for neoadjuvant treatment of high-risk early breast cancer (GeparOcto-GBG 84): A randomised phase III trial. *Eur J Cancer*. 2019 Jan; 106: 181–192. doi: 10.1016/j.ejca.2018.10.015.
8. Castrellon A.B., Pidhorecky L., Valero V., Raez L.E. The Role of Carboplatin in the Neoadjuvant Chemotherapy Treatment of Triple Negative Breast Cancer. *Oncol Rev*. 2017 Mar 17; 11(1): 324. doi: 10.4081/oncol.2017.324.
9. Zhang P., Yin Y., Mo H., Zhang B., Wang X., Li Q., Yuan P., Wang J., Zheng S., Cai R., Ma F., Fan Y., Xu B. Better pathologic complete response and relapse-free survival after carboplatin plus paclitaxel compared with epirubicin plus paclitaxel as neoadjuvant chemotherapy for locally advanced triple-negative breast cancer: a randomized phase 2 trial. *Oncotarget*. 2016 Sep 13; 7(37): 60647–60656. doi: 10.18632/oncotarget.10607.
10. Vetter M., Fokas S., Biskup E., Schmid T., Schwab F., Schoetzau A., Güth U., Rochlitz C., Zanetti-Dällenbach R. Efficacy of adjuvant chemotherapy with carboplatin for early triple negative breast cancer: a single center experience. *Oncotarget*. 2017 May 23; 8(43): 75617–75626. doi: 10.18632/oncotarget.18118.
11. Formenti S.C., Golden E.B., Goldberg J.D., Li X., Taff J., Fenton-Kerimian M.B., Chandrasekhar S., Demaria S., Novik Y. Results of a phase I-II study of adjuvant concurrent carboplatin and accelerated radiotherapy for triple negative breast cancer. *Oncotarget*. 2016 Dec 27; 6(3): e1274479. doi: 10.1080/2162402X.2016.1274479.
12. Kostianets O., Antoniuk S., Filonenko V., Kiyamova R. Immunohistochemical analysis of medullary breast carcinoma autoantigens in different histological types of breast carcinomas. *Diagn Pathol*. 2012 Nov 26; 7: 161. doi: 10.1186/1746-1596-7-161.
13. Kostianets O., Shyyan M., Antoniuk S.V., Filonenko V., Kiyamova R. Panel of SEREX-defined antigens for breast cancer autoantibodies profile detection. *Biomarkers*. 2017 Mar; 22(2): 149–156. doi: 10.1080/1354750X.2016.1252952.
14. Havrysh K.V., Filonenko V.V., Serebriiskii I.G., Kiyamova R.G. Evaluation of RAD50 as a prognostic marker of survival in breast cancer patients. *Ann Oncol*. 2016; 27(sup 6): 107P. doi: 10.1093/annonc/mdw363.55.
15. Шиян М.А., Костянец О.И., Цуварев О.Ю., Столярук А.В., Антониук С.В., Филоненко В.В., Киямова Р.Г. Особливості експресії генів пухлинноасоційованих антигенів медулярної карциноми молочної залози у різних типах пухлин молочної залози. *Biopolym. Cell*. 2012; 28(5): 381–388.
16. Zhao M., Yang H., Jiang X., Zhou W., Zhu B., Zeng Y., Yao K., Ren C. Lipofectamine RNAiMAX: an efficient siRNA transfection reagent in human embryonic stem cells. *Mol Biotechnol*. 2008 Sep; 40(1): 19–26. doi: 10.1007/s12033-008-9043-x.
17. Bonnier F., Keating M.E., Wróbel T.P., Majzner K., Baranska M., Garcia-Munoz A., Blanco A., Byrne H.J. Cell viability assessment using the Alamar blue assay: a comparison of 2D and 3D cell culture models. *Toxicol In Vitro*. 2015 Feb; 29(1): 124–31. doi: 10.1016/j.tiv.2014.09.014.
18. Galatola M., Auricchio R., Greco L. Gene Expression Profiling of Celiac Biopsies and Peripheral Blood Monocytes Using Taqman Assays. *Methods Mol Biol*. 2015; 1326: 105–15. doi: 10.1007/978-1-4939-2839-2_11.
19. Schmittgen T.D., Livak K.J. Analyzing real-time PCR data by the comparative CT method. *Nature Protocols*. 2008; 3(6): 1101–1108.

ЭКСПРЕССИЯ МИКРОРНК, РЕГУЛИРУЮЩИХ ОНКОСУПРЕССОР PTEN, В ОПУХОЛЕВЫХ ТКАНЯХ ЭНДОМЕТРИЯ

**Н.С. Гелетина¹, В.С. Кобелев^{1,2}, Е.В. Бабаянц³, С.Э. Красильников³,
Л. Фэн⁴, В.О. Пустыльняк^{1,4}, Л.Ф. Гуляева^{1,4}**

Научно-исследовательский институт молекулярной биологии и биофизики, структурное подразделение ФИЦ ФТМ, г. Новосибирск, Россия¹

Институт цитологии и генетики, г. Новосибирск, Россия²

Новосибирский областной клинический онкологический диспансер, г. Новосибирск, Россия³

Новосибирский государственный университет, г. Новосибирск, Россия⁴

Аннотация

Влияние микроРНК на уровень онкосупрессора PTEN описано для многих видов рака. Однако для рака эндометрия полной картины по данной проблеме не представлено. В исследовании были проанализированы уровни экспрессии PTEN и микроРНК, регулирующих экспрессию гена PTEN (микроРНК-21, микроРНК-181а, микроРНК-214, микроРНК-301а и микроРНК-1908), в образцах рака и гиперплазии эндометрия. Наши результаты продемонстрировали высокую вариабельность уровня экспрессии PTEN. Уровень микроРНК-181а показал достоверно значимое увеличение в тканях рака эндометрия по сравнению с нормальным эндометрием. Мы не наблюдали какой-либо статистически значимой корреляции между уровнями микроРНК и PTEN в гетерогенной когорте пациентов. В то же время в образцах, взятых у пациенток с раком эндометрия, было обнаружено, что связь между экспрессией PTEN и индексом массы тела имела значительную положительную корреляцию. Более того, наши данные продемонстрировали, что экспрессия PTEN была достоверно снижена в образцах от пациенток с раком эндометрия без ожирения по сравнению с пациентками с раком эндометрия с ожирением, в то время как экспрессия микроРНК-181а была достоверно повышена. Кроме того, была обнаружена отрицательная корреляция между уровнями PTEN и микроРНК-181а в образцах опухолевых тканей пациенток без ожирения. Наши результаты показывают, что снижение PTEN вследствие увеличения микроРНК-181а может быть важным фактором развития рака эндометрия у пациенток без ожирения.

Ключевые слова: рак эндометрия, гиперплазия эндометрия, PTEN, микроРНК, индекс массы тела.

EXPRESSION OF MIRNAS REGULATING THE PTEN TUMOR SUPPRESSOR IN ENDOMETRIAL TUMORS

**N.S. Geletina¹, V.S. Kobelev^{1,2}, E.V. Babayants³, SE Krasil'nikov³ L. Feng⁴,
V.O. Pustyl'nyak^{1,4}, L.F. Gulyaeva^{1,4}**

The Institute of Molecular Biology and Biophysics, Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine, Novosibirsk, Russia¹

Institute of Cytology and Genetics SBAS, Novosibirsk, Russia²

Novosibirsk Regional Clinical Oncology Centre, Novosibirsk, Russia³

Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia⁴

Abstract

The suppressing effects of microRNAs on PTEN tumor suppressor pathway are described for many types of cancer. However, the picture of the correlation between the expression levels of PTEN and its targeting microRNAs in endometrial cancer is not fully presented. Our study investigated and analysed the expression levels of PTEN and PTEN-targeting miR-21, miR-181a, miR-214, miR-301a, and miR-1908 in endometrial cancer samples and endometrial hyperplasia. Our results demonstrated a high variability of the levels of PTEN expression. The level of miR-181a showed significant increment in endometrial cancer tissues in comparison with normal endometrium. We did not observe any statistically significant correlation between levels of microRNAs and PTEN in a heterogeneous cohort of patients. At the same time, in samples collected from endometrial cancer patients, it was found that the relationship between PTEN expression and body mass index had significant positive correlation. Moreover, our data demonstrated that the expression of PTEN was significantly decreased, whereas expression of miR-181a was significantly over-expressed in samples

from non-obese compared to obese endometrial cancer patients. In addition, a negative correlation was found between the levels of PTEN and miR-181a in non-obese patients' tumor tissue samples. Our findings suggest that decrease of PTEN via increase of miR-181a may be important contributor to endometrial cancer in non-obese patients.

Key words: endometrial cancer, endometrial hyperplasia, PTEN, microRNA, body mass index.

Актуальность. Рак эндометрия – актуальная проблема для всех экономически развитых стран, что обусловлено высоким распространением в популяции факторов риска гиперпластических процессов эндометрия, в том числе ожирения. В патогенезе рака эндометрия одним из важнейших является PI3K/Akt/mTOR-сигнальный путь [1], который регулирует клеточный рост и метаболизм, а также осуществляет регуляцию апоптоза. Негативным регулятором PI3K/Akt/mTOR-сигнального пути является белок PTEN (phosphatase and tensin homolog), продукт гена-онкосупрессора PTEN, повреждение которого является маркером для рака эндометрия [2]. При нарушении функций PTEN или его дефиците происходит снятие торможения с сигнального каскада PI3K/Akt/mTOR, избыточная активация которого приводит к возникновению резистентности клеток к апоптозу. Инактивация белка PTEN происходит в 35–50 % случаев эстрогензависимого рака эндометрия и в 10 % случаев эстрогеннезависимого рака эндометрия [3]. В атипической гиперплазии эндометрия частота инактивации PTEN составляет 19 %, а в простой гиперплазии – 21 % [4]. Нарушение экспрессии PTEN может происходить как на транскрипционном, так и на посттранскрипционном уровне с участием микроРНК. Для некоторых микроРНК показана регуляция экспрессии PTEN у человека в опухолях других локализаций (hsa-miR-181a, hsa-miR-301a, hsa-miR-1908, hsa-miR-21, hsa-miR-214) [5–8]. Таким образом, поиск микроРНК, ассоциированных со снижением экспрессии гена PTEN в ткани эндометрия, может послужить одним из этапов на пути понимания механизмов злокачественного перерождения эндометрия.

Целью работы является поиск связей между уровнями экспрессии микроРНК и уровнем экспрессии гена PTEN в образцах эндометрия при гиперплазии и аденокарциноме.

Материал и методы. Материалом исследования являются образцы биопсии эндометрия, полученные в соответствии с этическими стандартами у пациенток Новосибирского областного онкологического диспансера с диагнозами: простая гиперплазия эндометрия, атипическая гиперплазия эндометрия, аденокарцинома эндометрия I стадии, а также в качестве контрольных – нормальный, внешне не измененный эндометрий, максимально удаленный от опухоли и образцы эндометрия при тяжелой дисплазии шейки матки. Полученные образцы немедленно переносились в пробирках в жидкий азот для транспортировки в криостат, где хранились при температуре –70 °С. У всех пациенток с опухолями эндометрия диагноз был предварительно верифицирован гистологическим исследованием. Образцы были распределены на группы в соответствии с диагнозом и на подгруппы в соответствии с наличием у пациенток ожирения. Выделение РНК из образцов ткани эндометрия проводилось с помощью Trizol-реагента. Для определения экспрессии микроРНК и PTEN в образцах использовался метод полуколичественной ОТ-ПЦР. В качестве нормировочных генов были взяты гены домашнего хозяйства PPIA и H3F2A. В качестве нормировки микроРНК использовались малые ядерные РНК U6 и U48. Статистическая обработка проводилась с использованием программного пакета PAST (версия 2.17с). Достоверность изменений уровня экспрессии PTEN между исследуемыми и контрольными образцами, а также достоверность изменений уровня экспрессии микроРНК между исследуемыми и контрольными образцами проверялись с помощью критерия Краскела–Уоллиса. Для корреляционного анализа был использован ранговый коэффициент корреляции Спирмена.

Результаты. В исследовании не было обнаружено достоверно значимых различий в уровне экспрессии PTEN в группе образцов рака эндометрия по сравнению неизменной тканью, отмечается только тенденция к уменьшению уровня PTEN в образцах рака. В образцах рака эндометрия показано увеличение экспрессии микроРНК-181a ($p=0.038$) (рис. 1). Для других микроРНК, изученных в эксперименте, достоверно значимых изменений не было обнаружено ни для одной из подгрупп. Для поиска корреляций между уровнями мРНК PTEN и уровнями микроРНК был использован корреляционный тест Спирмена. Такие корреляции не были обнаружены ($p>0.05$).

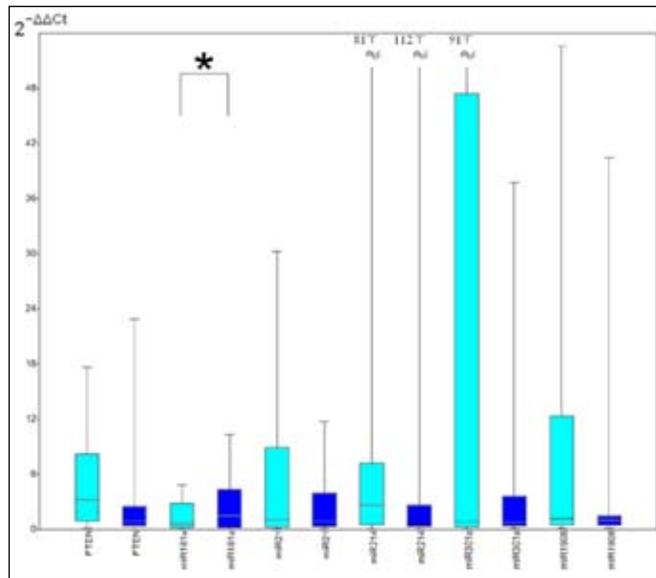


Рис. 1. Экспрессия PTEN и микроРНК в образцах нормального эндометрия (голубой) и в раке эндометрия (синий) (* $p < 0,05$)

Для PTEN показано достоверное уменьшение уровня экспрессии в образцах у женщин с раком эндометрия без ожирения по сравнению с образцами у женщин с ожирением ($p=0,046$). В образцах рака эндометрия достоверно увеличивается экспрессия микроРНК-181a, причем сильнее ее экспрессия растет в образцах рака эндометрия у пациенток без ожирения ($p=0,031$) (рис. 2).

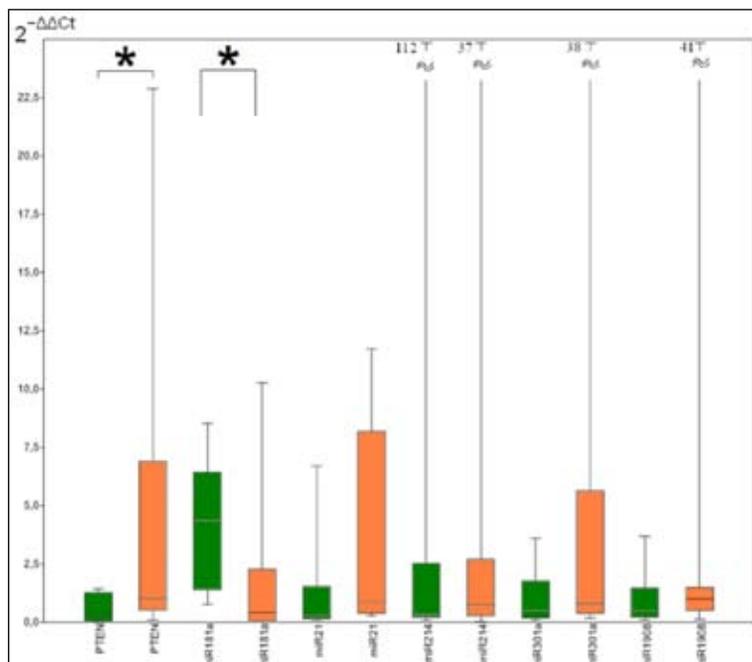


Рис. 2. Экспрессия PTEN и микроРНК в образцах рака эндометрия у женщин с ИМТ < 30 кг/м² (зеленый) и у женщин с ИМТ ≥ 30 кг/м² (оранжевый) (* $p < 0,05$)

Было обнаружено, что уровень мРНК PTEN умеренно коррелирует с ИМТ (коэффициент Спирмена = 0,400, $p = ,004$). Как показано в таблице, уровень экспрессии PTEN был значительно ниже ($p=0,009$) у пациенток с раком эндометрия и индексом массы тела < 30 кг/м². При этом уровень микроРНК-181a был увеличен у пациенток с раком эндометрия и индексом массы тела < 30 кг/м² ($p=0,022$). Для других микроРНК различия не были статистически значимыми. Кроме того, экспрессия PTEN в подгруппе пациентов с раком эндометрия и индексом массы тела < 30 кг/м² отрицательно коррелировала с экспрессией miR-181a (коэффициент Спирмена = -0,200, $p=0,050$).

Таблица

Корреляции между уровнем PTEN и уровнями микроРНК для пациенток с раком эндометрия с ожирением и без ожирения (ранговый коэффициент корреляции Спирмена)

мРНК/микроРНК	Медиана (размах)		p-value
	ИМТ ≥ 30	ИМТ < 30	
PTEN	0.49 (0.22–2.48)	0.10 (0.05–0.25)	0.009
miR-21	0.95 (0.53–3.15)	0.29 (0.11–2.22)	0.119
miR-181a	4.22 (1.65–14.53)	23.17 (2.30–43.72)	0.022
miR-214	1.75 (0.53–6.21)	0.57 (0.04–22.5)	0.469
miR-301a	0.48 (0.37–10.21)	0.11 (0.05–1.88)	0.140
miR-1908	1.46 (0.56–2.37)	0.76 (0.12–5.82)	0.340

Вывод. Полученные данные указывают на то, что микроРНК-181a может регулировать экспрессию PTEN в опухоли эндометрия у пациенток без ожирения.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ, №15-15-30012.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гуляева Л.Ф., Пустыльняк В.О. Молекулярные основы развития патологических процессов. Пути передачи клеточного сигнала. От факторов роста к факторам транскрипции: учебно-методическое пособие. Новосибирск: НГУ, 2012. 60.
2. Salvesen H.B., Haldorsen I.S., Trovik J. Markers for individualised therapy in endometrial carcinoma. *Lancet Oncol.* 2012 Aug; 13(8): e353–61. doi: 10.1016/S1470-2045(12)70213-9.
3. Ding L., Chen S., Liu P., Pan Y., Zhong J., Regan K.M., Wang L., Yu C., Rizzardi A., Cheng L., Zhang J., Schmechel S.C., Chevillat J.C., Van Deursen J., Tindall D.J., Huang H. CBP loss cooperates with PTEN haploinsufficiency to drive prostate cancer: implications for epigenetic therapy. *Cancer Res.* 2014 Apr 1; 74(7): 2050–61. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-13-1659.
4. Maxwell G.L., Risinger J.I., Gumbs C., Shaw H., Bentley R.C., Barrett J.C., Berchuck A., Futreal P.A. Mutation of the PTEN tumor suppressor gene in endometrial hyperplasias. *Cancer Res.* 1998; 58(12): 2500–3.
5. Meng F., Henson R., Wehbe-Janek H., Ghoshal K., Jacob S.T., Patel T. MicroRNA-21 regulates expression of the PTEN tumor suppressor gene in human hepatocellular cancer. *Gastroenterology.* 2007 Aug; 133(2): 647–58. doi: 10.1053/j.gastro.2007.05.022.
6. Wang F., Li L., Chen Z., Zhu M., Gu Y. MicroRNA-214 acts as a potential oncogene in breast cancer by targeting the PTEN-PI3K/Akt signaling pathway. *Int J Mol Med.* 2016 May; 37(5): 1421–8. doi: 10.3892/ijmm.2016.2518.
7. Xia X., Zhang K., Luo G., Cen G., Cao J., Huang K., Qiu Z. Downregulation of miR-301a-3p sensitizes pancreatic cancer cells to gemcitabine treatment via PTEN. *Am J Transl Res.* 2017 Apr 15; 9(4): 1886–1895.
8. Xia X., Li Y., Wang W., Tang F., Tan J., Sun L., Li Q., Sun L., Tang B., He S. MicroRNA-1908 functions as a glioblastoma oncogene by suppressing PTEN tumor suppressor pathway. *Mol Cancer.* 2015 Aug 12; 14: 154. doi: 10.1186/s12943-015-0423-0.

СРАВНЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ СОВМЕЩЕННОЙ ¹⁸F-ФДГ-ПОЗИТРОННО-ЭМИССИОННОЙ КОМПЬЮТЕРНОЙ ТОМОГРАФИИ И ¹³¹I-СЦИНТИГРАФИИ ВСЕГО ТЕЛА В ВЫЯВЛЕНИИ ПРОГРЕССИРОВАНИЯ ДИФФЕРЕНЦИРОВАННОГО РАКА ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Т.М. Гелиашвили¹, А.В. Важенин², Т.П. Березовская¹, Н.Г. Афанасьева², Е.Б. Васильева²

Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал Федерального государственного бюджетного учреждения «Научный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Обнинск, Россия¹
ГБУЗ «Челябинский областной клинический центр онкологии и ядерной медицины», г. Челябинск, Россия²

Аннотация

В России до настоящего времени отсутствовали исследования, посвященные изучению возможностей применения ПЭТ/КТ при ДРЩЖ. **Целью исследования** является установление роли ПЭТ/КТ в выявлении прогрессирования ДРЩЖ в процессе радиойодтерапии с помощью сравнительного анализа эффективности ПЭТ/КТ со ¹³¹I-СВТ. Проведен ретроспективный анализ результатов 120 ПЭТ/КТ и ¹³¹I-СВТ исследований 82 больных ДРЩЖ, находящихся на различных этапах радиойодтерапии. **Результаты.** ПЭТ/КТ обладает высокой чувствительностью (89 %) и превосходит ¹³¹I-СВТ в выявлении прогрессирования опухоли. В специфичности статистически значимой разницы между двумя методами не обна-

ружено. В 52 % случаев ПЭТ/КТ выявляет дополнительные к ^{131}I -СВТ метастатические очаги. ПЭТ/КТ одинаково хорошо выявляет все виды прогрессирования (изолированное, сочетанное) и превосходит ^{131}I -СВТ. ПЭТ/КТ позволяет обнаружить ФДГ-позитивные метастазы вне зависимости от накопления радиойода по ^{131}I -СВТ и оптимизирует лечебную тактику на любом этапе радиойодтерапии. **Выводы.** Включение ПЭТ/КТ в диагностический алгоритм обследования больных ДРЩЖ на этапе комплексного лечения с высокой точностью (85 %) позволяет выявить или исключить прогрессирование опухоли. ПЭТ/КТ в комбинации со ^{131}I -СВТ оптимизирует лечебную и диагностическую тактику.

Ключевые слова: ^{18}F -ФДГ-ПЭТ/КТ (ПЭТ/КТ), дифференцированный рак щитовидной железы (ДРЩЖ), ^{131}I -сцинтиграфия всего тела (СВТ), прогрессирование.

COMPARISON OF THE DIAGNOSTIC VALUES OF ^{18}F -FDG-PET/CT AND ^{131}I WHOLE-BODY SCINTIGRAPHY IN THE DETECTION OF DIFFERENTIATED THYROID CANCER PROGRESSION

T.Geliashvili¹, A.Vazhenin², T.Berezovskaya¹, N.Afanasyeva², E.Vasil'eva²

A. Tsyb Medical Radiological Research Center – branch of the National Medical Research Radiological Center of the Ministry of Health of the Russian Federation, Obninsk, Russia¹
Chelyabinsk Regional Clinical Center of Oncology and Nuclear Medicine, Russian Federation, Chelyabinsk, Russia²

Abstract

Purpose of study is to compare the diagnostic efficacy of ^{18}F -FDG-PET/CT (PET/CT) and ^{131}I -whole body scintigraphy (WBS) in the detecting of differentiated thyroid cancer (DTC) progression. **Material.** The results of 120 PET/CT and 120 WBS studies in 82 DTC patients. **Results.** PET/CT has a high sensitivity in detecting tumor progression (89 %) and superior to WBS, $p < 0,001$. PET/CT is superior in sensitivity and accuracy to WBS with similar specificity in detection of DTC progression. PET/CT revealed more metastases (both local and distant) compared with ^{131}I -WBS. Combination PET/CT+WBS changed the management in 55 % of cases. Inclusion of PET/CT to diagnostic algorithm of DTC patients allowed detection of metastases in 85 % of cases. PET/CT and ^{131}I -WBS provides complementary structural and metabolic information of great importance, combination of these diagnostic tools significantly improves the diagnostic accuracy.

Key words: ^{18}F -FDG-PET/CT (PET/CT), differentiated thyroid cancer (DTC), ^{131}I -whole body scintigraphy (WBS), progression.

Актуальность. Заболеваемость раком щитовидной железы увеличивается во всем мире в основном за счет роста дифференцированных форм (ДРЩЖ) [1]. Большинство больных с ДРЩЖ имеют хороший прогноз, смертность от болезни не превышает 10 %. Однако почти у одной трети больных в течение жизни диагностируется прогрессирование опухолевого процесса, что значительно ухудшает прогноз заболевания [2]. Одним из самых важных диагностических инструментов при мониторинге комплексного лечения и динамическом наблюдении больных с ДРЩЖ считается сцинтиграфия всего тела с ^{131}I (^{131}I -СВТ) [3]. Помимо наблюдений первичной радиойодрезистентности, в 25–66 % наблюдений очаги опухоли либо изначально не обладают способностью к накоплению радиоактивного йода, либо теряют ее в процессе лечения [4,5], что делает невозможным использование ^{131}I в диагностических и лечебных целях. Поэтому при подозрении на рецидив ДРЩЖ с повышенным уровнем онкомаркера и при негативном радиойодскане встает вопрос о дальнейших диагностических мероприятиях. Большое количество исследований, ежегодно публикующихся в мировой научной литературе, свидетельствует о неугасающем интересе клиницистов к ПЭТ/КТ как к перспективному направлению дополнительной к ^{131}I -СВТ визуализации ДРЩЖ, и все чаще обсуждаются новые показания к назначению ПЭТ/КТ при данной опухоли [6, 7]. В России до настоящего времени отсутствовали исследования, посвященные изучению возможностей применения ПЭТ/КТ при ДРЩЖ. **Цель исследования** – определить роль ПЭТ/КТ в выявлении прогрессирования ДРЩЖ в процессе радиойодтерапии с помощью сравнительного анализа со ^{131}I -СВТ. **Материал и методы.** Проведен ретроспективный анализ результатов 120 ПЭТ/КТ и ^{131}I -СВТ исследований 82 больных ДРЩЖ, находящихся на различных этапах радиойодтерапии. Материал собран на базе ГБУЗ «Челябинский областной клинический центр онкологии и ядерной медицины» за период с 01.2011 г. по 06.2017 г. Критерии включе-

ния: 1. Больные ДРЦЖ, перенесшие хирургический этап лечения первичной или рецидивной опухоли и находящиеся в процессе второго этапа комплексного лечения – радиойодтерапии или в процессе динамического диагностического ^{131}I -СВТ обследования. 2. Подозрение на наличие йод-нечувствительных метастатических очагов опухоли на основе сопоставления данных ^{131}I -СВТ, уровня онкомаркеров (ТГ/АТкТГ) и дополнительных методов обследования. Сканирование всего тела после терапевтической или диагностической активностей ^{131}I выполнялось на одноканальной гамма-камере в режиме «все тело» («whole body») в 2 проекциях – передней и задней. Дополнительно проводилось сканирование проекции шеи в статическом режиме («thyroid»). Для исследования были использованы результаты уровня онкомаркеров и данные терапевтической или диагностической ^{131}I -СВТ, которые были получены на ближайшем, но не превышающем интервал 6 мес, к ПЭТ/КТ курсе радиойодтерапии или радиойоддиагностики. ПЭТ/КТ проводилась на позитронно-эмиссионном томографе, совмещенном с 16-срезовым компьютерным томографом, Biograph 40 и 64, с использованием радиофармпрепарата «Фтордезоксиглюкоза, ^{18}F , раствор для внутривенного введения». Проводился стандартный для онкологических больных протокол в режиме обследования «всего тела» – от мочки уха до уровня верхней трети бедра. В задачи ПЭТ/КТ исследования входило исключение или подтверждение рецидива и/или генерализации процесса. Результаты ПЭТ/КТ верифицировались данными гистологических или цитологических исследований, а также данными других диагностических исследований, которые либо предшествовали ПЭТ/КТ, либо выполнялись приЦельно в соответствии с данными ПЭТ/КТ и ^{131}I -СВТ исследований. Статистический анализ полученных результатов основывался на оценке значимости различий показателей диагностической эффективности сравниваемых методов диагностики (ПЭТ/КТ и ^{131}I -СВТ) с использованием χ^2 МакНемара с отсутствием значимости при уровне $p < 0,05$.

Результаты. В диагностике прогрессирования ДРЦЖ чувствительность, специфичность, точность, прогностическая значимость положительного результата и отрицательного результата для ПЭТ/КТ составили 89, 72, 85, 92 и 62 % соответственно. Для ^{131}I -СВТ эти же показатели диагностической эффективности составили 56; 88; 62,5; 95 и 34 % соответственно. ПЭТ/КТ обладает высокой чувствительностью в выявлении прогрессирования опухоли (88 %) и статистически достоверно превосходит ^{131}I -СВТ, $p < 0,001$. Прогностическая ценность отрицательного результата ПЭТ/КТ также значительно превосходит таковую ^{131}I -СВТ (62 % против 34 % соответственно). Следовательно, по отрицательному результату ПЭТ/КТ более уверенно можно опровергнуть наличие прогрессирования опухоли, чем по отрицательному результату ^{131}I -СВТ. В специфичности статистически значимой разницы между двумя методами обнаружено не было, $p > 0,05$. Прогностическая ценность положительного результата ПЭТ/КТ и ^{131}I -СВТ также оказалась схожей – 92 % и 95 % соответственно. Следовательно, по положительным результатам ПЭТ/КТ и ^{131}I -СВТ с одинаковой уверенностью можно утверждать о наличии прогрессирования процесса (табл. 1).

В 64 % случаев (77/120) результаты ПЭТ/КТ и ^{131}I -СВТ противоречили друг другу: в 41 % случаев выявлены дополнительные ПЭТ/КТ-очаги, не визуализируемые по ^{131}I -СВТ; в 12 % – дополнительные ^{131}I -СВТ-очаги, не визуализируемые по ПЭТ/КТ; и в 11 % – сочетание дополнительных ПЭТ/КТ и ^{131}I -СВТ очагов. Окончательное определение распространенности заболевания показало, что в 46 % случаев противоречивых результатов распространенность прогрессирования корректно определена по ПЭТ/КТ, в 7 % случаях – по данным ^{131}I -СВТ, в 2,5% – благодаря взаимодополняющей информации ПЭТ/КТ и ^{131}I -СВТ. В 13 % случаев результаты ПЭТ/КТ оказались ложноотрицательными (у 11 больных распространенность опухоли была занижена) и ложноположительными (у 5 больных распространенность опухоли была завышена).

Выявлены следующие виды прогрессирования опухолевого процесса: в 34 % случаев (32/95) – изолированное локорегионарное рецидивирование (рецидив), в 36 % случаев (34/95) – изолированное отдаленное метастазирование, в остальных 30 % (29/95) – сочетание рецидива с отдаленными метастазами. Хотя и сочетанное метастатическое поражение выявлялось несколько хуже, чувствительность ПЭТ/КТ в выявлении всех видов прогрессирования оказалась высокой, и статистически значимой разницы выявлено не было, $p > 0,05$. По ^{131}I -СВТ в диагностике между разными видами прогрессирования, в отличие от ПЭТ/КТ, обнаружена статистически значимая разница ($p < 0,05$). Лучше всего по ^{131}I -СВТ выявлялись изолированные отдаленные метастазы. ПЭТ/КТ превосходила ^{131}I -СВТ в диагностике всех трех видов прогрессирования, разница оказалась статистически достоверной, $p < 0,05$ (табл. 2).

Для ответа на вопрос: обязательно ли наличие полного негативного радиойодскана для назначения ПЭТ/КТ, проведен поиск взаимосвязи эффективности применения данного метода от наличия или отсутствия накопления радиойода на ^{131}I -СВТ. Истинно-положительный результат ПЭТ/КТ и дополнительные ПЭТ/КТ-очаги диагностированы в 62 % (26/42) случаев полного негативного радиойодскана. В группе же из 78 больных с разным характером и степенью гиперфиксации ^{131}I в 76 % обнаружен истинно-положительный результат ПЭТ/КТ; в 40 % обнаружены дополнительные ПЭТ/КТ-очаги. Лечебная тактика на основе выявленных дополнительных ПЭТ/КТ-очагов в первой группе (с негативным ^{131}I -СВТ-сканом) изменилась в 62 % случаев, во второй группе (с позитивным ^{131}I -СВТ сканом) – лишь в 36 % случаев. Статистически достоверной разницы между группами в выявлении положительного результата ПЭТ/КТ обнаружено не было ($p>0,05$). Однако дополнительные ПЭТ/КТ-очаги и изменение лечебной тактики чаще наблюдались в группе с негативным радиойодсканом ($p<0,05$) (табл. 3).

Таблица 1

Сравнительная эффективность ПЭТ/КТ и ^{131}I -СВТ в выявлении прогрессирования ДРЦЖ

Метод исследования n=120	ИП	ИО	ЛП	ЛО	Ч %	С %	Т %	ПЦПР %	ПЦОР %
ПЭТ/КТ	84	18	7	11	89	72	85	92	62
^{131}I -СВТ	53	22	3	42	56	88	62,5	95	34
p					<0,001	>0,05		>0,05	>0,05

Примечание: ИП – истинно-положительный результат, ИО – истинно-отрицательный, ЛП – ложноположительный, ЛО – ложноотрицательный, Ч – чувствительность, С – специфичность, Т – точность, ПЦПР – прогностическая ценность положительного результата, ПЦОР – прогностическая ценность отрицательного результата.

Таблица 2

Сравнение чувствительности ПЭТ/КТ и ^{131}I -СВТ в диагностике разных видов прогрессирования ДРЦЖ

Локализация рецидива	Всего	ПЭТ/КТ n/%	^{131}I -СВТ n/%	Уровень значимости χ^2 -критерия МакНемара
Локорегионарный рецидив	32	28 / 87,5%	15 / 47%	$p<0,05$
Отдаленное метастазирование	34	29 / 85%	21 / 62%	$p<0,05$
Сочетание локорегионарного рецидива с отдаленными метастазами	29			
-оба рецидив ИП		20 / 69%	9 / 31%	$p<0,05$
-ИП+ЛО		7 / 24%	8 / 28%	
Всего	95	85	53	
Уровень значимости критерия χ^2		$p>0,05$	$p<0,05$	

Выводы. Включение ПЭТ/КТ в диагностический алгоритм обследования больных ДРЦЖ на этапе комплексного лечения с высокой точностью (85 %) позволяет выявить или исключить прогрессирование опухоли. Структурно-метаболическая информация ПЭТ/КТ и метаболические данные ^{131}I -СВТ имеют важное взаимодополняющее значение, комбинированное применение этих методов позволяет существенно повысить эффективность диагностики прогрессирования опухоли и в 55 % случаев меняет тактику лечения и наблюдения больного.

ЛИТЕРАТУРА

1. Davies L., Welch H.G. Current thyroid cancer trends in the United States. JAMA Otolaryngol Head Neck Surg. 2014 Apr; 140(4): 317–22. doi: 10.1001/jamaoto.2014.1.
2. Marcus C., Antoniou A., Rahmim A., Ladenson P., Subramaniam R.M. Fluorodeoxyglucose positron emission tomography/computerized tomography in differentiated thyroid cancer management: Importance of clinical justification and value in predicting survival. J Med Imaging Radiat Oncol. 2015 Jun; 59(3): 281–8. doi: 10.1111/1754-9485.12286.
3. de Meer S.G., Vriens M.R., Zelissen P.M., Borel Rinkes I.H., de Keizer B. The Role of Routine Diagnostic Radioiodine Whole-Body Scintigraphy in Patients with High-Risk Differentiated Thyroid Cancer. J Nucl Med. 2011 Jan; 52(1): 569. doi: 10.2967/jnumed.110.080697.
4. Schlumberger M., Brose M., Elisei R., Leboulleux S., Luster M., Pitoia F., Pacini F. Definition and management of radioactive iodine-refractory differentiated thyroid cancer. Lancet Diabetes Endocrinol. 2014 May; 2(5): 356–8. doi: 10.1016/S2213-8587-(13)70215-8.
5. Румянцев П.О., Фомин Д.К., Румянцева У.В. Критерии резистентности высокодифференцированного рака щитовидной железы к терапии радиоактивным йодом. Опухоли головы и шеи. 2014; 3: 4–9.

6. Haugen B.R., Alexander E.K., Bible K.C., Doherty G.M., Mandel S.J., Nikiforov Y.E., Pacini F., Randolph G.W., Sawka A.M., Schlumberger M., Schuff K.G., Sherman S.I., Sosa J.A., Steward D.L., Tuttle R.M., Wartofsky L. 2015 American Thyroid Association Management Guidelines for Adult Patients with Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Cancer: The American Thyroid Association Guidelines Task Force on Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Cancer. *Thyroid*. 2016 Jan; 26(1): 1–133. doi: 10.1089/thy.2015.0020.

7. Nascimento C., Borget I., Al Ghuzlan A., Deandreis D., Hartl D., Lumbroso J., Berdelou A., Lepoutre-Lussey C., Mirghani H., Baudin E., Schlumberger M., Leboulleux S. Postoperative fluorine-18-fluorodeoxyglucose positron emission tomography/computed tomography: an important imaging modality in patients with aggressive histology of differentiated thyroid cancer. *Thyroid*. 2015; 25: 437–444. doi: 10.1089/thy.2014.0320.

ВИЗУАЛИЗАЦИЯ СТОРОЖЕВЫХ ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛОВ ПРИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЯХ ГОЛОВЫ И ШЕИ С НОВЫМ РАДИОФАРМПРЕПАРАТОМ ^{99m}Tc-АЛОТЕХ

А.В. Гольдберг, Р.В. Васильев, Ю.В. Белевич

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

Аннотация

Целью работы являлась оценка диагностической эффективности нового радиофармпрепарата ^{99m}Tc-Алотех для выявления сторожевых лимфатических узлов (СЛУ) у пациентов с опухолями головы и шеи для рационального планирования объема оперативного вмешательства, обеспечивающего оптимальные функциональные и отдаленные результаты лечения. Показано, что применение ^{99m}Tc-Алотеха у пациентов с опухолями головы и шеи позволяет выявлять СЛУ с чувствительностью и специфичностью 100 %. ^{99m}Tc-Алотех характеризуется высоким уровнем аккумуляции в СЛУ, что облегчает его визуализацию, позволяет персонализировать лимфодиссекцию.

Ключевые слова: ^{99m}Tc-Алотех, СЛУ, опухоли головы и шеи, радионуклидная диагностика.

VISUALIZATION OF SENTINEL LYMPH NODES IN PATIENTS WITH HEAD AND NECK TUMORS USING ^{99m}Tc-ALOTEH

A.V. Goldberg, R.V. Vasilev, Yu.V. Belevich

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Science, Tomsk, Russia

Abstract

The **Aim** of the study was to evaluate the diagnostic efficacy of ^{99m}Tc-Alotekh, a new radiopharmaceutical used for the detection of sentinel lymph nodes (SLN) in patients with head and neck cancer. It was found that the use of ^{99m}Tc-Alotekh in head and neck cancer patients allowed identification of SLN with sensitivity and specificity of 100 %. ^{99m}Tc-Alotekh was characterized by a high level of accumulation in SLNs, thus allowing personalized lymphadenectomy to be performed.

Key words: ^{99m}Tc-Alotekh, SLN, head and neck tumors, radionuclide diagnosis.

Актуальность. Злокачественные опухоли гортани и гортаноглотки занимают 1-е место среди новообразований головы и шеи. Вследствие скрытого клинического течения, сложностей анатомо-топографического строения, инфильтративного характера роста, трудностей диагностики и позднего обращения пациентов онкологи чаще встречаются с запущенными стадиями. При этом выбор адекватной тактики лечения и показатели выживаемости при раке гортани и гортаноглотки в значительной мере зависят от точности диагностики как первичной опухоли, так и регионарной распространенности процесса [1].

Частота метастазов в регионарные лимфатические узлы достигает 30 %, даже при отрицательных клинических данных об их поражении у пациентов, поступающих для проведения специализированного лечения [2].

Сегодня не существует метода, способного безошибочно и с полной достоверностью выявлять регионарные метастазы на доклиническом этапе их развития. Существующие

методы исследования (МРТ, КТ, УЗИ) не могут дать четкого ответа о наличии метастазов в лимфатических узлах [3].

В середине XX века была обоснована концепция «сторожевых лимфатических узлов». «Сторожевые» лимфатические узлы (СЛУ) представляют собой первые лимфоузлы, к которым оттекает лимфа от злокачественной опухоли. Фильтруя афферентную лимфу, они становятся «капканом» для злокачественных клеток, поэтому биопсия СЛУ является объективным диагностическим критерием распространения злокачественного процесса. Полагают, что если СЛУ не поражены метастатическим процессом, то все остальные регионарные лимфоузлы интактны [4]. В настоящее время в онкологии широко обсуждается вопрос о возможности выявления так называемых сторожевых лимфатических узлов на дооперационном этапе при опухолях различной локализации [5]. Методы радионуклидной индикации нашли широкое применение в диагностике неврологических, кардиологических и онкологических заболеваний, а также для выявления СЛУ [6–11]. В связи с этим, учитывая отсутствие зарегистрированных в Российской Федерации препаратов для визуализации СЛУ, в НИИ онкологии Томского НИМЦ и Томском политехническом университете в рамках проекта № 16.N08.12.1011 «Доклинические исследования нового лимфотропного радиофармацевтического препарата на основе меченного технецием-99m гамма-оксида алюминия» (ФЦП «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности Российской Федерации на период до 2020 года и дальнейшую перспективу») был разработан оригинальный РФП на основе меченного технецием-99m гамма-оксида алюминия ($^{99m}\text{Tc}-\text{Al}_2\text{O}_3$) [12].

Предварительные экспериментальные исследования убедительно доказали, что этот инновационный радиофармпрепарат в 5 раз активнее накапливается в СЛУ и по своим потребительским свойствам превосходит зарубежные аналоги, такие как коллоидный сульфид рения ($^{99m}\text{Tc}-\text{Nanocis}$, CIS bio International), основным недостатком которого является невысокий уровень аккумуляции в СЛУ и перераспределение в лимфатические узлы 2-го и 3-го порядков [13].

Целью исследования являлась оценка диагностической эффективности нового радиофармпрепарата ^{99m}Tc -Алотех для выявления сторожевых лимфатических узлов (СЛУ) у пациентов с опухолями головы и шеи для рационального планирования объема оперативного вмешательства, обеспечивающего оптимальные функциональные и отдаленные результаты лечения.

Материал и методы. В исследование включен 21 больной, находившийся на стационарном лечении в отделении опухолей головы и шеи НИИ онкологии Томского НИМЦ. Для визуализации сторожевых лимфатических узлов вводился ^{99m}Tc -Алотех, инъекции выполнялись в 2 точках (в дозе 20 МБк в каждой инъекции) субмукозно по периметру опухоли.

Пациентам проводилась однофотонная эмиссионная компьютерная томография (ОЭКТ) области шеи на гамма-камере (E.CAM 180, Siemens) через 3 и 18 ч после введения радиоколлоида. Результаты исследования оценивались визуально, кроме того, проводился подсчет интенсивности включения РФП в СЛУ в сравнении с местом введения. Для улучшения топографической локализации выполнялось совмещение результатов ОЭКТ и КТ.

Интраоперационно выявление сторожевых лимфатических узлов осуществлялось при помощи гамма-зонда Gamma Finder II® (США), путем тщательного измерения уровня гамма-излучения в проекции лимфатических коллекторов, затем СЛУ оперативно удалялся и отправлялся на гистологическое исследование.

Диагностическая эффективность метода рассчитывалась по стандартным критериям: чувствительность, специфичность, точность, в соответствии с рекомендациями научной группы ВОЗ (Женева, 1992).

Результаты. Однофотонная эмиссионная компьютерная томография области шеи и интраоперационная (радиометрическая) детекция позволили выявить сторожевые лимфатические узлы у всех пациентов. Таким образом, чувствительность метода определения СЛУ составила 100 %. У 18 (85,7 %) пациентов визуализировался 1 сторожевой лимфоузел, у 3 (14,3 %) – 2 СЛУ, расположенные билатерально. Наиболее часто, в 76,2 % случаев, сторожевой лимфатический узел располагался в III уровне регионарного лимфооттока.

Интенсивность включения ^{99m}Tc -Алотех в СЛУ при ОЭКТ через 18 ч после введения составляла $8,3 \pm 7,5$ % от места введения, при радиометрии – $12,7 \pm 8,8$ %.

Применение мультимодальной методики, заключающейся в совмещении результатов ОЭКТ и КТ, позволило акцентировать хирургов на анатомическую локализацию сторожевого лимфатического узла.

При анализе результатов гистологического исследования удаленных лимфатических узлов не было выявлено метастатического поражения ни сторожевых лимфоузлов, ни других лимфатических узлов шеи. Таким образом, специфичность метода составила 100 %.

Заключение. Применение радиофармпрепарата ^{99m}Tc-Алотех у пациентов с опухолями головы и шеи позволяет выявлять сторожевые лимфатические узлы с чувствительностью и специфичностью 100 %. ^{99m}Tc-Алотех характеризуется высоким уровнем аккумуляции в СЛУ, что облегчает его визуализацию, позволяет персонализировать лимфодиссекцию.

ЛИТЕРАТУРА

1. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Состояние онкологической помощи населению России в 2017 году. М., 2018. 18–29.
2. Медведева А.А., Чернов В.И., Зельчан Р.В., Синилкин И.Г., Фролова И.Г., Чижевская С.Ю., Чойнзонов Е.Л., Черемисина О.В., Гольдберг А.В. Радионуклидные методы исследования в диагностике рака гортани и гортаноглотки. Сибирский онкологический журнал. 2017; 16(6): 57–66.
3. Марченко М.Г., Трофимов Е.И., Виноградов В.В. Современные методы выявления метастазов рака гортани и гортаноглотки в лимфатические узлы. Российская оториноларингология. 2011; 1: 114–117.
4. Фролова И.Г., Чойнзонов Е.Л., Гольдберг В.Е., Чижевская С.Ю., Чернов В.И., Гольдберг А.В., Белевич Ю.В. Лучевые методы исследования в комплексной диагностике лимфогенного метастазирования у больных раком гортани и гортаноглотки. Сибирский онкологический журнал. 2018; 17(3): 101–108.
5. Синилкин И.Г., Чернов В.И., Коломиец Л.А., Слонимская Е.М., Медведева А.А., Зельчан Р.В., Чернышова А.Л., Дорошенко А.В., Ляпунов А.Ю. Первый опыт клинического применения нового отечественного радиофармпрепарата ^{99m}Tc-гамма-оксида алюминия для визуализации сторожевых лимфатических узлов при злокачественных новообразованиях. Медицинская визуализация. 2016; 2: 57–62.
6. Ефимова Н.Ю., Чернов В.И., Ефимова И.Ю., Афанасьева Н.Л., Лишманов Ю.Б. Когнитивные дисфункции и состояние мозгового кровообращения у больных артериальной гипертензией: возможности медикаментозной коррекции. Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2008; 11(108): 10–15.
7. Карпов Р.С., Павлюкова Е.Н., Врублевский А.В., Чернов В.И., Усов В.Ю. Современные методы диагностики коронарного атеросклероза. Бюллетень Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. 2006; 2(26): 105–117.
8. Лишманов Ю.Б., Чернов В.И., Кривоногов Н.Г., Ефимова И.Ю., Веснина Ж.В., Завадовский К.В., Минин С.М., Сазонова С.И., Скуридин В.С., Панькова А.Н., Саушкин В.В., Ильющенкова Ю.Н., Ефимова Н.Ю. Радионуклидные методы исследования в диагностике сердечно-сосудистых заболеваний. Сибирский медицинский журнал. 2010; 41(25): 8–13.
9. Чернов В.И., Гарганеева А.А., Веснина Ж.В., Лишманов Ю.Б. Перфузионная сцинтиграфия миокарда в оценке результатов курсового лечения триметазидином больных ишемической болезнью сердца. Кардиология. 2001; 8(41): 14–16.
10. Чернов В.И., Медведева А.А., Синилкин И.Г., Зельчан Р.В., Брагина О.Д., Чойнзонов Е.Л. Ядерная медицина в диагностике и адресной терапии злокачественных новообразований. Бюллетень сибирской медицины. 2018; 17(1): 220–231.
11. Чернов В.И., Дудникова Е.А., Гольдберг В.Е., Кравчук Т.Л., Данилова А.В., Зельчан Р.В., Медведева А.А., Синилкин И.Г., Брагина О.Д., Попова Н.О., Гольдберг А.В. Позитронная эмиссионная томография в диагностике и мониторинге лимфопролиферативных заболеваний. Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2018; 6(63): 41–50.
12. Chernov V.I., Sinilkin I.G., Zelchan R.V., Medvedeva A.A., Lyapunov A.Yu., Bragina O.D., Varlamova N.V., Skuridin V.S. Experimental study of ^{99m}Tc-aluminum oxide use for sentinel lymph nodes detection. AIP Conference Proceedings. 2016; 020012020012-5.
13. Чернов В.И., Медведева А.А., Синилкин И.Г., Зельчан Р.В., Брагина О.Д., Скуридин В.С. Инновационные радиофарм-препараты для онкологии: разработки Томского национального исследовательского медицинского центра. Злокачественные опухоли. 2017; 7(3(1)): 52–56.

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ПРЕОПЕРАЦИОННОЙ НУТРИТИВНОЙ ПОДДЕРЖКИ НА ТЕЧЕНИЕ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОГО ПЕРИОДА У БОЛЬНЫХ РАКОМ ЖЕЛУДКА

Е.А. Горбунова^{1,2}, Д.М. Гасанова¹, А.Р. Караханян¹, Я.А. Янкина¹

ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России, г. Красноярск, Россия¹
 КГБУЗ «Красноярский краевой клинический онкологический диспансер им. А.И. Крыжановского», г. Красноярск, Россия²

Аннотация

Представлены результаты влияния предоперационной нутритивной поддержки на непосредственные результаты хирургического лечения рака желудка. В исследование включено 250 больных раком желудка, оперированных по поводу данного заболевания в период с 2016 по 2018 г. Произведена оценка нутритивного статуса 250 пациентов с диагнозом рак желудка с использованием скрининговой шкалы NRS 2002 (Nutritional Risk Screening 2002). В анализах крови пациентов определяли уровень общего белка (г/л), альбумина (г/л), абсолютных лимфоцитов (количество клеток в мл³). Определен индекс массы тела у всех обследуемых больных. Пациенты были распределены на 2 группы, в группе сравнения (50 человек) пациенты получали нутритивную поддержку методом энтерального питания сбалансированными гиперкалорическими смесями в течение 7–14 дней до оперативного лечения. В контрольной группе (200 человек) пациентам после уточнения диагноза сразу проводилось оперативное лечение. Проанализирована взаимосвязь между длительностью предоперационной нутритивной поддержки и развитием послеоперационных осложнений. Оценка нутритивного статуса у пациентов с впервые диагностированным раком желудка позволяет определить степень нутритивной недостаточности и необходимость ее своевременной коррекции. Неадекватная нутритивная поддержка (менее 7

дней) не улучшает непосредственные результаты хирургического лечения рака желудка. Для оценки нутритивного статуса у больных раком желудка, которым планируется оперативное лечение, необходимо использовать специальные рекомендуемые скрининговые шкалы.

Ключевые слова: рак желудка, нутритивный статус, нутритивная поддержка, оперативное лечение, послеоперационные осложнения.

EVALUATION OF THE EFFECT OF PREOPERATIVE NUTRITIONAL SUPPORT ON THE COURSE OF THE POSTOPERATIVE PERIOD IN PATIENTS WITH GASTRIC CANCER

E.A. Gorbunova^{1,2}, D.M. Gasanova¹, A.R. Karahanyan¹, Y.A. Yankina¹

Krasnoyarsk State Medical University named after professor V. F. Voyno-Yasenetsky, Krasnoyarsk, Russia¹
Krasnoyarsk Regional Clinical Oncology Centre named after A. I. Kryzhanovskiy, Krasnoyarsk, Russia²

Abstract

The article presents the results of the influence of preoperative nutritional support on the immediate results of surgical treatment of gastric cancer. The study included 250 patients with gastric cancer operated for this disease in the period from 2016 to 2018. The nutritional status of 250 patients diagnosed with gastric cancer was assessed using the NRS 2002 screening scale (Nutritional Risk Screening 2002). The levels of total protein (g/l), albumin (g/l), absolute lymphocytes (the number of cells in ml³) were determined in the blood tests of patients. Body mass index was determined in all examined patients. Patients were divided into 2 groups, in the comparison group (50 people) patients received nutritional support by enteral nutrition with balanced hypercaloric mixtures for 74 days before surgery. In the control group (200 people), patients after the diagnosis immediately underwent surgical treatment. The relationship between the duration of preoperative nutritional support and the development of postoperative complications was analyzed. Evaluation of nutritional status in patients with newly diagnosed gastric cancer allowed determination of the degree of nutritional deficiency and the need for its timely correction. Inadequate nutritional support (less than 7 days) did not improve the immediate results of surgical treatment of gastric cancer. To assess the nutritional status of patients with gastric cancer, it is necessary to use special recommended screening scales.

Key words: gastric cancer, nutritional status, nutritional support, surgical treatment, postoperative complications.

Актуальность. Рак желудка является одной из самых распространенных злокачественных опухолей человека. Ежегодно в мире регистрируется около 1 миллиона новых случаев заболевания. В структуре общей онкологической заболеваемости занимает 5-е место, в структуре смертности от онкологических заболеваний – 3-е место [1]. Хирургическое лечение на данный момент по-прежнему является основным радикальным методом лечения рака желудка [2].

По мере прогрессирования заболевания у большинства больных (около 75–80 %, по данным различных авторов) развивается нутритивная недостаточность [3], что приводит к снижению общей выживаемости, ухудшению непосредственных и отдаленных результатов хирургического лечения, развитию послеоперационных осложнений, снижению эффективности химиотерапии, ухудшению качества жизни пациентов [4, 5]. Своевременная оценка нутритивного статуса и его адекватная коррекция могут значительно улучшить результаты лечения больных раком желудка [6, 7].

Цель исследования – изучение влияния предоперационной нутритивной поддержки на непосредственные результаты хирургического лечения у больных раком желудка.

Материал и методы. Исследование проводилось на базе КГБУЗ «Красноярский краевой клинический онкологический диспансер им. А.И. Крыжановского» (КККОД) с 2016 по 2018 г. У всех обследуемых пациентов было получено информированное согласие на участие в исследовании. Первичную оценку нутритивного статуса проводили на этапе обследования пациентов в поликлинике КККОД по шкале NRS 2002 (Nutritional Risk Screening 2002). В анализах крови определяли уровень общего белка (г/л), альбумина (г/л), абсолютных лимфоцитов (количество клеток в мл³). Пациенты были распределены на 2 группы, в группе сравнения (50 человек) пациенты получали нутритивную поддержку методом энтерального питания в течение 7–14 дней до оперативного лечения. В контрольной группе (200 человек)

пациентам после уточнения диагноза сразу проводилось оперативное лечение. Последующую оценку нутритивного статуса проводили на 7-е сут после операции и перед выпиской из стационара. В группе сравнения оценку питательного статуса также осуществляли после нутритивной поддержки.

Анализ полученных данных проводили с использованием программы Statistica 6.0. Количественные результаты представлены в виде медианы (Me) с интерквартильным размахом [25–75 перцентилей], среднего арифметического, стандартного отклонения, данные качественных признаков – в виде абсолютных значений, процентных долей.

Результаты. В исследование включено 250 больных раком желудка, 123 мужчины (49,2 %) и 127 (50,8 %) женщин в возрасте от 28 до 85 лет. Средний возраст обследуемых пациентов 61,3±10,5 лет. По стадиям заболевания пациенты распределились следующим образом: I стадия диагностирована у 68 (27,2 %) пациентов, II – у 56 (22,4 %), III – у 69 (27,6 %), IV – у 57 (22,8 %) соответственно.

При гистологическом исследовании у 191 пациента (76,4 %) выявлена аденокарцинома различной степени дифференцировки.

У 63 (25,2 %) пациентов имело место незначительное снижение массы тела – от 1 до 5 кг в течение 6 мес. У 58 пациентов (23,2 %) жалоб на потерю в весе не было. У большинства пациентов – у 129 (51,6 %) человек – потеря массы тела составила от 6 до 28 кг за 6 мес.

У 22 больных (8,8 %) была диагностирована дисфагия.

Всем обследуемым был определен индекс массы тела (ИМТ). Данные по распределению больных раком желудка в зависимости от индекса массы тела представлены в табл. 1.

Таблица 1

Распределение больных раком желудка в зависимости от ИМТ (ВОЗ, 1997)

Категории ИМТ	n	%
Недостаточная (дефицит) масса тела (16–18,5)	11	4,4
Нормальная масса тела (18,5–24,99)	90	36
Избыточная масса тела (25–29,9)	89	35,6
Ожирение (более 30)	60	24

У большинства обследуемых пациентов имеет место повышение значение ИМТ, несмотря на снижение массы тела в анамнезе.

При первичной оценке нутритивного статуса недостаточность питания выявлена у 91 (36,4 %) пациента. Результаты представлены в табл. 2.

Таблица 2

Распределение больных раком желудка в зависимости от степени нутритивной недостаточности (Nutritional Risk Screening 2002)

Степень нутритивной недостаточности	Количество пациентов	%
Нет нутритивной недостаточности	159	63,6
Легкая степень нутритивной недостаточности	65	26
Умеренная степень нутритивной недостаточности	20	8
Тяжелая степень нутритивной недостаточности	6	2,4

После первичной оценки нутритивного статуса 50 (20 %) пациентов получали нутритивную поддержку в виде сбалансированных гиперкалорических энтеральных питательных смесей методом сипинга в течение 7–14 дней.

Все обследуемые пациенты были оперированы. Радикальное вмешательство было выполнено 199 (79,6 %) пациентам, паллиативные и диагностические операции – 67 (26,8 %) и 51 (20,4 %) пациенту соответственно. Симультаные операции были выполнены 73 (29,2 %) пациентам.

В послеоперационном периоде у 64 (25,6 %) пациентов были диагностированы послеоперационные осложнения. В группе контроля послеоперационные осложнения развились у 54 (27 %) пациентов, в группе сравнения – у 10 (20 %) пациентов. Количество дней предоперационной нутритивной поддержки в группе сравнения у пациентов с развитием послеоперационных осложнений не превышало 7 дней (100 %).

Выводы. У пациентов, которым проводилась нутритивная поддержка сбалансированными энтеральными гиперкалорическими смесями более 7 дней на дооперационном этапе, впоследствии не было выявлено послеоперационных осложнений.

Необходимо осуществлять оценку нутритивного статуса у всех пациентов с диагнозом рак желудка на этапе первичной установки диагноза. Адекватная и своевременная нутритивная поддержка в количестве не менее 7 дней до момента оперативного лечения способствует снижению развития послеоперационных осложнений, улучшению нутритивного статуса пациентов, что косвенно влияет на отдаленные результаты лечения.

ИМТ не всегда отражает статус питания пациентов, необходимо проводить оценку нутритивного статуса используя специальные рекомендуемые скрининговые шкалы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ferlay J., Soerjomataram I., Dikshit R., Eser S., Mathers C., Rebelo M., Parkin D.M., Forman D., Bray F. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012 [Internet]. URL: <http://globocan.iarc.fr>. (cited 1.02.2019).
2. Максимов М.О., Тузиков С.А., Стрижаков Г.Н., Родионов Е.О., Миллер С.В. Выбор хирургической тактики при проксимальном местнораспространенном раке желудка на основе пигментной лимфографии. Сибирский онкологический журнал. 2017; 2(16): 13–19.
3. Снеговой А.В., Салтанов А.И., Манзюк Л.В., Сельчук В.Ю. Нутритивная недостаточность у онкологических больных: принципы коррекции. Русский медицинский журнал. 2013; 1: 14–21.
4. Cheong A.O., Hoon K., Seung J.O., Min G.C., Jae Hyung N.T., Tae S.S., Jae M. B., Sung K. Nutritional risk index as a predictor of postoperative wound complications after gastrectomy. World J Gastroenterol. 2012; 18(7): 673–678.
5. Young-Gil S., In Gyu K., Seung Wan R. Assessment of nutritional status in laparoscopic gastrectomy for gastric cancer. Translational gastroenterology and hepatology. 2017; 2: 85.
6. Xuechao L., Haibo Q., Pengfei K., Zhiwei Z., Xiaowei S. Gastric cancer, nutritional status, and outcome. OncoTargets and Therapy. 2017; 10: 2107–2114.
7. Jie B., Jiang Z. M., Nolan M. T., Zhu S.N., Yu K., Kondrup J. Impact of preoperative nutritional support on clinical outcome in abdominal surgical patients at nutritional risk. Nutrition. 2012; 28(10): 1022–1027.

КЛАСТЕРНАЯ АМПЛИФИКАЦИЯ ГЕНА HER2 КАК МАРКЕР «ОСОБОЙ» ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К НЕОАДЪЮВАНТНОЙ АНТИ-HER2 ТЕРАПИИ ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ II–III СТАДИИ

О.О. Гордеева

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава РФ, г. Москва, Россия

Аннотация

Цель исследования – оценить влияние клинико-морфологических и генетических факторов на частоту достижения pCR у больных с HER2+ РМЖ II–III стадии. **Материал и методы.** Изучены результаты лечения 73 больных РМЖ II–III стадии (возраст 29–71, медиана – 51 год), получивших лечение в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» с 2015 по 2018 г. (НАХТ с анти-HER2 блокадой и радикальное хирургическое лечение с оценкой лечебного патоморфоза). Первично-операбельные стадии (T1–3N0–1) имели 45,2 % пациенток и местнораспространенные – 53,4 %. Степень анаплазии G2-3 была у всех больных, люминальный HER2положительный РМЖ был диагностирован у 41,1 %, Ki67≥20 % – у 91,5 % пациенток. НАХТ проведена с использованием антрациклин- содержащих или безантрациклиновых режимов с Трастузумабом ± Пертузумабом, радикальная мастэктомия выполнена 78,8 %, органосохраняющее лечение – 21,2 % женщин. Биопсийный материал, полученный до начала лечения, был повторно изучен; амплификация гена HER2 определялась с помощью набора HER2 IQFISH pharmDx (DAKO), согласно инструкции к набору и рекомендациям ASCO/CAP 2018. HER2+ статус в 87,1 % случаев соответствовал первой категории критериев ASCO/CAP 2018, кластерная амплификация гена HER2 выявлена в 30,1 % случаев. Была проанализирована частота достижения полного регресса (brCR и tpCR) при различных клинико-морфологических факторах и при различном уровне амплификации гена HER2. **Результаты.** Полный регресс в молочной железе (brCR) был отмечен у 57,4 %, полный ответ в молочной железе и в лимфоузлах (tpCR) – в 48,9 % случаев. Частота достижения brCR значимо зависела от возраста женщин, режима химиотерапии, добавления Пертузумаба и количества гена копий HER2 (<0,05). Максимальная частота достижения pCR отмечена у пациенток старше 50 лет (71,9 %, p=0,026); при применении режима TCH±P (80,0 %, p=0,045); при добавлении пертузумаба (88,9 %, p=0,049); при обнаружении кластерной амплификации (81 %, p=0,013). Кроме того, кластерная амплификация гена HER2 оказалась единственным значимым фактором-предиктором достижения полного регресса в первичной опухоли и лимфоузлах: при ее наличии частота tpCR достигла 68,8 %

vs 38,7 %. **Вывод.** Кластерная амплификация гена HER2 является наиболее значимым фактором «особой» чувствительности к анти-HER2 терапии при HER2+ РМЖ II–III стадии.

Ключевые слова: рак молочной железы, неoadъювантная терапия с анти-HER2 блокадой, факторы-предикторы достижения pCR, кластерная амплификация гена HER2.

HER2 CLUSTER AMPLIFICATION AS A FACTOR OF ESPECIAL SENSITIVITY TO ANTI-HER2 NEOADJUVANT THERAPY FOR STAGE IIIII BREAST CANCER

O.O. Gordeeva

Federal State Budgetary Institution «N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology» of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

Abstract

Aim of the study was to assess an impact of clinical, morphological and genetic factors on pCR achievement in patients with HER2-positive breast cancer (stage IIIII). **Material and Methods.** We studied treatment results in 73 patients with HER2-positive breast cancer (BC) of stage IIIII (aged 2971, median – 51 years), who were treated in “N.N. Blokhin NMRCO” between 2015 and 2018. All of the patients were treated with anti-HER2 therapy and radical surgery. Initially operable tumors were observed in 45.2 % of patients and locally advanced tumors in 53.4 % of patients. Luminal HER2-positive breast cancer was diagnosed in 41.1 % of women, Ki67 was high (≥ 20 %) in 91.5 % of patients. Neoadjuvant chemotherapy included anthracycline and non-anthracycline regimens with addition of Trastuzumab \pm Pertuzumab. Radical mastectomy was performed in 78.8 % of patients and breast-conserving surgery in 21.2 %. We studied biopsies obtained before starting the treatment, HER2 amplification was detected by HER2 IQFISH pharmDx (DAKO) kit in accordance with ASCO/CAP 2018 recommendations. In 87.1 % of patients, HER2+ status was defined as ASCO/CAP category 1. Cluster amplification was detected in 30.1 % of all causes. We analyzed the frequency of pathological complete response (bpCR and tpCR) depending on clinical, pathological characteristics and amplification of HER2. **Results.** bpCR was achieved in 57.4 % of patients and tpCR in 48.9 % of patients. The achievement of bpCR depended on age, chemotherapy regimen, addition of pertuzumab and HER2 copy number (< 0.05). pCR was noted most frequently in patients aged 50 and older (71.9 %, $p=0.026$); in patients, who received TCH \pm P regimen (80.0 %, $p=0.045$); with addition of pertuzumab (88.9 %, $p=0.049$); and if cluster amplification was detected (81 %, $p=0.013$). Cluster amplification was the only one significant predictive factor for achieving total response both in primary tumor and regional lymph nodes, tpCR with cluster amplification – 68.8 %, without – 38.7 %. **Conclusion.** Cluster amplification of HER2 is the most significant factor of especial sensitivity to anti-Her2 therapy in HER2-positive stage IIIII breast cancer.

Key words: breast cancer, neoadjuvant therapy with anti-HER2 blockade, pCR predictive factors, HER2 cluster amplification.

Актуальность. Рак молочной железы (РМЖ) устойчиво занимает лидирующие позиции в структуре заболеваемости и смертности от злокачественных новообразований [1]. HER2-положительный РМЖ является одним из наиболее агрессивных подтипов заболевания. Для пациентов с локализованным и местнораспространенным HER2-положительным РМЖ особую важность представляет назначение неoadъювантной химиотерапии (НАХТ) с анти-HER2 блокадой, поскольку при таком подходе вероятность достижения полного регресса (pCR) максимальна, что реализуется в высокие показатели отдаленной выживаемости [2, 3]. Поиск надежных предикторов высокого ответа опухоли на анти-HER2 терапию крайне необходим как с онкологических, так и с фармакоэкономических позиций. По данным метаанализа Cortazar et al., около 50 % больных имеют вероятность достижения полного регресса после неoadъювантного лечения с Трастузумабом [4]. Мы предположили, что чувствительность опухоли к анти-HER2 терапии может напрямую зависеть от количества копий гена HER2 и увеличение их числа (кластерная амплификация) может служить критерием «особой» чувствительности к анти-HER2 терапии. Возможно, именно эта группа больных не будет нуждаться в эскалации лечения на послеоперационном этапе, что позволит сократить токсичность лечения и финансовые расходы. **Цель исследования** – оценить влияние клинкоморфологических факторов, а также количества копий гена HER2 на частоту достижения полного патоморфоза у больных с HER2+ РМЖ II–III стадии. **Материал и методы.** Изучены

результаты лечения 73 больных РМЖ II–III стадии, получивших комплексное лечение в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» с 2015 по 2018 г. У всех пациенток был установлен HER2+ статус до начала лечения на основании данных ИГХ анализа – HER2+++ (у 82,2 % пациенток) или FISH-исследования – выявлена амплификация гена HER2 (17,8 %). Все пациентки на I-м этапе получили неoadъювантную химиотерапию в комбинации в Трастузумабом ± Пертузумабом, с последующим хирургическим лечением и оценкой степени лекарственного патоморфоза в первичной опухоли и регионарных метастазах. Возраст пациенток – от 29 до 71 года, средний возраст – 49,1, медиана – 51,5 года. Почти половина пациенток (48,6 %) были старше 51 года, 37,5 % были в возрасте от 36 до 50 лет, 13,9 % были моложе 35 лет. У 8,2 % пациенток размер опухоли соответствовал T1 стадии по классификации TNM (до 2,0 см), у 31,5 % – T2, у 15,1 % – T3 стадия, и 45,2 % пациенток имели стадию T4. Только у 15,1 % исходно не были поражены регионарные лимфоузлы, 41,1 % имели статус N1, 16,4 % – N2 и 27,4 % – N3. Таким образом, 45,2 % пациенток имели первично-операбельные стадии (T1–3N0–1) и 53,4 % – местнораспространенное заболевание. Все пациентки имели степень анаплазии опухоли G2–3; умереннодифференцированные карциномы были выявлены у 79,1 % и низкодифференцированные – у 20,9 % больных. Ki67 трактовался как высокий при показателях ≥ 20 % (у 91,5 % пациенток) и был низким (<20 %) всего у 8,5 % женщин. Люминальный HER2-положительный РМЖ был диагностирован у 41,1 % пациенток, в 58,9 % случаев опухоли были гормононегативными. Предоперационная системная терапия включала 2 варианта лечения: 1) антрациклин-содержащие режимы у 75,3 % больных (4АС + 4 × паклитаксел 175 мг/м²/12 × еженедельных введений паклитаксела 80 мг/м²; одновременно с введением таксанов проводилась терапия Трастузумабом 8 мг/кг (нагрузочная доза), далее 6 мг/кг 1 раз в 3 нед; 2) безантрациклиновый режим – у 24,7 % пациенток (доцетаксел 75 мг/м² 2 + карбоплатин АUC 6 + Трастузумаб 8 мг/кг (нагрузочная доза), далее 6 мг/кг 1 раз в 3 нед ± Пертузумаб 840 мг (нагрузочная доза), далее 420 мг 1 раз в 3 нед). После окончания НАХТ пациенткам выполнено оперативное лечение (радикальная мастэктомия – 78,8 %, органосохраняющее лечение – 21,2 %), с последующей оценкой степени лекарственного патоморфоза; полный регресс (pCR) трактовался как отсутствие инвазивного рака в молочной железе (bpCR) и в молочной железе и регионарных лимфоузлах (tpCR). Последующая адъювантная терапия (системная и/или лучевая) проводилась в соответствии с клиническими рекомендациями. Для выполнения генетического этапа исследования биопсийный материал, полученный до начала лечения (core-биопсия опухоли ± регионарных лимфоузлов), был повторно анализирован. Наличие или отсутствие амплификации гена HER2 проводилось с помощью набора HER2 IQFISH pharmDx (DAKO) и определялось по соотношению красных и зеленых сигналов в ядрах клеток, согласно инструкции к набору и рекомендациям ASCO/CAP 2018. HER2+ статус в 87,1 % случаев соответствовал первой категории критериев ASCO/CAP 2018 для HER2- положительного рака молочной железы, а именно: соотношение HER2/17 хромосомы $\geq 2,0$ и количество копий гена HER2 ≥ 4 сигналов/клетку); кластерная амплификация гена HER2 (существенное увеличение и тесное скопления меток гена HER2, которые образуют сливающиеся пятна) была выявлена в 30,1 % случаев (рис.1А-Б).

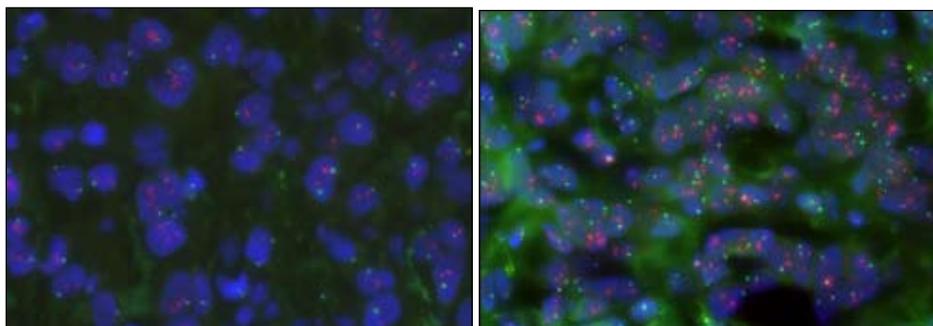


Рис. 1А-Б. Кластерная амплификация гена HER2: красные сигналы – ген HER2 (видно существенное увеличение и тесное скопления меток гена HER2, которые образуют сливающиеся пятна), зеленые сигналы – центромера 17 хромосомы

Были проанализированы частота достижения bpCR и tpCR при различных клинико-морфологических факторах, а также влияние уровня амплификации гена HER2 на частоту достижения полного регресса опухоли, расчеты проведены с использованием международной

статистической программы SPSS, версия 20.0, значения трактовались как статистически достоверные при показателях $p < 0,05$.

Результаты. Полный регресс опухоли молочной железы (brCR) был отмечен у 57,4 % пациенток, в 48,9 % случаев был зафиксирован полный регресс первичной опухоли и регионарных метастазов (trCR). Частота достижения brCR не коррелировала с такими факторами, как N-статус, стадия, степень злокачественности G, статус гормональных рецепторов и уровень Ki67. В противоположность этому отмечена зависимость частоты brCR от возраста женщин, режима химиотерапии, добавления Пертузумаба и количества гена копий HER2. Так, частота достижения brCR у пациенток моложе 35 лет, 36–50 лет и старше 50 лет была 22,2 %, 57,7 % и 71,9 % соответственно, $p=0,026$. Режим терапии также значимо влиял на эффективность лечения, максимальная частота brCR отмечена при применении режима TCH ± P – 80,0 %, при безантрациклиновых режимах – 52,8 %, $p=0,045$. Добавление пертузумаба на неоадьювантном этапе позволило получить высокую частоту полного регресса в молочной железе у 88,9 %, в то время как при применении Трастузумаба частота brCR составила 54,2 %, $p=0,049$, что полностью согласуется с международными данными [4]. Высокодостоверной оказалась зависимость достижения полного лечебного патоморфоза с кластерной амплификацией гена HER2 в первичной опухоли: частота brCR составила 81 % при ее обнаружении и 48,9 % – при ее отсутствии, $p=0,013$. Также были проанализированы факторы, влияющие на частоту достижения полного морфологического ответа в первичной опухоли и регионарных метастазах (trCR); единственным значимым фактором в этом анализе оказалось наличие кластерной амплификации гена HER2: при ее наличии частота trCR достигла 68,8 % против 38,7 %, другие факторы в данном анализе не достигли критериев достоверности. В свою очередь, кластерная амплификация достоверно чаще наблюдалась у пациенток с нелюминальным подтипом по сравнению с люминальными карциномами – 44,2 % vs 10,0 % ($p=0,002$). Кроме того, частота выявления кластерной амплификации уменьшалась при увеличении размеров первичной опухоли: T1 – 66,7 %, T2 – 34,8 %, T3 – 45,5 %, T4 – 15,5 % ($p=0,032$).

Выводы. Наличие кластерной амплификации гена HER2 является наиболее значимым фактором чувствительности к анти-HER2 терапии при РМЖ II–III стадии, ассоциируется с максимальной частотой достижения полного лечебного патоморфоза как в молочной железе, так и в регионарных метастазах. Дальнейшее изучение данного фактора может помочь оптимизации лечебного алгоритма при HER2+ РМЖ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2016 году (заболеваемость и смертность). М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России. 2018. 250.
2. Колядина И.В., Поддубная И.В. Современные возможности терапии HER2-положительного рака молочной железы (по материалам клинических исследований). Современная онкология. 2014; 16(4): 10–20.
3. Павлюкова О.А., Колядина И.В., Комов Д.В., Вишневская Я.В., Поддубная И.В. Факторы-предикторы достижения полного лекарственного патоморфоза при неоадьювантной химиотерапии первично-операбельного рака молочной железы. Современная онкология. 2017; 19(1): 24–29.
4. Cortazar P, Zhang L, Untch M, Mehta K, Costantino J.P, Wolmark N, Bonnefoi H, Cameron D, Gianni L, Valagussa P, Swain S.M, Prowell T, Loibl S, Wickerham D.L, Bogaerts J, Baselga J, Perou C, Blumenthal G, Blohmer J, Mamounas E.P, Bergh J, Semiglazov V, Justice R, Eidtmann H, Paik S, Piccart M, Sridhara R, Fasching P.A, Slaets L, Tang S, Gerber B, Geyer C.E.Jr, Pazdur R, Ditsch N, Rastogi P, Eiermann W, von Minckwitz G. Pathological complete response and long-term clinical benefit in breast cancer: the CTNeoBC pooled analysis. Lancet. 2014 Jul 12; 384(9938): 164–72.

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ СТИМУЛЯЦИЯ РЕПАРАТИВНОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ ТЕСТИКУЛЯРНОЙ ТКАНИ С ПОМОЩЬЮ АНТИОКСИДАНТНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ

В.А. Григорьева, С.И. Камалова, О.В. Коллантай

Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины им. Е.Д. Гольдберга, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия

Аннотация

В экспериментальной модели мужской инфертильности, вызванной повреждением сперматогониальных стволовых клеток, исследована возможность повышения численности клеточной популяции

сперматогоний с помощью антиоксидантного воздействия (мексидол). На основании количественного морфологического анализа установлено, что мексидол эффективно стимулирует процессы репаративной регенерации тестикулярной ткани, при повреждении источников пролиферативного пула сперматогенеза. Препарат превосходит по своей эффективности в данной модели другие виды фармакологического воздействия. Методом хемилюминесценции установлено, что эффективность антиоксиданта сопровождается снижением уровня свободно-радикальных процессов в тестикулярной ткани (до контрольных значений), рост которого сопровождает любое цитостатическое воздействие.

Ключевые слова: цитостатическая химиотерапия, мужская infertility, стволовые сперматогонияльные клетки, стимуляция пролиферации, мексидол.

PHARMACOLOGICAL STIMULATION OF REPARATIVE REGENERATION OF TESTICULAR TISSUE WITH ANTIOXIDANT EFFECTS

V.A. Grigorieva, S.I. Kamalova., O.V. Kollantay

Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

Abstract

In the experimental model of male infertility caused by damage to spermatogonial stem cells, the possibility of increasing the size of the cell population of spermatogonia using the antioxidant effect (Mexidol) was investigated. Based on a quantitative morphological analysis, it has been established that Mexidol effectively stimulates the processes of reparative regeneration of testicular tissue, if the sources of the proliferative pool of spermatogenesis are damaged. The drug is superior to other types of pharmacological effects in terms of its effectiveness. Using chemiluminescence, it has been established that the effectiveness of an antioxidant is accompanied by a decrease in the level of free-radical processes in testicular tissue (to control values), the growth of which accompanies any cytostatic effect.

Key words: cytostatic chemotherapy, male infertility, stem spermatogonial cells, stimulation of proliferation, mexidol.

Актуальность. Несомненный прогресс в клинической онкологии подтверждается увеличением выживаемости больных злокачественными заболеваниями всех типов нозологий [1]. Сегодня одним из главных критериев успешного лечения онкологической патологии является оценка качества жизни пациентов [2]. К числу самых важных ее составляющих относится способность к деторождению [3]. Широко известным является тот факт, что созревающие и зрелые половые клетки, в том числе и мужские, являются непреднамеренной мишенью токсического действия цитостатических средств, а их гибель и повреждение могут приводить к стерильности. Применение цитостатических препаратов, повреждающих сперматогонию, оставляет мало перспектив на восстановление сперматогенеза. Процесс созревания мужских половых клеток, по данным клинических наблюдений, продолжается только у 20–50 % пациентов. В настоящее время эта проблема может решиться с помощью вспомогательных репродуктивных технологий, но, к сожалению, только частично. В связи с этим актуальным является поиск других путей сохранения способности к деторождению [4]. К числу таких путей принадлежит способ фармакотерапии. Подходы к разработке лекарственных средств-корректоров такого плана должны основываться на их способности стимулировать пролиферативную активность сперматогониев, в первую очередь ССК (стволовых сперматогонияльных клеток). К числу средств, инициирующих пролиферацию ССК, относится плеотропный цитокин гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (Г-КСФ). [5]. Более эффективным в этом плане является пегелированная форма этого цитокина [6]. Однако наличие серьезных побочных эффектов ограничивает применение корректоров такого типа. Исследования последних лет показали, что усиление пролиферативной активности стволовых сперматогоний возможно с помощью регуляции системы окислительно-восстановительных реакций ССК [7]. Любой вид цитостатического воздействия инициирует в клетках (в том числе и ССК) окислительный стресс. В связи с этим обоснованным видится изучение использования антиоксидантных препаратов для стимуляции процессов репаративной регенерации

при повреждении ССК. **Целью исследования** является изучение возможности применения мексидола для стимуляции процессов репаративной регенерации тестикулярной ткани после введения цитостатического препарата паклитаксела.

Материал и методы. Эксперимент проведен на 40 аутбредных (сток SD) крысах-самцах, массой тела 250–350 г, 2,5-месячного возраста, которые были разбиты на 4 группы (по 10 особей в каждой). Крысам контрольной группы вводили однократно внутривенно в МПД цитостатический препарат паклитаксел (митотакс, Dr. Reddy's, Индия), повреждающий стволовые сперматогониальные клетки. Животным первой экспериментальной группы вводили Мексидол (ЗАО «ЗиО-Здоровье») перорально в виде суспензии в крахмальном растворе (2 %) в дозе 50 мг/кг в течение 5 дней до цитостатического воздействия и 5 дней после. Животным второй группы вводили препарат сравнения Г-КСФ (Нейпоген, F.Hoffmann-La Roche Ltd) один раз в день в течение 5 дней в дозе 100 мкг/кг. В эксперименте также были использованы интактные животные (фон). Эффективность препаратов оценивали через 3 мес после начала эксперимента – срок, соответствующий проявлению повреждений стволовых сперматогониальных клеток. Проводили эвтаназию животных (в CO₂ камере), извлекали семенник и эпидидимис. На гистологических срезах семенников, толщиной 5 мкм, окрашенных гематоксилин-эозином, подсчитывали численность клеточной популяции сперматогоний, количество клеток Сертоли; вычисляли степень зрелости сперматогенного пласта. Хвостовую часть придатка семенника гомогенизировали и подсчитывали общее количество половых клеток на придаток семенника (ОКС). Кроме того, в мужских половых клетках оценивали уровень свободных радикалов. Для этого их препарировали, помещали в физиологический раствор, гомогенизировали. Проксидантную активность определяли с помощью индуцированной люминолом хемилюминесценции и методом гашения интенсивности люминолзависимой хемилюминесценции (CL) в радикалопродуцирующей системе после добавления биологической пробы с помощью кюветного биолюцинометра Lumat LB9507 (Berthold Technologies, США). Количественно уровень хемилюминесценции активности определяли с помощью светосуммы хемилюминесценции образца гомогената ткани, которую выражали в RLU/1г ткани/сек, где RLU – относительная единица света relative light units = 10 фотонам. Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием непараметрического U-критерия Вилкоксона – Манна – Уитни.

Результаты. В результате проведенных исследований установлено, что количество сперматогоний на фоне введения паклитаксела оказалось статистически значимо сниженным и составило 60 % от контроля. Количество клеток Сертоли достоверно сократилось и составило 68 % от фоновых значений. При определении степени зрелости сперматогенного пласта было установлено, что в семенниках крыс, получавших паклитаксел, идет обновление ткани семенника. Об этом свидетельствует достоверно более низкий, чем у фона, показатель степени зрелости сперматогенного пласта. Судя по общему количеству зрелых половых клеток (ОКС), приходящихся на эпидидимис, на фоне введения паклитаксела (табл. 1) продуктивность сперматогенеза оказалась сниженной и составила всего 60 % от фонового значения.

Таблица 1

Морфологические и функциональные показатели генеративной функции семенников крыс через 3 мес после сочетанного введения паклитаксела и мексидола

Показатели	Фон	Контроль (паклитаксел)	Паклитаксел + Г-КСФ	Паклитаксел + мексидол
Количество сперматогоний (абс.)	15,78±0,48	9,43±0,40 #	12, 21± 0,50*	13,88 ± 0,86*
Количество клеток Сертоли (абс.)	2,25±0,25	1,40±0,24 #	2,75±0,25*	1,60±0,24
Степень зрелости сперматогенного пласта (усл. единиц)	6,18±0,06	5,70±0,04 #	5,40±0,12 *	5,66±0,04
Общее количество сперматозоидов (% от фона)	201,60±12,52	143,20±6,01#	165,00±5,26*	210,00±26,58*

Примечание: # – статистическая значимость различий по сравнению с фоном (p≤0,05); * – статистическая значимость различий по сравнению с контролем (p≤0,05).

Таким образом, в отдаленные сроки после введения паклитаксела наблюдается, судя по числу сперматогоний и ОКС, дефицит источников пролиферативного пула сперматогенеза. Судя по степени зрелости сперматогенного пласта, в ткани идут процессы репаративной регенерации. Однако её интенсивность невысока, судя по количеству сперматогоний и ОКС.

При морфологическом изучении семенников крыс, получавших паклитаксел и препарат сравнения (табл. 1), установлено, что количество сперматогоний статистически значимо превышало (на 30 %) таковое при введении одного цитостатического препарата и достигало фоновых значений. Количество клеток Сертоли возрастало в 2 раза по сравнению с контролем и не отличалось от фона. Степень зрелости сперматогенного пласта оказалась сниженной по сравнению с контролем и фоном. Это свидетельствует о том, что под действием препарата сравнения идут процессы репаративной регенерации ткани, и интенсивность их выше, чем в контроле. Полученные результаты подтверждают данные о том, что препарат сравнения обладает способностью стимулировать сперматогенез животных при повреждении сперматогоний. В пользу этого свидетельствует также тот факт, что ОКС на фоне его введения достоверно возрастала (на 15 %), но не достигала фона.

При морфологическом изучении семенников крыс, получавших на фоне введения паклитаксела мексидол, было выявлено, что количество сперматогоний статистически значимо превышало (на 47 %) таковое при введении одного цитостатика и достигало фоновых значений. Количество клеток Сертоли статистически значимо не отличалось ни от контрольных, ни от фоновых значений. Степень зрелости сперматогенного пласта повышалась. Продуктивность сперматогенеза на этом фоне составила 145 % от фона.

В табл. 2 представлены данные по уровню хемилюминесценции на фоне использования паклитаксела и мексидола.

Таблица 2

Уровень антиоксидантной активности, хемилюминесценции, редокс-потенциала клеток семенников крыс через 3 мес после сочетанного введения паклитаксела и мексидола

Показатели	Фон	Контроль (паклитаксел)	Паклитаксел + мексидол
Уровень хемилюминесценции, RLU/1г ткани/сек	5,78±0,44	9,48±1,23 #	6,78±0,98*

Примечание: # – статистическая значимость различий по сравнению с фоном ($p \leq 0,05$); * – статистическая значимость различий по сравнению с контролем ($p \leq 0,05$).

Ведение паклитаксела привело к статистически значимому повышению (на 64 %) уровня свободных радикалов в семенниках. При сочетанном использовании цитостатического препарата и антиоксиданта уровень хемилюминесценции снизился до фоновых значений.

Выводы

1. Антиоксидантное воздействие (мексидол) обладает способностью стимулировать процесс репаративной регенерации ССК в условиях повреждения источников пролиферативного пула сперматогенеза.

2. Мексидол снижает в тканях семенника интенсивность процессов свободно-радикального окисления.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гарин А.М. Эволюция и революционные события в онкологической науке в конце XXI века. Вестник РАМН. 2012; 3: 32–36.
2. Ненарокомов А.Ю., Сперанский Д.Л., Аревиатов Э.В., Мудрый А.Ю. Современная концепция исследования качества жизни в онкологии. Фундаментальные исследования. 2012; 22: 421–425.
3. Lambertini M., Del Mastro L., Pescio M.C., Andersen C.Y., Azim H.A. Jr., Peccatori F.A., Costa M., Revelli A., Salvagno F., Gennari A., Ubaldi F.M., La Sala G.B., De Stefano C., Wallace W.H., Partridge A.H. and Anserini P. Cancer and fertility preservation: international recommendations from an expert meeting. BMC Med. 2016 Jan 4; 14: 1. doi: 10.1186/s12916-015-0545-7.
4. Khanlarkhani N., Pasbakhsh P., Mortezaee K., Naji M., Amidi F., Najafi A., Sobhani A., Zendedel A. Effect of human recombinant granulocyte colony-stimulating factor on rat busulfan-induced testis injury. J Mol Histol. 2016 Feb; 47(1): 59–67. doi: 10.1007/s10735-015-9647-y.
5. Kotzur T., Benavides-Garcia R., Mecklenburg J., Sanchez J.R., Reilly M., Hermann B.P. Granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) promotes spermatogenic regeneration from surviving spermatogonia after high-dose alkylating chemotherapy. Reprod Biol Endocrinol. 2017 Jan 11; 15(1): 7. doi: 10.1186/s12958-016-0226-1.
6. Borovskaya T.G., Dygai A.M., Shchemerova Y.A., Kamalova S.I., Mashanova V.A., Vychuzhanina A.V., Poluektova M.E., Madonov P.G., Kinsht D.N., Goldberg V.E. Effect of granulocyte colony-stimulating factor immobilized by the electron-beam synthesis nanotechnology on reparative regeneration of spermatogenous tissue. Bull Exp Biol Med. 2016 Sep; 161(5): 683–686. doi: 10.1007/s10517-016-3485-0.
7. Shaban S., El-Husseny M.W.A., IbrahimAbushouk A., Abdo Salem A.M., Mamdouh M., Abdel-Daim M.M. Effects of Antioxidant Supplements on the Survival and Differentiation of Stem Cells. Oxid Med Cell Longev. 2017; 2017: 5032102. doi: 10.1155/2017/5032102.

СОЗДАНИЕ ТРЕХМЕРНЫХ МОДЕЛЕЙ ИНДИВИДУАЛЬНЫХ КОЛЛИМАТОРОВ ДЛЯ ГАММА-ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ АППАРАТОВ

А.А. Григорьева¹, А.А. Красных¹, И.А. Милойчикова^{1,2},
Ю.М. Черепенников¹, С.Г. Стучебров¹

Национальный исследовательский Томский политехнический университет, г. Томск, Россия¹
Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия²

Аннотация

Представлены результаты исследования возможности применения пластиковых коллиматоров из ПЛА-пластика с 30 % примесью меди для создания конформного поля облучения при проведении сеансов дистанционной гамма-терапии. Приведены результаты численного моделирования глубинного распределения дозы гамма-излучения источника ⁶⁰Со в модифицированном пластике. Определена толщина коллиматора, необходимая для поглощения данного излучения. Созданы трехмерные модели четырех коллиматоров, пригодные для изготовления изделий методами трехмерной печати, для случая дистанционного облучения области женского малого таза на гамма-терапевтическом аппарате.

Ключевые слова: лучевая терапия, численное моделирование, гамма-излучение, технологии трехмерной печати, индивидуальный коллиматор.

DEVELOPMENT OF 3D MODELS OF INDIVIDUAL COLLIMATORS FOR GAMMA EXTERNAL BEAM THERAPEUTIC DEVICES

A.A. Grigoryeva¹, A.A. Krasnykh¹, I.A. Miloichikova^{1,2}, Yu.M. Cherepennikov¹,
S.G. Stuchebrov¹

National Research Tomsk Polytechnic University, Tomsk, Russia¹
Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia²

Abstract

The paper presents the results of the study of feasibility of using 3D printed collimators made of PLA-plastic with 30 % copper admixture. These collimators were designed for conformal radiation field for external beam radiotherapy sessions. The results of numerical simulation of the depth dose distribution for gamma radiation from the ⁶⁰Co source in a modified plastic were shown. The thickness of the collimator for absorption of this radiation was determined. 3D models of four collimators that can be produced by 3D printing methods were designed for external beam radiotherapy of the female pelvis.

Key words: radiotherapy, numerical simulation, gamma radiation, 3D printing, individual collimators.

Введение. При проведении сеансов на гамма-терапевтических установках, входящих в оснащение каждого радиотерапевтического отделения России, необходимо обеспечивать технику дистанционной лучевой терапии высокой точности [1–3]. Для данного вида лучевой терапии, основанной на определении трехмерного объема опухоли и анатомии критических органов, форма поля облучения должна быть максимально приближена к конфигурации новообразования с **Целью** обеспечения точности. Основным недостатком гамма-аппаратов является отсутствие мультилепесткового коллиматора в системе формирования поля. Для того чтобы обеспечить конформные условия облучения, необходимо применять дополнительные формирующие устройства при проведении сеансов гамма-терапии.

В работе [4] предложен способ формирования электронных полей облучения с помощью изделий, изготовленных методами трехмерной печати. Данный метод можно применять для формирования гамма-пучков путем применения модифицированного материала. Таким материалом может стать ПЛА-пластик с добавлением металлической примеси.

Цель исследования – создание трехмерных моделей индивидуальных коллиматоров в формате, пригодном для устройств трехмерной печати, для случая дистанционного облучения на гамма-терапевтическом аппарате.

Материал и методы. На подготовительном этапе работы для определения толщины коллиматора, необходимой для полного поглощения гамма-излучения было проведено численное моделирование источника ^{60}Co гамма-терапевтического аппарата Theratron. Расчет проводился в программе PCLab 9.9 «Компьютерная лаборатория» [5] в режиме PHANTOM. В качестве материала для изготовления изделий был выбран ПЛА-пластик с 30 % примесью меди, так как данный филамент имеет более высокую плотность по сравнению со стандартными чистыми пластиками, что, в свою очередь, обеспечит полное поглощение гамма-излучения при меньшей толщине коллиматора.

Планирование сеансов лучевой терапии на аппарате Theratron Equinox 80 [6] проводилось в системе дозиметрического планирования XiO [7]. На основе контура новообразования создается форма коллимационного окна, необходимая для каждого поля облучения. Затем полученные данные экспортируются в графический формат.

На заключительном этапе работы создаются трехмерные модели коллиматоров в системе моделирования КОМПАС-3D v18 [8] на основе результатов численного моделирования и двухмерных изображений, полученных в системе планирования.

Результаты. Результаты расчета глубинного распределения дозы гамма-излучения в модифицированном материале представлены на рис. 1. Статистическая погрешность расчетов поглощенной дозы составила не более 1 %.

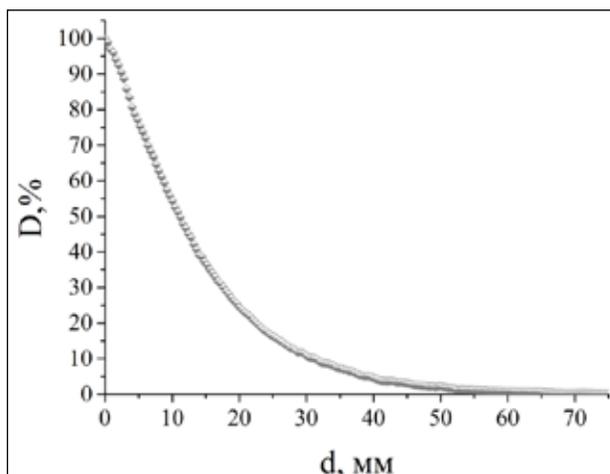


Рис. 1. Глубинное распределение дозы гамма-излучения в ПЛА-пластике с 30 % примесью меди

На основе полученных данных (рис. 1) была определена толщина изделия из ПЛА-пластика с 30 % примесью меди, необходимая для полного поглощения излучения, которая составила 70 мм.

Затем в качестве примера был выбран клинический случай послеоперационного облучения области малого таза пациентки с раком эндометрия. Объемы облучения выбирались в соответствии с рекомендациями RUSSCO [9].

В системе дозиметрического планирования XiO был создан план облучения на гамма-терапевтическом аппарате Theratron Equinox 80 двумя парами попарно встречных полей, размер 1-го и 2-го полей – $195 \times 220 \text{ мм}^2$, углы наклона гантри – 0° , 180° , размер 3-го и 4-го полей – $140 \times 220 \text{ мм}^2$, углы наклона гантри – 90° , 270° (рис. 2 а, б). Видно, что в область облучения входят такие критические органы, как мочевой пузырь и прямая кишка, переоблучение которых может привести к острым постлучевым осложнениям.

После чего для каждого поля в системе планирования был добавлен сложный коллиматор, что позволило добиться конформности облучения и снизить дозовую нагрузку на критические органы, исключив их из поля облучения (рис. 2 в, г)

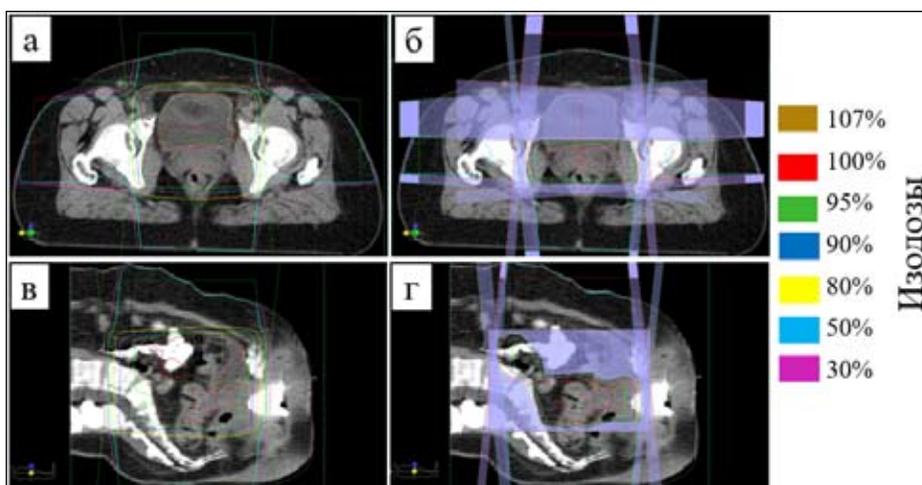


Рис. 2. План облучения области женского малого таза: а, б – открытые поля; в, г – с применением индивидуальных коллиматоров

На заключительном этапе работы были созданы трехмерные модели коллиматоров, пригодные для создания изделий методами трехмерной печати. Графические данные о форме коллимационного окна для каждого поля облучения экспортировались в систему трехмерного моделирования КОМПАС-3D v18. На рис. 3 представлены разработанные трехмерные модели коллиматоров из ПЛА-пластика с 30 % примесью меди.

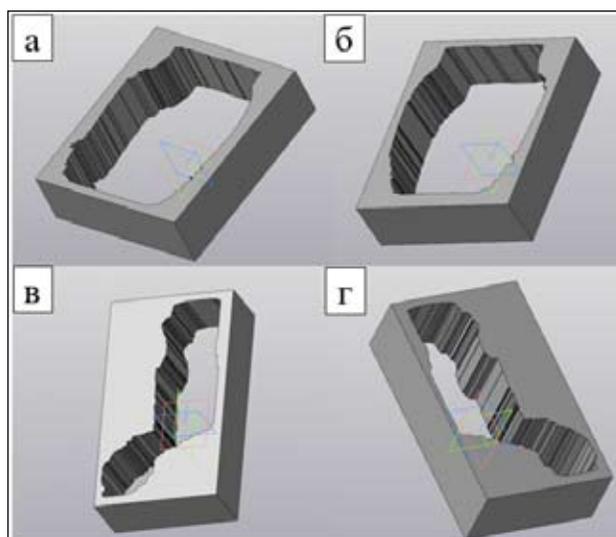


Рис. 3. Трехмерные модели коллиматоров: а – поле 1 (0°), б – поле 2 (180°), в – поле 3 (90°), г – поле 4 (270°)

Заключение. В рамках данного исследования созданы трехмерные модели индивидуальных коллиматоров, пригодные для создания изделий методами трехмерной печати, для обеспечения конформности облучения на гамма-терапевтических аппаратах, конструкция которых не предусматривает наличие мультилепесткового коллиматора. Для того чтобы печатать изделия меньшей толщины, предложено использовать в качестве материала ПЛА-пластик с 30 % примесью меди, что упростит размещение подобного коллиматора в системе формирования поля облучения гамма-терапевтического аппарата.

Результаты численного моделирования глубинного распределения дозы гамма-излучения в подобном модифицированном материале показали, что толщины 70 мм будет достаточно для решаемых задач.

Продолжением работы станет изготовление созданных коллиматоров посредством технологии послойного наплавления и анализ сформированного поля облучения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Bernier J., Hall E. J., Giaccia A. Radiation oncology: a century of achievements. Nat Rev Cancer. 2004 Sep; 4(9): 737–47. doi: 10.1038/nrc1451.
2. Gerber D.E., Chan T.A. Recent advances in radiation therapy. Am Fam Physician. 2008 Dec 1; 78(11): 1254–62.

3. Грибова О.В., Мусабаева Л.И., Чойнзиев Е.Л., Лисин В.А. Нейтронно-фотонная терапия в комбинированном и лучевом лечении больных с прогностически неблагоприятным раком щитовидной железы. Медицинская физика. 2009; 2: 41–46.
4. Miloichikova I., Krasnykh A., Danilova L., Stuchebrov S., Kudrina V. Formation of electron beam fields with 3D printed filters. AIP Conference Proceedings. AIP Publishing. 2016; 1772(1): 060018.
5. Компьютерная лаборатория (КЛ/ PCLab). Свидетельство об официальной регистрации программы ЭВМ № 2007615275 от 28.12.2007.
6. Theratron Equinox 80 [Интернет]. URL: http://www.theratronics.ca/PDFs/Equinox_BTMB_8003_1_v092009.pdf. (дата обращения: 27.12.2018).
7. Дозиметрическая система планирования XiO [Интернет]. URL: <https://www.elekta.com/dam/jcr:b3948f4a-0ac8-4317-9b89-41178a44a670/XiO-Comprehensive-RTP-System-product-brochure.pdf>. (дата обращения: 27.12.2018)
8. Система трехмерного моделирования [Интернет]. URL: КОМПАС-3Dv18 <https://kompas.ru/kompas-3d/v18/> (дата обращения: 27.12.2018).
9. RUSSCO [Интернет]. URL: <https://rosncoweb.ru/standarts/RUSSCO/2018/2018-13.pdf>. (дата обращения: 27.12.2018).

ДИСГОРМОНАЛЬНЫЕ ГИПЕРПЛАЗИИ УЗЛОВАТОГО ТИПА В ДАГЕСТАНЕ – ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ

**П.О. Далгатова, О.М. Магомедов, П.О. Магомедова,
Р.А. Гитинамагомедова, Г.М. Магомедов**

ГОУ ВПО «Дагестанский государственный медицинский университет» МЗ РФ, г. Махачкала, Россия

Аннотация

Представлены стандартизованные показатели (СП) заболеваемости дисгормональными гиперплазиями узловатого типа (ДГУТ) в Республике Дагестан (РД), рассчитанные отдельно за 1995–2014 годы и в сравнительном аспекте за 1995–2004 гг. и 2005–2014 гг. Выявлено, что заболеваемость всеми формами ДГУТ в РД в целом значительно ниже (СП – 17,1), чем заболеваемость в эти же годы РМЖ (СП – 30,6), и наиболее часто среди узловых образований молочной железы в РД выявляется фиброаденома (45,4 %). Второе ранговое место занимает фиброзно-кистозная мастопатия (ФКМ) – 23,1 %, а третья – узловая мастопатия (10,3 %). В РД 6,9 % больных с РМЖ оперируют под разными диагнозами узловых форм мастопатии. Повозрастные показатели заболеваемости ДГУТ в РД является зеркальным отображением заболеваемости РМЖ. Резкий прирост заболевших дисгормональными гиперплазиями узловатого типа в Дагестане наблюдается с 19 до 24 лет, а заболевших раком молочной железы – с 30 до 45–49 лет. Сравнительный анализ показателей заболеваемости за 2 периода (1995–2004 гг. и 2005–2014 гг.) показал, что число больных ДГУТ в РД в целом растет, хотя и не значимо. Достоверно заболеваемость выросла только по узловой форме мастопатии, а по фиброзно-кистозной, наоборот, снизилась. Интерпретация тенденций по каждой из ДГУТ в данной работе трудна. Очевидно, что в основе генеза их возникновения много общего (гормональные нарушения как в детско-юношеском возрасте, так и во взрослой жизни). В то же время различные показатели в разных возрастных группах говорят о том, что на частоту их возникновения влияют много еще неизвестных факторов. Изучение их в сравнительном аспекте с факторами риска РМЖ может выявить те из них, которые играют решающую роль в канцерогенезе РМЖ, что позволит использовать их в мероприятиях первичной и вторичной профилактики РМЖ.

Ключевые слова: дисгормональные гиперплазии узловатого типа, рак молочной железы, Республика Дагестан, 1995–2014 гг.

DISHORMONAL HYPERPLASIA OF A KNOTTY TYPE IN DAGESTAN – MORBIDITY

**P.O. Dalgatova, O.M. Magomedov, P.O. Magomedova,
R.A. Gitinomagomedova, G.M. Magomedov**

Dagestan State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation,
Makhachkala, Russia

Abstract

The given research shows standardized rates in dishormonal hyperplasia of a knotty type disease observed in the republic of Dagestan. The data is calculated in accordance with the world standards of the population during 19942014. The comparative analysis throughout 19952004, 20052014 is also given. It is stated that

in general, that all forms of dishormonal hyperplasia of a knotty type in the republic is markedly lower (SR-17,7), than breast cancer (SR-30,6). Fibroadenoma is the most frequent among knotty breast cancer types (45,5 %). The cystic-fibrosis mastopathy (CFM) ranks 2nd (23,1 %), the 3rd place is taken knotty mastopathy (10,3 %). 6,9 % of patients with breast cancer are operated on different diagnoses of knotty forms mastopathy. There is immediate relevance between the age –specific rates and cancer breast diseases.

Key words: dishormonal hyperplasia of a knotty type, breast cancer, Dagestan, 1995-2014, trend.

Рак молочной железы (РМЖ) занимает ведущее место в структуре онкологической заболеваемости и смертности среди женщин. По данным ВОЗ, в мире ежегодно заболевают РМЖ более 2 млн и умирают более 626 тыс. женщин [1, 2], а в Российской Федерации регистрируют свыше 70 000 новых случаев и более 22 000 случаев смерти [3]. Необходимо отметить, что указанные показатели в большинстве стран мира, в том числе и в России, растут. Не является исключением в этом отношении и Республика Дагестан (РД). Данная патология в структуре общей онкологической заболеваемости населения Республики в 2014 г. вышла на 1-е место и растет [3, 4]. Среди факторов, оказывающих, заметное влияние на заболеваемость РМЖ, особое место занимают пролиферативные заболевания молочных желез, объединенные под общим названием фиброзно-кистозная мастопатия (ФКМ) [5]. На 58-й Ассамблее ВОЗ в мае 2005 г. была принята новая стратегия профилактики злокачественных новообразований [6], направленная на раннее выявление предопухолевых состояний молочной железы на основании показателей повышенного риска. До разработки мероприятий профилактики и раннего выявления любого онкологического заболевания на основании показателей повышенного риска, необходимо изучение как общей, так и по возрастной структуре заболеваемости, на которую будет направлен в будущем планируемый скрининг. Необходимо также отметить, что ранее в РД не проводились исследования по изучению пролиферативных заболеваний (дисгормональных гиперплазий) молочной железы, в частности узловых ее форм. С учетом этого актуальность данной работы для РД не вызывает сомнений.

Цель исследования – анализ общей и по возрастной заболеваемости дисгормональными гиперплазиями узловатого типа у женщин РД.

Материал и методы. Материалом для данного исследования послужили данные о заболеваемости – уточненное число больных с впервые установленным диагнозом узловых форм дисгормональных гиперплазий молочной железы среди лиц женского пола для возрастных групп 0–4, 5–9, ..., 66–69, 70 + по 41 району и 10 городам РД за 1995–2014 гг., – предоставленные Республиканским онкологическим диспансером (РОД) и Республиканской патологоанатомической службой (РПС). Повозрастные стандартизованные показатели заболеваемости на 100000 населения рассчитаны на основе данных ЦСУ РД за 1995–2014 гг. Статистический анализ был основан на определении стандартных ошибок и оценке достоверности различий с помощью показателя Стьюдента. При этом достоверность полученных результатов принималась на уровне не менее 95 % ($p \leq 0,05$).

Результаты. Анализ использованного в работе первичного материала позволил нам дать оценку современному состоянию заболеваемости узловатыми формами дисгормональных гиперплазий у женщин Дагестана. В работу включены все женщины РД, подвергнутые в течение 20 лет (1995–2014 гг.) диагностической и лечебной секторальной резекции молочных желез. К сожалению, из-за отсутствия внедрения в практическую деятельность патологоанатомической службы республики новой гистологической классификации (внедрение только начинается) мы вынуждены были анализировать данные, получаемые от гистологов по старой классификации [5]. Наиболее частой доброкачественной узловой патологией в молочной железе у женщин РД, по поводу которой выполняется секторальная резекция, является фибroadенома (45,4 %). На долю фиброзно-кистозной (ФКМ) и узловатой мастопатии приходится соответственно 23,1 % и 10,3 %, а внутритротоковая папиллома составляет 2,8 %. Среди узловых образований неясного генеза в 6 % случаях после секторальной резекции был установлен инфильтрирующий, а в 0,7 % – неинфильтрирующий РМЖ. Из прочей патологии в молочной железе также путем срочного гистоисследования нами были выявлены по 1 случаю опухоли Абрикосова, гемангиосаркомы, фибросаркомы и меланомы. В таблице представлены показатели заболеваемости женщин всеми эпителиальными дисгормональными гиперплазиями узловатого типа (ДГУТ) на 100 000 населения в целом по Дагестану за 1995–2014 гг. Как грубый, так и стандартизованный показатель заболеваемости указанными формами мастопатии по Республике Дагестан равны соответственно 18,4 и 17,1 на 100 000 женского населения. Анализ заболеваемости по отдельным годам не выполнялся, так как

это привело бы к очень маленьким числам наблюдений. Подсчитана заболеваемость за два периода 1995–2004 и 2005–2014 гг. Получена, хотя и незначимая, разница в заболеваемости между этими двумя сравниваемыми периодами, за исключением фиброзно-кистозной и узловой формы мастопатии, которые с запасом превысили критическое значение даже для уровня $\alpha = 0,01$ и $0,01$, соответственно.

Таблица 1

Число случаев, повозрастные и стандартизованные по возрасту показатели заболеваемости узловатыми формами ДГУТ вместе и по отдельности в РД за 20 лет наблюдения (1995–2014 гг.)

Возраст	Человеко-лет наблюдений	1995–2014 гг.		1995–2014 гг.		1995–2014 гг.		1995–2014 гг.		1995–2014 гг.	
		Все узловатые образования		Фиброаденома		ФКМ		Узловая мастопат.		Внутрипрот. папиллома	
		Число случаев	ПЗ*	Число случаев	ПЗ*	Число случаев	ПЗ*	Число случаев	ПЗ*	Число случаев	ПЗ*
до 19	10029229	450	4,5	449	4,8	30	0,3	40	0,4	1	0,0
20-24	2532126	865	34,2	703	27,8	80	3,2	75	3,0	7	0,3
25-29	2269435	677	29,8	458	20,2	121	5,3	96	4,2	2	0,1
30-34	2073402	614	29,6	352	17,0	144	6,9	100	4,8	18	0,9
35-39	1918080	681	35,5	353	18,4	212	11,1	86	4,4	30	1,6
40-44	1535996	630	41,0	208	13,4	310	20,2	87	5,7	25	1,6
45-49	1303653	510	39,1	149	11,4	259	19,9	72	5,5	30	2,3
50-54	1161713	344	29,6	125	10,8	144	12,4	45	3,9	30	2,6
55-59	965623	92	9,5	25	2,7	44	4,6	14	1,4	9	0,9
60-64	852511	63	7,4	11	1,3	32	3,7	10	1,2	10	1,2
65-69	746705	37	5,0	9	1,2	17	2,3	4	0,5	7	0,9
70+	1549388	47	3,0	15	1,0	21	1,4	6	0,4	5	0,3
Все возрасты	27240763	5010	18,4	2787	10,2	1414	5,2	635	2,3	174	0,6
Все возрасты			Ст. ПЗ		Ст. ПЗ		Ст. ПЗ		Ст. ПЗ		Ст. ПЗ
			17,1		9,2		5,4		2,2		0,6

Примечание: * здесь и далее показатель заболеваемости.

На рис. 1 представлены сравнительные данные повозрастных показателей заболеваемости как для рака молочной железы, так и для всех ДГУТ в целом по РД. На рис. 1 виден эффект возрастного статуса в заболеваемости обеих нозологий. Линия тренда всех узловатых заболеваний и РМЖ в РД пересекаются в возрастной группе 34–35 лет и являются как бы зеркальным отражением друг друга. Таким образом, для молодого возраста более характерны доброкачественные гиперплазии узловатого типа, и с увеличением возраста их частота резко падает, кроме внутрипротоковой папилломы, которая растет, как и рак.

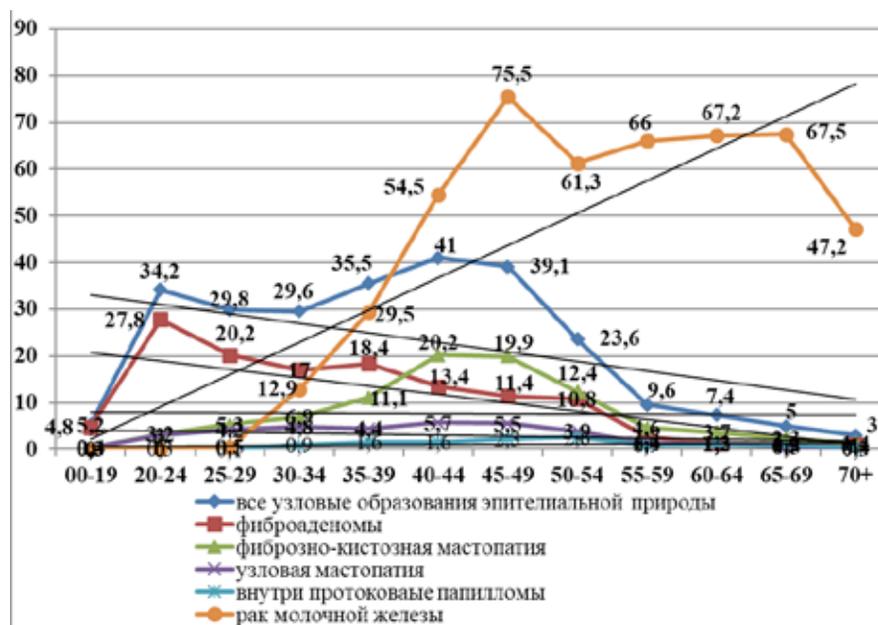


Рис. 1. Сравнительный анализ повозрастных показателей заболеваемости всех узловатых форм дисгормональ- ных гиперплазий и рака молочной железы и их линейные тренды в Республике Дагестан за 20 лет (1995–2014 гг.)

Обсуждение. Низкая заболеваемость женщин с ДГУТ и РМЖ в РД может быть объяснена одними и теми же причинами, так как у них много общего в генезе возникновения и в факторах риска. Исходя из этого, низкие показатели в Республике Дагестан, возможно, обусловлены (как и для рака): во-первых, преобладанием сельского населения над городским (образ жизни, традиции, обычаи и т.д.), во-вторых, относительно высоким процентом детского населения, и, в-третьих, значительным преобладанием коренного населения над некоренным. Как известно, на возрастные пики заболеваемости РМЖ, до и после менопаузы, оказывают влияние различные факторы, вызывающие нарушение в эндокринной системе. Возможно, эти же изменения влияют и на частоту заболеваемости дисгормональными гиперплазиями. Однако сравнительный анализ по возрастной заболеваемости с разными максимумами показывает, что не все они имеют в основе одни и те же причины. Сложность выявления причин возникновения всех дисгормональных гиперплазий, в том числе и узловых форм, вызвана большим их количеством. Общепризнанной причиной относительно заболеваний молочной железы является гормональный дисбаланс, связанный с преобладанием одного гормона над другим – эстрогена над прогестероном. Необходимо также отметить, что дисгормональные гиперплазии и рак могут развиваться и при нормальных концентрациях эстрадиола и прогестерона в плазме крови, что свидетельствует об актуальности изучения экспрессии гормональных рецепторов в ткани молочной железы с установлением их роли в возникновении патологии. Прямая тренда внутрипротоковой папилломы растет с увеличением возраста, как и прямая РМЖ, но на значительно более низких цифрах. Возможно, что факторы, обуславливающие разницу между нею и РМЖ, играют решающую роль в переходе существующих изменений в злокачественные. Однако ответы на эти и многие другие вопросы, могут быть получены только при проведении новых углубленных исследований с использованием современных методов аналитической эпидемиологии. В заключение следует подчеркнуть, что заболеваемость дисгормональными гиперплазиями узловатого типа, как и РМЖ, в РД низка. Однако их возрастные показатели и линии тренда значительно отличаются друг от друга, указывая на специфичность факторов, обусловивших эти различия.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Cancer Incidence in Five Continents*, Vol. XI. Lyon: International Agency for Research on Cancer.
2. *WHO. Cancer Today* [Internet]. URL: <https://gco.iarc.fr/today/home> (cited 1.02.2019).
3. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2017 году (заболеваемость и смертность). М.: МНИОИ им. П.А. Герцена филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2018. 250.
4. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2014 году (заболеваемость и смертность). М.: ФГУ МНИОИ им. П.А. Герцена Росздрава, 2016. 250.
5. *Гистологическая классификация опухолей молочной железы*. 2-е изд. М.: Медицина, 1984. 30.
6. Семглазов В.Ф., Айламазан Э.К., Байлюк Е.Н., Ниаури Д.А., Иванов В.Г., Манхас А.Г., Сошнев А.А. Профилактика рака молочной железы у больных пролиферативными процессами репродуктивной системы. Вопросы онкологии. 2006; 52(3): 247–257.

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ НЕОАДЪЮВАНТНОЙ ХИМИЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ РАКА ПРЯМОЙ КИШКИ НА ОСНОВЕ ТЕКСТУРНОГО АНАЛИЗА T2-ВЗВЕШЕННЫХ МРТ ИЗОБРАЖЕНИЙ

Я.А. Дайнеко, Т.П. Березовская, А.А. Невольских, З.Н. Шавладзе

Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба –
филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, г. Обнинск, Россия

Аннотация

Неoadъювантная химиолучевая терапия (НХЛТ) при раке прямой кишки позволяет достичь полного исчезновения опухоли у части пациентов. Лечебная тактика в таких случаях может быть индивидуализирована при условии их клинической идентификации на дооперационном этапе. В настоящее время получены данные о возможности повышения точности оценки ответа опухоли с использованием текстурного анализа МРТ изображений.

Ключевые слова: рак прямой кишки, МРТ, радиомика, текстурный анализ, оценка эффективности лечения.

EVALUATION OF THE RESPONSE TO NEOADJUVANT CHEMO- RADIATION THERAPY FOR RECTAL CANCER USING TEXTURE ANALYSIS OF T2-WEIGHTED IMAGES

Ya.A. Dayneko, T.P. Berezovskaya, A.A. Neolskikh, Z.N. Shavladze

A.F. Tsyb Medical Radiological Research Center – Branch of Federal State Budget Institution
«National Medical Research Radiological Center» Ministry of Public Health of the Russian Federation.
Russian Federation, Obninsk, Russia

Abstract

Neoadjuvant chemotherapy has been proven to improve local control of rectal cancer compared to surgery alone. Complete response to neoadjuvant chemotherapy in patients with rectal cancer has a prognostic value and allows further surgical treatment to be individualized. There are reports that the texture analysis in MRI can significantly increase the accuracy in assessing the tumor response after neoadjuvant chemotherapy.

Key words: magnetic resonance imaging; rectal cancer; texture analysis; response assessment; radiomics.

Актуальность. Колоректальный рак является одним из наиболее распространенных злокачественных новообразований как во всем мире, так и в России [1]. Стандартом лечения для больных раком прямой кишки (РПК) категории высокого риска местного рецидивирования является комбинированное лечение с неoadъювантной химиолучевой терапией (НХЛТ), так как достоверно доказано, что оно способствует улучшению местного контроля над опухолью по сравнению с использованием только хирургического метода [2–4].

Лечебный эффект, достигнутый в результате НХЛТ, имеет прогностическое значение и позволяет индивидуально планировать вид и объем дальнейшего хирургического лечения [5], вплоть до полного отказа от него в пользу тактики активного динамического наблюдения [6]. Существуют различные способы МРТ-оценки ответа опухоли, включающие критерии RECIST, динамику объема опухоли в результате лечения, а также определение степени регрессии опухоли (mrTRG) и изменение диффузионных характеристик. Однако, как показали многочисленные исследования, ни один из перечисленных методов не обеспечивает достаточной надежности результатов, в связи с чем проблема совершенствования МРТ-оценки эффективности НХЛТ сохраняет свою актуальность.

В последнее десятилетие растет интерес к высокотехнологичному анализу медицинских изображений с получением количественной информации, обозначаемому в англоязычной литературе как «radiomics» (радиомика) [7, 8]. Радиомический анализ позволяет описать

структурную гетерогенность опухолевой ткани с помощью количественных показателей, полученных в результате компьютерной обработки медицинских изображений.

Интерес к этому виду анализа обусловлен заинтересованностью клиницистов в неинвазивной оценке опухолевой гетерогенности, которая, как известно, является важным фактором прогноза. Тектурная гетерогенность опухолевой ткани обусловлена клеточностью, ангиогенезом и наличием некроза, она хорошо коррелирует с результатами оценок на гистопатологическом, протеомном и генетическом уровнях [8, 9].

Поэтому сейчас возможность использования параметров текстуры опухоли в качестве биомаркеров активно изучается как на этапе планирования ХЛТ, так и на этапе оценки ее эффективности.

Цель – изучить изменения текстуры (T2-ВИ) высокого разрешения МРТ изображения рака прямой кишки под действием неoadьювантной химиолучевой терапии (НХЛТ).

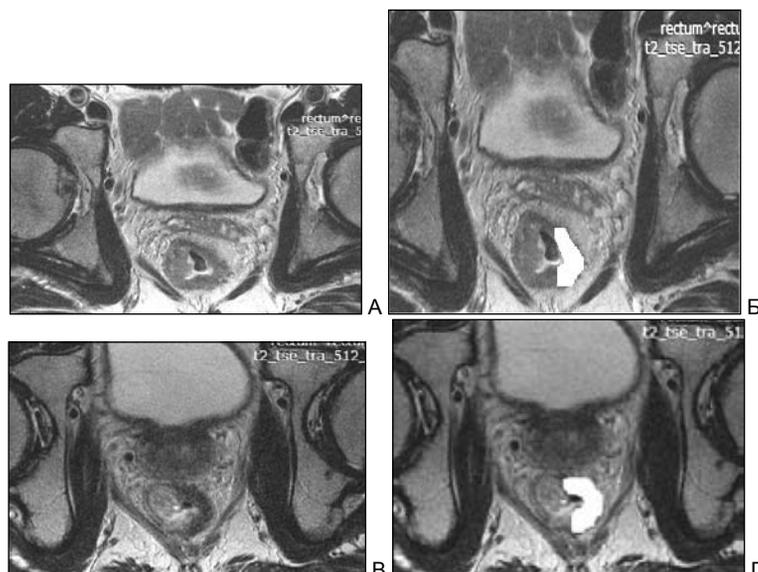


Рис.1. МРТ малого таза, опухоль по левой полуокружности прямой кишки с экстрамуральным распространением, T2-ВИ, косо-аксиальный срез: а) исходное изображение до НХЛТ; б) изображение после сегментации, белым цветом выделена область для автоматического расчета параметров текстуры, до НХЛТ; в) изображение после НХЛТ, mTRG2, патоморфоз 3-й степени; г) изображение после сегментации, белым цветом выделена область для автоматического расчета параметров текстуры, после НХЛТ

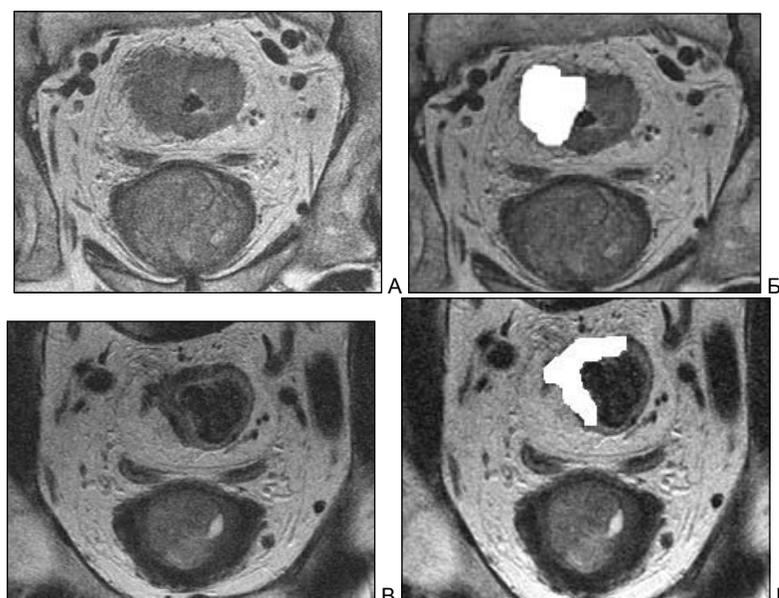


Рис.2. МРТ малого таза, опухоль по левой полуокружности прямой кишки с экстрамуральным распространением, T2-ВИ, косо-аксиальный срез: а) исходное изображение до НХЛТ; б) изображение после сегментации, белым цветом выделена область для автоматического расчета параметров текстуры, до НХЛТ; в) изображение после НХЛТ mTRG2, патоморфоз 2-й степени; г) изображение после сегментации, белым цветом выделена область для автоматического расчета параметров текстуры, после НХЛТ

Материал и методы. В исследование включены результаты текстурного анализа Т2-ВИ 42 пациентов с прогностически неблагоприятным раком прямой кишки, которым в клинике МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России в период с 2012 по 2017 г. было проведено комбинированное лечение с использованием пролонгированной НХЛТ. Интервал между ХЛТ и операцией составил 6–10 нед. МРТ выполнялась всем больным до начала лечения и перед операцией (интервал НХЛТ-МРТ).

Результаты. По результатам гистологического исследования 42 операционных препаратов патоморфоз 1-й степени установлен в 3 случаях; 2-й степени – в 17 случаях; 3-й степени – в 14 случаях; 4-й степени – в 8 случаях. К группе ответивших на НХЛТ были отнесены опухоли с патоморфозом третьей и четвертой степеней, а к группе неответивших – соответственно первой и второй.

В изучаемой выборке было исследовано изменение параметров текстуры опухоли под действием НХЛТ. Результаты текстурного анализа у обследованных пациентов приведены в таблице.

Таблица

Уровень значимости различий для изменения параметров текстуры опухоли под действием НХЛТ в группах ответивших и не ответивших

Группа ответа	Показатели текстурного анализа										
	angscmom	contrast	correlat	sumogSqrs	invDfMom	SumAverg	SumVarnc	SumEntrp	Entropy	DifVarnc	DifEntrp
Ответившие	0,001731*	0,042449*	0,004501*	0,177877	0,024049*	0,236020	0,001103*	0,115353	0,000428*	0,028421*	0,005507*
Не ответившие	0,004064*	0,569934	0,389602	0,592178	0,708885	0,188558	0,371962	0,371962	0,000779*	0,389602	0,684875

Примечание: * – уровни значимости, соответствующие достоверным различиям.

В группе опухолей со слабым ответом (рис. 2) изменения текстуры коснулись только двух параметров: AngScMom ($p=0,004$), Entropy ($p=0,0008$), тогда как в группе с хорошим ответом на лечение (рис. 1), помимо этих двух, достоверно изменилось значение еще 6 из 11 вычисляемых параметров: AngScMom ($p=0,0017$), Contrast ($p=0,042$), Correlat ($p=0,0045$), InvDfMom ($p=0,024$), SumVarnc ($p=0,0011$), Entropy ($p=0,0004$), DifVarnc ($p=0,0284$) и DifEntrp ($p=0,0055$). Таким образом, изменения текстуры опухоли под действием лечения по этим шести дополнительным параметрам можно считать свидетельством хорошего ответа опухоли.

Выводы. Текстурный анализ Т2-ВИ, выполненный с помощью компьютерной программы Mazda ver.4.6. на основе GLCM матрицы, позволяет выявить изменения, происходящие в текстуре карциномы прямой кишки под действием НХЛТ. В группе опухолей, ответивших на лечение, статистически значимо изменялось, по сравнению с исходным, значительно большее число параметров – 8 из 11 (AngScMom, Contrast, Correlat, InvDfMom, SumVarnc, DifVarnc, Entropy и DifEntrp), тогда как в группе опухолей со слабым ответом изменения коснулись только двух параметров (AngScMom, Entropy). Таким образом, мы считаем перспективным продолжение исследований по применению текстурного анализа у больных, получающих комбинированное лечение по поводу рака прямой кишки, с целью определения диагностических критериев эффективности НХЛТ.

ЛИТЕРАТУРА

- Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Состояние онкологической помощи населению России в 2017 году. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ» Минздрава России, 2018. 250.
- Sauer R., Liersch T., Merkel S., Fietkau R., Hohenberger W., Hess C., Wittekind C. Preoperative versus Postoperative Chemoradiotherapy for Rectal Cancer. *New England Journal of Medicine*. 2004; 351: 1731–40. doi: 10.1056/NEJMoa040694.
- Bosset J.F., Collette L., Calais G., Mineur L., Maingon P., Radosevic-Jelic L., Ollier J.C. Chemotherapy with Preoperative Radiotherapy in Rectal Cancer. *New England Journal of Medicine*. 2006; 355:1114–23. doi: 10.1056/NEJMoa060829.

4. van Gijn W, Marijnen C.A., Nagtegaal I.D., Kranenbarg E.M., Putter H., Wiggers T., Rutten H.J., Pahlman L., Glimelius B., van de Velde C.J., Dutch Colorectal Cancer Group. Preoperative radiotherapy combined with total mesorectal excision for resectable rectal cancer: 12-year follow-up of the multicentre, randomized controlled TME trial. *The Lancet Oncol.* 2011 Jun; 12(6): 575–82. doi: 10.1016/S1470-2045(11)70097-3.
5. MacGregor T.P., Maughan T.S., Sharma R.A. Pathological grading of regression following neoadjuvant chemoradiation therapy: the clinical need is now. *J Clin Pathol* 2012; 65(10): 867–71.
6. Chong I.Y., Brown G., Heald R.J., Thomas K., Chau I., Wotherspoon A., Tait D.M. A multicenter phase II clinical study evaluating the deferral of rectal surgery following a continued response to preoperative chemoradiotherapy (CRT). *Journal of Clinical Oncology.* 28(15 suppl): TPS191-TPS191.
7. Gillies R.J., Kinahan P.E., Hricak H. Radiomics: images are more than pictures, they are data. *Radiology* 2016; 278: 578–84. doi: 10.1148/radiol.2015151169.
8. Lambin P., Rios-Velazquez E., Leijenaar R., Carvalho S., van Stiphout R.G., Granton P., Zegers C.M., Gillies R., Boellard R., Dekker A., Aerts H.J. Radiomics: extracting more information from medical images using advanced feature analysis. *Eur J Cancer.* 2012 Mar; 48(4): 441–6. doi: 10.1016/j.ejca.2011.11.036.
9. Davnall F., Yip C.S., Ljungqvist G., Selmi M., Ng F., Sanghera B., Ganeshan B., Miles K.A., Cook G.J., Goh V. Assessment of tumor heterogeneity: an emerging imaging tool for clinical practice? *Insights Imaging.* 2012 Dec; 3(6): 573–89. doi: 10.1007/s13244-012-0196-6.
10. Лушников Е.Ф. Лечебный патоморфоз опухолей. Патологоанатомическая диагностика опухолей человека. М.: Медицина, 1993. 688.

ФЕНОМЕН ГЕНЕТИЧЕСКОГО «ЗАМИРАНИЯ» В ОПУХОЛИ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В ПРОЦЕССЕ ПРОВЕДЕНИЯ НЕОАДЪЮВАНТНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ

И.В. Дерюшева¹, М.М.Цыганов¹, М.К. Ибрагимова^{1,2}, П.В. Казанцева¹

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный
исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия¹
Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск, Россия²

Аннотация

При изучении изменений CNA(Copy Number Aberration)-генетического ландшафта в опухоли молочной железы при проведении неoadъювантной химиотерапии (НАХТ) было установлено, что у части пациентов не происходит никаких генетических изменений опухоли, несмотря на широкий спектр изменения объема опухоли под действием НАХТ. Мы назвали данное явление – феноменом генетического «замирания». Установлено, что у части пациентов с феноменом «замирания» метастазы развиваются и «замирание» оказывается неустойчивым, у части больных «замирание» устойчивое и метастазы не развиваются как минимум в течение 5 лет. **Целью работы** было изучение особенностей CNA-генетического ландшафта у больных с феноменом устойчивого и неустойчивого генетического «замирания» опухоли. **Материал и методы.** В исследование были включены 42 больные РМЖ IIA–IIIB стадии, получавшие 4–8 курсов НХТ и послеоперационное лечение. Для оценки CNA-генетического ландшафта проведен микроматричный анализ опухоли до лечения и после НХТ на ДНК-чипах Affymetrix CytoScan™ HD Array. **Результаты.** Из 42 больных у 8 (19 %) были отмечены образование новых клонов с амплификациями и делециями и высокая частота метастазирования (75 %). У 18/42 больных (43 %) отмечаются снижение частоты делеций и амплификаций в опухоли под действием НХТ и частота метастазирования у 1/18 (5,6 %). Феномен генетического «замирания» наблюдался у 16/42 пациенток (38 %). У 5 из этих пациенток (31 %) развились метастазы, т.е. феномен «замирания» оказался неустойчивым. В целом CNA-генетический ландшафт опухоли у пациентов с феноменом «замирания» характеризуется низкой частотой амплификаций и делеций по сравнению со всеми остальными пациентками. Больные с неустойчивым феноменом «замирания» характеризуются наличием в опухоли амплификаций регионов 5q31.1-34, 19q13.41 и делеций 12p13.33-12p11.22. В обоих случаях у больных отмечается амплификация генов компонентов WNT-сигналинга и делеции ингибиторов взаимодействия WNT с рецептором FZD.

Ключевые слова: рак молочной железы, изменение генетического ландшафта, WNT-сигналинг, пластичность нестволовых клеток.

THE PHENOMENON OF GENETIC «FADING» IN BREAST TUMOR DURING NEOADJUVANT CHEMOTHERAPY

I.V. Deryusheva¹, M.M. Tsyganov¹, M.K. Ibragimova^{1,2}, P.V. Kazantseva¹

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

National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia²

Abstract

When studying CNA changes (Copy Number Aberration) of the genetic landscape in a breast tumor during neoadjuvant chemotherapy (NAC), it was found that in some patients no genetic changes occur in the tumor, despite the wide range of changes in tumor volume under the action of NAC. We called this phenomenon as the phenomenon of genetic «fading». It has been established that in some patients with the phenomenon of «fading» metastases develop and «fading» turns out to be unstable, in some patients «fading» is stable and metastases do not develop for at least 5 years. The **Aim** of our work was to study the characteristics of the CNA-genetic landscape in patients with the phenomenon of stable and unstable genetic «fading» of the tumor. **Material and Methods.** The study included 42 patients with stage IIA–IIIB breast cancer who received 4–8 courses of NAC and postoperative treatment. To assess the CNA genetic landscape, a micromatrix analysis of the tumor was carried out before and after the treatment of NAC on Affymetrix CytoScan™ HD Array DNA chips. **Results.** In 8 of the 42 patients (19 %), the formation of new clones with amplifications and deletions and high frequency of metastasis (75 %) were noted. In 18/42 patients (43 %), there was a decrease in the frequency of deletions and amplifications in the tumor under the influence of NAC. The phenomenon of genetic «fading» was observed in 16/42 patients (38 %). Five of these patients (31 %) developed metastases, i.e. the phenomenon of «fading» was unstable. In general, CNA-genetic tumor landscape was characterized by a low frequency of amplifications and deletions in patients with the phenomenon of «fading» compared to other patients. Patients with an unstable «fading» phenomenon were characterized by the presence of amplifications in the tumor regions 5q31.1-34, 19q13.41 and deletions 12p13.33-12p11.22. Gene amplification of the components of WNT signaling and deletion of inhibitors of the interaction of WNT with the FZD receptor were observed in both cases.

Key words: breast cancer, genetic landscape change, WNT-signaling, plasticity of non-stem cells.

Актуальность. В наших предыдущих исследованиях [1] из изменений CNA-генетического ландшафта (Copy Number Aberrations – aberrации числа копий) опухоли молочной железы в процессе НАХТ было показано три типа генетического ответа опухоли на химиотерапию. Установлено, что в процессе химиотерапии у 40 % больных уменьшалось количество мутантных опухолевых клонов (вплоть до полной элиминации: 4 случая полной генетической регрессии опухоли), в 40 % случаев химиотерапия не оказывала никакого влияния на количество мутантных клонов и частоту CNA. У 20 % больных наблюдались случаи появления в процессе предоперационной химиотерапии клонов, несущих новые амплификации. В 100 % случаев элиминация мутантных клонов в процессе НАХТ была сопряжена с безметастатической элиминаемостью, а индукция амплификаций под действием НАХТ приводила почти к 100 % метастазированию. Соответственно, у 40 % больных не было генетических изменений опухоли в процессе НАХТ, несмотря на вариабельность изменения объема опухоли под действием НАХТ. Мы назвали это явление – отсутствие генетических изменений в опухоли под действием НАХТ – феноменом генетического «замирания». Установлено, что у части пациенток с феноменом «замирания» метастазы развиваются и «замирание» оказывается неустойчивым, у части больных «замирание» устойчивое и метастазы не развиваются как минимум в течение 5 лет.

Целью работы явилось изучение особенностей CNA-генетического ландшафта у больных с феноменом устойчивого и неустойчивого генетического «замирания» опухоли.

Материал и методы. В исследование были включены 42 больные люминальным В РМЖ ПА–IIIВ стадии, получавшие 4–8 курсов НХТ по схемам FAC, AC, CAH, таксотер в монорежиме, CP, AT с последующим хирургическим лечением (в объеме радикальной мастэктомии, органосохраняющей операции или подкожной мастэктомии с одномоментной пластикой). В послеоперационном периоде больным назначались адъювантная химиотерапия, обязательно гормональное лечение и лучевая терапия по показаниям. Для оценки CNA-генетического ландшафта проведен микроматричный анализ опухоли до лечения и после НХТ на ДНК-

чипах Affymetrix CytoScan™ HD Array на микрочиповой системе Affymetrix GeneChip™ Scanner 3000.

Результаты. Проведено микроматричное исследование копийности всех известных генов в опухоли до лечения и после НАХТ у 42 больных. Оценены изменения CNA-генетического ландшафта опухоли в процессе НАХТ и выявлены случаи феномена генетического «замирания» опухоли – 16/42 (38 %). У 5 из 16 пациенток развились гематогенные метастазы, т.е. наблюдается неустойчивое генетическое «замирание». Стоит отметить, что у всех 5 больных есть две и более амплификации генов стволовости. У 11 пациенток, наоборот, метастазы не развились в течение 5 лет, т.е. наблюдается устойчивое «замирание». У 6 пациенток отсутствуют амплификации генов стволовости, поэтому стволовой переход у них маловероятен и метастазы не развились по этой причине. У 5 пациенток имеются амплификации генов стволовости, опухолевые клетки этих больных способны к стволовому переходу и могут метастазировать, но они не метастазировали. Причина этого неизвестна. Оценена связь экспрессии генов стволовости в опухоли до лечения и после НАХТ у пациенток с устойчивым и неустойчивым феноменом «замирания». Экспрессия генов *SNAI2*, *MOB3B*, *BM11*, *VIM* статистически значимо выше для больных с неустойчивым феноменом замирания, и на уровне тенденции для генов *SMO*, *KLF4* и *LAT* также выше у больных с неустойчивым феноменом «замирания». Сравнение генетических ландшафтов опухоли больных с устойчивым и неустойчивым феноменом «замирания» показало, что у всех больных с неустойчивым феноменом «замирания» есть амплификации генов стволовости и только у 47 % больных с устойчивым «замиранием» гены стволовости амплифицированы. Помимо этого, у больных с неустойчивым «замиранием», по сравнению с группой с устойчивым «замиранием» и амплификацией генов стволовости, с высокой частотой оказываются амплифицированы участки локализации генов WNT-сигналинга (*amp5q31.1-34*, *amp19q13.41*), отвечающих за активацию WNT, и делетирован регион *del12p13.33-12p11.22*, в котором локализованы гены WNT, большая часть из которых, также отвечает за активацию этого сигнального пути, за исключением гена *NANOG*, который ингибирует WNT.

Заключение. Для больных с феноменом «замирания» характерна низкая частота CNA в опухоли. По-видимому, амплификация компонентов WNT-сигналинга и одновременная делеция его ингибиторов привели пациентов с феноменом «замирания» к выходу из этого состояния.

Работа поддержана грантом РФФИ 18-29-09131.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ibragimova M.K., Tsyganov M.M., Litviakov N.V. Natural and chemotherapy-induced clonal evolution of tumors. *Biokhimiya*. 2017; 4(82): 572586. doi: 10.1134/S0006297917040022.

КОЛОРЕКТАЛЬНЫЙ РАК НА ФОНЕ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА. КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ОПУХОЛЕВОГО ПРОЦЕССА

А.А. Димча, Н.В. Юнусова, С.Г. Афанасьев

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

Аннотация

Цель исследования – изучить встречаемость метаболического синдрома и избыточной массы тела у пациентов с колоректальным раком, а также оценить взаимосвязь с клинико-морфологическими особенностями и проанализировать встречаемость 3-, 4- и 5-компонентного метаболического синдрома у пациентов с колоректальным раком. **Материал и методы.** В исследовании участвовали 99 человек с распространенностью опухолевого процесса T2–3N1–2M1. В зависимости от наличия МС или ИМТ больные разделены на 3 группы. Для включения в группу с МС использовались рекомендации International Diabetes Federation (2005). Статистическую обработку результатов выполняли при помощи пакета программ Statistica 10.0. и частотного калькулятора Vassarstats: website for statistical computation. **Результаты.** У больных КРР метаболические нарушения имелись в 78 % случаев: у 67 % выявлен метаболический синдром, у 11 % – избыточная масса тела. У больных КРР преобладал 3- и 4-компонентный вариант метаболического синдрома (46 % и 47 % соответственно), 5-компонентный

метаболический синдром встречался в 7 % случаев. Не выявлено достоверных взаимосвязей между наличием или отсутствием МС, а также вариантом МС и возрастом, полом, стадией и локализацией опухолевого процесса. Выявлена достоверная взаимосвязь как наличия МС, так и его клинических вариантов со степенью дифференцировки опухоли. В частности, при наличии МС5 низкодифференцированные аденокарциномы встречаются чаще, чем при других вариантах.

Ключевые слова: колоректальный рак, метаболический синдром, клинические варианты.

COLORECTAL CANCER WITH METABOLIC SYNDROME. CLINIC-MORPHOLOGICAL FEATURES OF TUMOR PROCESS

A.A. Dimcha, N.V. Yunusova, S.G. Afanas'ev

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

Abstract

The objective is to study the incidence of metabolic syndrome (MS) and overweight in patients with colorectal cancer, as well as to evaluate the relationship with clinical and morphological features and to analyze the incidence of 3, 4 and 5 components of metabolic syndrome in patients with colorectal cancer. **Material and Methods.** The study involved 99 patients with colorectal cancer (T2-3N1-2M1). Depending on the presence of MS or BMI, patients were divided into 3 groups. The Recommendations of the International Diabetes Federation (2005) were used for inclusion in the group with MS. Statistical processing of the results was made with the Statistica 10.0 software package and the Vassarstats frequency calculator: website for statistical computation. Results. 78 % of patients with CRC had metabolic disorders: 67 % had metabolic syndrome, 11 % had excess body weight. In patients with CRC, the 3 and 4 component variants of the metabolic syndrome prevailed (46 % and 47 %, respectively), the 5 component metabolic syndrome occurred in 7 % of cases. No significant relationship was found between the presence or absence of the MS, and variant of the MC and age, sex, stage, and localization of the tumor process. A significant correlation was revealed between the presence of MS and its clinical variants with the level of tumor differentiation. In particular, G3 adenocarcinoma was more common in the presence of MC5 than in other variants.

Key words: colorectal cancer, metabolic syndrome, clinical variants.

Актуальность. Согласно оценке Всемирной организации здравоохранения, в настоящее время в мире более чем 1,7 млрд человек имеют лишний вес (индекс массы тела от 25,0 до 29,9 кг/м²), а еще 310 млн страдают ожирением (индекс массы тела 30,0 кг/м² и выше) В популяции взрослого населения метаболический синдром (МС) выявляется у 10–30 % населения в зависимости от ее особенностей и используемых критериев диагностики МС [1].

В России его распространенность варьирует от 20 до 35 %, причем у женщин он встречается в 2,5 раза чаще и с возрастом число больных увеличивается [2].

Наиболее часто в мире используются критерии, предложенные экспертами International Diabet Federation (2005). Критериями МС является наличие абдоминального типа ожирения (окружность талии более 94 см для мужчин и более 80 см для женщин – у европеоидной расы) в сочетании как минимум с двумя из четырех дополнительных критериев: повышение триглицеридов (ТГ) более 1,7 ммоль/л или проводимое ранее лечение дислипидемии; снижение холестерина липопротеидов высокой плотности (ХС ЛПВП) менее 1,03 ммоль/л для мужчин и 1,29 ммоль/л для женщин; повышение артериального давления (систолического более 130 мм рт. ст., или диастолического более 85 мм рт.ст., или проводимая терапия артериальной гипертензии); повышение глюкозы крови натощак более 5,6 ммоль/л или нарушение толерантности к глюкозе, или выявленный сахарный диабет 2-го типа [3, 4].

В России также широко используют критерии МС Всероссийского научного общества кардиологов по диагностике и лечению метаболического синдрома (2009), которые отличаются от критериев ВОЗ более детальным анализом нарушений углеводного обмена, а также дополнительным критерием – увеличение уровня холестерина липопротеидов низкой плотности (ХС ЛПНП) более 3 ммоль/л [5, 9].

Клинически выделяют трехкомпонентный (наиболее распространенный вариант в общей популяции, характеризующийся наличием абдоминального ожирения (АО), гипертонической болезни (ГБ) и снижением уровня холестерина липопротеидов высокой плотности

(ХС ЛПВП), четырехкомпонентный и пятикомпонентный (наиболее распространен среди больных раком эндометрия, включающий АО, ГБ, уменьшение ХС ЛПВП и гипергликемия более 5,6 ммоль/л) МС [6].

Выделяют ассоциированные с МС злокачественные новообразования, к которым относят колоректальный рак (для мужчин и для женщин, все возрастные периоды), рак молочной железы в постменопаузе, рак эндометрия (все возрастные периоды), рак печени. [7, 8].

За последние десятилетия отмечен прогрессирующий рост числа больных колоректальным раком (КРР). На данный момент КРР занимает 2-е место (10,2 % случаев) (после рака легких) среди всех локализаций рака. Ежегодно в мире регистрируется более 881 тыс. смертей от КРР.

Цель исследования – изучить встречаемость метаболического синдрома и избыточной массы тела у пациентов, распространенность 3-, 4- и 5-компонентного метаболического синдрома у больных колоректальным раком, а также оценить взаимосвязь с клинкоморфологическими особенностями.

Материал и методы. В исследование были включены 99 больных колоректальным раком, из них 49 мужчин и 50 женщин, средний возраст составил $60,9 \pm 1,02$ года. Клинико-морфологическая характеристика больных колоректальным раком. Всем пациентам выполнялась радикальная операция в объеме резекции соответствующего сегмента толстой кишки с периколлярной лимфодиссекцией. После гистологического исследования операционного материала и заживления раны больным с метастатическим поражением регионарных лимфоузлов проводилась ХТ (FOLFOX4). В зависимости от наличия МС или метаболических нарушений больные были разделены на 3 группы: с МС – 61 человек (62 %), без МС – 22 человека (22 %), с ожирением или избыточной массой тела (ОИТ) – 16 человек (16 %). В третью группу были включены больные, имеющие абдоминальное ожирение в сочетании с 1 дополнительным критерием, характерным для метаболического синдрома, т.е. имеющие нарушения липидного, углеводного обмена или заболевания ССС. Критериями включения в группу с МС, согласно рекомендациям International Diabetes Federation (2005), являлись: наличие абдоминального типа ожирения (окружность талии более 94 см для мужчин и более 80 см для женщин – у европеоидной расы), в сочетании, как минимум, с двумя из 4 дополнительных критериев: повышение ТГ более 1,7 ммоль/л или проводимое ранее лечение дислипидемии; снижение ХС ЛПВП менее 1,03 ммоль/л для мужчин и 1,29 ммоль/л для женщин; повышение артериального давления (систолического более 130 мм рт. ст., или диастолического более 85 мм рт. ст., или проводимая терапия артериальной гипертензии); повышение глюкозы крови натощак более 5,6 ммоль/л, или нарушение толерантности к глюкозе, или выявленный сахарный диабет II типа). [4]. Критерии исключения: первично-множественные формы колоректального рака, колоректальный рак Ia стадии (T1N0M0), рак прямой кишки с поражением средне- и нижнеампулярного отдела.

Обследование больных проводилось по разработанной комплексной анкете, включающей клинические данные: жалобы, анамнез, возраст, общесоматический статус, анализ сопутствующей патологии. Исследование антропометрических показателей включало: измерение роста, массы тела, окружности талии и окружности бедер. Оценка степени ожирения проводилась на основании расчета индекса массы тела (ИМТ) по формуле: $ИМТ = \frac{масса\ тела\ (кг)}{рост\ (м)^2}$. Статистическую обработку результатов выполняли при помощи пакета программ Statistica 10.0. Количественные данные представлены в виде $M \pm m$ или me (25–75 %), где M – среднее выборочное; m – ошибка среднего. Статистическую значимость различий для 2 групп проверяли при помощи u -критерия Манна – Уитни (в случае независимых совокупностей) и при помощи критерия Краскела – Уоллиса для трех и более групп. Для сравнения частот бинарного признака в 2 независимых группах использовался коэффициент Phi (таблица 2×2), для анализа 3 и более признаков – частотный калькулятор на Vassarstats: website for statistical computation (<http://vassarstats.net>).

Результаты. Анализ полученных данных показал, что среди больных колоректальным раком МС встречался в 68 %, доля больных с ОИТ составила 11 % и без МС – 21 %.

При изучении распределения метаболических нарушений у пациентов с ОИТ было выявлено, что наиболее часто в этой группе абдоминальное ожирение сочеталось с артериальной гипертензией (в 44 %), реже абдоминальное ожирение сочеталось с нарушениями липидного обмена (повышение уровня ХС ЛПВП), абдоминальное ожирение в чистом виде встречалось в 19 % случаев. Следует отметить, что для данной группы не характерны нарушения углеводного обмена.

Анализируя группу пациентов с МС, следует отметить, что с равной частотой встречались 3- и 4-компонентные варианты МС, в 51 % (31 чел.) и 43 % (26 чел.) соответственно. Пятикомпонентный вариант МС встречался только в 6 % случаев (4 чел.). Частота встречаемости отдельных компонентов МС представлена на рис. 1. Абдоминальное ожирение встречалось в 100 % (61 чел.), артериальная гипертензия – в 77 % (47 чел.), снижение количества ХС ЛПВП – в 64 % (39 чел.), повышение ТГ – в 62 % (38 чел.), нарушения углеводного обмена, гипергликемия – 59 % (36 чел.), и отдельно сахарный диабет II типа встречался у 26 % пациентов (16 чел.).

Далее была изучена взаимосвязь наличия или отсутствия МС или ОИТ с возрастом, полом, стадией, степенью дифференцировки и локализацией опухолевого процесса.

Выявлена взаимосвязь наличия МС со степенью дифференцировки опухоли. Низкодифференцированные аденокарциномы встречались чаще у пациентов с МС, чем при отсутствии МС или ИМТ. При изучении взаимосвязи варианта МС с возрастом, полом, стадией, степенью дифференцировки и локализацией опухолевого процесса выявлена достоверная взаимосвязь между вариантом МС и степенью дифференцировки опухоли. В частности, при наличии пятикомпонентного МС низкодифференцированные аденокарциномы встречаются чаще, чем при других вариантах.

Вывод. У больных КРР метаболические нарушения имелись в 78 % случаев: у 67 % выявлен метаболический синдром, у 11 % – избыточная масса тела. У больных КРР преобладал 3- и 4-компонентный вариант метаболического синдрома (51 % и 43 % соответственно), 5-компонентный метаболический синдром встречался в 6 % случаев. Не выявлено достоверных взаимосвязей между наличием или отсутствием МС, а также вариантом МС и возрастом, полом, стадией и локализацией опухолевого процесса. Выявлена достоверная взаимосвязь как наличия МС, так и его клинических вариантов со степенью дифференцировки опухоли. В частности, при наличии МС5 низкодифференцированные аденокарциномы встречаются чаще, чем при других вариантах.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Bessesen D.H.* Update on obesity. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008 Jun; 93(6): 2027–34. doi: 10.1210/jc.2008-0520.
2. *Haffner S.* Risk constellations in patients with the metabolic syndrome: epidemiology, diagnosis, and the treatment patterns. *Am J Med.* 2006 May; 119(5 Suppl 1): S3–9.
3. *Galic S., Oakhill J.S., Steinberg G.R.* Adipose tissue as an endocrine organ. *Mol Cell Endocrinol.* 2010 Mar 25; 316(2): 129–39. doi: 10.1016/j.mce.2009.08.018.
4. *Рекомендации по ведению больных с метаболическим синдромом.* Клинические рекомендации. М., 2013. 43.
5. *Рекомендации экспертов всероссийского научного общества кардиологов по диагностике и лечению метаболического синдрома.* Второй пересмотр. М., 2009. 43.
6. *Kishkina A.Yu., Kolomiets L.A., Yunusova N.V.* Clinical and morphological features of endometrial cancer with different structural variants of metabolic syndrome. The 22nd International Charles Heidelberger Symposium on Cancer Research: Proceedings of the International Symposium. Tomsk 1719 Sep. 2018. Tomsk: Publishing house of Tomsk University, 2018. 46–47.
7. *Метаболический синдром:* учебно-методическое пособие по специальности «Лечебное дело» (31.05.01). ГБОУ ВПО РязГМУ Минздрава России. Рязань: РИО РязГМУ, 2016. 81.
8. *Yunusova N.V., Kondakova I.V., Kolomiets L.A., Afanas'ev S.G., Chernyshova I.V. Kudryavtsev, Tsydenova A.A.* Molecular targets for therapy of cancer associated with metabolic syndrome (transcription and growth factors). *Asia Pac J Clin Oncol.* 2018 Jun; 14(3): 134–140. doi: 10.1111/ajco.12780.
9. *Yunusova N.V., Kondakova I.V., Kolomiets L.A., Afanas'ev S.G., Kishkina A.Y., Spirina L.V.* The role of metabolic syndrome variant in malignant tumors progression. *Diabetes Metab Syndr.* 2018 Sep; 12(5): 807–812. doi: 10.1016/j.dsx.2018.04.028.

ОСНОВНЫЕ КОМПОНЕНТЫ EGFR/PI3K/AKT – СИГНАЛЬНОГО ПУТИ КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ МАРКЕРЫ ПРОГНОЗА И ЭФФЕКТИВНОСТИ ТАМОКСИФЕНА У БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Т.А. Дронова^{1,2}, С.В. Паталяк¹

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия¹
Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск, Россия²

Аннотация

Одним из ключевых механизмов формирования гормональной резистентности у больных раком молочной железы (РМЖ) является активация EGFR/PI3K/Akt сигнального каскада. **Цель работы** – оценить прогностическую значимость основных компонентов EGFR/PI3K/Akt сигнального пути и изучить

их корреляцию с эффективностью адъювантной терапии тамоксифеном у больных раком молочной железы. Полученные результаты свидетельствуют о том, что уровень генной экспрессии AKT1 и ESR1, уровень экспрессии белков EGFR и Akt (pS473), а также полиморфный локус гена ESR1 rs2228480 могут выступать в качестве потенциальных маркеров прогноза и эффективности адъювантной терапии тамоксифеном у больных РМЖ.

Ключевые слова: рак молочной железы, тамоксифен, рецептор эпидермального фактора роста, PI3K/Akt/mTOR-сигнальный каскад.

THE MAIN COMPONENTS OF THE EGFR/PI3K/AKT SIGNALING AS POTENTIAL MARKERS FOR THE PROGNOSIS AND TAMOXIFEN EFFICACY IN BREAST CANCER PATIENTS

T.A. Dronova^{1,2}, S.V. Patalyak¹

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia¹
Tomsk State University, Tomsk, Russia²

Abstract

Activation of the EGFR/PI3K/Akt signaling is a key mechanism of hormone resistance in breast cancer patients (BC). The **Aim** of the study was to examine the prognostic significance of the EGFR/PI3K/Akt signaling components and to assess their correlation with the adjuvant tamoxifen efficacy in breast cancer patients. Our data suggest that the AKT1 and ESR1 mRNA level, EGFR and Akt (pS473) protein expression of as well as the ESR1 rs2228480 SNP can be considered as potential prognosis markers and tamoxifen efficacy markers in breast cancer patients.

Key words: breast cancer, tamoxifen, receptor epidermal growth factor, PI3K/Akt/mTOR signaling.

Введение. Формирование резистентности к адъювантной гормонотерапии тамоксифеном у пациенток эстроген-позитивным раком молочной железы (РМЖ) может быть опосредовано взаимодействием внутриклеточных каскадов рецептора эпидермального фактора роста (EGFR) и PI3K/Akt/mTOR сигналинга [1]. Показано, что гиперэкспрессия EGFR в опухолевой ткани у больных РМЖ связана с развитием резистентности к тамоксифену [2, 3]. Однако взаимосвязь генетических особенностей и белкового статуса компонентов EGFR/PI3K/Akt сигнального пути у больных РМЖ в настоящее время остается недостаточно изученной.

Цель работы – изучение связи основных компонентов EGFR/PI3K/Akt сигнального пути с прогнозом и эффективностью адъювантной терапии тамоксифеном у больных раком молочной железы.

Материал и методы. В исследование включена 141 пациентка с впервые выявленным раком молочной железы, T1–4N0–3M0 получавших лечение в отделении общей онкологии НИИ онкологии Томского НИМЦ с 2002 по 2016 г. У всех больных диагноз рака молочной железы был подтвержден морфологически. Для определения эстроген-позитивного рака молочной железы использована классическая панель иммуногистохимических маркеров: ERα, PR, HER2 и Ki-67. Все пациентки получили комбинированное лечение в объеме радикального хирургического лечения, а также лучевой и химиотерапии по показаниям. Обязательным компонентом адъювантного лечения для всех больных явился прием тамоксифена в стандартной дозировке (20 мг/сут). На основе отдаленных результатов лечения (наличие прогрессирования заболевания в виде появления отдаленных метастазов) сформированы 2 группы пациенток. Первая группа – без признаков прогрессирования (тамоксифен-чувствительная группа, n=110), вторая – с прогрессированием заболевания (тамоксифен-резистентная группа, n=31). Материалом для исследования служили образцы опухолевой и прилегающей нормальной ткани. Забор тканей проводился в течение первого часа после выполнения радикальной мастэктомии или органосохраняющих операций.

Тотальная ДНК из опухолевых образцов выделена с помощью набора QIAamp DNA FFPE tissue kit (Qiagen, Германия). Анализ полиморфных локусов генов EGFR (rs1468727, rs2227983), AKT1 (rs1130233), PTEN (rs11202592) и ESR1 (rs2077647, rs2228480, rs1801132) проведен с помощью ПЦР в режиме реального времени. Для выделения РНК из опухолевой

и прилежащей нормальной ткани использован набор RNeasy Plus mini Kit, содержащий ДНК-азу I (Qiagen, Германия). Уровень экспрессии мРНК генов EGFR, AKT1, PTEN и ESR1 изучен методом количественной обратной-транскриптазной ПЦР в режиме реального времени по технологии TaqMan. Изучение белковой экспрессии EGFR, Akt(pS473) и PTEN проведено на парафиновых срезах иммуногистохимическим способом с использованием стрептавидин-биотинового метода. Показатели безрецидивной выживаемости больных РМЖ проанализированы с помощью кривых Каплана – Майера. Для анализа наличия или отсутствия связи между исследуемыми маркерами использовали корреляционный анализ Спирмена. Статистическая обработка результатов исследования осуществлена с помощью пакета программ «STATISTICA 6.0». Обсуждались результаты с достоверностью различий при $p < 0,05$.

Результаты. Проведен анализ генной экспрессии EGFR, AKT1, PTEN и ESR1 у больных двух исследуемых групп. Показано, что пациентки тамоксифен-чувствительной группы имели более высокий уровень mRNA гена AKT1 по сравнению с тамоксифен-резистентной группой больных ($p=0,030$). Повышение уровня экспрессии ESR1 было характерно также для тамоксифен-чувствительных пациенток по отношению к тамоксифен-резистентной группе больных ($p=0,013$).

При изучении уровня экспрессии белковых продуктов изучаемых генов показано, что позитивный уровень экспрессии как EGFR, так и Akt(pS473) в опухоли ассоциирован с резистентностью к тамоксифену ($p = 0,041$ и $p = 0,035$ соответственно).

На следующем этапе работы был проведен анализ функционально значимых полиморфных локусов генов EGFR (rs1468727, rs2227983), AKT1 (rs1130233), PTEN (rs11202592) и ESR1 (rs2077647, rs2228480, rs1801132). Показано, что высокая частота встречаемости как мутантного варианта гена ESR1 2014AA (rs2228480), так и аллеля ESR1 2014A (rs2228480) характерна для группы тамоксифен-резистентных пациенток ($p=0,003$ и $p=0,006$ соответственно). Взаимосвязи носительства других полиморфных локусов исследуемых генов с эффективностью терапии тамоксифеном не выявлено.

Оценка безрецидивной выживаемости показала, что наличие мутантного генотипа ESR1 2014AA (rs2228480) связано с низкими показателями выживаемости у больных РМЖ (log rank $p=0,043$). Выявлено, что показатели безрецидивной выживаемости значимо ниже среди пациенток с позитивным уровнем экспрессии EGFR и Akt (pS473) в опухоли (log rank $p=0,014$ и log rank $p=0,048$ соответственно).

Для оценки взаимосвязи белковой и генной экспрессии, а также функционально значимых полиморфных локусов исследуемых маркеров был проведен корреляционный анализ Спирмена. Установлена положительная корреляционная связь между экспрессией mRNA генов EGFR и PTEN ($r=0,329$, $p=0,040$). Подобная направленность взаимосвязей выявлена между полиморфными локусами гена ESR1 (rs1801132 и rs2077647) ($r=0,199$; $p = 0,029$). Отрицательная корреляционная зависимость выявлена между уровнем генной экспрессии AKT1 и SNP AKT1 (rs1130233) ($r=-0,338$, $p= ,030$).

Выводы. Представленные результаты показывают, что уровень экспрессии mRNA генов AKT1, ESR1, уровень белковой экспрессии EGFR и Akt (pS473), а также полиморфные варианты гена ESR1 rs2228480 являются одними из факторов, ассоциированных с резистентностью/чувствительностью к адьювантной терапии тамоксифеном и прогнозом у больных РМЖ.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, грант № 17-29-06037 офи м «Геномные механизмы регуляции опухолевой прогрессии рака молочной железы в условиях лекарственной терапии».

ЛИТЕРАТУРА

1. Chang M. Tamoxifen Resistance in Breast Cancer. *Biomol Ther* (Seoul). 2012 May; 20(3): 256–67. doi: 10.4062/biomolther.2012.20.3.256.
2. Chong K., Subramanian A., Sharma A., Mokbel K. Measuring IGF-1, ER- α and EGFR expression can predict tamoxifen-resistance in ER-positive breast cancer. *Anticancer Res*. 2011 Jan; 31(1): 23–32.
3. Xuan Q.J., Wang J.X., Nanding A., Wang Z.P., Liu H., Zhang Q.Y. Tumor-associated macrophages are correlated with tamoxifen resistance in the postmenopausal breast cancer patients. *Pathol Oncol Res*. 2014 Jul; 20(3): 619–24. doi: 10.1007/s12253-013-9740-z.

ОДНОФОТОННАЯ ЭМИССИОННАЯ КОМПЬЮТЕРНАЯ ТОМОГРАФИЯ С ^{99m}Tc-1-ТИО-D-ГЛЮКОЗОЙ В ДИАГНОСТИКЕ И СТАДИРОВАНИИ ЛИМФОМ

Е.А. Дудникова, А.В. Данилова, Н.М. Гончарова

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

Аннотация

Целью исследования явилась оценка возможности применения однофотонной эмиссионной компьютерной томографии (ОФЭКТ) с инновационным отечественным радиофармпрепаратом (РФП) ^{99m}Tc-1-тио-D-глюкоза (^{99m}Tc-ТГ) в диагностике и стадировании злокачественных лимфом. На основании полученных результатов можно рекомендовать использование с ^{99m}Tc-ТГ в качестве дополнительного диагностического метода обследования пациентов со злокачественными лимфомами для диагностики и стадирования лимфопролиферативных заболеваний.

Ключевые слова: лимфомы, лимфома Ходжкина, неходжкинские лимфомы, однофотонная эмиссионная компьютерная томография, ^{99m}Tc-1-тио-D-глюкоза.

SINGLE-PHOTON EMISSION COMPUTERIZED TOMOGRAPHY WITH ^{99m}Tc-1-THIO-D-GLUCOSE IN THE DIAGNOSIS AND STAGING OF LYMPHOMAS

E.A.Dudnikova, N.M.Goncharova, A.V. Danilova

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Science, Tomsk, Russia

Abstract

The purpose of this study was to evaluate the feasibility of using ^{99m}Tc-TG SPECT in the detection and staging of malignant lymphoma. Based on the results obtained, we can conclude that SPECT with ^{99m}Tc-1-Thio-D-glucose is a feasible and useful tool in the detection and staging malignant lymphoma.

Key words: lymphomas, Hodgkin's lymphoma, non-Hodgkin's lymphomas, single-photon emission computed tomography, ^{99m}Tc-1-Thio-D-glucose.

Актуальность. В развитых странах методы ядерной медицины нашли широкое применение в диагностике и лечении неврологических, кардиологических и онкологических заболеваний [1–8]. В настоящее время ПЭТ с ¹⁸F-ФДГ входит в стандарты диагностики, стадирования и мониторинга лимфопролиферативных заболеваний [9, 10]. Несмотря на высокую информативность метода, его использование в Российской Федерации ограничено низкой оснащенностью регионов ПЭТ центрами. Одним из перспективных радиофармпрепаратов (РФП) для визуализации лимфом является ^{99m}Tc-1-тио-D-глюкоза (^{99m}Tc-ТГ). К его преимуществу относится возможность выполнения исследований на обычном ОФЭКТ томографе. В рамках ФЦП «Фарма-2020» в Томском НИМЦ и Томском политехническом университете разработан метод получения и анализа ^{99m}Tc-ТГ [11–13]. Показано, что ^{99m}Tc-ТГ не обладает токсичностью, кумулятивностью, алергизирующими свойствами [14]. Доказано, что ^{99m}Tc-ТГ характеризуется высокой аккумуляцией в опухолевых клетках *in vivo* и *in vitro* [15–17], а также позволяет визуализировать злокачественные лимфомы [18].

Целью исследования явилась оценка возможности применения ОФЭКТ с ^{99m}Tc-ТГ в диагностике и стадировании лимфопролиферативных заболеваний.

Материал и методы. В исследовании приняли участие 24 пациента (средний возраст 47,63±18,3, от 22 до 82 лет) с впервые диагностированными злокачественными лимфомами, ранее не получавшие противоопухолевого лечения. Из них 12 пациентов с лимфомой Ходжкина (ЛХ) и 12 с агрессивными формами неходжкинских лимфом (НХЛ): диффузная

В-крупноклеточная лимфома (10 случаев), фолликулярная лимфома (1 случай) и лимфома из В клеток маргинальной зоны (1 случай). У 7 пациентов установлена ПА стадия, у 2 – ПВ стадия, у 1 – ПЕ стадия, у 3 – ПИА стадия, у 1 – ПШВ стадия, у 5 – IVA стадия, у 5 – IVB стадия. ОФЭКТ проводили на гамма-камере E.SAM 180 фирмы «Siemens» (Германия). Исследование выполнялось через 4 ч после внутривенного введения РФП в режиме «2 bed». Анализ томографических сканов осуществлялся визуально. Оценивалось состояние печени, селезенки, желудочно-кишечного тракта, лимфатических узлов и костной системы. Сравнивались изображения контралатеральных областей, при этом патологическими считались асимметричные участки накопления РФП.

Результаты. По результатам ОФЭКТ с ^{99m}Tc -ТГ патологическое включение РФП в лимфатические узлы наблюдалось у 23 (95 %) из 24 пациентов. Чаще всего патологическое накопление ^{99m}Tc -ТГ было выявлено в аксиллярных, над-, подключичных и шейных лимфатических узлах. У одной пациентки не удалось визуализировать определяемый с помощью КТ единичный, увеличенный поднижнечелюстной лимфатический узел, размером 16 мм, что, вероятно, связано с физиологичным повышенным накоплением ^{99m}Tc -ТГ в орофарингеальной зоне. Сложности были при визуализации паратрахеальных, парааортальных и паракардиальных лимфатических узлов, что объясняется высокой фоновой активностью крови, сохраняющейся даже спустя 4 ч после внутривенного введения ^{99m}Tc -ТГ. Данная проблемы была решена при помощи совмещения ОФЭКТ с результатами КТ, что позволило визуализировать вышеупомянутые группы метаболически активных лимфатических узлов.

Экстраанальные поражения по результатам стандартных методов исследования выявлены у 15 пациентов. Из них у 5 человек были обнаружены образования в легких, у 3 – в печени, у 1 – в молочной железе и по 2 случая поражения селезенки, желудка и жевательных мышц. При помощи ОФЭКТ с ^{99m}Tc -ТГ экстралимфатические гиперметаболические очаги были выявлены у 11 (73 %) из 15 пациентов. Поражение легких диагностировано в трех случаях, желудка и костей скелета – в двух и по одному случаю в печени, селезенке, жевательных мышцах и молочной железе. Следует отметить, что по результатам ОФЭКТ у одной пациентки был выявлен гиперметаболический очаг в легком, не визуализирующийся при КТ.

В исследуемой выборке пациентов по данным КТ наличие поражения костного мозга костей таза и лопатки наблюдалось в одном случае. Применение ОФЭКТ с ^{99m}Tc -ТГ позволило выявить дополнительные гиперметаболические участки в костной ткани у одной пациентки.

По результатам проведенного исследования было выявлено повышенное накопление ^{99m}Tc -ТГ в желчном пузыре, связанное с хроническим холециститом, что говорит о необходимости анализа всех клинических данных при обработке результатов ОФЭКТ с ^{99m}Tc -ТГ.

Заключение. Полученные нами результаты показали, что ОФЭКТ с ^{99m}Tc -ТГ является перспективным методом обследования пациентов со злокачественными лимфомами, который может быть рекомендован в качестве дополнительного исследования в тех случаях, когда другие методы лучевой диагностики не дают однозначного ответа.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ефимова Н.Ю., Чернов В.И., Ефимова И.Ю., Афанасьева Н.Л., Лишманов Ю.Б. Когнитивные дисфункции и состояние мозгового кровообращения у больных артериальной гипертензией: возможности медикаментозной коррекции. Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2008; 11(108): 10–15.
2. Карнов Р.С., Павлокова Е.Н., Врублевский А.В., Чернов В.И., Усов В.Ю. Современные методы диагностики коронарного атеросклероза. Бюллетень Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. 2006; 2(26): 105–117.
3. Лишманов Ю.Б., Чернов В.И., Кривоногов Н.Г., Ефимова И.Ю., Веснина Ж.В., Завадовский К.В., Минин С.М., Сазонова С.И., Скуридин В.С., Панькова А.Н., Саушкин В.В., Ильюшенко Ю.Н., Ефимова Н.Ю. Радионуклидные методы исследования в диагностике сердечно-сосудистых заболеваний. Сибирский медицинский журнал. 2010; 4–1(25): 8–13.
4. Чернов В.И., Гарганеева А.А., Веснина Ж.В., Лишманов Ю.Б. Перфузионная скинтиграфия миокарда в оценке результатов курсового лечения триметазидином больных ишемической болезнью сердца. Кардиология. 2001; 8(41): 14–16.
5. Чернов В.И., Брагина О.Д., Синилкин И.Г., Медведева А.А., Зельчан Р.В. Радионуклидная тераностика злокачественных образований. Вестник рентгенологии и радиологии. 2016; 5(97): 306–313.
6. Чернов В.И., Брагина О.Д., Синилкин И.Г., Медведева А.А., Зельчан Р.В. Радиоиммунотерапия в лечении злокачественных образований. Сибирский онкологический журнал. 2016; 2(15): 101–106.
7. Чернов В.И., Медведева А.А., Синилкин И.Г., Зельчан Р.В., Брагина О.Д., Чойзонов Е.Л. Ядерная медицина в диагностике и адресной терапии злокачественных новообразований. Бюллетень сибирской медицины. 2018; 1(17): 220–231.
8. Зельчан Р.В., Медведева А.А., Синилкин И.Г., Брагина О.Д., Чернов В.И. Диагностические радиофармацевтические препараты на основе производных глюкозы в современной онкологической практике. Сибирский онкологический журнал. 2018; 2(17): 71–81.
9. Новиков С.Н., Гиринович М.М. Диагностика и стадирование лимфомы Ходжкина. Проблемы туберкулеза и болезней легких. 2007; 2(8): 65–72.
10. Чернов В.И., Дудникова Е.А., Гольдберг В.Е., Кравчук Т.Л., Данилова А.В., Зельчан Р.В., Медведева А.А., Синилкин И.Г., Брагина О.Д., Попова Н.О., Гольдберг А.В. Позитронная эмиссионная томография в диагностике и мониторинге лимфопролиферативных заболеваний. Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2018; 6(63): 41–50.

11. Stasyuk E.S., Skuridin V.S., Ilna E.A., Rogov A.S., Nesterov E.A., Sadkin V.L., Larionova L.A., Varlamova N.V., Zelchan R.V. Development new radiopharmaceutical based on 5-thio-D-glucose labeled technetium-99m. IOP Conference Series: Materials Science and Engineering 8. 2016; 012044.
12. Чернов В.И., Медведева А.А., Синилкин И.Г., Зельчан Р.В., Брагина О.Д., Скуридин В.С. Опыт разработки инновационных радиофармпрепаратов в Томском НИИ онкологии. Сибирский онкологический журнал. 2015; S2: 45–47.
13. Чернов В.И., Медведева А.А., Синилкин И.Г., Зельчан Р.В., Брагина О.Д. Разработка радиофармпрепаратов для радионуклидной диагностики в онкологии. Медицинская визуализация. 2016; 2: 63–66.
14. Зельчан Р.В., Медведева А.А., Брагина О.Д., Синилкин И.Г., Чернов В.И., Стасюк Е.С., Тагирова Е.А., Скуридин В.С. Изучение общей острой токсичности нового радиофармпрепарата ^{99m}Tc-1-тио-D-глюкоза в эксперименте. Молекулярная медицина. 2019; 1(17): 58–64.
15. Zelchan R., Medvedeva A., Sinilkin I., Chernov V., Stasyuk E., Rogov A., Skuridin V. Study of potential utility of new radiopharmaceuticals based on technetium-99m labeled derivative of glucose. AIP Publishing, 2016. 1760(1).
16. Zelchan R., Medvedeva A., Sinilkin I., Bragina O., Chernov V., Stasyuk E., Dergilev A. Experimental study of radiopharmaceuticals based on technetium-99m labeled derivative of glucose for tumor diagnosis. IOP Conference Series: Materials Science and Engineering. 2016; 012054.
17. Зельчан Р.В., Медведева А.А., Синилкин И.Г., Брагина О.Д., Чернов В.И., Стасюк Е.С., Ильина Е.А., Скуридин В.С. Изучение функциональной пригодности туморотропного радиофармпрепарата ^{99m}Tc-1-ТИО-6-глюкоза в эксперименте. Молекулярная медицина. 2018; 3(16): 54–57.
18. Zelchan R., Medvedeva A., Sinilkin I., Chernov V., Bragina O., Stasyuk E., Rogov A., Ilna E., Larionova L., Skuridin V., Dergilev A. Experimental study of radiopharmaceuticals based on technetium-99m labeled derivative of glucose for tumor diagnosis. IOP Conference Series: Materials Science and Engineering 8. 2016; 012054.
19. Чернов В.И., Дудникова Е.А., Зельчан Р.В., Кравчук Т.Л., Данилова А.В., Медведева А.А., Синилкин И.Г., Брагина О.Д., Гольдберг В.Е., Гольдберг А.В., Фролова И.Г. Однофотонная эмиссионная компьютерная томография с ^{99m}Tc-1-тио-D-глюкозой в диагностике и стадировании злокачественных лимфом: первый опыт использования. Сибирский онкологический журнал. 2018; 17(4): 81–87. doi: 10.21294/1814-4861-2018-17-4-81-87.

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ХИМИОТЕРАПИИ У БОЛЬНЫХ С МЕТАСТАТИЧЕСКИМ ПОРАЖЕНИЕМ ПЕЧЕНИ ПРИ КОЛОРЕКТАЛЬНОМ РАКЕ НА ОСНОВАНИИ ДАННЫХ КОМПЬЮТЕРНОЙ ТОМОГРАФИИ

**Р.В. Ермоленко, И.Г. Фролова, С.А. Тузиков,
С.А. Величко, С.В. Миллер, Л.А. Ефтеев**

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

Аннотация

Целью исследования являлось изучение возможностей спиральной компьютерной томографии с контрастированием в оценке результатов системной химиотерапии больных с колоректальными метастазами в печени. Показано, что на основании проведенного исследования для оценки ответа опухоли на лечение, кроме использования критериев RECIST 1.1, можно предложить количественные критерии (анализ коэффициента контрастного усиления в артериальную фазу), которые позволяют косвенно судить об ответе МТС очага на проводимое лечение.

Ключевые слова: СКТ, коэффициент контрастного усиления (ККУ), метастатическое поражение печени, колоректальный рак.

EVALUATION OF THE EFFECTIVENESS OF CHEMOTHERAPY IN PATIENTS WITH LIVER METASTASES FROM COLORECTAL CANCER USING COMPUTED TOMOGRAPHY

**R.V. Ermolenko, I.G. Frolova, S.A. Tuzikov,
S.A. Velichko, S.V. Miller, L.A. Efteev**

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

Abstract

The **Aim** of the study was to study the role of contrast-enhanced spiral computed tomography in the assessment of the results of systemic chemotherapy in patients with liver metastases from colorectal cancer. To assess

the tumor response to treatment, in addition to the RECIST 1.1 criteria, we suggest using the quantitative criteria (analysis of the coefficient of contrast enhancement in the arterial phase). It allows us to indirectly assess the response of MTS to the treatment.

Key words: SCT, contrast enhancement factors (CEF), metastatic liver damage, colorectal cancer.

Актуальность. Печень является наиболее частым органом метастатического поражения после регионарных лимфоузлов, при этом до 80 % в печень метастазирует колоректальный рак, в 50 % случаев сразу выявляется метастатическое поражение печени или оно развивается в течении болезни [1]. Кроме того, от 30 до 55 % пациентов, получивших потенциально радикальное лечение по поводу рака толстой кишки, имеют риск прогрессирования заболевания в виде метастазов в печени.

Проблема оценки результатов лечения метастазов колоректального рака – по-прежнему сложная и актуальная задача клинической онкологии [2, 3].

До недавнего времени больные, имеющие колоректальные метастазы в печени, получали только симптоматическое лечение, но в последние годы существенно пересмотрена позиция в отношении тактики лечения. Это обусловлено совершенствованием хирургической техники, достижениями химиотерапии и появлением новых алгоритмов и схем лечения с включением различных вариантов абляции и химиоэмболизации [4].

Хотя по-прежнему наиболее потенциально радикальным методом лечения этой патологии остается хирургический способ (резекция печени). Однако низкий процент резектабельности (15–20 %), высокий процент рецидива опухолей (60 % и более) требуют поиска новых, более эффективных подходов к решению этой проблемы. В настоящее время наиболее распространено комбинированное лечение колоректальных метастазов печени путем сочетания резекции печени, различных вариантов химиотерапии, методов локальной деструкции опухолей и химиоэмболизации [3]. Лекарственное лечение злокачественных новообразований печени и сегодня остается сложной проблемой. Существует лишь несколько препаратов, проявляющих противоопухолевую активность. Стандартными схемами предоперационного адьювантного лечения являются назначение цитотоксических препаратов (оксалиплатин или иринотекан) в комбинации с 5-фторурацилом и лейковорином (схемы FOLFOX и XELOX). В ответ на повреждения ДНК, вызываемые оксалиплатином и иринотеканом, в опухолевых клетках происходит индукция апоптоза. Проведение химиотерапии с использованием современных схем лечения позволяет существенно улучшить качество жизни [5].

Наиболее объективной методикой оценки эффективности любого проведенного варианта лечения, безусловно, является морфологическое исследование с оценкой терапевтического патоморфоза [6]. Тем не менее для своевременной коррекции схемы лечения клиницистам в определенных ситуациях необходимо иметь сведения об эффективности проводимой терапии на этапах реализации. Для этого в последние годы широко используют различные методы лучевой диагностики.

По мнению некоторых исследователей, СКТ позволяет определить точную локализацию патологического очага. Метод также информативен в плане выбора оптимальной тактики дальнейшего лечения с учетом данных топической диагностики. По данным некоторых авторов, чувствительность СКТ составляет от 96 до 98 % [7].

Непосредственный ответ на лечение оценивается по шкале Recist 1.1, метод основан на одномерном измерении размера опухоли. С момента введения в клиническую практику RECIST 1.1 прошло около 9 лет, и за это время стали очевидны важные ограничения этих критериев при ряде заболеваний. Оценка, основанная исключительно на размерах очага, может быть недостаточной. Следует отметить, что достаточно частым явлением при проведении химиотерапии может быть первоначальное увеличение очагов в размерах, визуально определяемые размытость и нечеткость контуров, что нередко воспринимается как прогрессирование заболевания в процессе лечения [8].

Многими исследованиями показано, что изменение структуры и степени васкуляризации метастатического очага в процессе лечения не коррелирует с его размерами, поэтому получение дополнительной информации об изменениях способствовало бы более точной оценке результатов лечения.

В последние годы среди исследователей обсуждаются вопросы о возможностях использования для оценки эффективности химиотерапевтического лечения различных показателей васкуляризации при использовании многофазного сканирования при СКТ с контрастированием. Согласно этому предположению, жизнеспособная опухоль может определяться по

объему контрастирования в артериальной фазе при КТ, а снижение площади или объема контрастирования, вплоть до полного исчезновения, может означать ответ опухоли на терапию. Многими исследователями активно обсуждается вопрос относительно времени задержки введенного контрастного вещества. Не до конца изучены методологические вопросы проведения многофазного сканирования с контрастными агентами [9].

Публикации в литературе, посвященные этим вопросам, как правило, ограничиваются качественным анализом полученных визуальных характеристик, тем не менее именно количественный анализ динамики накопления контрастного агента при многофазном СКТ является наиболее перспективной методикой в улучшении качества диагностики метастатического поражения печени и контроля эффективности проводимого лечения.

В доступной литературе нет исследований, посвященных мониторингованию метастатических очагов после лечения, не разработаны КТ критерии оценки эффективности химиотерапевтического лечения. Поэтому, несмотря на большое число проведенных исследований по лечению метастатического колоректального рака печени, однозначного ответа на ряд вопросов, касающихся эффективности лечения, с позиции использования методов лучевой диагностики до сих пор нет. Все вышеперечисленное и определило актуальность рассматриваемой проблемы.

Цель – изучить возможности спиральной компьютерной томографии с контрастированием в оценке результатов системной химиотерапии больных с колоректальными метастазами в печени.

Материал и методы. Были обследованы 37 больных в возрасте от 35 до 69 лет (средний возраст составил $48 \pm 1,5$ года), которые получили системную химиотерапию в количестве 2 курсов по схеме FOLFOX и XELOX.

Химиотерапевтическая схема FOLFOX:

FOLFOX-4

Оксаплатин – 85 мг/м², 2-часовая в/в инфузия в 1-й день. Фолинат кальция (Лейковорин) – 200 мг/м², 2-часовая инфузия в 1-й и 2-й день. Фторурацил – 400 мг/м², в/в струйно, затем 600 мг/м², в/в 22-часовая инфузия в 1-й и 2-й день.

Повторный курс через 14 дней, в течение 6 мес.

FOLFOX-6

Оксалиплатин – 85 мг/м², 2-часовая инфузия в 1-й день. Фолинат кальция (Лейковорин) – 400 мг/м², в/в в течение 2 ч с последующим болюсом фторурацила 400 мг/м², в/в струйно и 46-часовой инфузией фторурацила 2400 мг/м².

Повторный курс через 14 дней, в течение 6 мес.

XELOX

Оксалиплатин – 130 мг/м² в 1й день, капецитабин – 2000 мг/м² /сут 1–14-й дни. Повторный курс через 3 нед.

Компьютерная томография выполнялась на спиральном компьютерном томографе «Somatom Emotion 6» фирмы «Siemens» (Германия). Нативное сканирование обязательно для всех больных. При проведении болюсного внутривенного контрастного усиления толщина реконструируемого среза составит 1,25 мм. Для контрастного усиления будет применяться неионное контрастное вещество иогексол (Omnipaque, Nусomed) с концентрацией 350 мг/мл, в объеме 100 мл. Сканирование будет выполняться в артериальную, портальную, венозную и отсроченную фазы для анализа характера васкуляризации метастатических очагов. При мультифазном сканировании будут определены тип васкуляризации и рассчитаны индексы васкуляризации.

При КТ анализировались: количество метастазов, размеры, объём, анатомическая локализация, форма, контуры, структура, визуальный характер накопления контраста (диффузное, неравномерное, краевое контрастное усиление типа «ободка»). Индексы васкуляризации рассчитывались в заранее определенных точках, в пределах одного среза, площадь измерения составила $10 \pm 0,5$ мм (рис. 1).

Результаты. При проведении КТ до лечения число измеряемых МТС очагов колебалось от 2 до 5, размеры варьировали от 20 до 50 мм, очаги имели ровные, четкие контуры, по плотности очаги были разнородны, поэтому мы применили коэффициенты контрастного усиления (ККУ), так как они отражали индивидуальные характеристики плотности, и значения их менялись соответственно степени васкуляризации МТС очагов:

$$\text{ККУ} = \frac{\text{фаза контрастирования}^*}{\text{фаза контрастирования}}$$

(*артериальная, портальная, венозная фаза)

У 23 пациентов размеры и количество МТС очагов в печени после 2 курсов химиотерапии практически не изменились. Наличие новых МТС очагов не выявлено, таким образом, согласно RECIST 1.1, можно говорить о стабилизации процесса. При анализе характера васкуляризации (степени артериального кровоснабжения в очаге) отмечено уменьшение рассчитанного коэффициента контрастного усиления в артериальную фазу с $1,08 \pm 0,05$ до $1,05 \pm 0,05$ в центральной зоне метастаза, с $1,73 \pm 0,05$ до $0,95 \pm 0,05$ в периферической зоне метастаза, в прилежащей неизменной паренхиме печени коэффициент составил с $1,28 \pm 0,05$ до $0,96 \pm 0,05$. Таким образом, данный эффект расценен как стабилизация процесса, при этом полученные результаты свидетельствовали об уменьшении опухолевого кровотока в артериальную фазу сканирования и могут говорить о частичном ответе на терапию. Нами также выявлен факт пропорционального повышения коэффициента контрастного усиления, у 14 пациентов при прогрессировании метастатического процесса, в артериальную фазу с $1,5 \pm 0,05$ до $1,9 \pm 0,05$ в центральной зоне метастаза, с $1,63 \pm 0,05$ до $2,0 \pm 0,05$ в периферической зоне метастаза, в прилежащей неизменной паренхиме печени коэффициент составил с $1,68 \pm 0,05$ до $2,19 \pm 0,05$. Таким образом, на основании проведенного исследования для оценки ответа опухоли на лечение, кроме использования критериев RECIST 1.1, можно предложить количественные критерии (анализ коэффициента контрастного усиления в артериальную фазу), которые позволят косвенно судить об ответе МТС очага на проводимое лечение.

В группе опухолей со слабым ответом (рис. 2) изменения текстуры коснулись только двух параметров: AngScMom ($p=0,004$), Entropy ($p=0,0008$), – тогда как в группе с хорошим ответом в результате лечения (рис. 1), помимо этих двух, достоверно изменилось значение еще 6 из 11 вычисляемых параметров: AngScMom ($p=0,0017$), Contrast ($p=0,042$), Correlat ($p=0,0045$), InvDfMom ($p=0,024$), SumVarnс ($p=0,0011$), Entropy ($p=0,0004$), DifVarnс ($p=0,0284$) и DifEntrp ($p=0,0055$). Таким образом, изменения текстуры опухоли под действием лечения по этим шести дополнительным параметрам можно считать свидетельством хорошего ответа опухоли.

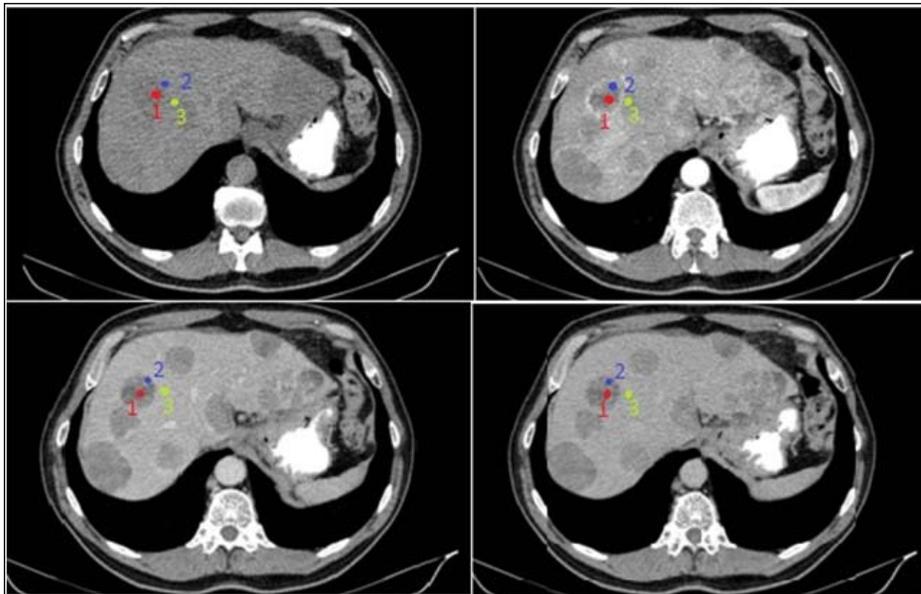


Рис 1. КТ печени в нативную, артериальную, портальную и отсроченную фазы контрастирования, в аксиальной проекции. Измерения производились в центре (1), по периферии (2) МТС очага и прилежащей паренхиме (3) печени

Выводы. Текстуальный анализ Т2-ВИ, выполненный с помощью компьютерной программы Mazda ver.4.6. на основе GLCM матрицы, позволяет выявить изменения, происходящие в текстуре карциномы прямой кишки под действием НХЛТ. В группе опухолей, ответивших на лечение, статистически значимо изменялось по сравнению с исходным значительно большее число параметров – 8 из 11 (AngScMom, Contrast, Correlat, InvDfMom, SumVarnс, DifVarnс, Entropy и DifEntrp), тогда как, в группе опухолей со слабым ответом изменения коснулись только двух параметров (AngScMom, Entropy). Таким образом, мы считаем перспективным продолжение исследований по применению текстурного анализа у больных, получающих комбинированное лечение по поводу рака прямой кишки, с **Целью** определения диагностических критериев эффективности НХЛТ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2017 году. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2018. 250.
2. Flanders V.L., Cervais D.A. Colon cancer screening extended to people aged 55. 2010.
3. Бебезов Б.Х., Осомбаев М.Ш., Мамашев Н.Д., Мурзаев Э.М., Джекишенов М.Д., Самаков А.А. Непосредственные результаты хирургического лечения колоректального рака в печени. Вестник КРСУ, 2015. 19–21.
4. Воздвиженский М.О. Креативная онкология и хирургия. 2013.
5. Переводчикова Н.И. Руководство по химиотерапии опухолевых заболеваний. 2018.
6. Черноглазова Е.В., Вышинская Г.В., Гуторов С.Л. Непосредственная эффективность предоперационной химиотерапии при метастазах колоректального рака в печени. Онкологическая колопроктология. 2014.
7. Данзанова Т.Ю., Синюкова Г.Т., Лепэдату П.И. Особенности современной диагностики метастазов колоректального рака в печень. Онкологическая колопроктология. М., 2013.
8. Гележе П.В., Морозов С.П. Хирургическое лечение метастазов колоректального рака в печень. 2014.
9. Мандельблат Ю.Э., Либсон Е.И. Современные критерии лучевой диагностики в оценке эффективности специального противоопухолевого лечения. Российский онкологический журнал. 2014.

СУБПОПУЛЯЦИОННЫЙ СОСТАВ ЭКЗОСОМ ПРИ МЕТАСТАТИЧЕСКОМ И НЕМЕТАСТАТИЧЕСКОМ КОЛОРЕКТАЛЬНОМ РАКЕ

Е.А. Замбалова, А.А. Димча, М.Р. Патышева

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр, г. Томск, Россия

Аннотация

В работе проведено исследование субпопуляционного состава экзосом плазмы крови больных с колоректальными полипами и больных колоректальным раком. Выявлены значимые различия в уровне MFI CD9/CD24 субпопуляции экзосом в зависимости от стадии заболевания. Необходимы дальнейшие исследования субпопуляционного состава экзосом больных колоректальным раком для выяснения роли экзосомальных мембранных белков в развитии и прогрессировании рака.

Ключевые слова: колоректальный рак, экзосомы, тетраспанины.

SUBPOPULATION COMPOSITION OF EXOSOMES IN METASTATIC AND NONMETASTATIC COLORECTAL CANCER

E.A. Zambalova, A.A. Dimcha, M.R. Patysheva

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

Abstract

The subpopulation composition of plasma exosomes from patients with colorectal polyps and colorectal cancer was studied. Significant differences in the levels of MFI CD9/CD24 subpopulation of exosomes between patients with localized colorectal cancer and patients with locally spread colorectal cancer were found (5500±825 and 2400±360, respectively; p<0.05). Further studies of the subpopulation composition of exosomes from colorectal cancer patients are need for elucidating the role of exosomal membrane proteins in cancer development and progression.

Key words: colorectal cancer, exosomes, tetraspanins.

Актуальность. Колоректальный рак (КРР) является одним из наиболее распространенных видов опухолей желудочно-кишечного тракта и занимает 2–3-е место в структуре онкологической заболеваемости в большинстве стран мира. Высокий процент метастатических форм делает актуальным поиск молекулярных предикторов гематогенного метастазирования у пациентов с локализованными формами КРР с целью персонализации адьювантной терапии. В настоящее время большое значение в процессах инвазии и метастазирования опухолей придают экзосомам (внеклеточные везикулы размером 30–100 нм). Они обнаружены практически во всех биологических жидкостях и участвуют во многих физиологических и

патологических процессах. К общим белкам экзосом относят белки высококонсервативного семейства тетраспанинов. Тетраспанины CD9, CD63, CD81 являются экзосомальными биомаркерами [1]. **Целью исследования** являлась оценка экспрессии тетраспанинов экзосом плазмы крови больных колоректальным раком с различной распространенностью опухолевого процесса.

Материал и методы. В исследование были включены 30 больных колоректальным раком (T2–4N0–2M0–1) и 10 контрольных пациентов. Материалом для исследования послужили образцы КЗЭДТА-плазмы крови. Экзосомы из плазмы крови были выделены методом ультрафильтрации с двойным ультрацентрифугированием [2]. Выделенные экзосомы исследованы методом проточной цитометрии на наличие тетраспанинов – CD24, CD9, CD81 и CD63 [3].

Результаты. Экзосомы, сорбированные на альдегид-сульфатных латексных частицах с помощью антител против CD9, были окрашены ФИТЦ-мечеными антителами к рецепторам семейства тетраспанинов CD63 и CD81, а также к рецептору CD24 [4]. Оценка экспрессии мембранных белков экзосом путем сочетания конъюгированных и неконъюгированных антител позволяет идентифицировать различные субпопуляции экзосом (рис. 1).

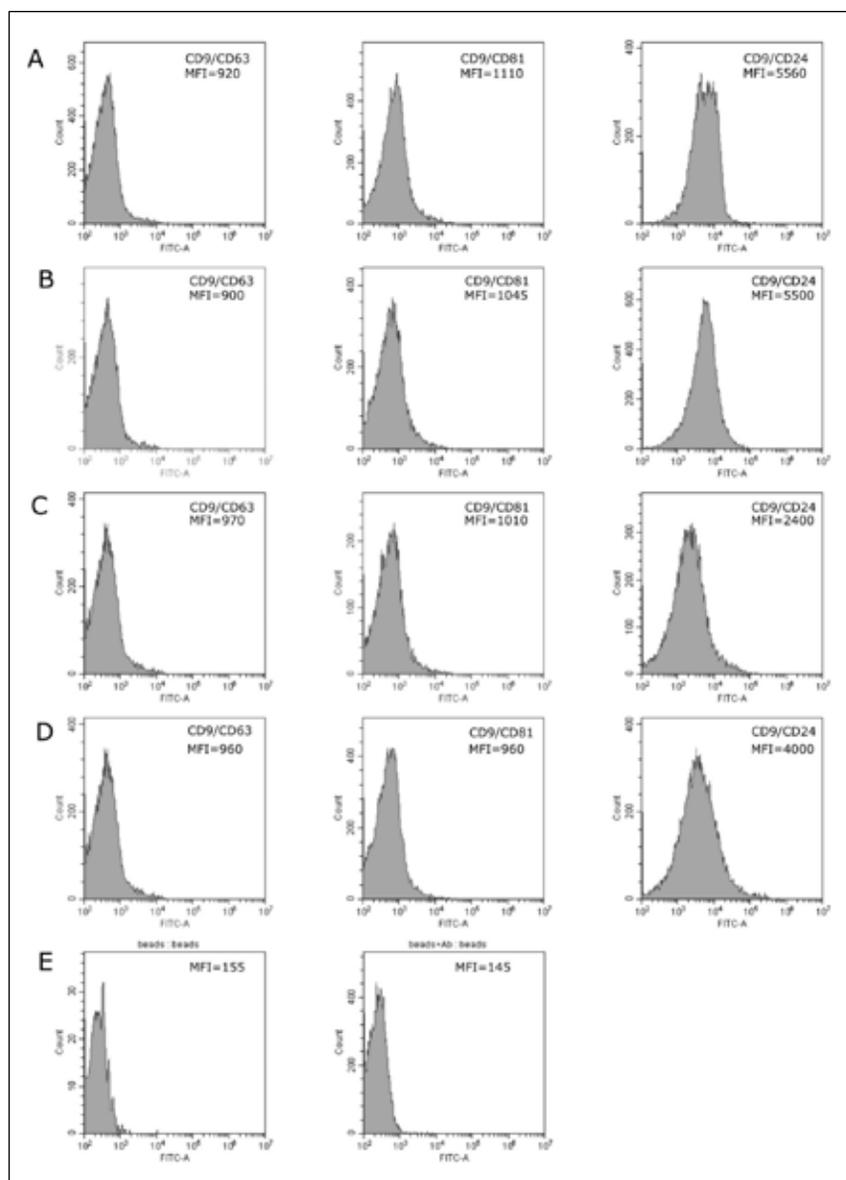


Рис. 1. Экспрессия CD63, CD81 и CD24 на CD9-положительных экзосомах плазмы крови контрольных пациентов (А), больных локализованным (В), местно-распространенным (С) и метастатическим (D) колоректальным раком. Изотипический контроль и отрицательный контроль (латексные частицы с FITC-мечеными антителами против CD9 и CD81 (E)). Приведены средние значения MFI

По снижению медианы интенсивности флуоресценции (MFI) субпопуляции экзосом распределились следующим образом: CD9/CD24>CD9/CD81>CD9/CD63 (экзосомы плазмы крови КП); CD9/CD24>CD9/CD81>CD9/CD63 (экзосомы плазмы крови больных КРР с различной степенью распространенности опухолевого процесса). У КП и больных КРР популяции CD9/CD63 и CD9/CD81 представлены в равной степени. Таким образом, субпопуляционный состав экзосом плазмы крови КП и больных КРР является сходным (таблица). Выявлены статистически значимые различия в значениях MFI субпопуляции CD9/CD24 экзосом у больных локализованным КРР по сравнению с больным местнораспространенным КРР: 5500±825 и 2400±360 соответственно (p<0,05). Значительные различия обнаружены в уровне MFI CD9/CD24 субпопуляции между местнораспространенным и метастатическим КРР с гематогенными метастазами: 2400±360 и 4000±600 соответственно (p<0,05).

Таблица

Экспрессия CD 24, CD 63 и CD 81 на поверхности экзосом плазмы крови контрольных пациентов и больных колоректальным раком. Среднее значение медианы интенсивности флуоресценции (MFI) ± ошибка среднего

	CD 9-позитивные экзосомы		
	Экспрессия CD 63	Экспрессия CD 81	Экспрессия CD 24
Контрольные пациенты	920±138	1110±166	5560±8340
Локализованный КРР	900±135	1045±156	5500±825*
Местнораспространенный КРР	970±145	1010±151	2400±360
Метастатический КРР	960±144	960±144	4000±600**

Примечание: * – значимые различия между локализованным КРР и местно-распространенным КРР; ** – значимые различия между местнораспространенным КРР и метастатическим КРР.

Данные о субпопуляционном составе экзосом больных КРР немногочисленны. В исследовании Tian Y. et al. субпопуляция CD9/CD81 экзосом преобладала в плазме крови больных КРР и занимала около 31,8 % [5], что соответствует нашим данным.

Выводы. В результате анализа полученных данных обнаружены значимые различия в уровне MFI CD9/CD24 субпопуляции экзосом у больных локализованным КРР по сравнению с больным местнораспространенным КРР, а также между местно-распространенным и метастатическим КРР. У КП и больных КРР с различной степенью распространенности опухолевого процесса популяции CD9/CD63 и CD9/CD81 представлены в равной степени. Необходимы дальнейшие исследования субпопуляционного состава экзосом больных КРР для выяснения роли тетраспанин-ассоциированных экзосомальных мембранных белков в развитии и прогрессировании рака.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и администрации Томской области в рамках научного проекта № 18-415-703006

ЛИТЕРАТУРА

1. Yunusova N.V., Tugutova E.A., Tamkovich S.N., Kondakova I.V. The role of exosomal tetraspanins and proteases in tumor progression. *Biomed Khim.* 2018 Mar; 64(2): 123–133. doi: 10.18097/PBMC20186402123.
2. Tamkovich S.N., Yunusova N.V., Stakheeva M.N., Somov A.K., Frolova A.Y., Kirushina N.A., Afanasyev S.G., Grigoryeva A.E., Laktionov P.P., Kondakova I.V. Isolation and characterization of exosomes from blood plasma of breast cancer and colorectal cancer patients. *Biochemistry. Suppl. Series B: Biomedical Chemistry.* 2017; 11(3): 291–295.
3. Yunusova N.V., Tamkovich S.N., Stakheeva M.N., Grigor'eva A.A., Somov A.K., Tugutova E. A., Kolomiets L.A., Molchanov S.V., Afanas'ev S.G., Kakurina G. V., Choinzonov E. L., Kondakova I.V. The characterization of exosome from biological fluids of patients with different types of cancer. *AIP Conference Proceedings.* 2017; 1882: 020080.
4. Yunusova N.V., Tamkovich S.N., Stakheeva M.N., Afanas'ev S.G., Frolova A.Y., Kondakova I.V. The characterization of exosome from blood plasma of patients with colorectal cancer. *AIP Conference Proceedings.* 2016; 1760: 020070.
5. Tian Y., Ma L., Gong M. Protein profiling and sizing of extracellular vesicles from colorectal cancer patients via flow cytometry. *ACS Nano.* 2018; 12(1): 671–680.

ИЗУЧЕНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ НОВОГО РАДИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА «ГЛЮКОСЦИНТ» В ДИАГНОСТИКЕ ОПУХОЛЕЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА МЕТОДОМ ОДНОФОТОННОЙ ЭМИССИОННОЙ КОМПЬЮТЕРНОЙ ТОМОГРАФИИ

Р.В. Зельчан¹, О.Д. Брагина¹, Е.А. Шелихова²

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия¹
Национальный исследовательский Томский политехнический университет, г. Томск, Россия²

Аннотация

Несмотря на достижения современной онкологии, ранняя диагностика опухолей головного мозга по-прежнему вызывает немало трудностей. В развитых странах диагностика злокачественных новообразований головного мозга достаточно успешно осуществляется с помощью методов ядерной медицины, а именно позитронно-эмиссионной томографии. К сожалению, на территории Российской Федерации количество функционирующих ПЭТ-центров крайне мало, а строительство новых сдерживается непростыми экономическими условиями в стране. Несмотря на это, в РФ функционирует более 200 центров однофотонной эмиссионной компьютерной томографии. Основным радионуклидом, на основе которого производится большинство РФП для ОФЭКТ, является технеций-99m, поэтому представляется достаточно актуальным синтез нового радиофармацевтического препарата на основе технеция-99m для визуализации злокачественных опухолей головного мозга.

Ключевые слова: ядерная медицина, глюкоза, технеций-99m, опухоли головного мозга.

STUDY OF THE FEASIBILITY OF USING GLUKOSTSINT, A NEW RADIOPHARMACEUTICAL DRUG, IN THE DIAGNOSIS OF BRAIN TUMORS USING SINGLE-PHOTON EMISSION COMPUTED TOMOGRAPHY

R.V. Zelchan¹, O.D. Bragina¹, E.A. Shelihova²

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia¹
National Research Tomsk Polytechnic University, Tomsk, Russia²

Abstract

Despite the achievements in modern oncology, early diagnosis of brain tumors is still challenging. In developed countries, brain cancer is detected using nuclear medicine methods, such as positron emission tomography (PET). Unfortunately, the number of PET centers operating in the Russian Federation is extremely small, and the construction of new ones is a very difficult task under the current economic conditions. Despite this, there are currently more than 200 functioning single-photon emission computed tomography (SPECT) centers in our country. Technetium-99m is the main radionuclide, on the basis of which the majority of radiopharmaceuticals for SPECT are produced, therefore, it is quite relevant to synthesize a new radiopharmaceutical based on technetium-99m to visualize malignant brain tumors.

Key words: nuclear medicine, glucose, technetium-99m, brain tumors.

Диагностика злокачественных опухолей головного мозга по-прежнему остается одной из серьезных проблем современной онкологии. В настоящее время в клинической практике для визуализации опухолей головного мозга достаточно широко используются компьютерная томография (КТ) и магнитно-резонансная томография (МРТ). Следует отметить, что при достаточно высоких показателях чувствительности и специфичности данные методы в различных клинических ситуациях имеют ряд ограничений, которые отрицательно влияют на их

диагностическую эффективность. В развитых странах широкое применение нашли методы радионуклидной индикации в диагностике неврологических, кардиологических и онкологических заболеваний, в том числе опухолей головного мозга [1–4]. Наиболее высокотехнологичным методом радионуклидной индикации опухолей является позитронно-эмиссионная томография (ПЭТ) [5–8]. К сожалению, на территории Российской Федерации количество функционирующих ПЭТ-центров крайне мало, а строительство новых сдерживается непростыми экономическими условиями в нашей стране. Несмотря на это, в РФ функционирует более 200 центров однофотонной эмиссионной компьютерной томографии (ОФЭКТ). Основным радионуклидом, на основе которого производится большинство РФП для ОФЭКТ, является технеций-99m, поэтому представляется достаточно актуальным синтез нового радиофармацевтического препарата на основе технеция-99m для визуализации злокачественных опухолей головного мозга. Одним из таких препаратов можно считать туморотропный радиофармацевтический препарат на основе производной глюкозы, меченной технецием-99m ^{99m}Tc-1-Тио-D-глюкоза («Глюкосцинт») [9–11]. Указанный препарат был разработан научными коллективами Томского политехнического университета и Томского национального исследовательского медицинского центра в рамках Федеральной целевой программы «Фарма-2020». В настоящее время завершены доклинические испытания функциональной пригодности и безопасности применения указанного препарата на базе НИИ онкологии ТНИМЦ.

Цель исследования – изучить возможность применения нового радиофармацевтического препарата «Глюкосцинт» для визуализации злокачественных опухолей головного мозга методом однофотонной эмиссионной компьютерной томографии.

Материал и методы. Доклинические исследования показали, что «Глюкосцинт» достаточно быстро распределяется в кровяном русле, выводится из организма в основном почками и стойко не накапливается в органах и тканях. Еще одной важной особенностью изучаемого РФП является то, что он не проникает через интактный гематоэнцефалический барьер и не накапливается в головном мозге. Для реализации поставленной цели в исследование были включены 15 пациентов с клинико-рентгенологическим диагнозом злокачественной опухоли головного мозга. На дооперационном этапе всем пациентам выполняли ОФЭКТ головного мозга на двух-детекторной гамма-камере E.Cam фирмы Siemens. Исследование выполнялось через 40 мин после внутривенного введения препарата «Глюкосцинт» в дозе 500 МБк. Во время исследования пациенты располагались на столе гамма-камеры в положении «лежа на спине» таким образом, чтобы в поле зрения детектора оказались голова и шея пациента. По стандартному протоколу выполнялась запись 64 проекций в матрицу 256×256 пикселей в томографическом режиме с использованием низкоэнергетических коллиматоров для энергии 140 КэВ. Обработка полученных изображений осуществлялась с использованием пакета специализированных программ E.Soft. При обработке полученных данных учитывалось наличие очагов гиперфиксации препарата в проекции головного мозга, их симметричность и численность. Кроме того, определялась интенсивность включения препарата (индекс опухоль/фон) как соотношение интенсивности включения препарата в очаг гиперфиксации и в симметричном участке интактной ткани головного мозга. В качестве референсного метода использовалась МРТ, также выполненная на дооперационном этапе. Диагноз злокачественной опухоли головного мозга подтверждался по данным планового гистологического и иммуногистохимического исследования операционного материала.

Результаты. По данным планового гистологического исследования после операции у всех пациентов подтвердился диагноз злокачественной опухоли головного мозга. В подавляющем большинстве случаев опухоль была представлена глиобластомой – у 13 человек из 15 (86,7 %). У двух (13,3 %) пациентов опухоль была представлена анапластической астроцитомой. Помимо очагов патологической гиперфиксации в головном мозге у всех пациентов визуализировались мягкие ткани апоневротического шлема, сосудистая оболочка мозга, слизистые оболочки ротовой и носовой полости. По данным ОФЭКТ с препаратом «Глюкосцинт» патологическая гиперфиксация в проекции головного мозга была выявлена у всех обследованных пациентов, то есть чувствительность метода в визуализации первичных злокачественных опухолей головного мозга составила 100 %. По данным МРТ у всех пациентов также имело место объемное образование головного мозга. При сопоставлении результатов МРТ и ОФЭКТ с «Глюкосцинтом» оказалось, что зоны патологической гиперфиксации РФП при ОФЭКТ топически совпадают с патологическими изменениями, выявленными на МРТ. Зоны патологического накопления препарата «Глюкосцинт» в проекции опухоли головного мозга во всех случаях представлялись как очаг гиперфиксации различных размеров с достаточно четкими контурами. Степень аккумуляции препарата в

патологическом очаге варьировалась, но во всех случаях позволяла дифференцировать зону патологического накопления от интактной ткани головного мозга и получать сцинтиграфические изображения надлежащего качества. При расчете полуколичественных показателей среднее значение индекса опухоль/фон составило $3,58 \pm 0,41$, что свидетельствует о высокой метаболической активности опухолевой ткани.

Выводы. Проведенное пилотное исследование продемонстрировало, что новый радиофармацевтический препарат «Глюкосцинт» интенсивно поступает в опухоль головного мозга и достаточно стойко накапливается в ней. Важной особенностью представленного препарата является то, что он не проникает через интактный гематоэнцефалический барьер и не аккумулируется в здоровой ткани головного мозга. Данный факт значительно повышает диагностическую эффективность ОФЭКТ в визуализации злокачественных опухолей головного мозга. Гиперинтенсивная аккумуляция препарата «Глюкосцинт» в опухолевой ткани позволяет четко визуализировать зоны патологического накопления препарата и дифференцировать их с нормальной тканью головного мозга. Кроме того, использование современной техники, способной совмещать разные модальности (ОФЭКТ/КТ), а также применение новых отечественных туморотропных РФП позволит расширить диагностические возможности ОФЭКТ центров и повысить доступность высокотехнологичной медицинской помощи для населения Российской Федерации.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ефимова Н.Ю., Чернов В.И., Ефимова И.Ю., Афанасьева Н.Л., Лишманов Ю.Б. Когнитивные дисфункции и состояние мозгового кровообращения у больных артериальной гипертензией: возможности медикаментозной коррекции. Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2008; 11(108): 10–15.
2. Карпов Р.С., Павлюкова Е.Н., Врублевский А.В., Чернов В.И., Усов В.Ю. Современные методы диагностики коронарного атеросклероза. Бюллетень Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. 2006; 2(26): 105–117.
3. Лишманов Ю.Б., Чернов В.И., Кривонозов Н.Г., Ефимова И.Ю., Веснина Ж.В., Завадовский К.В., Минин С.М., Сазонова С.И., Скуридин В.С., Панькова А.Н., Саушкин В.В., Ильюшенко Ю.Н., Ефимова Н.Ю. Радионуклидные методы исследования в диагностике сердечно-сосудистых заболеваний. Сибирский медицинский журнал. 2010; 41(25): 8–13.
4. Чернов В.И., Гарганеева А.А., Веснина Ж.В., Лишманов Ю.Б. Перфузионная сцинтиграфия миокарда в оценке результатов курсового лечения триметазидином больных ишемической болезнью сердца. Кардиология. 2001; 8(41): 14–16.
5. Segnan E.A., Hess S., Grube P., Hoiland-Carlson P.F. 18F-Fluorodeoxyglucose PET/computed tomography for primary brain tumors. PET Clin. 2015 Jan; 10(1): 59–73. doi: 10.1016/j.cpet.2014.09.005.
6. Song P.J., Lu Q.Y., Li M.Y., Li X., Shen F. Comparison of effects of ^{18}F -FDG PET-CT and MRI in identifying and grading gliomas. J Biol Regul Homeost Agents. 2016 Jul-Sep; 30(3): 833–838.
7. Broder J., Warshauer D.M. Increasing utilization of computed tomography in the adult emergency department. Emerg Radiol. 2006 Oct; 13(1): 25–30. doi: 10.1007/s10140-006-0493-9.
8. Marner L., Henriksen O.M., Lundemann M., Larsen V.A., Law I. Clinical PET/MRI in neuro-oncology: opportunities and challenges from a single-institution perspective. Clin Transl Imaging. 2017; 5(2): 135–149. doi: 10.1007/s40336-016-0213-8.
9. Zeltchan R., Medvedeva A., Sinilkin I., Chernov V., Bragina O., Stasyuk E., Rogov A., Il'ina E., Larionova L., Skuridin V., Dergilev A. Experimental study of radiopharmaceuticals based on technetium-99m labeled derivative of glucose for tumor diagnosis // IOP Conference Series: Materials Science and Engineering 8. Сер. «VIII International Scientific Conference «Issues of Physics and Technology in Science, Industry and Medicine». 2016; 012054.
10. Чернов В.И., Дудникова Е.А., Зельчан Р.В., Кравчук Т.Л., Данилова А.В., Медведева А.А., Синилкин И.Г., Брагина О.Д., Гольдберг В.Е., Гольдберг А.В., Фролова И.Г. Однофотонная эмиссионная компьютерная томография с $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -1-ТНО-D-глюкозой в диагностике и стадировании злокачественных лимфом: первый опыт использования. Сибирский онкологический журнал. 2018; 17(4): 81–87. doi: 10.21294/1814-4861-2018-17-4-81-87.
11. Чернов В.И., Медведева А.А., Синилкин И.Г., Зельчан Р.В., Брагина О.Д., Чойнзонов Е.Л. Ядерная медицина в диагностике и адресной терапии злокачественных новообразований. Бюллетень сибирской медицины. 2018; 17(1): 220–231.

РЕДКОЕ КЛИНИЧЕСКОЕ НАБЛЮДЕНИЕ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ ГИГАНТСКОГО МЕТАТИПИЧЕСКОГО РАКА КОЖИ ПЕРЕДНЕЙ ГРУДНОЙ СТЕНКИ С ЗАКРЫТИЕМ ДЕФЕКТА МНОЖЕСТВЕННЫМИ ПЕРЕМЕЩЕННЫМИ КОЖНО-МЫШЕЧНЫМИ ЛОСКУТАМИ

А.Д. Зикирходжаев, О.В. Пикин, Н.Н. Волченко, К.И. Колбанов, В.В. Ефанов, В.В. Бармин, В.С. Суркова, А.Р. Босиева

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

Аннотация

В статье описано редкое клиническое наблюдение хирургического лечения метатипического рака кожи (МТРК) передней грудной стенки с закрытием дефекта множественными перемещёнными лоскутами. МТРК – довольно редкое злокачественное новообразование (ЗНО), частота встречаемости которого

составляет всего лишь 5 % от всех немеланомных ЗНО кожи. Основным методом лечения остаётся по-прежнему хирургический в виде широкого иссечения образования, но из-за трудностей закрытия обширных дефектов кожи после удаления опухоли возникает необходимость использования перемещенных лоскутов. Пациент Л., 58 лет, обратился в МНИОИ им. П.А. Герцена с жалобами на новообразование на коже передней поверхности грудной стенки справа размерами 11×6 см с вовлечением ареолы соска, распространяющееся в толщу кожи и интимно прилегающее к большой грудной мышце без наличия видимой границы с ней. С учетом обширной первичной язвы, необходимостью полного пластического закрытия иссеченного дефекта передней грудной стенки запланировано хирургическое лечение с использованием множественных перемещённых кожно-мышечных лоскутов (LD – торакодорзальный лоскут, VRAM – вертикальный кожно-мышечный лоскут на прямой мышце живота, PERFORATOR FLAP – лоскут на перфорантных сосудах).

Ключевые слова: метатипический рак кожи, перемещенные кожно-мышечные лоскуты, торакодорзальный лоскут, вертикальный кожно-мышечный лоскут на прямой мышце живота, лоскут на перфорантных сосудах.

RARE CLINICAL CASE OF SURGICAL TREATMENT OF GIANT METATYPICAL SKIN CANCER OF THE ANTERIOR CHEST WALL WITH DEFECT CLOSURE WITH MULTIPLE DISPLACED SKIN-MUSCULAR FLAPS

A.D. Zikiryakhodzhayev, O.V. Pikin, N.N. Volchenko, K.I. Kolbanov, V.V. Efanov, V.V. Barmin, V.S. Surkova, A.R. Bosieva

Moscow Research Institute of Oncology named after P.A. Herzen branch of the FSBI «NMITs radiology» of the Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia

Abstract

We present a rare clinical case of surgical treatment of metatypical skin cancer (MTRK) of the anterior chest wall with the closure of the defect with multiple displaced flaps. MTRK is a rare malignant neoplasm, accounting for 5 % of all non-melanoma MN of the skin. The main method of treatment is surgery. Due to the difficulties in closing extensive skin defects after removal of the tumor, it becomes necessary to use displaced flaps. A 58-year old patient presented to the Moscow Research Institute of Oncology named after P.A. Herzen with complains of a tumor on the skin of the anterior surface of the chest wall on the right, measuring 11×6 cm, involving the areola of the nipple and extending into the thickness of the skin and adjacent to the pectoralis major muscle without visible border with it. Taking into account the extensive primary ulcer and the need for complete plastic closure of the excised anterior chest wall defect, surgical treatment using multiple displaced skin-muscle flaps (LD thoracodorsal flap, VRAM vertical skin-muscle flap on the rectus abdominis muscle, PERFORATOR FLAP - flap on perforator vessels) was planned.

Key words: metatypical skin cancer, displaced skin-muscle flaps, thoracodorsal flap, vertical skin-muscular flap on the rectus abdominis muscle, flap on perforating vessels.

Введение. Злокачественные новообразования кожи (ЗНОК) остаются одной из важнейших и приоритетных проблем современной медицины [1, 2]. В структуре заболеваемости злокачественными новообразованиями (ЗНО) населения Российской Федерации злокачественные опухоли кожи находятся на первом месте (12,5 %) [3].

Метатипический рак кожи (МТРК) – довольно редкое злокачественное новообразование, частота встречаемости которого составляет всего лишь 5 % от всех немеланомных ЗНО кожи [4, 5]. Является агрессивным вариантом рака кожи, которому присущи некоторые клинические и гистопатологические характеристики как базальноклеточного (БКР), так и плоскоклеточного рака кожи (ПКР) [5, 6]. МТРК отличается большой агрессивностью течения – быстрым инфильтративным ростом с разрушением подлежащих тканей, болезненностью, кровоточивостью опухоли, рецидивированием в 45,7 % – по сравнению с БКР [6–11].

Основным методом лечения остаётся по-прежнему хирургический в виде широкого иссечения образования. Возникает необходимость использования перемещенных лоскутов из-за сложности закрытия обширных дефектов кожи после удаления опухоли. Лучевая терапия, использование иммуномодуляторов, фотодинамическая терапия также относятся к арсеналу лечения МТРК [12].



Рис. 1. Обширная язва передней грудной стенки справа

Клиническое наблюдение. В данной статье описано редкое клиническое наблюдение хирургического лечения МТРК передней грудной стенки с закрытием дефекта множественными перемещёнными лоскутами.

Пациент Л., 58 лет, обратился в МНИОИ им. П.А. Герцена в августе 2017 г. с жалобами на боли в области новообразования на коже передней поверхности грудной стенки справа (рис. 1). Образование появилось в 2012 году. За медицинской помощью обратился к врачам по месту жительства только в январе 2017 года при появлении болевого синдрома. Объективно: на коже передней грудной стенки справа по среднеключичной линии определялась обширная язва размерами 11×6 см., с вовлечением ареолы соска, распространяющаяся в толщу кожи и интимно прилегающая к большой грудной мышце, без наличия видимой границы с ней.

По данным гистологического исследования биоптата образования кожи картина базальноклеточного рака с изъязвлением. При КТ органов грудной полости в легких с обеих сторон – множественные (>10) мелкие очаги размерами 2–5 мм.

На основании данных проведенного обследования пациенту был установлен диагноз: базальноклеточный рак кожи передней поверхности грудной стенки справа IV стадии, cT3N0M1 (p1).

С учетом обширной первичной язвы, необходимостью полного пластического закрытия исеченного дефекта передней грудной стенки запланировано хирургическое лечение с использованием множественных перемещённых кожно-мышечных лоскутов (LD – торакодорзальный лоскут, VRAM – вертикальный кожно-мышечный лоскут на прямой мышце живота, PERFORATOR FLAP – лоскут на перфорантных сосудах). В связи с наличием новообразований в легких по данным КТ решено выполнить биопсию легкого во время проведения хирургического лечения.

Линейными разрезами, окаймляющими опухоль кожи передней грудной стенки, рассечены кожа и подкожная клетчатка (рис. 2). Подписи поставить под рис

Опухолевое образование удалено единым блоком с большой грудной мышцей и подмышечной клетчаткой с лимфатическими узлами. Выделен край широчайшей мышцы спины, прослежен ход *a. et v. thoracodorsales*.

После выполнения мини-торакотомии по IV межреберью (4 см), при ревизии в верхней доле определялись 2 просовидных образования размерами 0,2 и 0,3 см, соответствующих описанным при КТ. Выполнена атипичная резекция верхней доли правого легкого с образованиями.

Выделен лоскут широчайшей мышцы спины размерами мышечного компонента 12×6 см. Лоскут перемещен в зону удаленной опухоли на ножке, содержащей торакодорзальные сосуды (рис. 3).

Выделены перфорантные сосуды *a. et v. thoracica interna* во втором и третьем межреберьях. На перфорантных сосудах лоскут ротирован в сторону дефекта передней грудной стенки (рис. 4).

По белой линии выделен фрагмент левой прямой мышцы живота, сформирована мы-



Рис. 2. Обширный дефект кожи передней грудной стенки после удаления опухоли



Рис. 3. Выделение торакодорзального лоскута (LD)



Рис. 4. Выделение перфорантного лоскута слева (PERFORATOR FLAP)

шечная ножка, прослежен ход *a. et v. epigastricae inferior profunda* по задней поверхности мышечной ножки. Левая прямая мышца живота пересечена снизу. Лоскут подковожно перемещен через подкожный тоннель на левой прямой мышце живота в область дефекта.

Дефект полностью укрыт перемещенными лоскутами. На перфорантном лоскуте выполнены насечки для снятия напряжения кожи.

Морфологическое исследование операционного материала. Метатипический рак кожи с изъязвлением по поверхности, массивным инфильтративным ростом в дерме и подкожно-жировой клетчатке, инвазией прилежащих скелетных мышц, распространением на кожу ареолярной зоны с ее изъязвлением и врастанием в фиброзно-мышечную основу соска, с периневральным, периваскулярным ростом. Образование в ткани легкого – внутрилегочный лимфатический узел с антракозом.

Полученные результаты позволили установить клинический диагноз – метатипический рак кожи передней поверхности грудной стенки справа pT4N0M0, IV ст. (C44.5).

Учитывая морфологическую форму опухоли, радикальный характер выполненной операции (R0), отсутствие данных за наличие отдаленных или регионарных метастазов, проведение пациенту дополнительного специального противоопухолевого лечения не потребовалось. Пациент наблюдается динамически в течение года (рис. 5).

Выводы. Диагностика метатипического базально-клеточного рака кожи требует тщательного сбора анамнестических данных, проведения морфологического исследования образования, позволяющего дать точную гистопатологическую картину опухоли. По-прежнему основным методом лечения остаётся хирургический, сопровождающийся широким иссечением опухоли. МТРК следует рассматривать как более агрессивную форму рака кожи с высокой частотой рецидивов и риском метастазирования [5]. Это прямо влияет на выбор тактики лечения и ведения данных пациентов.



Рис. 5. Внешний вид больного через 12 мес после хирургического лечения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Jung G.W., Metelitsa A.I., Dover D.C., Salopek T.G. Trends in incidence of nonmelanoma skin cancers in Alberta, Canada, 1988–2007. *British Journal of Dermatology*. 2010 Sep; 163(1): 146–154. doi: 10.1111/j.1365-2133.2010.09809.x.
2. Tarallo M., Cigna E., Fino P., Sorvillo V., Scuderi N. Metatypical basal-cell carcinoma (MTC) or basosquamous carcinoma (BSC): surgical therapy. *Ann Ital Chir*. 2011; 82: 389–94.
3. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2017 году (заболеваемость и смертность). М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России. 2017. 249.
4. Kazantseva I.A., Khlebnikova A.N., Babaev V.R. Immunohistochemical study of primary and recurrent basal cell and metatypical carcinomas of the skin. *Am J Dermatopathol* 1996; 18: 35–42.
5. Wollina U., Tchernev G. Advanced basal cell carcinoma. *Wien Med Wochenschr*. 2013 Aug; 163(1516): 347–53. doi: 10.1007/s10354-013-0193-5.
6. Surdu S., Fitzgerald E.F., Bloom M.S., Boscoe F.P., Carpenter D.O., Haase R.F., Gurzau E., Rudnai P., Koppova K., Févotte J., Leonardi G., Vahter M., Goessler W., Kumar R., Fletcher T. Occupational exposure to ultraviolet radiation and risk of non-melanoma skin cancer in a multinational European study. *PLoS One*. 2013 Apr 24; 8(4): e62359. doi: 10.1371/journal.pone.0062359.
7. MacCormac H. The relation of rodent ulcer to squamous cell carcinoma of the skin. *Arch Middlesex Hosp*. 1910; 19:1 72–83.
8. Martin R.C., Edwards M.J., Cawte T.G., Sewell C.L., McMasters K.M. Basosquamous carcinoma: analysis of prognostic factors influencing recurrence. *Cancer*. 2000; 88(15): 1365–9.
9. Garcia C., Poletti E., Crowson A.N. Basosquamous carcinoma. *J Am Acad Dermatol*. 2009 Jan; 60(1): 137–43. doi: 10.1016/j.jaad.2008.09.036.
10. Surdu S., Fitzgerald E.F., Bloom M.S., Boscoe F.P., Carpenter D.O., Haase R.F., Gurzau E., Rudnai P., Koppova K., Févotte J., Vahter M., Leonardi G., Goessler W., Kumar R., Fletcher T. Occupational exposure to arsenic and risk of nonmelanoma skin cancer in a multinational European study. *Int J Cancer*. 2013 Nov; 133(9): 2182–91. doi: 10.1002/ijc.28216.
11. Wu S., Han J., Li W.Q., Li T., Qureshi A.A. Basal-cell carcinoma incidence and associated risk factors in U.S. women and men. *Am J Epidemiol*. 2013; 178(6): 890–897. doi: 10.1093/aje/kwt073.
12. Varga E., Korom I., Raskó Z., Kis E., Varga J., Oláh J., Kemény L. Neglected basal cell carcinomas in the 21st century. *J Skin Cancer*. 2011; 2011: 392151. doi: 10.1155/2011/392151.

ЗНАЧЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ СТВОЛОВОСТИ В ПРОГРЕССИРОВАНИИ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

**М.К. Ибрагимова^{1,2}, М.М. Цыганов^{1,2}, И.В. Дерюшева¹,
П.В. Казанцева¹, Е.М. Слонимская^{1,3}, Н.В. Литвяков^{1,2}**

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия¹
Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск, Россия²
ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России, г. Томск, Россия³

Аннотация

При исследовании опухоли молочной железы 62 больных до лечения и после неoadъювантной химиотерапии показана гиперэкспрессия в резидуальной опухоли 14 из 16 генов стволовости у больных с развившимися впоследствии метастазами. Было выявлено, что при гиперэкспрессии в остаточной резидуальной опухоли трех из изучаемых генов OCT3, LAT и LMNB2 у 69 % больных отмечено возникновение гематогенных метастазов. При гипоекспрессии хотя бы одного из этих генов 5-летняя безметастатическая выживаемость составляет 94 % (34/36). Получена модель прогнозирования возникновения гематогенного метастазирования на основе анализа экспрессии 3 генов стволовости. При изучении значения амплификаций генов стволовости для активности опухолевых стволовых клеток было выявлено, что эпителиальные нестволовые опухолевые клетки больной с амплификациями генов стволовости экспрессируют гены стволовости на уровне опухолевых стволовых клеток и способны образовывать опухолевые стволовые клетки.

Ключевые слова: рак молочной железы, гены стволовости, прогноз.

ROLE OF THE STEMNESS GENE EXPRESSION IN THE PROGRESSION OF BREAST CANCER

**M.K. Ibragimova^{1,2}, M.M. Tsyganov^{1,2}, I.V. Deryusheva¹,
P.V. Kazantseva¹, E.M. Slonimskaya^{1,3}, N.V. Litviakov^{1,2}**

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia¹
National Research Tomsk State University, Russia, Tomsk²
Siberian State Medical University, Russia, Tomsk³

Abstract

In a study of breast tumor in 62 patients before treatment and after neoadjuvant chemotherapy, the overexpression of 14 of the 16 stemness genes in a residual tumor of patients with subsequently developed metastases was found. It was shown that with overexpression of three of the studied OCT3, LAT and LMNB2 genes, hematogenous metastases were detected in residual tumors of 69 % of patients. With hypoeexpression of at least one of these genes, the 5-year non-metastatic survival rate was 94 % (34/36). Based on the analysis of the expression of 16 stemness genes, the model for predicting hematogenous metastasis was obtained.

Key words: breast cancer, stemness genes, prognosis.

Актуальность. Согласно результатам предыдущих исследований, было показано, что при проведении неoadъювантной химиотерапии (НХТ) под влиянием химиопрепаратов происходит клональная эволюция опухоли, при которой изменяются опухолевые клоны (ОК) – полное/частичное исчезновение или появление новых клонов. Новые клоны, образованные под действием НХТ, содержат ампликации в следующих локусах: 3q, 5p, 6p, 7q, 8q, 13q, 9p, 9q, 10p, 10q21.1, 16p, 19p, 18chr. При этом выявлено, что появление в остаточной резидуальной опухоли в процессе НХТ любых двух и более амплификаций этих регионов приводит к 100 % гематогенному метастазированию, у всех остальных больных с элиминацией ОК, отсутствием действия химиотерапии на клоны или у больных с появлением делеционных клонов не было гематогенных метастазов в 5-летний период наблюдения (по методу Каплана

– Майера, $p=0,00001$ Log-rank test) [1, 2]. На основании этих данных и данных литературы [3–5] нами была высказана рабочая гипотеза о том, что клоны, несущие амплификации, в вышеуказанных локусах являются потенциальными метастатическими клонами. Возможно, в процессе клональной эволюции опухоли соматическими опухолевыми клетками, благодаря гиперэкспрессии (например, за счет амплификации локусов) генов (которые связывают с индукцией стволовых клеток), приобретает способность к обратному переходу в опухолевые стволовые клетки – осуществление стволового перехода. Предполагается, что только такие опухолевые клетки могут образовывать метастазы.

Целью исследования явилась оценка эффективности НХТ и безметастатической выживаемости больных РМЖ на основе изучения наличия амплификационных клонов в первичной опухоли больных и оценке экспрессии генов стволовости.

Материал и методы. В исследование включены 62 больных с морфологически верифицированным диагнозом РМЖ IА–IIIВ (T1–4N0–3M0), возраст 26–68 лет (средний возраст 47,43±0,78 года). Материалом для исследования служили парные образцы биопсийного материала до лечения для каждого из пациентов. Была выделена ДНК и РНК из исследуемого материала при помощи наборов QIAamp DNA mini Kit (Qiagen, Germany) и RNeasy mini kit plus (Qiagen, Germany) соответственно. Наличие амплификаций определялось в вышеуказанных регионах с использованием микроматрицы CytoScan HD Array (Affymetrix, USA). Экспрессию генов стволовости оценивали при помощи метода обратнo-транскриптазной ПЦР в режиме реального времени (qPCR) с оригинальными праймерами и зондами по технологии TaqMan и с использованием экспрессионного микроматричного анализа на платформе GeneChip (Affymetrix, USA).

Результаты. Установлено, что у больных без метастазов до лечения гиперэкспрессированы 5 генов – OCT3; BMI1; LMNB2; TGFb1 и FLT3; у больных с метастазами до лечения гиперэкспрессированы 7 генов – OCT3; BMI1; LMNB2; TGFb1; TERT; SNAI2; TGFbR1. После проведения НХТ в остаточной резидуальной опухоли больных без гематогенных метастазов частота гиперэкспрессированных генов не меняется. У больных с метастазами после НХТ в остаточной резидуальной опухоли гиперэкспрессированы 14 из 16 изученных генов – кроме KLF1 и SMAD2. При этом было показано, что при гиперэкспрессии в остаточной резидуальной опухоли трех генов OCT3, LAT и LMNB2 у 69 % больных (11/16) зарегистрировано возникновение гематогенных метастазов. При гипoэкспрессии хотя бы одного из этих генов 5-летняя безметастатическая выживаемость составляет 94 % (34/36) (рис. 1).

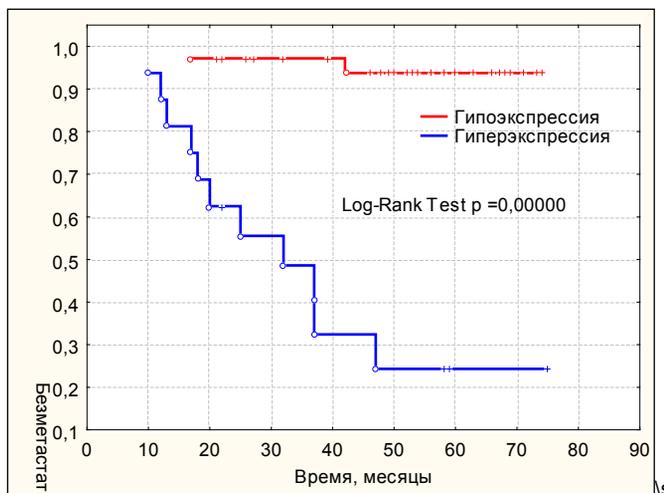


Рис. 1. Безметастатическая выживаемость больных РМЖ при гипo- и гиперэкспрессии генов OCT3, LAT и LMNB2 (Log-Rank Test $p = 0,00000$)

Следующим этапом работы было изучение значения амплификаций генов стволовости для активности опухолевых стволовых клеток. Исследовали экспрессию генов стволовости в EpCam+ клетках, полученных из опухоли молочной железы больной St с амплификациями генов стволовости (3q, 6q, 8q, 9q, 10q22.1 (амплифицированы следующие гены: SOX2, MYC, KLF4, NOTCH1, NODAL)) и больной T1 без амплификаций генов стволовости. Повышенный уровень экспрессии 10/16 изученных генов стволовости (SOX2, OCT3, MYC, TGFBR1, KLF4, TGFb1, LAT, SMAD2, LNMB2, VIM) наблюдался и в EpCam+ опухолевых клетках,

выделенных из опухоли пациентки St по сравнению с EpCam+ опухолевыми клетками от пациентки T1. В специализированной среде Human EpiCult-C после обработки субпопуляций опухолевых клеток ИЛ-6 количество клеток после 3 пассажа не увеличилось в популяции EpCam+ клеток, полученных из опухоли молочной железы больной T1, однако прирост EpCam+ клеток опухоли молочной железы больной St был иным – увеличение клеточной массы более чем в 3 раза наблюдалось уже после первого пассажа, после третьего пассажа наблюдался резкий прирост массы клеток – более чем в 300 раз. Заключительным этапом работы была оценка активности опухолевых стволовых клеток *in vitro* – образование первичных маммосфер в культуре в специализированной среде MammoCult. Так, не наблюдалось образование маммосфер из популяции EpCam+ клеток от больной T1. Добавление ИЛ-6 в культуру EpCam+ клеток третьего пассажа от больной T1 также не вызывало образование маммосфер, наблюдалось лишь увеличение клеточной массы более чем в 2,5 раза. При этом колониеобразование из EpCam+ клеток третьего пассажа от больной St в среде MammoCult не наблюдалось. Через 10 сут после добавления ИЛ-6 были выявлены маммосферы (рис. 2).

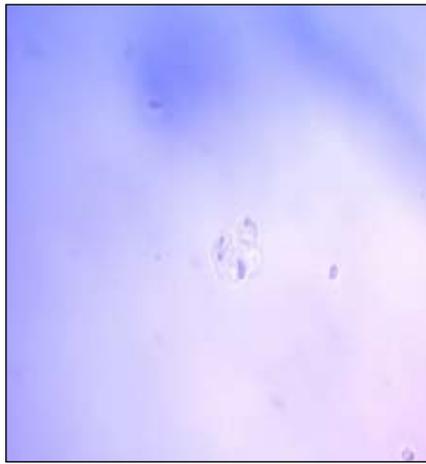


Рис. 2. Маммосферы в EpCam⁺CD44-культуре, полученной из опухоли молочной железы больной St

Заключение. 1. Установлено, что у больных с развившимися впоследствии метастазами после проведения НХТ количество гиперэкспрессированных генов стволовости увеличилось в два раза. Это свидетельствует о важной роли активации экспрессии генов стволовости для метастазирования опухолей. 2. На основе анализа экспрессии генов стволовости OCT3, LAT и LMNB2 в остаточной резидуальной опухоли разработан новый прогностический фактор с диагностической точностью прогноза 82 %. 3. Эпителиальные нестволовые опухолевые клетки больной с амплификациями генов стволовости экспрессируют гены стволовости на уровне опухолевых стволовых клеток и способны образовывать опухолевые стволовые клетки.

Работа поддержана грантом РНФ 17-15-01203.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ибрагимова М.К., Цыганов М.М., Литвяков Н.В. Естественная и хими-индуцированная клональная эволюция опухоли. Биохимия. 2017; 82(4): 572–586.
2. Litviakov N.V., Cherdynseva N.V., Ibragimova M.K., Tsyganov M.M., Doroshenko A.V., Kazantseva P.V., Kzhyshkowska J., Slonimskaya E.M. The clonal evolution of a breast tumor during neoadjuvant chemotherapy and metastasis. *Annals of oncology*. 2016; 27(1): 103.
3. Kreso A., Dick J.E. Evolution of the Cancer Stem Cell Model. *Cell Stem Cell*. 2014 Mar 6; 14(3): 275–91. doi: 10.1016/j.stem.2014.02.006.
4. Takahashi S., Ito Y., Hatake K., Sugimoto Y. Gene therapy for breast cancer. – review of clinical gene therapy trials for breast cancer and mdr1 gene therapy trial in cancer institute hospital. *Breast Cancer*. 2006; 13(1): 8–15.
5. Weinberger L., Ayyash M., Novershtern N., Hanna J.H. Dynamic stem cell states: naive to primed pluripotency in rodents and humans. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2016; 17: 155–169.

ОПТИМИЗАЦИЯ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ С УЧЕТОМ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ЛАНДШАФТА ОПУХОЛИ

**П.В. Казанцева, Е.М. Слонимская, Н.В. Литвяков,
М.М. Цыганов, М.К. Ибрагимова**

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

Аннотация

В настоящее время широкое распространение в хирургическом лечении рака молочной железы (РМЖ) получили органосохраняющие операции (ОСО). Эстетический результат таких хирургических вмешательств во многом зависит от объема новообразования, который может значительно уменьшаться под действием неоадьювантной химиотерапии (НАХТ). К сожалению, цитостатическое лечение не всегда оправдывает возложенные на него надежды. Выделяют ряд относительно химиорезистентных опухолей, к которым относится и люминальный Her- РМЖ. В ходе ранее проведенных исследований нами был идентифицирован ряд CNA (copy number aberration, к которым и относятся делеции и амплификации), сопряженных с высокой эффективностью НАХТ у больных с люминальным Her- РМЖ, а также генетические маркеры опухоли, ассоциированные с увеличением безметастатической выживаемости в случае регрессии новообразования на фоне НАХТ. Объединив имеющиеся данные, мы сформулировали персонализированный подход к генетически нацеленному назначению НАХТ, который не только положительно влияет на отдаленные результаты лечения, но и расширяет возможности для выполнения ОСО. В исследование было включено 35 больных люминальным Her- РМЖ, выполнение ОСО которым на первом этапе было не- целесообразно. Все они пролечены с использованием разрабатываемой методики. Это позволило выполнить ОСО 19 (54 %) пациенткам из группы исследования.

Ключевые слова: рак молочной железы, генетические предсказательные и прогностические критерии, органосохраняющие операции.

OPTIMIZATION OF SURGICAL TREATMENT OF PATIENTS WITH BREAST CANCER, TAKING INTO ACCOUNT THE GENETIC LANDSCAPE OF THE TUMOR

**P.V. Kazantseva, E.M. Slonimskaya, N.V. Litvyakov, M.M. Tsyganov,
M.K. Ibragimova**

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

Abstract

Currently, breast-conserving surgery (BCS) is widely used in surgical treatment of breast cancer (BC). The aesthetic result of such surgery depends on the tumor size, which can be significantly reduced under the effect of neoadjuvant chemotherapy (NAC). However, some types of BC, such as luminal Her- BC, are prone to be drug-resistant to chemotherapy. In previous studies, we identified a number of CNA (copy number aberration including deletions and amplifications) associated with high response rate following NAC in patients with luminal Her-BC, as well as genetic tumor markers associated with an increase in metastasis-free survival in patients with tumor regression after NAC. By combining the available data, we formulated a personalized approach to genetically targeted NAC, which not only had a positive impact on long-term treatment outcomes, but also expanded the indications for performing BCS. The study included 35 patients with luminal Her-breast cancer. The study of the genetic landscape of the tumor allowed personalization of NAC for breast cancer patients. The use of personalized genetically targeted NAC led to the tumor reduction in 77 % of cases and allowed the BCA to be performed in 19 (54 %) patients.

Key words: breast cancer, genetic predictive and prognostic criteria, breast-conserving surgery.

Актуальность. В настоящее время соблюдение онкологической безопасности при хирургическом лечении больных раком молочной железы (РМЖ) напрямую связано с достижением оптимального косметического результата путем выполнения ОСО. За последнее столетие методы оперативных вмешательств при РМЖ эволюционировали от обширной, калечащей мастэктомии по Холстеду до туморэктомии и биопсии сигнального лимфатического узла. В настоящее время ОСО с адьювантной лучевой терапией является «золотым» стандартом в лечении больных ранним раком молочной железы [1]. В основу повсеместного выполнения ОСО легло отсутствие различий в долгосрочных результатах лечения после радикальной мастэктомии по сравнению с радикальной секторальной резекцией и последующей лучевой терапии [2]. Выбор метода хирургического лечения в каждом конкретном случае зависит от ряда клинко-морфологических параметров, в число которых входит размер опухолевого узла как в абсолютном измерении, так и в соотношении с объемом молочной железы [3]. Учитывая это, высокоэффективная НАХТ может значительно расширить показания для проведения ОСО. Но далеко не всегда удается получить выраженную регрессию новообразования в ответ на проводимое системное лечение, что особенно актуально для люминальных раков молочной железы, которые считаются относительно химиорезистентными.

Проводимое в нашем институте на протяжении последних пяти лет исследование, направленное на изучение генетического ландшафта опухолей молочной железы, позволило идентифицировать ряд CNA в опухолевой ДНК, сопряженных с высокой эффективностью НАХТ у больных люминальным РМЖ. Выявление этих генетических маркеров и назначение системного лечения с учетом их наличия позволили значимо увеличить частоту выраженной регрессии новообразования, что положительно сказалось на выборе хирургического лечения в пользу ОСО [4]. Помимо положительного влияния на эстетический результат лечения, известно о сопряженности полной морфологической регрессии опухоли с увеличением безсобытийной выживаемости [5]. Кроме того, ранее нами были получены данные, говорящие о том, что у больных РМЖ, в первичной опухолевой ткани которых идентифицировано одновременно две и более амплификаций генов стволовости, не только полная, но и частичная регрессия сопряжены со значительным увеличением безметастатической выживаемости за счет элиминации указанных CNA [6].

Имеющиеся данные позволяют говорить о возможном генетически нацеленном назначении предоперационной химиотерапии, направленной на увеличение без- метастатической выживаемости и расширение показаний для выполнения ОСО. Такой подход позволяет персонализированно определить этапность хирургического вмешательства, положительно влияет на показатели отдаленной выживаемости и эстетический результат операции. Ведь очевидно, что эффективность лечения РМЖ должна определяться не только количеством, но и качеством прожитых лет.

Цель – оптимизировать подход к выбору очередности и объема хирургического вмешательства у больных с люминальным Her2отр. РМЖ при проведении комбинированного лечения.

Материал и методы. В исследование включено 35 больных с морфологически подтвержденным люминальным Her2отр РМЖ в возрасте от 22 до 61 года. Средний возраст составил 45 ± 10 лет. Все они имели показания для проведения НАХТ, и выполнение им ОСО первым этапом было эстетически нецелесообразно. Пациентам было назначено 4–8 курсов НАХТ, с последующим хирургическим лечением в объеме: ОСО, радикальной мастэктомии (РМЭ), подкожной мастэктомии с одновременным реконструктивно-пластическим вмешательством (РПО), в послеоперационном периоде по показаниям назначалась ДЛТ, химио-, гормонотерапия.

Всем больным до начала лечения выполнялось выделение ДНК опухоли с последующим ее исследованием с помощью микрочипов CytoScan™ HD Array (Affymetrix, USA). Оценивались состояния регионов ДНК, в которых локализованы гены стволовости: 5p, 6p, 7q, 8q, 13q, 9p, 9q, 10p, 10q21.1, 16p, 18chr, 19p, а также наличие маркеров высокой эффективности НАХТ: делеции генов МЛУ (ABCВ1-7q21.1, ABCВ3-6p21.32, ABCС1-16p13.1, ABCG2-4q22, MVP-16p11.2), делеции 11q22.1 – 23.3; 18p11.21 регионов и амплификация 1q23.2 – 43 региона. В исследование включались пациентки, имевшие 2 и более амплификации генов стволовости и хотя бы один маркер эффективности НАХТ. Выбор схемы осуществлялся на основании идентификации маркеров чувствительности/устойчивости к отдельным цитостатикам: амплификация гена Top2a, делеция BRCA1, делеция TUBB3, а также ряда экспрессионных характеристик: методом количественной ПЦР в реальном времени оценивали уровни экспрессии генов TOP2a и TYMS.

Эффект НАХТ оценивается по шкале ВОЗ на основании данных УЗИ и маммографии, клинического осмотра.

Результаты. Из 35 пациенток, включенных в группу исследования, полная морфологическая регрессия была достигнута у 7 (20 %), частичная регрессия – у 20 (57 %), стабилизация – у 7 (20 %), прогрессирование – у 1 пациентки (2,9 %). Это позволило выполнить ОСО у 19 (54,3 %) пациенток.

Выводы. Изучение генетического ландшафта опухоли для определения тактики лечения позволяет персонализированно подойти к определению показаний для проведения НАХТ, а ожидаемый эффект способствует оптимизации выбора этапа и объема выполнения хирургического лечения.

Применение персонализированной, генетически нацеленной НАХТ больным с люминальным (Her2отр) РМЖ позволяет в 77 % наблюдений значительно уменьшить объем новообразования, что значительно расширяет показания для выполнения ОСО, положительно сказываясь на качестве жизни пациенток.

ЛИТЕРАТУРА

1. Franceschini G., Terribile D., Fabbri C., Magno S., D'Alba P., Chiesa F., Di Leone A., Masetti R. Progresses in the treatment of early breast cancer. *Ann Ital Chir.* 2008 Jan-Feb; 79(1): 17–22.
2. Fisher B., Anderson S., Bryant J., Margolese R.G., Deutsch M., Fisher E.R., Jeong J.H., Wolmark N. Twenty-year-follow-up a randomized trial comparing total mastectomy, lumpectomy, and lumpectomy plus irradiation for the treatment of invasive breast cancer. *N Engl J Med.* 2002 Oct 17; 347(16): 1233–41.
3. Buchholz T.A., Somerfield M.R., Griggs J.J., El-Eid S., Hammond M.E., Lyman G.H., Mason G., Newman L.A. Margins for breast-conserving surgery with whole-breast irradiation in stage I and II invasive breast cancer. *Journal of clinical Oncology.* 2014; 32(14): 1502–1506.
4. Litviakov N.V., Cherdynseva N.V., Tsyganov M.M., Slonimskaya E.M., Ibragimova M.K., Kazantseva P.V., Kzhyskowska J., Choinzonov E.L. Deletions of multidrug resistance gene loci in breast cancer leads to the down-regulation of its expression and predict tumor response to neoadjuvant chemotherapy. *Oncotarget* 2016; 7(7): 7829–7841.
5. Семглазов В.Ф. Многоликая биология рака молочной железы: поиски адекватного лечения. Злокачественные опухоли. 2016; (3): 5–10. doi: 10.18027/2224-5057-2016-3-5-10.
6. Litviakov N.V., Cherdynseva N., Ibragimova M.K. The clonal evolution of a breast tumor during neoadjuvant chemotherapy and metastasis. Abstract Book of the 41st ESMO Congress (ESMO 2016) 7–11 October 2016, Copenhagen, Denmark. *Ann. Oncol.* 2016; 26(6): 94.

ОСОБЕННОСТИ ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНТНОГО ОТВЕТА НЕЙТРОФИЛОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У БОЛЬНЫХ С АДЕНОКАРЦИНОМой ЖЕЛУДКА

А.М. Карапетян¹, Д.В. Черняев^{1,2}

КГБУЗ «Красноярский краевой клинический онкологический диспансер имени А.И. Крыжановского», г. Красноярск, Россия¹

ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет имени проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения РФ, г. Красноярск, Россия²

Аннотация

Целью исследования явилось изучение показателей люминол-зависимой хемилюминесценции нейтрофилов периферической крови у больных с аденокарциномой желудка. Обследованы 129 пациентов с аденокарциномой желудка (Т3NXM0) в возрасте 45–65 лет. Контрольную группу составили 44 здоровых донора крови. Хемилюминесцентный анализ метаболической активности нейтрофилов периферической крови, характеризующий уровень продукции активных форм кислорода, показал пониженный базовый уровень продукции высокоэнергетических оксидантов в нейтрофильных гранулоцитах у больных с аденокарциномой желудка. В то же время у больных с аденокарциномой желудка была повышена способность нейтрофилов крови к усилению выработки активных форм кислорода в ответ на стимуляцию *in vitro*, о чем свидетельствует увеличение величины индекса активных клеток. Необходимо отметить, что показатели, характеризующие кинетику спонтанных и в нагрузочных тестах хемилюминесцентного ответа (Tmax) нейтрофилов периферической крови у пациентов с аденокарциномой желудка, не имели статистически значимых различий с параметрами контроля.

Ключевые слова: аденокарцинома, желудок, нейтрофилы, хемилюминесценция.

FEATURES OF THE CHEMILUMINESCENT RESPONSE OF PERIPHERAL BLOOD NEUTROPHILS IN PATIENTS WITH GASTRIC ADENOCARCINOMA

A.M. Karapetyan¹, D.V. Chernyaev^{1,2}

Krasnoyarsk Regional Clinical Oncology Center named after A.I. Kryzhanovskiy, Krasnoyarsk, Russia¹
Prof. V.F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University, Krasnoyarsk, Russia²

Abstract

The **Aim** of the study was to study the parameters of luminol-dependent chemiluminescence of peripheral blood neutrophils in patients with gastric adenocarcinoma. A total of 129 patients with gastric adenocarcinoma (T₃N_xM₀) aged 45-65 years were examined. The control group consisted of 44 healthy blood donors. Spontaneous and stimulated by opsonized zymosan, luminol-dependent chemiluminescence of peripheral blood neutrophils was studied by the method of De Sole et al. (1983). Chemiluminescent analysis of the metabolic activity of peripheral blood neutrophils characterizing the level of production of reactive oxygen species showed a reduced baseline level of production of high-energy oxidants in neutrophilic granulocytes in patients with gastric adenocarcinoma. At the same time, in patients with gastric adenocarcinoma, the ability of blood neutrophils to enhance the production of reactive oxygen species was increased in response to stimulation in vitro, as evidenced by an increase in the active cell index. It should be noted that the indicators characterizing the kinetics of spontaneous and load tests of the chemiluminescent response (T_{max}) of peripheral blood neutrophils in patients with gastric adenocarcinoma did not have statistically significant differences with the control parameters.

Key words: adenocarcinoma, gastric cancer, neutrophils, chemiluminescence.

Актуальность. Рак желудка является одной из ведущих нозологий среди злокачественных новообразований с агрессивным течением. Несмотря на то, что рак желудка чаще встречается в возрасте 50 лет, в последние годы наблюдается тенденция к росту доли молодых пациентов [1, 2]. В настоящее время известна способность нейтрофилов к выраженному цитотоксическому действию на опухолевые клетки, что отражает один из механизмов обеспечения противоопухолевой резистентности организма. Следует также отметить, что цитотоксическое действие нейтрофилов связано, главным образом, с генерацией активных форм кислорода (АФК). При этом установлено, что нейтрофилы обладают наибольшей из всех клеток организма способностью генерировать АФК [3, 4]. В то же время роль нейтрофильных гранулоцитов в возникновении и развитии опухолей неоднозначна. Так, И.В. Нестерова с соавт. отмечают двойственную роль нейтрофилов в реализации противоопухолевой защиты [5]. Исследования, проведенные Л.М. Куртасовой с соавт., показали изменение функциональной активности периферических нейтрофилов и ее регуляцию в динамике развития злокачественных новообразований [6, 7].

Цель исследования – изучение показателей люминол-зависимой хемилюминесценции нейтрофилов периферической крови у больных с аденокарциномой желудка.

Материал и методы. На базе Красноярского краевого клинического онкологического диспансера имени А.И. Крыжановского обследовано 129 пациентов с раком желудка (Т₃Н_хМ₀) в возрасте 45–65 лет до хирургического лечения. Диагноз аденокарциномы желудка у всех пациентов верифицирован морфологически. Контрольную группу составили 44 здоровых донора крови. Люминол-зависимую хемилюминесценцию (ХЛ) нейтрофилов крови оценивали по методу De Sole et al. [8]. Определяли следующие показатели: время выхода на максимум (Т_{max}), максимальное значение (I_{max}) и площадь ХЛ кривой (S). В качестве индуктора «дыхательного взрыва» использовали опсонизированный зимозан в концентрации 2 мг/мл (Sigma, США). Усиление ХЛ, индуцированной зимозаном, относительно спонтанной ХЛ оценивали при помощи соотношения $S_{\text{зим.}}/S_{\text{спон.}}$ и определяли как индекс активации. Статистическую обработку полученных данных выполняли с использованием пакета прикладных программ STATISTICA v. 7.0 (StatSoft Inc., США). Оценку статистической значимости межгрупповых различий проводили с использованием U-критерия Манна – Уитни. Результаты исследования количественных параметров в группах сравнения представлены в виде медианы (Me) и интерквартильного интервала (C₂₅-C₇₅). За критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимали p<0,05.

Результаты. Оценка параметров ХЛ нейтрофилов крови у больных с аденокарциномой желудка показала статистически значимое снижение максимальной интенсивности «дыхательной вспышки» и уменьшение площади под ХЛ-кривой по сравнению с показателями контрольной группы (табл. 1). При индукции ХЛ-реакции опсонизированным зимозаном наблюдается повышение интенсивности «респираторного взрыва» и увеличение площади под ХЛ-кривой относительно величин группы контроля (таблица). Следует отметить увеличение в 2,81 раза ($p < 0,01$) индекса активации в группе больных по сравнению со значениями контрольной группы. Исследование кинетики ХЛ-ответа нейтрофилов периферической крови у больных с аденокарциномой не выявило статистически значимых различий с группой контроля (таблица).

Таблица

Показатели хемилюминесценции нейтрофилов периферической крови у больных с аденокарциномой желудка (Me; C₂₅-C₇₅)

Показатель	Контрольная группа (n=44)	Больные (n=129)
Спонтанная хемилюминесценция		
T _{max} , с	578,00 277,00–1530,00	859,00 604,00–1666,00
I _{max} , о.е.*10 ³	6,36 3,00–15,88	3,40 2,99–5,13 $p < 0,01$
S _{сп.} , о.е.*10 ⁵	1,98 1,23–4,13	1,50 0,85–2,45 $p < 0,05$
Индукцированная хемилюминесценция		
T _{max} , с	1270,00 896,50–1779,00	1355,00 1101,00–1992,00
I _{max} , о.е.*10 ³	9,86 4,98–36,65	12,46 9,15–16,70 $p < 0,01$
S _{зим.} , о.е.*10 ⁵	3,28 1,52–9,28	6,71 2,35–15,50 $p < 0,01$
S _{зим./S_{спон.}}	1,87 1,38–3,10	5,25 2,25–7,73 $p < 0,01$

Выводы. 1. У больных с аденокарциномой желудка отмечается уменьшение общего количества АФК спонтанно продуцируемых нейтрофилами периферической крови, что отражает исходно сниженные энергетические затраты данных клеточных популяций у пациентов с исследуемой патологией. 2. У больных с аденокарциномой желудка сохранены компенсаторно-метаболические возможности нейтрофилов периферической крови при дополнительной стимуляции *in vitro*. 3. У больных с аденокарциномой желудка не обнаружено изменений кинетики хемилюминесцентного ответа.

ЛИТЕРАТУРА

1. Боякова И.В., Зуков Р.А., Слепов Е.В., Петрова Е.О., Винник Ю.С. Математические модели прогноза послеоперационных инфекционно-воспалительных осложнений у больных раком желудка. Хирургическая практика. 2016; 1: 31–35.
2. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2017 году (заболеваемость и смертность). М.: МНИОИ имени П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России, 2018. 250.
3. Нестерова И.В., Колесникова Н.В., Чудилова Г.Н., Ломтатидзе Л.В., Ковалева С.В., Евглевский А.А. Нейтрофильные гранулоциты: новый взгляд на «старых игроков» на иммунологическом поле. Иммунология. 2015; 4: 257–265.
4. Савченко А.А., Кудрявцев И.В., Борисов А.Г. Методы оценки роли респираторного взрыва в патогенезе инфекционно-воспалительных заболеваний. Инфекция и иммунитет. 2017; 7(4): 327–340.
5. Нестерова И.В., Ковалева С.В., Чудилова Г.А., Ломтатидзе Л.В., Евглевский А.А. Двойственная роль нейтрофильных гранулоцитов в реализации противоопухолевой защиты. Иммунология. 2012; 5: 281–287.
6. Куртасова Л.М., Зуков Р.А., Семенов Э.В. Особенности хемилюминесценции нейтрофилов периферической крови у онкоурологических больных в динамике заболевания. Медицинская иммунология. 2016; 18(6): 589–594.
7. Куртасова Л.М., Семенов Э.В., Зуков Р.А., Шканова Е.А. Изменение параметров люминол- и люцигенин-зависимой хемилюминесценции у больных раком мочевого пузыря в динамике заболевания. Медицинская иммунология. 2015; 17(2): 173–178.
8. De Sole P., Lippa S., Littarru G.P. Whole blood chemiluminescence: a new technical approach to assess oxygen-dependent microbial activity of granulocytes. J. Clin. Lab. Autom. 1983; 3: 391–400.

МЕСТО ЛАПАРОСКОПИЧЕСКИХ ХИРУРГИЧЕСКИХ ВМЕШАТЕЛЬСТВ У БОЛЬНЫХ МЕСТНОРАСПРОСТРАНЕННЫМ РАКОМ ПРЯМОЙ КИШКИ ПОСЛЕ НЕОАДЪЮВАНТНОЙ ТЕРМОХИМИОЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ

А.А. Карпов, Д.В. Ерыгин

МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава, г. Обнинск, Россия

Аннотация

В мире ежегодно диагностируют более 600 000 новых случаев рака прямой кишки [1]. В структуре смертности от онкологических заболеваний рак прямой кишки занимает 3-е место. По данным статистики, прирост превышает 15 % за 10 лет. В мире рак прямой кишки, включая рак анальной зоны, составляет примерно 2/3 (75 %) всех опухолей толстой кишки [2]. Среди больных раком прямой кишки особое место занимают местнораспространенный и прогностически неблагоприятный варианты течения заболевания. К прогностически неблагоприятным факторам, которые оказывают негативное влияние на течение заболевания и результаты лечения, относятся: сосудистая инвазия опухоли по данным МРТ; множественное поражение регионарных лимфатических узлов; выраженная (Т3с, d-T4) инвазия опухоли в мезоректальную клетчатку, положительный латеральный край резекции (по данным МРТ); локализация опухоли в нижеампулярном отделе прямой кишки [3]. Данная категория пациентов требует проведения на дооперационном этапе комбинированного лечения, включающего в себя пролонгированную химиолучевую терапию, а в ряде случаев целесообразно применение локальной электромагнитной гипертермии, с хирургическим лечением в объеме тотальной мезоректумэктомии и адъювантной химиотерапии. В тех случаях, когда после неоадъювантного лечения достигается полная регрессия опухоли, возможно применение тактики динамического наблюдения

Ключевые слова: рак прямой кишки, термохимиолучевая терапия, лапароскопическая передняя резекция.

LAPAROSCOPIC SURGERY IN THE MANAGEMENT OF LOCALLY ADVANCED RECTAL CANCER AFTER NEOADJUVANT THERMOCHEMICAL THERAPY

A.A. Karpov, D.V. Erygin

A.F. Tsyba Moscow Radiological Research Center affiliated to National Medical Radiological Research Center of the Ministry of Health of Russia, Obninsk, Russia

Abstract

More than 600,000 new cases of colorectal cancer are diagnosed annually in the world [1]. In the structure of mortality from cancer, rectal cancer takes the 3rd place. Over 10 years, the increase in colorectal cancer incidence exceeds 15 %. Rectal cancer, including anal cancer, account for about 2/3 (75 %) of all colon tumors worldwide [2].

Key words: rectal cancer, thermochemical therapy, laparoscopic anterior resection.

Цель исследования – достижение максимального органосохраняющего лечения рака прямой кишки за счет применения лучевой терапии в сочетании с химиотерапией и электромагнитной гипертермией и последующим малоинвазивным хирургическим лечением.

Материал и методы. Материал представлен 54 пациентами с локализацией опухоли до 10 см от анального края, получавшие в качестве неоадъювантного лечения термохимиолучевую терапию: конвенциональную лучевую терапию методикой классического фракционирования дозы в РОД 2 Гр, до СОД 50 Гр, в течение 5 нед на фоне химиотерапии: оксалиплатин 50 мг/м², в/в, в 1, 8, 22, 29-й дни и капецитабин в дозе 825 мг/м², 2 раза в день, с 1 по 14-й и с 22 по 33-й дни лучевой терапии в сочетании с локальной гипертермией (ГТ). Внутриво-

лостная электромагнитная гипертермия будет выполняться на установке «Яхта-4», начиная с первого дня курса лечения, с интервалом 48 ч, непосредственно перед процедурой лучевой терапии. Продолжительность сеанса гипертермии 60 мин, количество – 4–6, в зависимости от переносимости. По окончании курса неoadъювантного лечения – перерыв длительностью 8–10 нед, после чего вновь выполняется комплексное обследование с **Целью** оценки ответа первичной опухоли на лечение.

Сравнительная оценка ответа опухоли по степени распространённости опухолевого процесса, до и после лечения, проводилась по данным МРТ органов малого таза в соответствии с критериями TRG (Braun G.) Для изучения токсических реакций будут использоваться средства объективного контроля, такие как показатели периферической крови, биохимические показатели, местные реакции со стороны слизистой прямой кишки, оценка влияния лечения на другие органы и системы (шкалы RTOG или CTC AE).

Хирургическое лечение больных выполнялось через 8–10 нед после окончания курса термохимиолучевой или химиолучевой терапии, в соответствии с современными требованиями:

- тотальная мезоректумэктомия;
- высокая перевязка нижней брыжеечной артерии и вены;
- нервосохраняющая методика мобилизации прямой кишки;
- использование методики экстрафасциального выделения прямой кишки (по показаниям);
- выполнение мультвисцеральных резекций единым блоком – при распространении опухоли прямой кишки на соседние органы;
- использование как открытого, так и лапароскопического доступа.

После оперативного вмешательства в обязательном порядке выполнялась гистологическая оценка патоморфоза опухоли.

Результаты. Полный объём термохимиолучевой терапии реализован у всех 54 больных. В ходе лечения пациентам оценивался профиль токсичности лечения. Местные реакции, представлены ректитом 1–2-й степени тяжести и наблюдались у 15 больных (27,7 %). Гематологическая токсичность была представлена лейкопенией 1–2-й степени тяжести и отмечена у 14 пациентов (25,9 %). Следует сказать, что токсические реакции не стали причиной отмены проводимого лечения и курс термохимиолучевой терапии реализован в полном объёме у всех 54 пациентов.

Хирургическому лечению подвергнуты 43 больных. 11 человек не оперированы. Из них: 9 пациентов в связи с полной клинической регрессией опухоли, 2 пациентов в связи соматическим состоянием. Лапароскопические органосохраняющие операции выполнены у 33 больных. У 10 выполнена брюшнопромежностная экстирпация прямой кишки.

Летальности в послеоперационном периоде не отмечено. Послеоперационные осложнения наблюдались у 10 больных. Из них несостоятельность колоректального анастомоза у 5 больных, что составило 12 %

Выводы. Термохимиолучевая терапия позволяет реализовать план органосохраняющего лечения. Метод демонстрирует приемлемый уровень токсичности при относительно высоком уровне полных клинических регрессий. Метод сочетается со всеми видами радикальных лапароскопических хирургических вмешательств при раке прямой кишки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2017 году (заболеваемость и смертность). М.: МНИОИ имени П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России, 2018. 250.
2. Siegel R., Miller K., Jemal A. Cancer statistics, 2016. CA Cancer J Clin. 2018 Jan; 68(1): 7–30. doi: 10.3322/caac.21442.
3. Ерыгин Д.В., Бердов Б.А., Невольских А.А., Титова Л.Н., Смирнова С.Г. Неoadъювантная химиолучевая терапия местно-распространенного рака прямой кишки. Онкология. Журнал имени П.А. Герцена. 2015; 1(4): 13–20. doi: 10.17116/onkolog20154113-20.

БИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ БОР-НЕЙТРОНОЗАХВАТНОЙ ТЕРАПИИ НА МОДЕЛЯХ IN VITRO И IN VIVO

А.И. Касатова^{1,2,3}, А.И. Кичигин^{1,3}, Р.В. Сибирцев^{1,4}, Н.С. Филин⁴

Новосибирский национальный исследовательский государственный университет,
г. Новосибирск, Россия¹
Институт ядерной физики им. Г.И. Будкера Сибирского отделения Российской академии наук,
г. Новосибирск, Россия²
Иркутский государственный медицинский университет, г. Иркутск, Россия³
Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России,
г. Новосибирск, Россия⁴

Аннотация

Бор-нейтронозахватная терапия (БНЗТ) является уникальной формой лучевой терапии, в основе которой лежит идея селективного уничтожения опухолевых клеток злокачественных опухолей, в том числе опухолей головного мозга высокой степени злокачественности, таких как анапластическая астроцитомы и глиобластома. На источнике эпитепловых нейтронов ускорительного типа в ИЯФ СО РАН был проведен ряд доклинических экспериментов по БНЗТ на клеточных культурах и лабораторных животных. Опухолевую клеточную линию U87 (глиобластома человека) и линию, полученную из неанаплазированной ткани FetMSC, облучали на ускорителе с последующим проведением МТТ теста через 48 и 96 ч после облучения. Было выяснено, что FetMSC более толерантна к нейтронному облучению эпитепловыми нейтронами, в то время как уровень реакции опухолевой линии U87 выше, что объясняется концепцией толерантности нормальных тканей. Облучение нейтронами в дозе 12 Гр-Экв является достаточно безопасным для линии FetMSC, выживаемость которой уменьшается незначительно по сравнению с контролем: для линии U87 – лишь на 27 %, а FetMSC – на 7 %. Также выявлена зависимость клеточной гибели от времени, прошедшего с момента воздействия облучения. При выполнении *in vivo* эксперимента использовали 8-недельных иммунодефицитных мышей линии SCID с внутримозговым ксенотрансплантатом, полученным после инокуляции клеток линии U87. Облучение проведено на 24-е сут после имплантации опухоли. Группе 1 проводилась БНЗТ с внутривенной инъекцией боркаптата (BSH), группа 2 была облучена эпитепловыми нейтронами без препарата бора, третья группа была контрольной. Поглощенная доза в группе БНЗТ составила 28 Гр-экв, в то время как в группе, облученной пучком нейтронов, лишь 4,7 Гр-экв. После облучения за животными осуществлялся динамический мониторинг, который включал в себя осмотр и оценку активности, наличия парезов, координации, веса, проведение МРТ-исследований. В результате было выявлено, что выживаемость животных в группе БНЗТ увеличивалась на 30 % по сравнению с контрольной группой. Таким образом, бор-нейтронозахватная терапия является перспективной методикой лечения глиобластомы человека.

Ключевые слова: бор-нейтронозахватная терапия, глиобластома, внутримозговой ксенотрансплантат, боркаптит, источник эпитепловых нейтронов ускорительного типа.

BIOLOGICAL STUDIES OF BORON NEUTRON CAPTURE THERAPY ON IN VITRO AND IN VIVO MODELS

A.I. Kasatova^{1,2,3}, A.I. Kichigin^{1,3}, R.V. Sibirtsev^{1,4}, N.S. Filin⁴

Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia¹
Budker Institute of Nuclear Physics of SB RAS, Novosibirsk, Russia²
Irkutsk State Medical University, Irkutsk, Russia³
Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia⁴

Abstract

Boron neutron capture therapy (BNCT) is a unique form of radiation therapy, which is based on the idea of selective destruction of tumor cells of malignant tumors, including malignant brain tumors, such as anaplastic astrocytoma and glioblastoma. A number of preclinical BNCT experiments on cell cultures and laboratory animals were conducted at the source of epithermal accelerator neutrons at the BINP SB RAS. The U87

tumor cell line (human glioblastoma) and the line derived from non-anaplastic tissue FetMSC were irradiated at accelerator-based neutron source, followed by MTT test at 48 and 96 hours after irradiation. It was found that FetMSC was more tolerant to neutron irradiation with epithermal neutrons, while the reaction level of the U87 tumor line was higher. Irradiation with neutrons at a dose of 12 Gy-Eq was fairly safe for FetMSC line, which survival only slightly decreased compared with the control. The dependence of cell death on the time elapsed since exposure to radiation was also revealed. In vivo experiment, 8-week-old immunodeficient SCID mice with intracranial tumors after inoculation of U87 cells were used. Irradiation was carried out 24 days after tumor implantation. Group 1 received BNCT with intravenous sodium borocaptate (BSH) injection, group 2 was irradiated with epithermal neutrons without boron drug, and group 3 was the control one. The absorbed dose in the BNCT group was 28, Gr-eq, while the group irradiated with a neutron beam got only 4.7 Gr-eq. After irradiation, animals were monitored, including examination and assessment of activity, paresis, coordination, and weight. MRI studies were also done. As a result, it was found that the survival of animals in the BNCT group increased by 30 % compared with the control group. Thus, boron neutron capture therapy is a promising method for the treatment of human glioblastoma.

Key words: boron neutron capture therapy, glioblastoma, intracranial xenograft, sodium borocaptate, accelerator-based epithermal neutron source.

Актуальность. Бор-нейтронозахватная терапия (БНЗТ) – это бинарная форма лучевой терапии, в основе которой лежит идея селективного уничтожения опухолевых клеток, без вреда для окружающих нормальных тканей. Для реализации данного метода нужен препарат бора-10 и источник нейтронов с нужной для проведения БНЗТ энергией. Клинические испытания на ядерных реакторах, которые использовались для получения нейтронов для БНЗТ, показали, что бор-нейтронозахватная терапия является перспективным методом лечения опухолей головного мозга высокой степени злокачественности [1]. В Институте ядерной физики им. Г.И. Будкера СО РАН был предложен и сконструирован источник эпитепловых нейтронов ускорительного типа, на котором проводятся доклинические испытания [2].

Цель исследования – оценить эффективность нейтронного пучка и возможности проведения БНЗТ на источнике нейтронов ускорительного типа *in vitro* и *in vivo*.

Материал и методы. Для *in vitro* эксперимента использовали клеточную линию U87 (глиобластома человека) и FetMSC (мезенхимные стволовые клетки эмбриона человека), которые культивировались на среде DMEM-F12 с добавлением 10 % фетальной бычьей сыворотки в CO₂-инкубаторе при температуре 37 °С, 5 % CO₂ в течение 2 сут. Затем клетки обеих линий сняли трипсином, во время облучения они находились в суспензионной форме. Образцы располагались в фантомном из оргстекла под литиевой нейтронгенерирующей мишенью ускорителя. Облучение длилось 2 ч 2 мин, энергия протонов составила 2,0 МэВ, интеграл тока 2,69 мА*ч. Максимальная поглощенная доза была равна 12 Гр-экв, диапазон доз составлял 0–12 Гр-экв. После облучения клетки высевали для проведения МТТ теста через 48 и 96 ч после облучения. Измерения проводили на BioRad iMark Microplate reader при длине волны 490 нм. В качестве экспериментальной модели *in vivo* использовали 8-недельных иммунодефицитных мышей линии SCID, которым провели интракраниальную инокуляцию суспензии клеток линии U87 (культивировали вышеописанным способом) с последующим МРТ-контролем для оценки размеров опухоли. Облучение проведено через 24 сут после имплантации опухоли. Первой группе (БНЗТ) была проведена внутривенная инъекция боркаптата (BSH), группа 2 была облучена эпитепловыми нейтронами без препарата бора, третья группа была контрольной. Суммарное время облучения составило 2 ч 46 мин, суммарный интеграл тока – 5,46 мА/час. Поглощенная доза в группе БНЗТ была равна 28, Гр-экв, в то время как группа, облученная пучком нейтронов, – лишь 4,7 Гр-экв. После облучения за животными осуществлялся динамический мониторинг, который включал в себя осмотр и оценку активности, наличие парезов, координацию, вес. Провели два МРТ-исследования – на 3-й и 7-й дни после облучения.

Результаты. FetMSC – линия, полученная из неанаплазированной ткани эмбриона, была более толерантна к нейтронному облучению эпитепловыми нейтронами, в то время как уровень реакции опухолевой линии U87 выше, что объясняется концепцией толерантности нормальных тканей [3]. Облучение нейтронами в дозе 12ГрЭкв является достаточно безопасным и снижает выживаемость линии U87 лишь на 27 %, а FetMSC – на 7 %. Очевидна зависимость клеточной гибели от времени, прошедшего с момента воздействия облучения: через 48 ч после облучения выживаемость линии U87, получившей дозу 12 ГрЭкв, падает до 86,7 %, а через 96 ч – до 73,6 %, в то время как выживаемость линии FetMSC уменьшается незначительно по сравнению с контролем: через 48 ч после облучения выживаемость уменьшается менее чем на 1 %, через 96 ч – на 7 %.

Группа ученых [4] проводила эксперимент на клеточных линиях крысиной глиомы и на клетках венозного эндотелия, в котором они подтверждают, что облучение практически не снижает фракцию выживания клеток, в то время как БНЗТ с препаратом борфенилаланин значительно увеличивает летальный эффект.

Предыдущие эксперименты показали, что облучение в присутствии боркаптата с последующим патоморфологическим анализом не приводит к структурным изменениям в тканях мозга, влияние на печень, почки и селезенку имеет обратимый характер [5], что говорит о приемлемости использования БНЗТ в последующих экспериментах на животных с опухолевыми трансплантатами.

Исследование *in vivo*, в результате которого одна группа мышей была подвержена БНЗТ, вторая облучена нейтронами без препаратов бора, а третья была контрольной, показало, что выживаемость животных группы БНЗТ увеличивалась на 30 % по сравнению с контрольной группой. Выживаемость в облученной нейтронами группе увеличилась на 15 %, что не является статистически значимым (критерий Манна – Уитни) и может быть связано с сопутствующим гамма-излучением.

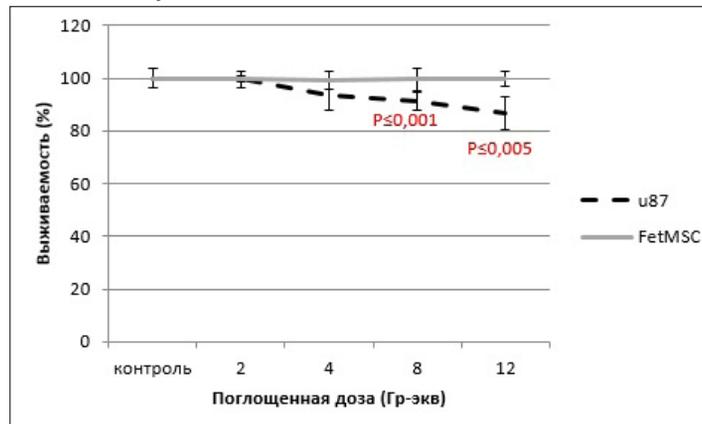


Рис. 1. Дозозависимые цитотоксические эффекты облучения потоком нейтронов определены при помощи МТТ-теста через 48 ч

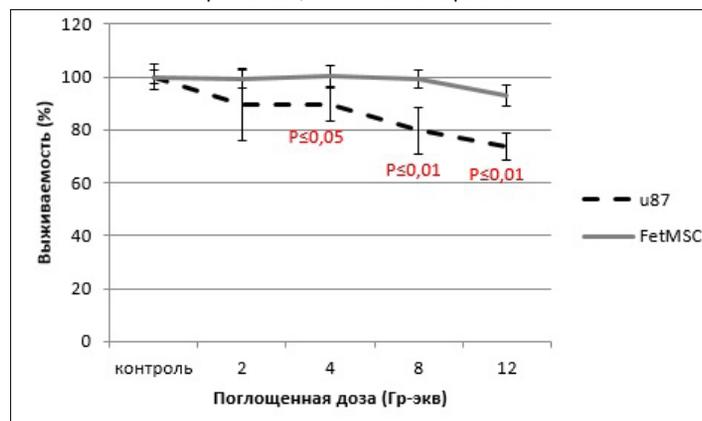


Рис. 2. Дозозависимые цитотоксические эффекты облучения потоком нейтронов определены при помощи МТТ-теста через 96 ч

Заключение. Эксперимент с нормальными и опухолевыми клеточными линиями, облученными различными дозами на ускорительном источнике эпитепловых нейтронов в Институте ядерной физики СО РАН, показывает, что эффект облучения пучком нейтронов без бора-10 незначителен для нормальных клеток. Исследование *in vivo* позволило наблюдать тенденцию к увеличению продолжительности жизни в группе БНЗТ, что может быть связано с уменьшением или приостановкой роста опухоли. Таким образом, БНЗТ является перспективной методикой лечения глиобластомы человека.

Исследование проведено на базе лаборатории медико-биологических проблем БНЗТ физического факультета НГУ, заведующий В.В. Каньгин, при поддержке гранта РФФИ (проект №. 18-29-01007) с использованием оборудования ЦКП «Центр генетических ресурсов лабораторных животных» ФИЦ ИЦиГ СО РАН, поддерживаемого Минобрнауки России (Уникальный идентификатор проекта RFMEFI62117X0015).

Авторы выражают благодарность С.Ю. Таскаеву, А.Н. Макарову, И.М. Щудло, Я.А. Колесникову, Е.О. Соколовой, А.М. Кошкареву, Т.А. Быкову за обеспечение генерации нейтронов, Т.В. Сычевой за проведение расчетов поглощенной дозы.)

ЛИТЕРАТУРА

1. Sauerwein W.A.G., Wittig A., Moss R., Nakagawa Y. Neutron Capture Therapy: Principles and Applications. 2012. 544.
2. Таскаев С.Ю., Каныгин В.В. Бор-нейтронозахватная терапия. Новосибирск: Издательство СО РАН, 2016. 216.
3. Климанов В.А. Радиобиологическое и дозиметрическое планирование лучевой и радионуклидной терапии. Часть 1: Радиобиологические основы лучевой терапии. Радиобиологическое и дозиметрическое планирование дистанционной лучевой терапии пучками тормозного и гамма-излучения и электронами. М.: НИЯУ МИФИ, 2011. 500.
4. Menichetti L., Gaetano L., Zampolli A., Del Turco S., Ferrari C., Bortolussi S., Stella S., Altieri S., Salvadori P.A., Cionini L. In vitro neutron irradiation of glioma and endothelial cultured cells. Appl Radiat Isot. 2009 Jul; 67(78 Suppl): S336–40. doi: 10.1016/j.apradiso.2009.03.058.
5. Zaboronok A., Byvaltsev V., Kanygin V., Iarullina A., Kichigin A., Taranin A., Volkova O., Mechetina L., Taskaev S., Muhamadiyarov R., Zavyalov E., Nakai K., Sato E., Yamamoto T., Mathis B., Matsumura A. Boron-neutron capture therapy in Russia: preclinical evaluation of efficacy and perspectives of its application in neurooncology. New Armenian Medical Journal. 2017; 11(1): 6–15.

ТРАНСПЕРИНЕАЛЬНАЯ САТУРАЦИОННАЯ БИОПСИЯ ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПОД УЛЬТРАЗВУКОВЫМ КОНТРОЛЕМ

А.А. Кельн^{1,2}, В.Г. Знобищев²

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Тюменский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Тюмень, Россия¹
 Областной урологический центр акционерное общество медико-санитарная часть «Нефтяник», г. Тюмень, Россия²

Аннотация

Введение. Биопсия предстательной железы является основным методом исследования рака предстательной железы (РПЖ), позволяющим начать своевременное адекватное лечение. Одной из самых значимых проблем в диагностике РПЖ является трудность выявления опухоли с помощью стандартных методов визуализации. **Материал и методы.** Обследован 81 пациент, средний возраст 63,5±7,4, средний объем предстательной железы – 59±24,2 см³, средний уровень простатспецифического антигена 12,5±8,9 нг/мл. **Результаты.** Диагноз РПЖ был установлен 34 пациентам (43,2 %). У всех пациентов с РПЖ была выявлена ацинарная аденокарцинома. Опухоли с индексом Глисона 6 были выявлены у 22 (27,1 %) пациентов, с индексом 7 – у 9 (9,9 %) и 8 – у 4 (4,9 %). Наиболее агрессивные типы опухоли (градация Глисона 7 и 8) соответствовали PIRADS 4 и 5. При градациях PIRADS 2 и 3 в 80 и 50 % соответственно встречались проявления аденомы предстательной железы без злокачественного проявления. У пациентов после радикальной простатэктомии изучены результаты планового послеоперационного морфологического заключения с данными биопсии. Было определено, что в 80,0 % (n=12) случаев опухоль располагалась в пределах капсулы предстательной железы и только в 20,0 % (n=3) случаев не была ограничена пределами органа. Диагноз по результатам биопсии и послеоперационное морфологическое заключение совпадали в 86,7 % случаев. **Выводы.** Сатурационная трансперинеальная биопсия зачастую является референсным методом диагностики. В определенных клинических ситуациях предлагаемая методика является альтернативным подходом с хорошей частотой обнаружения РПЖ.

Ключевые слова: биопсия предстательной железы, сатурационная трансперинеальная биопсия, рак предстательной железы, клинически значимый рак, таргетная fusion биопсия.

TRANSPERINEAL ULTRASOUND-GUIDED SATURATION PROSTATE BIOPSY

А.А. Keln^{1,2}, V.G. Znobichev²

Tyumen State Medical University of the Russia Ministry of Health, Tyumen, Russia¹
 Regional Urological Center Health-care unit «Neftyanik», Tyumen, Russia²

Abstract

Background. Prostate biopsy is the main method used to diagnose prostate cancer. At present, no standard imaging modality can reliably diagnose prostate cancer. **Materials and methods.** 81 patients were examined, the mean age was 63.5 ± 7.4 , the average volume of the prostate was $59 \pm 24.2 \text{ cm}^3$, the average level of the prostate-specific antigen was $12.5 \pm 8.9 \text{ ng/ml}$. **Results.** Based on the results of saturation transperineal biopsy, prostate cancer was detected in 34 patients (43.2 %). All patients with prostate cancer had histologically confirmed acinar adenocarcinoma. Gleason score (GS) 6 was detected in 22 (27.1 %) patients, GS 7 in 9 (9.9 %) and GS 8 in 4 (4.9 %) patients. High-grade (Gleason 7 and 8) tumors corresponded to PIRADS score of 45. In PIRADS scores of 2 and 3, manifestations of prostatic adenoma without the evidence of malignization were observed in 80 % and 50 % cases, respectively. After radical prostatectomy, the results of histological examination were compared with biopsy data. In 80.0 % ($n=12$) of cases, prostate cancer had not spread outside the prostate capsule and only in 20.0 % ($n=3$) of cases, the tumor was not confined to the prostate. The coincidence rate of biopsy results and final diagnosis was 86.7 %. **Conclusion.** The study showed that saturation transperineal biopsy is often a reference diagnostic method. The proposed technique is an alternative approach, with a good frequency of detection of prostate cancer.

Key words: prostate biopsy, saturation transperineal biopsy, prostate cancer, clinically significant cancer, targeted fusion biopsy.

Введение. Рак предстательной железы (РПЖ) является одним из наиболее распространенных онкологических заболеваний у мужчин. Выявляемость РПЖ зависит от интенсивности скрининга и совершенства инструментальной диагностики [1]. Ведущим инструментом диагностики РПЖ остается биопсия предстательной железы с последующей морфологической верификацией. По имеющимся литературным данным, число ложноотрицательных результатов при применении стандартной биопсии предстательной железы достигает 30 %, и, как правило, не выявляется клинически значимый рак (КЗР), что приводит к выставлению ошибочной группы риска в 30 % случаев и необходимости выполнения повторных биопсий [2–4]. Среди современных диагностических методик основное внимание уделяется совершенствованию технологий медицинской визуализации и развитию гибридных технологий слияния МРТ и УЗИ. В последнее время появилась возможность биопсии из конкретных анатомических областей, так называемая таргетная биопсия. В соответствии с опубликованным руководством PI-RADSv2 таргетную биопсию предстательной железы возможно применить при категории PI-RADS не менее III. При категориях PI-RADS I или PI-RADS II биопсия признается нецелесообразной [5]. В подобных случаях, учитывая анатомические особенности строения предстательной железы и отрицательные результаты первичной биопсии, для диагностики РПЖ необходимо использовать промежуточную сатурационную биопсию [6].

Цель – проанализировать диагностическую ценность промежуточной сатурационной биопсии у пациентов с PI-RADS \leq III.

Материал и методы. Работа выполнена в период с сентября 2016 г. по июнь 2018 г. Проведено обследование 81 пациента с подозрением на РПЖ с ранее отрицательной биопсией. Возрастной диапазон пациентов – от 47 до 73 лет (средний возраст $63,5 \pm 7,4$ года). Подозрительные зоны оценивались по МРТ шкале PI-RADS vs2: 3 очага (3,7 %) – с V, 7 очагов (8,6 %) – с IV, 36 очагов (44,5 %) – с III и 35 очагов (43,2 %) – с II. У большинства пациентов ($n=63$, 77,8 %) ранее проводилась одна стандартная 12-точковая трансректальная биопсия, у 16 пациентов (19,7 %) – по две, у 2 пациентов (2,5%) – три и более.

Результаты. Средний объем железы – $59 \pm 24,2 \text{ cm}^3$. Средняя продолжительность промежуточной биопсии составила $25,2 \pm 7,4$ (20–90) мин. Общее количество полученных биоптатов составило 2046, в среднем 25 биоптатов у пациента (от 12 до 50). Опухолевые изменения выявлены в 100 биоптатах, что составило 4,9 % от количества всех биоптатов. По результатам выполнения промежуточной биопсии диагноз РПЖ был установлен у 34 пациентов (43,2 %), была выявлена ацинарная аденокарцинома. Градация Глисона 6 баллов была у 22 (27,1 %) пациентов, 7 – у 9 (9,9 %) и 8 – у 4 (4,9 %). Наличие предраковых изменений, а именно ПИН высокой степени, было выявлено у 19 пациентов (32,2 %). Доброкачественная гиперплазия ПЖ обнаружена у 21, что составило 25,9 % от числа пациентов. При анализе данных градации PI-RADS vs2 мПМРТ и данных морфологического заключения выявляемость аденокарциномы, соответствующей классификации PI-RADS II, составила 20 % ($n=7$), PIRADS III 51,4% ($n=18$), IV – 20 % ($n=7$), V – 8,6 % ($n=3$). При изучении агрессивности РПЖ и соотнесении с результатами градации PI-RADS (рис. 1) выяснилось, что наиболее

агрессивные типы опухоли (градация Глисона 7 и 8) соответствовали PIRADS IV и V. При градациях PIRADS II и III в 80 и 50 % соответственно встречались проявления аденомы предстательной железы без злокачественного проявления.

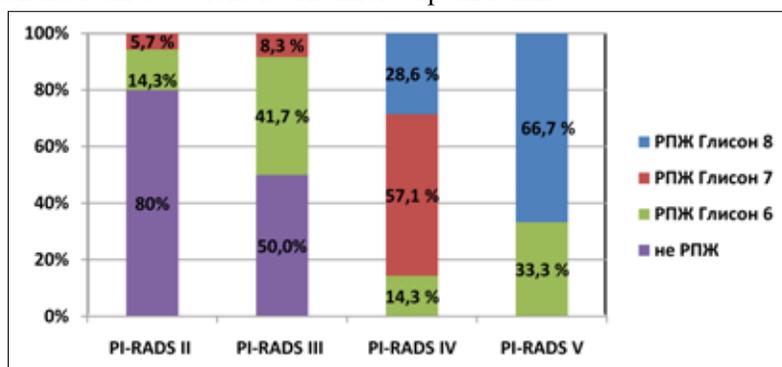


Рис. 1. Распределение морфологического типа опухоли по градации Глисона в соответствии с классификацией PI-RADS vs2 по мнМРТ

Хирургическое лечение (радикальная простатэктомия) выполнено 15 (44,2 %), гормонально-лучевое лечение – 7 (20,6 %), брахитерапия – 6 (17,6 %), активное наблюдение – 6 (17,6 %). У пациентов после радикальной простатэктомии изучены результаты планового послеоперационного морфологического заключения с данными, полученными при сатурационной промежуточной картирующей биопсии. Соответствие степени дифференцировки опухоли по системе градации Глисона в биоптатах и образцах простатэктомии выявлено в 86,7 % случаев (n=13). В 13,3 % наблюдений (n=2) разница составила 1 балл по шкале Глисона и изменилась с 6 баллов на 7. При гистоморфологической оценке материала, полученного в ходе РПЭ, отмечена преобладающая локализация опухоли в периферических отделах предстательной железы в 80,0 % случаев (n=12), у 20 % (n=3) опухоль локализовалась в центральных отделах железы. В ходе сравнительного анализа не наблюдалось корреляции локализации опухоли в образцах простатэктомии с местоположением опухоли, диагностированной при промежуточной сатурационной картирующей биопсии предстательной железы. Совпадение диагноза по результатам исследования биопсийного и послеоперационного материала составило 86,7 %.

Заключение. Несмотря на значительное число научных работ, посвященных применению таргетной совмещенной биопсии, на сегодняшний день нет четкого руководства для пациентов с неэффективной таргетной fusion биопсией и сомнительными результатами мнМРТ (категория PI-RADS II, а в некоторых случаях PI-RADS III). На наш взгляд, «золотым стандартом» диагностики РПЖ у данной группы пациентов остается сатурационная биопсия.

ЛИТЕРАТУРА

1. Зырянов А.В., Федоров Н.М., Зотов П.Б., Налётов А.А., Бурханова Л.А., Смирнов В.О., Абалканова М.М. Заболеваемость и смертность от злокачественных новообразований населения Тюменской области в 2017 году. Тюменский медицинский журнал. 2017; 19(2): 5559.
2. Siegel R., Naishadham D., Jemal A. Cancer statistics, 2012. CA Cancer J Clin 2012; 62(1): 10–29.
3. Bjurlin M.A., Wysock J.S., Taneja S.S. Optimization of prostate biopsy: review of technique and complications. Urol Clin North Am 2014; 41(2): 299–313. doi: 10.1016/j.ucl.2014.01.011. PMID: 24725491.
4. Кельн А.А., Лыков А.В., Сальников М.А. PSA-скрининг в Тюменской области. Тюменский медицинский журнал. 2014; 16(4): 25–26.
5. Cash H., Maxeiner A., Stephan C., Fischer T., Durmus T., Holzmann J., Asbach P., Haas M., Hinz S., Neymeyer J., Miller K., Günzel K., Kempkensteffen C. The detection of significant prostate cancer is correlated with the Prostate Imaging Reporting and Data System (PI-RADS) in MRI/transrectal ultrasound fusion biopsy. World J Urol. 2016; 34(4): 525–32.
6. Maccagnano C., Gallina A., Roscigno M., Raber M., Capitanio U., Saccà A., Pellucchi F., Suardi N., Abdollah F., Montorsi F., Rigatti P., Scattoni V. Prostate saturation biopsy following a first negative biopsy: state of the art. Urol Int. 2012; 89: 126–35.

ВЗАИМОСВЯЗЬ РАКА ЭНДОМЕТРИЯ СО СТРУКТУРНЫМИ ОСОБЕННОСТЯМИ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА

А.Ю. Кишкина, М.О. Очиров

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

Аннотация

Частота встречаемости рака эндометрия (РЭ) увеличивается с каждым годом, при этом все больше исследователей выдвигают гипотезу, согласно которой метаболический синдром (МС) может быть важным этиологическим фактором развития некоторых видов рака [1–3]. В метааналитическом исследовании К. Esposito et al. (2012) было показано, что МС ассоциирован с некоторыми типами рака. Эти ассоциации были более выражены для женщин (рак эндометрия, постменопаузальный рак молочной железы, колоректальный рак) [4, 5]. Анализ взаимосвязи гинекологического рака и метаболического синдрома выявил значимую роль как самого МС, так и его компонентов в развитии рака у женщин. Т. Bjørge et al. (2010) проанализировали соотношение между МС и риском развития рака эндометрия в большом проспективном когортном исследовании и обнаружили, что увеличивал риск развития рака эндометрия и риск смерти от опухоли в целом как сам МС, так и отдельные его компоненты [6]. При метаболическом синдроме, преимущественно при абдоминальном фенотипе ожирения, вследствие повышения концентрации эстрогена и фракции биодоступного эстрадиола развивается относительная гиперэстрогения [7, 8]. Проведенные исследования показали, что отдельные компоненты МС, таких как избыточный вес/ожирение, были связаны почти с удвоением риска рака эндометрия [отношение шансов (ОР): 1,95; 95 % доверительный интервал (ДИ): 1,80–2,11]. Ожирение приводит к повышению уровня эстрогенов, вырабатываемых жировой тканью, что является одним из основных факторов риска развития РЭ. Другими факторами, которые повышают риск развития РЭ независимо от ожирения, являются сахарный диабет и гипертония, согласно рекомендациям Международной федерации диабета (IDF 2005). Ожирение не всегда является однозначным в его проявлениях и последствиях, оправдывая, в первую очередь, различие между его фенотипами и подчеркивая необходимость их сравнительного изучения у больных раком, включая пациенток с РЭ [9].

Ключевые слова: рак эндометрия, метаболический синдром, абдоминальное ожирение, компоненты МС, варианты МС.

THE RELATIONSHIP BETWEEN ENDOMETRIAL CANCER AND STRUCTURAL FEATURES OF METABOLIC SYNDROME

A.Yu. Kishkina, M.O. Ochirov

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

Abstract

The endometrial cancer (EC) incidence has been steadily increasing. More and more studies are hypothesizing that metabolic syndrome (MS) may be an important etiological factor in the development of certain types of cancer [13]. In a meta-analytical study, Esposito K. et al. (2012) reported that MS was associated with some types of cancer. These associations were more pronounced for women (endometrial cancer, postmenopausal breast cancer, colorectal cancer) [4, 5]. An analysis of the relationship between gynecological cancer and metabolic syndrome revealed a significant role between MS and its components in the development of cancer in women. Bjørge T. et al. (2010) analyzed the relationship between MS and the risk of endometrial cancer in a large prospective cohort study and found that MS both generally increased the risk of endometrial development and the risk of death from a tumor, as well as its individual components [6]. In patients with metabolic syndrome, mainly in patients with abdominal obesity phenotype, hyperestrogenemia developed as a result of an increase in the concentration of estrone and the fraction of bioavailable estradiol [7, 8]. Components of MS, such as overweight / obesity were found to be associated with two-fold increase in the risk of endometrial cancer [odds ratio (OR): 1.95; 95% confidence interval (CI): 1.80-2.11]. Obesity leads to an increase in the level of estrogen produced by adipose tissue, which is one of the main risk factors for EC. According to recommendations of the International Diabetes Federation (IDF 2005), other factors that increase the risk of developing ER regardless of obesity are diabetes mellitus and hypertension. Obesity is not always unequivocal in its manifestations and consequences, justifying the difference between its phenotypes and emphasizing the need for their comparative study in cancer patients, including patients with EC [9].

Key words: endometrial cancer, metabolic syndrome, abdominal obesity, components of MS, variants of MS.

Актуальность. На протяжении последних десятилетий заболеваемость раком эндометрия (РЭ) весьма заметно увеличивается (Sheikh M.A. et al., 2014), что нередко связывается с прогрессирующей эпидемией ожирения (Fader A.N. et al., 2009; Nevadunsky N.S. et al.,

2014). Ожирение приводит к повышению уровня эстрогенов, вырабатываемых жировой тканью, что является одним из основных факторов риска развития РЭ. Другими факторами, которые повышают риск развития РЭ независимо от ожирения, являются сахарный диабет и гипертония (IDF 2005). Ожирение не всегда является однозначным в его проявлениях и последствиях, оправдывая, в первую очередь, различие между его фенотипами и подчеркивая необходимость их сравнительного изучения у больных раком, включая пациенток с РЭ [9]. В метааналитическом исследовании К. Esposito et al. (2012) было показано, что МС ассоциирован с некоторыми типами рака. Эти ассоциации были более выражены для женщин (рак эндометрия, постменопаузальный рак молочной железы, колоректальный рак) [4, 5]. Согласно новому определению Международной федерации диабета (IDF 2005), основными критериями метаболического синдрома (МС) является центральное (абдоминальное) ожирение (окружность талии более 94 см для мужчин и более 80 см для женщин – у европеоидной расы) в сочетании как минимум с двумя из следующих 4 факторов:

- повышением триглицеридов более 1,7 ммоль/л или лечением дислипидемии;
- снижением липопротеидов высокой плотности (ЛПВП) – менее 1,03 ммоль/л у мужчин и менее 1,29 ммоль/л у женщин – или специфическим лечением;
- повышением артериального давления: систолического более 130 мм рт. ст. или диастолического более 85 мм рт. ст. или антигипертензивной терапией;
- повышением глюкозы венозной плазмы натощак более 5,6 ммоль/л или ранее выявленным сахарным диабетом II типа.

В соответствии с международными рекомендациями (IDF, 2005, ESH-ESH, 2007) клинически выделяют трех-, четырех- и пятикомпонентный МС. Различные компоненты МС выявлены у 91,3 % лиц с абдоминальным ожирением (АО). Доля больных с трехкомпонентным вариантом МС значительно выше, чем с четырьмя и пятью компонентами [10]. При этом самой распространенной трехкомпонентной формой МС было сочетание АО, АГ и снижения уровня ХС ЛПВП. Молекулярные механизмы прогрессирования РЭ изучены недостаточно. В этом аспекте особого внимания заслуживает изучение механизмов инвазивного роста, лимфогенного метастазирования и рецидивирования. Учитывая существенную распространенность МС в общей популяции, продолжающийся рост показателей заболеваемости РЭ как в Российской Федерации, так и в мире в целом, распространенность МС среди больных РЭ до 61,7 % [11] изучение отдельных аспектов патогенеза, сочетания рака эндометрия и МС, выявление новых патогенетических вариантов РЭ на фоне МС, изучение экспрессии ассоциированных с МС и ожирением транскрипционных факторов, а также ассоциаций молекулярных факторов с прогнозом течения РЭ представляются актуальными как с научной, так и с практической точек зрения.

Цель исследования – выявить клиничко-морфологические особенности рака эндометрия в зависимости от варианта метаболического синдрома.

Материал и методы. Всего в исследование включены 60 больных с морфологически верифицированным РЭ I–III (T1–3aN0–1M0) стадии на фоне МС, которым будет проведен стандартный объем обследования. Пациентам с РЭ проведено оперативное лечение в объеме тотальной гистерэктомии с билатеральной сальпингоовариоэктомией и тазовая лимфодиссекция с детекцией сторожевых лимфатических узлов (СЛУ), с гистологическим исследованием лимфоузлов. Стадия рака тела матки определялась в соответствии с международной классификацией FIGO (2009 г.) и TNM (UICC, 7-й пересмотр, 2010 г.). Для выявления МС были использованы критерии Международной федерации диабета (IDF 2005 г.). У 32 (53,3 %) больных раком эндометрия диагностирован МС.

Результаты. Согласно критериям Международной федерации диабета (IDF 2005 г.), из 60 больных раком эндометрия у 32 (53,3 %) выявлен метаболический синдром. При этом первая стадия РЭ наблюдается у 30 (93,7 %), из них IA стадия выявлена у 24 (75 %), IB стадия – у 6 (18,7 %) пациенток, вторая стадия – у 2 (6,3 %) пациенток и третья стадия не была диагностирована ни у одной пациентки. У больных с МС был проведен анализ морфологических особенностей РЭ. При оценке степени дифференцировки было отмечено, что высокая степень дифференцировки опухоли наблюдалась у 2 (6,2 %), средняя степень – у 23 (71,8%) и низкая степень дифференцировки – у 7 (21,8) пациенток. При оценке цервикальной инвазии было выявлено, что инвазия наблюдалась у 3 (9,37 %) больных. Также у больных РЭ был проведен анализ структурных особенностей МС. Было выявлено, что у 11 пациенток выявлен 3-компонентный МС, у 13 пациенток – 4-компонентный МС, у 9 пациенток – 5-компонентный МС. Средний возраст больных с 3-компонентным МС составил 63,1±2,40, с 4-компонентным МС – 62,9±3,11, с 5-компонентным МС – 56,0±2,80 года. При

оценке взаимосвязи РЭ со структурными особенностями МС выявлено, что IA стадия выявлена у 8 (72,7%) пациенток с 3-компонентным МС, IB стадия – у 2 (18,1 %) пациенток с 3-компонентным МС, II стадия – у 1 (9,09 %) пациентки с 3-компонентным МС. Больные с 4-компонентным МС распределились следующим образом, IA стадия выявлена у 9 (69,2 %), IB стадия – у 2 (15,3 %) пациенток, II стадия – у 2 (15,3 %) пациенток. Пятикомпонентный МС выявлен у 7 (77,7 %) больных IA стадии, у 2 (22,2 %) пациенток с IB стадией, II не наблюдалась у больных с МС5. При изучении взаимосвязи МС с морфологическими особенностями РЭ выявлено, что 3-компонентный МС был у 1 (9,09 %) пациентки с высокой степенью дифференцировки, у 8 (72,7 %) со средней степенью дифференцировки, у 2 (18,1 %) с низкой степенью дифференцировки. При выявлении взаимосвязи МС с морфологическими особенностями РЭ получено, что 4-компонентный МС не встречался у больных с высокой степенью дифференцировки, при этом наблюдался у 6 (46,1 %) больных со средней степенью дифференцировки и у 7 (47,1 %) больных с низкой степенью дифференцировки. Пятикомпонентный МС встречался у 9 (100 %) больных со средней степенью дифференцировки. Цервикальная инвазия была отмечена у 1 (9,09 %) пациентки с 3-компонентным МС, у 2 (15,3 %) с 4-компонентным МС и ни у одной пациентки с 5-компонентным МС.

При оценке частоты встречаемости основных компонентов у больных РЭ с МС выявлено, что абдоминальное ожирение встречалось у 32 (100 %) больных, повышение уровня глюкозы плазмы натощак – у 20 (62,5 %), снижение уровня ХС ЛПВП – у 29 (90,6 %), повышение уровня триглицеридов – у 15 (46,8 %), артериальная гипертензия – у 32 (100 %) пациенток.

Выводы. Удельный вес больных раком эндометрия, у которых выявлен метаболический синдром, составил 32 (53,3 %). При этом первая стадия РЭ наблюдается у 30 (93,7 %) больных. При оценке морфологических особенностей РЭ на фоне МС было выявлено, что средняя степень дифференцировки была у 23 (71,8 %) пациенток, цервикальная инвазия наблюдалась у 3 (9,37 %) больных. Проведен анализ структурных особенностей МС. Выявлено, что наиболее распространенным вариантом была 4-компонентная форма МС. Средний возраст больных с 4-компонентным МС составил $62,9 \pm 3,11$.

ЛИТЕРАТУРА

1. Capasso I., Esposito E., de Laurentiis M., Maurea N., Cavalcanti E., Botti G., Petrillo A., Montella M., D' Aiuto M., Coppola C., Crispo A., Grimaldi M., Frasci G., Fucito A., Ciliberto G., D' Aiuto G. Metabolic syndrome breast cancer link varies by intrinsic molecular subtype. *Diabetol Metab Syndr*. 2014; 6(1):105. doi: 10.1186/1758-5996-6-105.
2. Bhandari R., Kelley G.A., Hartley T.A., Rockett I.R. Metabolic syndrome is associated with increased breast cancer risk: A systematic review with meta-analysis. *Int J Breast Cancer*. 2014; 2014: 189384. doi: 10.1155/2014/189384.
3. Kirac Utku I., Okuturlar Y., Demir E., Harmankaya O., Acikarsari G., Uygun T., Kural A., Ozkan H., Mert M., Kumbasar A. Relationship between epicardial adipose tissue thickness and vitamin D in patients with metabolic syndrome. *Int J Clin Exp Med*. 2015 Apr 15; 8(4): 570714.
4. LeBlanc E.L., Painode C.D., Webber E.M., Redmond N., Rushkin M., O'Connor E.A. Metabolic syndrome and risk of cancer: a system review and meta-analysis. *Diabetes Care*. 2012; 35 (11): 2402–11. doi: 10.2337/dc12-0336.
5. Yunusova N.V., Kondakova I.V., Kolomiets L.A., Afanas'ev S.G., Kishkina A.Y., Spirina L.V. The role of metabolic syndrome variant in the malignant tumors progression. *Diabetes Metab Syndr*. 2018 Sep; 12(5): 807–812. doi: 10.1016/j.dsx.2018.04.028.
6. Björge T., Lukanova A., Jonsson H., Tretli S., Ulmer H., Manjer J., Stocks T., Selmer R., Nagel G., Almqvist M., Concini H., Hallmans G., Häggström C., Stattin P., Engeland A. Metabolic syndrome and breast cancer in the me-can (metabolic syndrome and cancer) project. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2010; 19(7): 1737–45. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-10-0230.
7. Furukawa S., Fujita T., Shimabukuro M., Iwaki M., Yamada Y., Nakajima Y., Nakayama O., Makishima M., Matsuda M., Shimomura I. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *J Clin Invest*. 2004 Dec; 114(12): 1752–61.
8. Бутрова С.А. Метаболический синдром: патогенез, клиника, диагностика, подходы к лечению. *РМЖ*. 2001; 9(2): 56–62.
9. Berstein L.M., Poroshina T.E., Turkevich E.A., Vasilyev D.A., Baltrukova A.N., Kovalenko I.M., Berlev I.V. Features of endometrial cancer in patients with 'metabolically healthy' versus 'standard' obesity: the decreasing frequency of metabolically healthy obesity. *Future Sci OA*. 2015 Nov 1; 1(4): FSO68. doi: 10.4155/fso.15.68.
10. Симонова Г.И., Мустафина С.В., Печенкина Е.А. Распространенность метаболического синдрома в Сибири: популяционные исследования в г. Новосибирске. *Бюллетень СО РАМН*. 2011; 5(31): 201.
11. Юнусова Н.В., Коломиец Л.А., Чернышова А.Л., Спирина Л.В. Патогенетические аспекты рака эндометрия на фоне метаболического синдрома. *Сибирский онкологический журнал*. 2015; Приложение 2.

ДЕНОСУМАБ В КОМБИНИРОВАННОМ ЛЕЧЕНИИ ГИГАНТОКЛЕТОЧНОЙ ОПУХОЛИ КОСТЕЙ

**О.И. Ковалев, А.В. Богоутдинова, С.А. Табакаев,
И.И. Анисеня, П.К. Ситников**

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

Аннотация

Современное лечение гигантоклеточной опухоли – сочетание таргетной терапии и хирургического вмешательства. Терапия деносумабом позволяет добиться регресса опухоли и уплотнения костной ткани, что дает возможность уменьшить объём резекции и улучшить результаты комбинированного лечения и, как следствие, качество жизни пациентов.

Ключевые слова: гигантоклеточная опухоль кости, деносумаб, органосохраняющее лечение, денситометрия, морфологическая регрессия.

DENOSUMAB IN THE COMBINED TREATMENT OF GIANT CELL BONE TUMORS

**O.I. Kovalev, A.V. Bogoutdinova, S.A. Tabakaev,
I.I. Anisenja, P.K. Sitnikov**

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

Abstract

Modern treatment of giant cell bone tumors is a combination of targeted therapy and surgery. Therapy with denosumab allows achievement of tumor regression and compacted bone tissue, thus reducing the extent of resection and improving the treatment outcomes and quality of patient's life.

Key words: giant cell tumor of bone, denosumab, organ preservation treatment, densitometry, morphologic regression.

Актуальность. Гигантоклеточная опухоль (ГКО) – локально агрессивная опухоль костной ткани с неопределенным потенциалом злокачественности, обладает метастатическим потенциалом (3 %), часто рецидивирует. Встречается в 15–20 % всех случаев доброкачественных опухолей костей с одинаковой частотой у лиц обоего пола, 80 % в возрасте 20–50 лет. Наиболее часто локализуется в длинных трубчатых костях, из них в 60–70 % в эпифизах и эпиметафизах костей коленного сустава [1].

ГКО часто манифестирует патологическим переломом и сопровождается болевым синдромом высокой интенсивности, нарушением функции сустава, что приводит к инвалидизации.

Лечение ГКО до эры таргетной терапии сводилось к хирургическому удалению опухоли, объем которого зависит от объёма поражения и локализации опухоли. Наиболее часто использовалась сегментарная резекции кости с эндопротезированием и внутриочаговая резекции с замещением дефекта. Частота рецидивов – от 6,6 % при сегментарной резекции до 30 % при экзостезии опухоли. Для противорецидивного действия использовали обработку пострезекционной полости жидким азотом, фенолом, электрокоагуляцией и т. д. Большие объемы резекции требуют большего срока реабилитации, приводят к инвалидизации, снижают качество жизни [2].

Современный взгляд на ГКО основан на открытии механизма остеокластогенеза в 1997 г., изучение которого привело к открытию патогенетически обоснованного метода лечения [3]. ГКО характеризуется пролиферацией мезенхимальных стромальных клеток предшественников кости, которые запускают и поддерживают остеокластогенез вместо дифференциации на остеобласты и остеоциты.

Стромальные клетки секретируют различные хемокины, включая белки-хемоаттрактанты моноцитов и SDF-1 фактор, которые привлекают моноциты из кровеносного русла и способствуют их миграции в опухолевую ткань. Эти моноциты в конечном счете превращаются в остеокластоподобные многоядерные гигантские клетки. Моноциты экспрессируют RANK и стромальные клетки ГКО экспрессируют RANKL, что, в свою очередь, является необходимым для дифференцировки зрелых остеокластов и их активации в присутствии ко-фактора макрофагального колониестимулирующего фактора M-CSF. Остеокластоподобные многоядерные гигантские клетки резорбируют кость, приводя к остеолузу. Деносумаб представляет собой полностью человеческое моноклональное антитело (IgG2), обладающее

высокой аффинностью и специфичностью к лиганду рецептора активатора ядерного фактора каппа В (RANKL), тем самым препятствуя активации единственного рецептора RANKL – активатора ядерного фактора кВ (RANK), расположенного на поверхности остеокластов и их предшественников. Таким образом, предотвращение взаимодействия RANKL/RANK ингибирует образование, активацию и продолжительность существования остеокластов. В результате деносуаб уменьшает костную резорбцию и увеличивает массу и прочность кортикального и трабекулярного слоев кости, что позволяет добиться уменьшения объема резекции и максимально сохранить анатомические границы и функцию кости [4, 5].

Цель исследования – изучить возможности органосохраняющего лечения у больных ГКО костей на фоне таргетной терапии деносуабом.

Материал и методы. Проанализировано 24 случая комбинированного лечения ГКО – пациенты от 27 до 58 лет, из них 13 мужчин, 11 женщин, – всем им первым этапом проводилась таргетная терапия деносуабом в течение 3–12 мес с последующим хирургическим этапом. Оценивалось клиническое течение, статус Карновского. Рентгенологическое изменение плотности и структуры кости до лечения, через 3, 6, 9, 12 мес лечения. Морфологическое исследование биоптата проводилось до начала лечения, после хирургического вмешательства изучался операционный материал.

Результаты. Во всех случаях отмечался противоопухолевый и ремоделирующий эффект. Клинически после 3 мес таргетной терапии у всех (100 %) отмечалось уменьшение болевого синдрома, частичное восстановление опорной функции, по шкале Карновского 90–100 % у 20 (83 %) пациентов, 80–70 % – у 4 (17 %). При визуальной оценке рентгенологической картины определялось усиление неоднородности опухоли за счет появления участков повышенной плотности, нарастание зоны остеосклероза вокруг опухоли. Отмечалось уменьшение мягкотканного компонента опухоли, появление ободка склероза.

При КТ-денситометрии вокруг очага деструкции регистрировалось увеличение плотности костной ткани на 12,5 %, после 6 мес плотность увеличивалась в среднем до 44 %, с дальнейшим увеличением плотности через 9 и 12 мес продолжающегося лечения, что позволило снизить объем резекции кости во всех случаях. Во время хирургического вмешательства отмечалось снижение кровоточивости, восстановление костной структуры внутри опухолевого очага.

Морфологически у 12 (50 %) пациентов отмечалась полная редукция опухолевых клеток, у 12 (50 %) частичная. У 2 пациентов после внутриочаговой резекции опухоли в течение 6 мес выявлен рецидив, требующий расширенного хирургического лечения.

Выводы. Деносуаб является патогенетически обоснованным методом консервативного лечения ГКО кости. Таргетная терапия деносуабом позволяет сократить объем резекции, улучшить условия для замещения дефекта, улучшить качество жизни пациентов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Шайн А.А. Глава 17. Костные саркомы. Онкология. Учебник для медицинских вузов. 2004; 442–475.
2. Блудов А.Б., Неред А.С., Замогильная Я.А., Кочергина Н.В. Гигантоклеточная опухоль кости. Саркомы костей, мягких тканей и опухоли кожи. 2014; 1: 16–34.
3. Герштейн Е.С., Тимофеев Ю.С., Зуев А.А., Кушлинский Н.Е. Лиганд-рецепторная система RANK/RANKL/OPG и ее роль при первичных новообразованиях костей (анализ литературы и собственные результаты). Успехи молекулярной онкологии. 2015; 2: 51–59.
4. Махсон А.Н., Шупак М.Ю., Бондарев А.В. Деносуаб. Опыт применения в качестве консервативной терапии Гигантоклеточной опухоли кости. Саркомы костей, мягких тканей и опухоли кожи. 2014; 24–28.
5. Huh A., Vilelli N., Martinez D., Ting J., Birhiray R., Payner T.D., Kulwin C.G. Denosumab Treatment for a Residual Giant Cell Tumor of the Clivus: A Case Report and Review of the Literature. World Neurosurg. 2018 Oct; 118: 98101. doi: 10.1016/j.wneu.2018.06.242.

АКТИН-СВЯЗЫВАЮЩИЕ БЕЛКИ И ЭКСПРЕССИЯ ИХ МРНК ПРИ МЕТАСТАЗИРОВАНИИ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ЛЕГКОГО

Е.С. Колегова¹, Д.Н. Костромицкий²

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия¹
Областное государственное автономное учреждение здравоохранения «Томский областной онкологический диспансер», г. Томск, Россия²

Аннотация

Немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ) является одной из часто встречающихся злокачественных опухолей и наиболее распространённой причиной смертности от онкологической патологии. Метастазирование НМРЛ не изучено в достаточной мере на молекулярном уровне. Актин-связывающие белки (АСБ) регулируют работу клеточного цитоскелета и, таким образом, участвуют в метастазировании злокачественных опухолей. Показано, что АСБ играют важную роль в развитии злокачественных опухолей. Однако вовлечённость АСБ в прогрессию НМРЛ недостаточно изучена на молекулярном уровне. Поэтому **Целью работы** явилось изучение экспрессии мРНК АСБ (аденилат-циклаза ассоциированного протеина 1, кофилина, профилина, фасцина и эзрина) в опухолевой ткани НМРЛ в связи с лимфогенным и гематогенным метастазированием. **Материал и методы.** Материалом для исследования явилась опухолевая и неизменная ткань легкого больных НМРЛ (n=46). Анализ экспрессии мРНК АСБ проводился методом ПЦР в реальном времени. Уровень АСБ оценивался с помощью метода Вестерн-блоттинг. **Результаты.** Выявлены различия уровня экспрессии мРНК изучаемых АСБ в ткани первичной опухоли по сравнению с неизменной тканью легкого. Анализ экспрессии мРНК аденилат-циклаза ассоциированного протеина 1, кофилина, профилина, фасцина и эзрина показал, что уровень экспрессии их мРНК изменяется при лимфогенном метастазировании. Продемонстрирована значимая связь экспрессии мРНК изучаемых АСБ в опухолевой ткани больных НМРЛ с 2-летней безметастатической выживаемостью. **Выводы.** Показана связь изменения экспрессии мРНК аденилат-циклаза ассоциированного протеина 1, кофилина, профилина, фасцина и эзрина с метастазированием НМРЛ.

Ключевые слова: немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ), актин-связывающие белки (АСБ), метастазирование.

ACTIN-BINDING PROTEINS AND THEIR MRNA EXPRESSION IN THE METASTASIS OF NON-SMALL CELL LUNG CANCER

E.S. Kolegova¹, D.N. Kostromitsky²

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center,
Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia¹
Tomsk Regional Oncology Center, Tomsk, Russia²

Abstract

Non-small cell lung cancer (NSCLC) is one of the most common malignancies and the most common cause of cancer-related death. Metastasis of NSCLC has not been adequately studied at the molecular level. Actin-binding proteins (ABPs) regulate the cellular cytoskeleton and, thus, participate in the metastasis of malignant tumors. It is known, that ABPs play an important role in the development of malignant tumors. However, the involvement of ABPs in the progression of NSCLC has been little studied. The purpose of the study was to analyze the expression of ABPs mRNA (adenylate cyclase associated protein 1, cofilin, profilin, fascin and ezrin) in the NSCLC tumor tissue with regard to lymphogenous and hematogenous metastasis. **Material and Methods.** The material for the study was normal adjacent and tumor tissue of the lung of patients with NSCLC (N = 46). Analysis of the ABPs mRNA expression was performed by real-time PCR. The level of ASB was assessed using the Western blot method. **Results.** The expression level of the studied ABPs mRNA in the primary tumor tissue was higher compared to that in the normal adjacent lung tissue. Analysis of mRNA expression of adenylyl cyclase-associated protein 1, cofilin, profilin, fascin and ezrin showed that the expression level of their mRNAs changed in patients with lymphogenous metastasis. A significant relationship between the mRNA expression of the studied ABPs in the tumor tissue of patients with NSCLC and 2-year metastatic-free survival was shown. **Conclusions.** The relationship between the mRNA expression levels of adenylyl cyclase-associated protein 1, cofilin, profilin, fascin and ezrin and metastasis of NSCLC was revealed.

Key words: non-small cell lung cancer (NSCLC), actin-binding proteins (ABPs), metastasis.

Актуальность. Немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ) относится к чрезвычайно агрессивным и активно метастазирующим злокачественным опухолям. Общая пятилетняя выживаемость пациентов не превышает 55 % [1]. Высокая агрессивность НМРЛ связана в том числе и с его быстрым метастазированием. Значимым процессом, определяющим метастатический потенциал опухолевых клеток, является способность к активному перемещению в экстраклеточном матриксе, где важную роль играет реорганизация актинового цитоскелета

[2]. В этой связи наиболее актуальным является изучение актин-связывающих белков (АСБ). АСБ группируют в соответствии с функциями, которые они выполняют в отношении актина. Выделяют группу актин-деполимеризующих белков, представителями которой являются CAP1 и кофилин [3]. Эти белки могут работать как самостоятельно, так и в паре [4]. К группе мономер-связывающих белков относится профилин, который обеспечивает рециркуляцию G-актина при ремоделировании цитоскелета [5]. Фасцин – представитель группы поперечно-связывающих белков, которые облегчают формирование пучков и ветвление нитей актина [6]. Эзрин относится к белкам, обеспечивающим прикрепление актина к клеточной мембране [5]. Показано, что АСБ играют важную роль в развитии злокачественных опухолей [3, 4, 7] и предлагаются к использованию как маркеры возникновения и течения рака [8–10].

Цель исследования – изучить изменение экспрессии мРНК АСБ (аденилат-циклаза ассоциированного протеина 1 (CAP1), кофилина (CFL), профилина (PFL), фасцина (FSCN) и эзрина (EZR)) в опухолевой ткани НМРЛ в связи с лимфогенным и гематогенным метастазированием.

Материал и методы. В исследование было включено 46 пациентов с морфологически верифицированным диагнозом НМРЛ. Из них мужчин – 33 (72 %), женщин – 13 (28 %), средний возраст пациентов составил 57,5 лет. Стадия опухолевого процесса T2–3N0–2M0. Материалом для исследования явилась опухолевая и неизменная ткань легкого. Анализ экспрессии мРНК АСБ проводился методом ПЦР в реальном времени. Нормализация экспрессии проводилась на условно неизменную ткань и референсный ген «домашнего хозяйства» фермента GAPDH. Уровень АСБ оценивался с помощью метода Вестерн-блоттинг с применением первичных антител мыши в разведении 1:1500 и вторичных анти-мышинных антител в разведении 1:2000. Статистическая обработка результатов проводилась с применением пакета программ IBM SPSS Statistics 20.

Результаты. На первом этапе изучили экспрессию мРНК АСБ в ткани НМРЛ по отношению к неизменной ткани. Обнаружили, что экспрессия мРНК CAP1, кофилина, профилина, фасцина и эзрина была значимо выше по сравнению с неизменными тканями легкого ($p < 0,05$). Сильнее всего изменялась экспрессия мРНК фасцина: у 80 % пациентов наблюдалось его повышение по сравнению с нормальной тканью легкого. мРНК остальных белков были повышены примерно у 60–61 % пациентов.

Далее пациенты с НМРЛ были разделены на три группы в зависимости от вовлеченности в опухолевый процесс региональных лимфоузлов (N). Показано, что уровень мРНК CAP1 стабильно повышается в ткани первичной опухоли больных НМРЛ при поражении регионарных лимфоузлов с уровня T2–3N0M0 до T2–3N2M0. Экспрессия же мРНК кофилина, профилина и эзрина изменялась нелинейно: сначала возрастала на начальных этапах метастазирования (T2–3N1M0), а затем значимо снижалась при T2–3N2M0 (таблица).

Таблица

Экспрессия мРНК аденилат-циклаза ассоциированного протеина 1 (CAP1), кофилина (CFL), профилина (PFL), фасцина (FSCN) и эзрина (EZR) в ткани первичной опухоли в зависимости от N

Показатель	T2–3N0M0	T2–3N1M0	T2–3N2M0	P
	n=9	n=22	n=9	
CAP1	1,7 (1,4; 2,0)	3,4 (2,7; 3,9)	1,6 (0,7; 1,9)	$p_{12}=0,021$; $p_{13}=0,842$; $p_{23}=0,014$
CFL	2,0 (1,0; 2,1)	5,4 (4,3; 6,0)	0,4 (0,1; 0,6)	$p_{12}=0,050$; $p_{13}=0,055$; $p_{23}<0,001$
PFN	3,56 (0,01; 4,80)	6,50 (5,60; 9,90)	1,50 (0,90; 4,80)	$p_{12}=0,025$; $p_{13}=0,322$; $p_{23}=0,016$
FSCN	1,60 (1,00; 2,67)	3,60 (2,08; 5,60)	3,00 (1,80; 4,90)	$p_{12}=0,053$; $p_{13}=0,045$; $p_{23}=0,342$
EZR	1,02 (0,00; 4,67)	4,90 (4,08; 5,60)	1,70 (0,80; 2,90)	$p_{12}=0,045$; $p_{13}=0,154$; $p_{23}=0,034$

Корреляционным анализом показана коэкспрессия генов АСБ ($R_{CAP1-CFL}=0,750$, $R_{CFL-PFL}=0,672$, $R_{CFL-EZR}=0,555$, $R_{PFL-EZR}=0,650$, $p < 0,05$). Полученные закономерности в изменении экспрессии мРНК АСБ были подтверждены изучением содержания этих белков методом Вестерн-блоттинг. Изучена двухлетняя безметастатическая выживаемость 40 па-

циентов. У 10 человек (25 %) развились гематогенные метастазы в течение двух лет после операции. Среди изучаемых белков была показана значимая связь уровня мРНК изучаемых АСБ в опухолевой ткани с 2-летней безметастатической выживаемостью. Методом χ^2 показано, что увеличение экспрессии мРНК CAP1, кофилина, эзрина и фасцина в 2–3 раза, а профилина в 6,6 раза выше по сравнению с нормальной тканью является неблагоприятным прогностическим фактором риска развития гематогенных метастазов ($p < 0,05$).

Выводы. Показана связь изменения экспрессии мРНК АСБ (аденилат-циклаза ассоциированного протеина 1, кофилина, профилина и эзрина) с лимфогенным и гематогенным метастазированием у больных НМРЛ. Полученные данные свидетельствуют о вовлеченности изучаемых АСБ в процессы опухолевой прогрессии при НМРЛ.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ и администрации Томской области в рамках научного проекта № 18-415-703003 p_мол_а).

ЛИТЕРАТУРА

1. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2016 году. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России. 2018; 250.
2. Александрова А.Ю. Пластичность миграции опухолевых клеток: приобретение новых свойств или возврат к «хорошо забытым» старым? Биохимия. 2014; 79(9): 1169–1187.
3. Какурина Г.В., Коледова Е.С., Кондакова И.В. Аденилатциклаза-ассоциированный протеин 1: структура, регуляция и участие в клеточных процессах. Биохимия. 2018; 83(1): 127–136.
4. Zhang H., Ghai P., Wu H., Wang C., Field J., Zhou G.L. Mammalian adenylyl cyclase-associated protein 1 (CAP1) regulates cofilin function, the actin cytoskeleton, and cell adhesion. The J. of Biol. Chemistry. 2013; 288(29): 20966–20977.
5. Бочкарева Н.В., Кондакова И.В., Коломиец Л.А. Роль актинсвязывающих белков в клеточном движении в норме и при опухолевом росте. Молекулярная медицина. 2011; 6: 14–18.
6. Papaspyrou K., Brochhausen C., Schmidtman I., Fruth K., Gouveris H., Kirckpatrick J., Mann W., Brieger J. Fascin upregulation in primary head and neck squamous cell carcinoma is associated with lymphatic metastasis. Oncol Lett. 2014 Jun; 7(6): 2041–2046.
7. Cheng Y.J., Zhu Z.X., Zhou J.S., Hu Z.Q., Zhang J.P., Cai Q.P., Wang L.H. Silencing profilin-1 inhibits gastric cancer progression via integrin $\beta 1$ /focal adhesion kinase pathway modulation. World J Gastroenterol. 2015 Feb 28; 21(8): 2323–35. doi: 10.3748/wjg.v21.i8.2323.
8. Какурина Г.В., Кондакова И.В., Чойнзонов Е.Л. Постгеномные технологии в прогнозе метастазирования плоскоклеточных карцином головы и шеи. Российский биотерапевтический журнал. 2011; 10(3): 31–36.
9. Saito S., Yamamoto H., Mukaisho K., Sato S., Higo T., Hattori T., Yamamoto G., Sugihara H. Mechanisms underlying cancer progression caused by ezrin overexpression in tongue squamous cell carcinoma. PLoS One. 2013; 8(1): e54881. doi: 10.1371/journal.pone.0054881.
10. Wang C.Q., Tang C.H., Chang H.T., Li X.N., Zhao Y.M., Su C.M., Hu G.N., Zhang T., Sun X.X., Zeng Y., Du Z., Wang Y., Huang B.F. Fascin-1 as a novel diagnostic marker of triple-negative breast cancer. Cancer Med. 2016 Aug; 5(8): 1983–8. doi: 10.1002/cam4.746.

«ТЕМНАЯ МАТЕРИЯ» ГЕНА TP53 ПРИ ДИФФУЗНОЙ В-КРУПНОКЛЕТОЧНОЙ ЛИМФОМЕ

М.А. Колесникова¹, А.А. Иванова², Е.Н. Воропаева²

Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России,
г. Новосибирск, Россия¹

НИИ терапии и профилактической медицины – филиал ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск, Россия²

Аннотация

В настоящее время углубленный анализ результатов секвенирования последовательности TP53 отсутствует. Количество и функциональные эффекты выявляемых синонимичных и интронных мутаций гена недооценены. **Цель исследования** – оценка частоты и спектра интронных и синонимичных мутаций в антионкогене TP53 в опухолевой ткани диффузной В-крупноклеточной лимфомы и прогнозирование возможных последствий этих изменений. Выполнен биоинформационный анализ интронных и синонимичных мутаций, выявленных в ходе прямого капиллярного секвенирования по Сенгеру 5–10 экзонов гена TP53 в 74 образцах опухолевой ткани лимфомы. Теоретическое прогнозирование возможных последствий обнаруженных интронных и синонимичных мутаций проводилось с применением программ NetGene2 и TP53 Mut assessor software. Интронные мутации составили более трети находок (36,4 %), 18 % мутаций носили синонимичный характер. Из 9 типов интронных однонуклеотидных замен – две (g.7674326C>G и g.7675010C>A) приводили к нарушению сплайсинга. Согласно прогнозу, TP53 Mutant assessor синонимичная мутация p.A307A затрагивает сайт сплайсинга. Таким образом, полученные данные свидетельствуют о необходимости анализа всех выявленных в ходе секвенирования изменений, в том числе интронов и синонимичных мутаций.

Ключевые слова: сайты сплайсинга, синонимичные мутации, секвенирование, биоинформационный анализ, лимфома.

«DARK MATTER» OF TP53 GENE IN DIFFUSE LARGE B-CELL LYMPHOMA

M.A. Kolesnikova¹, A.A. Ivanova², E.N. Voropaeva²

Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia¹

Research Institute of Internal and Preventive Medicine Branch of the Federal State Budget Scientific Institution «The Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics of Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences», Novosibirsk, Russia²

Abstract

There is currently no in-depth analysis of the results of the TP53 sequence. The number and functional effects of the detected synonymous and intron mutations are underestimated. The purpose of this study was to assess the frequency and spectrum of intron and synonymic mutations in the TP53 gene in tumor tissue of diffuse large B-cell lymphoma and to predict the effects of these changes. Bioinformatics analysis of intron and synonymic mutations identified during direct capillary sequencing of 510 exons of the TP53 gene by Sanger in 74 tumor samples was performed. Theoretical prediction of the detected intron and synonymous mutations effects was conducted with NetGene2 and TP53 Mut assessor software. Intron mutations comprised more than a third of the aberrations (36.4 %), 18 % of mutations were synonymous. Of the 9 types of intron single nucleotide substitutions, two (g.7674326C> G and g.7675010C> A) resulted in a violation of splicing. According to the TP53 prediction the synonymous mutation p. A307A affects the splicing site. Thus, the data obtained indicate the need to analyze all changes identified during sequencing, including introns and synonymous mutations.

Key words: splicing sites, synonymous mutations, sequencing, bioinformatics analysis, lymphoma.

Актуальность. До последнего времени большинство исследователей пренебрегали абберациями, выявляемыми в участках генома, которые не кодируют аминокислотную последовательность белков [1]. В значительной степени благодаря внедрению высокопроизводительных методов секвенирования нового поколения было показано, что генетические изменения в злокачественных новообразованиях намного сложнее, чем предполагалось ранее. Абберации в регуляторных элементах, нетранслируемых областях и интронах генов, а также некодирующих РНК, синонимичные мутации получили название «темной материи» генома опухоли [2]. Несмотря на то, что до конца не понятны эффекты многих из этих изменений, появляющиеся в последние годы данные дают достаточные доказательства их важности в отношении развития опухолей.

Цель исследования – оценить частоту и спектр интронных и синонимичных мутаций в антионкогене TP53 в опухолевой ткани диффузной В-крупноклеточной лимфомы (ДВККЛ) и провести прогнозирование возможных последствий этих изменений.

Материал и методы. Выполнен биоинформационный анализ интронных и синонимичных мутаций, выявленных в ходе прямого капиллярного секвенирования по Сенгеру 5–10 экзонов гена TP53 в 74 образцах ДВККЛ [3]. Теоретическое прогнозирование возможных последствий обнаруженных интронных и синонимичных мутаций проводилось с применением программ NetGene2 и TP53 Mut assessor software [4, 5]. Дополнительно выполнялся поиск выявленных мутаций в специализированных базах данных: IARC TP53 mutation Database, The UMD TP53 mutation database, Human Gene Mutation Database, dbSNP и Human Gene Mutation Database.

Результаты. В опухолевом материале 74 больных ДВККЛ в гене TP53 выявлены 33 мутации: 21 – в кодирующей области и 12 – в интронных участках. Таким образом, интронные мутации составили более трети находок (36,4 %). Среди мутаций в кодирующей области гена 6 (18 %) носили синонимичный характер.

Интронные мутации были представлены 9 типами однонуклеотидных замен, большая часть которых отсутствовала в базах данных: g.7675266A>G, g.7675010C>A, g.7674988A>G, g.7674153C>G, g.7673691G>T, g.7673681T>C и g.7673664T>C. Исключение составили g.7674326C>G (rs17880604 в dbSNP) и g.7673523A>G (rs1800899 в dbSNP).

Единственная выявленная нами в обследованной выборке пациентов с ДВККЛ интронная мутация, имеющая доказанную биологическую значимость по данным литературы, – это

g.7674326C>G. Замена расположена в 6 интроне гена TP53. Согласно данным The Human Cancer Mutation Database, она относится к изменениям, влияющим на сплайсинг.

В эксперименте *in vitro* показано, что в отсутствие изменений в кодирующей последовательности гена мутация g.7674326C>G приводит к выживанию клеток в условиях химиотерапии и длительно ингибирует апоптоз [6]. Согласно данным литературы, мутация связана с семейными формами рака молочной железы, риском возникновения рака простаты и предрасположенностью к раку щитовидной железы у детей [6, 7].

Для прогнозирования возможных последствий остальных интронных замен, выявленных в группе обследования, потребовалось привлечение биоинформационного анализа. Примененная в данном исследовании программа NetGene2 методом нейронных сетей осуществляет поиск переходных областей между интронами и экзонами для предсказания местоположения сайтов сплайсинга в пре-мРНК человека [4].

Согласно прогнозу NetGene2, из выявленных нами в группе больных ДВККЛ интронных замен мутация g.7675010C>A приводит к образованию дополнительного акцепторного сайта сплайсинга, который отсутствует в норме, что может приводить к включению в последовательность м-РНК части интрона 5. Транскрипция и трансляция в норме и при мутации g.7675010C>A в гене TP53 схематически показаны на рис. 1.

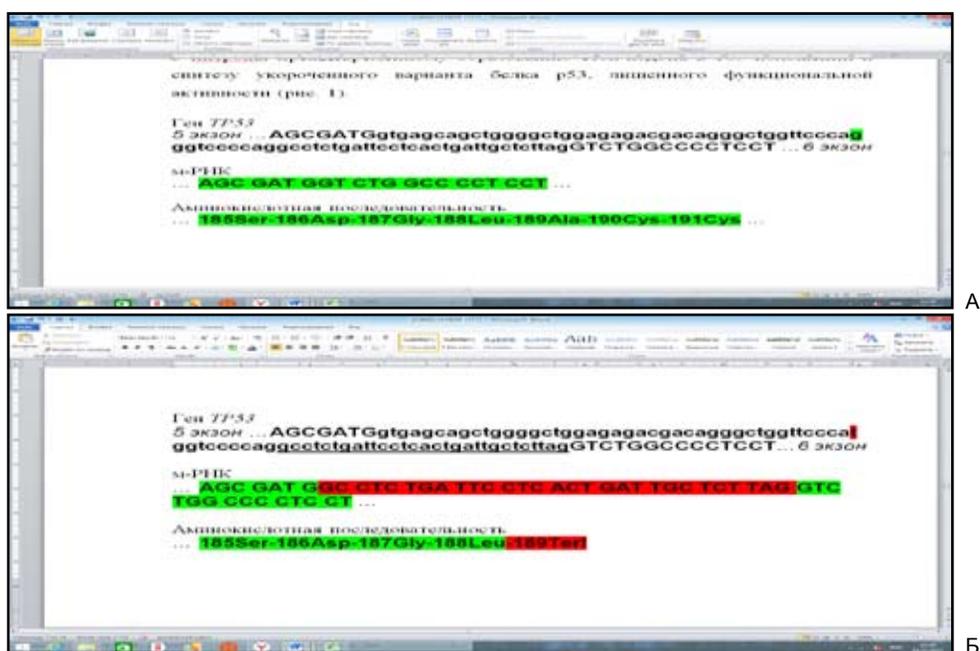


Рис. 1. Транскрипция и трансляция в норме (А) и при мутации g.7675010C>A в гене TP53 (Б). В последовательности гена заглавные буквы – кодирующие участки, строчные – интрон 5, подчеркиванием отмечена часть интрона 5, включаемая в м-РНК

Эффект большинства синонимичных мутаций, выявленных в исследуемой выборке, оценить сложно. Однако несмотря на то, что при сеймсенс-мутациях вновь образующийся кодон продолжает кодировать ту же аминокислоту, что обусловлено вырожденностью генетического кода, считается, что мутации данного типа могут менять сплайсинг, транскрипцию и стабильность РНК [8]. Важно отметить, что сеймсенс-мутации подвержены отбору при различных новообразованиях [9]. По некоторым оценкам, синонимичные мутации составляют 20 % всех точечных мутаций при раках, из которых 15 % вызывают дефекты сплайсинга, а 6–8 % могут действовать как «мутации-водители» [2].

Согласно прогнозу TP53 Mutant assessor, из синонимичных мутаций наибольшего внимания заслуживает замена p.A307A. Кодон 307 близок к концу экзона и находится в сайте сплайсинга [5].

Выводы. Таким образом, полученные нами данные свидетельствуют о необходимости анализа всех выявленных в ходе секвенирования изменений, поскольку на этапах опухолевой прогрессии ДВККЛ может происходить функциональная селекция мутаций не только в 5–8 экзонах, кодирующих ДНК-связывающий домен белка p53, но и интронах гена, а также синонимичных замен.

ЛИТЕРАТУРА

1. Weinhold N., Jacobsen A., Schultz N., Sander C., Lee W. Genome-wide analysis of noncoding regulatory mutations in cancer. *Nat Genet.* 2014 Nov; 46(11): 1160–5. doi: 10.1038/ng.3101.
2. Diederichs S., Bartsch L., Berkmann J.C., Fröse K., Heitmann J., Hoppe C., Iggena D., Jazmati D., Karschnia P., Linsenmeier M., Maulhardt T., Möhrmann L., Morstein J., Paffenholz S.V., Röpenack P., Rückert T., Sandig L., Schell M., Steinmann A., Voss G., Wasmuth J., Weinberger M.E., Wüllenkord R. The dark matter of the cancer genome: aberrations in regulatory elements, untranslated regions, splice sites, non-coding RNA and synonymous mutations. *EMBO Mol Med.* 2016; 8(5): 442–57.
3. Voropaeva E.N., Pospelova T.I., Voevoda M.I., Maksimov V.N. Frequency, spectrum, and functional significance of TP53 mutations in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Mol Biol (Mosk).* 2017 Jan-Feb; 51(1): 64–72. doi: 10.7868/S0026898416060227.
4. Brunak S., Engelbrecht J., Knudsen S. Prediction of human mRNA donor and acceptor sites from the DNA sequence. *J Mol Biol.* 1991 Jul 5; 220(1): 49–65.
5. Mohamadkhani A., Naderi E., Sharafkhan M., Fazli H.R., Moradzadeh M., Pourshams A. Detection of TP53 R249 Mutation in Iranian Patients with Pancreatic Cancer. *J. Oncol.* 2013; 738915.
6. Lehman T.A., Haffty B.G., Carbone C.J., Bishop L.R., Gumbs A.A., Krishnan S. Elevated frequency and functional activity of a specific germ-line p53 intron mutation in familial breast cancer. *Cancer Research.* 2000; 60(4): 1062–1069.
7. Hillebrandt S., Streffer C., Demidchik E.P., Biko J., Reiners C. Polymorphisms in the p53 gene in thyroid tumors and blood samples of children from areas in Belarus. *Mutat. Res.* 1997; 381(2): 201–207.
8. Edlund K., Larsson O., Ameur A., Bunikis I., Gyllensten U., Leroy B., Sundström M., Micke P., Botling J., Soussi T. Data-driven unbiased curation of the TP53 tumor suppressor gene mutation database and validation by ultradeep sequencing of human tumors. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2012; 109(24): 9551–6.
9. Hunt R.C. Exposing synonymous mutations. *Trends Genet.* 2014; 30: 308–321.

РОЛЬ РЕЦЕПТОРА СОСУДИСТО-ЭНДОТЕЛИАЛЬНОГО ФАКТОРА РОСТА II ТИПА (VEGFR2) В ПРОГРЕССИРОВАНИИ ЭСТРОГЕН-ЗАВИСИМОГО РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

М.С. Косовец³, Т.А. Дронова^{1,2}

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия¹
 Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск, Россия²
 ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России, Россия, г. Томск, Россия³

Аннотация

Внутриклеточные сигнальные каскады факторов роста могут быть вовлечены в механизмы резистентности к гормональной терапии посредством взаимодействия с эстрогеновыми рецепторами. **Целью исследования** явилось изучение связи функционально значимых полиморфных вариантов гена рецептора сосудистого эндотелиального фактора роста II типа, а также белковой и генной экспрессии VEGFR-2 с эффективностью адъювантной терапии тамоксифеном у больных эстроген-зависимым раком молочной железы. Полученные в результате исследования данные позволяют рассматривать позитивный уровень белковой экспрессии VEGFR-2 и носительство функционально полноценных генотипов KDR-604TT (rs2071559) и KDR1192GG (rs2305948) в опухоли в качестве маркеров с потенциальной прогностической значимостью в отношении ответа на тамоксифен.

Ключевые слова: эстроген-зависимый рак молочной железы, тамоксифен, рецептор сосудистого эндотелиального фактора роста II типа (VEGFR-2), однонуклеотидные полиморфизмы.

THE ROLE OF THE RECEPTOR VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR TYPE II (VEGFR2) IN THE PROGRESSION OF ESTROGEN-DEPENDENT BREAST CANCER

М.С. Kosovets³, Т.А. Dronova^{1,2}

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia¹
 Tomsk State University, Russia, Tomsk²
 Siberian State Medical University, Russia, Tomsk³

Abstract

Growth factor intracellular signaling pathways may be involved in mechanisms of hormone resistance by the interaction with estrogen receptors. The **Aim** of this study was to investigate the relationship between

the functionally significant polymorphic variants of the vascular endothelial growth factor II receptor gene, as well as protein and gene expression of VEGFR-2 and the adjuvant tamoxifen efficacy in estrogen-dependent breast cancer patients. The present results suggest that the positive level of VEGFR2 protein expression and the wild genotypes KDR-604TT (rs2071559) and KDR1192GG (rs2305948) in the tumor may consider as markers with potential prognostic significance in relation to tamoxifen response.

Key words: estrogen-dependent breast cancer, tamoxifen, vascular endothelial growth factor receptor 2 (VEGFR-2), single nucleotide polymorphisms.

Введение. В настоящее время известно, что наличие рецепторов сосудистого эндотелиального фактора роста на клетках рака молочной железы является важной биологической характеристикой опухолевого роста и имеет прогностическое значение. Участие белков этого семейства в развитии и поддержании гормональной резистентности обусловлено взаимодействием VEGF-опосредованного сигнального каскада с эстрогеновыми рецепторами [1–3]. Показано, что наличие рецепторов сосудистого эндотелиального фактора роста II типа (VEGFR-2) на опухолевых клетках может как способствовать выживанию и метастазированию опухоли, так и приводить к противоположным эффектам [4]. Однако до сих пор комплексная оценка VEGFR-2 во взаимосвязи с эффективностью терапии тамоксифеном у больных раком молочной железы (РМЖ) проведена не была.

Целью исследования явилось изучение связи функционально значимых полиморфных вариантов гена рецептора сосудистого эндотелиального фактора роста II типа, а также белковой и генной экспрессии VEGFR-2 с эффективностью адъювантной терапии тамоксифеном у больных эстроген-зависимым раком молочной железы

Материал и методы. В исследование были включены 122 пациентки с впервые выявленным эстроген-зависимым раком молочной железы. Все больные проходили комбинированное лечение в отделении общей онкологии НИИ онкологии Томского НИМЦ с 2002 по 2014 г. Диагноз эстроген-зависимого рака молочной железы был подтвержден морфологически и иммуногистохимически. Согласно отдаленным результатам лечения, 27 пациенток имели прогрессирование заболевания на фоне приема тамоксифена (тамоксифен-резистентная группа), 95 больных составили группу без признаков прогрессирования (тамоксифен-чувствительная группа). В качестве исследуемого материала использовались образцы опухолевой ткани, забор которых проводился после выполнения радикальной мастэктомии или органосохраняющей операции. Уровень экспрессии мРНК гена KDR, а также однонуклеотидные полиморфизмы гена KDR (rs2071559) и (rs2305948) были изучены с помощью ПЦР в режиме реального времени. Уровень белковой экспрессии VEGFR-2 оценивался иммуногистохимическим методом, при этом был использован стрептавидин-биотиновый способ. Анализ общей выживаемости больных РМЖ проводился с помощью кривых Каплана – Майера. Статистическую обработку данных осуществляли с помощью пакета программ «STANISTICA 6.0».

Результаты. Результаты генотипирования исследуемых полиморфных вариантов гена KDR в локусах -604T>C (rs2071559) и 1192G>A (rs2305948) в зависимости от эффективности терапии тамоксифеном не выявили статистически значимых различий как в тамоксифен-резистентной, так и в тамоксифен-чувствительной группе. При изучении уровня экспрессии белковых продуктов VEGFR-2 показано, что риск развития прогрессирования заболевания значительно выше у больных с позитивной экспрессией VEGFR-2 ($p = 0,042$). Анализ уровня экспрессии мРНК гена KDR не выявил статистически значимых различий в исследуемых группах больных. Однако, согласно полученным данным, высокие показатели генной экспрессии рецептора сосудистого эндотелиального фактора роста II типа наблюдались в тамоксифен-чувствительной группе ($3,41 \pm 1,81$) по сравнению с тамоксифен-резистентной группой ($0,031 \pm 0,03$). В результате исследования выявлено, что показатели общей выживаемости были значимо ниже у пациенток с KDR-604TT (rs2071559) и KDR 1192GG (rs2305948) генотипами по сравнению с больными, несущими соответствующие вариантные генотипы ($p=0,015$ и $p=0,034$ соответственно).

Выводы. Проведенное исследование свидетельствует о том, что позитивный уровень белковой экспрессии VEGFR-2 и носительство функционально полноценных генотипов KDR-604TT (rs2071559) и KDR 1192GG (rs2305948) в опухоли могут рассматриваться в качестве маркеров с потенциальной прогностической значимостью в отношении ответа на тамоксифен.

ЛИТЕРАТУРА

1. Fan W., Chang J., Fu P. Endocrine therapy resistance in breast cancer: current status, possible mechanisms and overcoming strategies. *Future Med Chem.* 2015 Aug; 7(12): 1511–9. doi: 10.4155/fmc.15.93.
2. Le Romancer M., Poulard C., Cohen P., Sentis S., Renoir J.M., Corbo L. Cracking the estrogen receptor's posttranslational code in breast tumors. *Endocr Rev.* 2011 Oct; 32(5): 597–622. doi: 10.1210/er.2010-0016.
3. Osborne C.K., Shou J., Massarweh S., Schiff R. Crosstalk between estrogen receptor and growth factor receptor pathways as a cause for endocrine therapy resistance in breast cancer. *Clin Cancer Res.* 2005 Jan 15; 11(2 Pt 2): 865s70s.
4. Linderholm B.K., Hellborg H., Johansson U., Skoog L., Lehtiö J. Vascular endothelial growth factor receptor 2 and downstream p38 mitogen-activated protein kinase are possible candidate markers of intrinsic resistance to adjuvant endocrine treatment in steroid receptor positive breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2011 Jan; 125(2): 457–65. doi: 10.1007/s10549-010-1252-x.

АКТИВНОСТЬ И ЭКСПРЕССИЯ МРНК КАЛЬПАИНОВ ПРИ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОМ РАКЕ ЛЕГКОГО

Д.Н. Костромицкий

Областное государственное автономное учреждение здравоохранения «Томский областной онкологический диспансер», г. Томск, Россия

Аннотация

Немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ) является одной из часто встречающихся и активно метастазирующих злокачественных опухолей. В регуляции содержания и активности внутриклеточных белков, принимающих активное участие в развитии рака, важная роль принадлежит внутриклеточным протеолитическим системам, наименее изученной из которых является кальпаиновая. Изменения в активности кальпаиновой системы наблюдаются при злокачественных опухолях разных локализаций. В этой связи изучение изменений в работе кальпаиновой системы при НМРЛ может быть важно для фундаментальной и клинической онкологии, поэтому **Целью работы** явилось изучение активности кальпаинов и экспрессии мРНК их генов (CAPN1 и CAPN2) при НМРЛ. **Материал и методы.** Исследовалась неизменная и опухолевая ткань от 40 больных НМРЛ (n=40). Активность кальпаинов оценивали флуорометрическим методом по гидролизу флуорогенного олигопептида (Suc-LLVT-AMC). Анализ экспрессии мРНК кальпаинов (CAPN1 и CAPN2) проводился методом ПЦР в реальном времени. Статистическая обработка результатов осуществлялась с применением пакета программ IBM SPSS Statistics 20. **Результаты.** Наблюдалось повышение активности кальпаинов в тканях первичных опухолей по сравнению с соответствующей неизменной тканью легкого. В опухолевой ткани НМРЛ выявлено снижение активности и уровня экспрессии мРНК кальпаинов при увеличении размера первичной опухоли. **Выводы.** Показано усиление кальпаин-зависимого протеолиза в опухолевой ткани по сравнению с неизменной и ингибирование работы кальпаиновой системы в ткани первичной опухоли при увеличении ее размеров.

Ключевые слова: немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ), кальпаины, протеолиз.

ACTIVITY AND MRNA EXPRESSION OF CALPAINS IN NON-SMALL CELL LUNG CANCER

D.N. Kostromitsky

Tomsk Regional Oncology Center, Tomsk, Russia

Abstract

Non-small cell lung cancer (NSCLC) is the most common lung cancer. The intracellular proteolytic systems play an important role in the regulation of the content and activity of intracellular proteins that are actively involved in cancer development. Among proteolytic systems, the calpain system is little studied. Changes in the calpain system activity are observed in different types of cancer. In this regard, the study of changes occurring in the calpain system in patients with NSCLC may be important for clinical oncology. Therefore, we aimed to study the activity of calpains and the expression of mRNA of their genes (CAPN1 and CAPN2) in the NSCLC. **Material and Methods.** Histopathologically unchanged and tumor tissues from 40 NSCLC patients (N = 40) were studied. The activity of calpains was evaluated by a fluorometric assay using fluorogenic oligopeptide hydrolysis (Suc-LLVT-AMC). The calpain mRNA expression analysis (CAPN1 and CAPN2) was performed by real-time PCR. Statistical processing of the results was carried out using the IBM SPSS Statistics 20 software package. **Results.** There was an increase in the activity of calpains in the tissues of

primary tumors compared with the corresponding unchanged lung tissue. In the NSCLC tumor tissue, a decrease in the activity and expression level of calpain mRNA with an increase in the size of the primary tumor was detected. Conclusions. The increase in calpain-dependent proteolysis in tumor tissue compared to the histologically unchanged tissue and inhibition of the calpain system in the primary tumor tissue with an increase in its size were shown.

Key words: non-small cell lung cancer (NSCLC), calpains, proteolysis.

Актуальность. Немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ) характеризуется высокой агрессивностью и смертностью [1], поэтому столь важно изучение механизмов возникновения и развития НМРЛ. Показано, что важным звеном канцерогенеза являются внутриклеточные протеолитические системы [2, 3]. Среди таких систем интересным представляется изучение кальпаинов, работающих в клетке как протеазы-модуляторы, осуществляющие лимитированный протеолиз [4]. Кальпаины представляют собой кальций-зависимые цитозольные цистеиновые протеиназы [5]. Субстратами для кальпаиновой системы являются некоторые онкобелки и продукты онкосупрессоров. На клеточных культурах показано повышение активности кальпаинов при трансформации клеток, что приводит к нарушениям межклеточной адгезии, перестройке актинового цитоскелета, морфологической трансформации и клеточной миграции [6]. Показано, что в тканях опухолей разных локализаций наблюдается увеличение экспрессии кальпаинов [7, 8]. Известно, что функциональные характеристики протеолитических систем также могут являться прогностическими маркерами при раке [8, 9].

Цель исследования – изучить активность кальпаинов и экспрессию мРНК их генов (CAPN1 и CAPN2) при НМРЛ.

Материал и методы. Исследовалась неизменная и опухолевая ткань от 40 больных НМРЛ (T2–3N0–2M0). Все больные не получали предоперационной терапии. Активность кальпаинов оценивали флуорометрическим методом по гидролизу флуорогенного олигопептида (Suc-LLVT-AMC). Анализ экспрессии мРНК кальпаинов (CAPN1 и CAPN2) проводился методом ПЦР в реальном времени. Нормализация экспрессии проводилась на условно неизменную ткань и референсный ген «домашнего хозяйства» фермента GAPDH. Статистическая обработка результатов осуществлялась с применением пакета программ IBM SPSS Statistics 20.

Результаты. В результате проведенного исследования выявлено усиление кальпаин-зависимого протеолиза в ткани первичного опухолевого очага по сравнению с соответствующей неизменной тканью. В ткани первичной опухоли активность кальпаинов была

Таблица

Активность кальпаинов (АК) и экспрессия их мРНК (CAPN1 и CAPN2) в ткани первичной опухоли в зависимости от Т и N

Показатель	T2N0–2M0	T3N0–2M0	p	
	n=23	n=17		
АК (10 ³ Ед/мг белка)	113,3 (69,7; 194,6)	47,0 (36,06; 87,70)	0,022	
CAPN1	24,6 (21,1; 27,1)	8,2 (8,2; 12,0)	<0,001	
CAPN2	28,8 (20,7; 31,9)	7,0 (4,4; 7,7)	<0,001	
	T2–3N0M0	T2–3N1M0	T2–3N2M0	
	n=9	n=22	n=9	
АК (10 ³ Ед/мг белка)	61,96 (32,98; 94,57)	99,31 (69,66; 110,07)	46,97 (31,02; 102,66)	p ₁₂ =0,547; p ₁₃ =0,770; p ₂₃ =0,145
CAPN1	6,70 (1,36; 7,00)	6,78 (2,72; 11,85)	4,13 (0,70; 5,90)	p ₁₂ =0,921; p ₁₃ =0,642; p ₂₃ =0,223
CAPN2	7,79 (1,00; 12,05)	4,80 (4,30; 8,95)	5,55 (5,54; 6,60)	p ₁₂ =0,150; p ₁₃ =0,223; p ₂₃ =0,111

в 2,4 раза выше в первичной опухоли по сравнению с неизменной тканью ($p=0,047$). Вероятно, повышение активности кальпаинов при НМРЛ по сравнению с неизменными тканями происходит вследствие возрастающей интенсивности внутриклеточных процессов. В опухолевой клетке происходят такие процессы, как нарушение клеточного цикла, межклеточной адгезии, усиление пролиферации, ингибирование апоптоза, перестройка актинового цитоскелета, морфологическая трансформация и клеточная миграция, в которых кальпаины деградируют многие сигнальные и структурные белки.

Наиболее значимым фактором, определяющим прогноз заболевания и тактику лечения НМРЛ, является стадия заболевания, отражающая размер первичного новообразования (T) и вовлеченность в опухолевый процесс регионарных лимфатических узлов (N). Отмечалось значимое снижение показателей с увеличением размера первичного очага (T): активность кальпаинов на стадии T3N0–2M0 снижалась по сравнению со стадией T2N0–2M0 в ткани опухоли в 2,4 раза; экспрессия мРНК также снижалась с увеличением T (в 3,0–4,1 раза) в первичной опухолевой ткани. Такое ингибирование работы кальпаинов может происходить в опухолях под воздействием оксидативного стресса в связи с окислением цистеина в их активном центре [10]. В то же время активность и экспрессия мРНК кальпаинов значимо не изменялись в опухолевых тканях при лимфогенном метастазировании (таблица).

Выводы. Наблюдается повышение активности и экспрессии мРНК кальпаинов в опухолевой ткани по сравнению с неизменной. При увеличении размера опухоли отмечено ингибирование кальпаиновой системы, что, вероятно, связано с влиянием оксидативного стресса на работу протеолитической системы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2016 году. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России. 2018. 250.
2. Шашова Е.Е., Колегова Е.С., Завьялов А.А., Слонимская Е.М., Кондакова И.В. Изменение активности протеасом и кальпаинов при метастазировании рака легкого и рака молочной железы человека. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2017; 163(4): 486–489.
3. Колегова Е.С., Кондакова И.В., Завьялов А.А. Малые белки теплового шока и убиквитин-протеасомная система при злокачественных опухолях. Вопросы онкологии. 2016; 3: 401–405.
4. Sorimachi H., Hata S., Ono Y. Calpain chronicle an enzyme family under multidisciplinary characterization. Proc. Jpn. Acad. Ser. B. Phys. Biol. Sci. 2011; 87(6): 287–327.
5. Lostal W., Stockholm D., Richard I. In Vivo Monitoring of Calpain Activity by Forster Resonance Energy Transfer. Methods Mol. Biol. 2019; 1915: 57–66.
6. Del Carmen Lafita-Navarro M., Conacci-Sorrell M. Identification of Calpain-Activated Protein Functions. Methods Mol Biol. 2019; 1915: 149–160.
7. Spirina L.V., Kondakova I.V., Choyzonov E.L., Chigevskaya S.Y., Shishkin D.A., Kulbakin D.Y. Expression of vascular endothelial growth factor and transcription factors hif-1, nf-kb expression in squamous cell carcinoma of head and neck; association with proteasome and calpain activities. J Cancer Res Clin Oncol. 2013; 139(4): 625–633.
8. Юрмазов З.А., Усынин Е.А., Спирина Л.В., Кондакова И.В., Слонимская Е.М. Прогностическое значение экспрессии транскрипционных факторов, фактора роста VEGF, его рецептора, протеинкиназы M-TOR и активности внутриклеточных протеиназ у больных диссеминированным раком почки. Сибирский онкологический журнал. 2015; 5: 44–50.
9. Какурина Г.В., Черемисина О.В., Чойнзонов Е.Л., Кондакова И.В. Циркулирующие протеасомы в патогенезе плоскоклеточного рака головы и шеи. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2017; 163(1): 108–111.
10. Gopalakrishna R., Jake N.S. Protein kinase C signaling and oxidative stress. Free Radic. Biol. Med. 2000; 28(5): 1379–1386.

ХИРУРГИЧЕСКИЕ ВОЗМОЖНОСТИ РЕКОНСТРУКТИВНО-ПЛАСТИЧЕСКИХ ОПЕРАЦИЙ ПРИ АБДОМИНАЛЬНЫХ ДЕСМОИДНЫХ ОПУХОЛЯХ

**А.К. Кострыгин, А.Б. Рябов, В.М. Хомяков,
В.В. Черемисов, О.В. Новикова, С.А. Аксенов, А.Н. Стецюк**

Московский научно-исследовательский онкологический институт имени П.А. Герцена – филиал федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Россия

Аннотация

В настоящее время единые подходы в выборе метода лечения и объема операции при ДФ абдоминальной локализации отсутствуют. Для лечения пациентов используют различные подходы. В основном рекомендуют хирургическое удаление опухоли в пределах здоровых тканей. При нерадикальном

характере операции прибегают к комбинации с лучевой и лекарственной терапией, а при нерезектабельных опухолях используют консервативные методы лечения (химио- или гормонотерапия). Между тем данные литературы указывают на высокую частоту местных рецидивов даже при применении всего арсенала специальных видов лечения, а выполнение повторных операций приводит к выраженным функциональным и косметическим дефектам у пациентов молодого, активного возраста.

Ключевые слова: десмоидные опухоли, реконструкция передней брюшной стенки, хирургическое лечение, опухоль мягких тканей.

RECONSTRUCTIVE SURGERIES FOR ABDOMINAL DESMOID TUMORS

**A.K. Kostrygin, A.B. Rybov, V.M. Khomyakov,
V.V. Cheremisov, O.V. Novikova, S.A. Aksenov, A.N. Stetsyuk**

Moscow research oncological institute of P.A. Herzen branch of federal state budgetary institution «National Medical Research Center of Radiology» Ministries of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

Abstract

Currently, there are no common approaches to the choice of treatment and extent of surgery for patients with desmoids tumors (DT) of the abdomen. Surgical removal of the tumor within healthy tissues is mainly recommended. In cases with non-curable surgery, a combination of radiation and drug therapy is used. In cases with inoperable tumors, conservative treatment (chemo-or hormone therapy) is used. High incidence of local recurrence is reported, and repeated surgery often leads to pronounced functional and cosmetic defects in young and middle-aged patients.

Key words: desmoid tumors, reconstruction of the anterior abdominal wall, surgical treatment, soft tissue tumor.

Введение. Десмоидные фибромы (ДФ), синоним – агрессивный фиброматоз – мезенхимальные опухоли, развивающиеся из дифференцированных фибробластов и избыточного количества коллагеновых волокон [1]. ДФ встречаются относительно редко, составляя 0,03 % от всех новообразований и 3 % от всех опухолей мягких тканей [1]. Частота составляет 2–4 человека на один миллион населения. В США ежегодно регистрируется 900 новых случаев этого заболевания [2]. ДФ чаще встречаются у женщин, чем у мужчин. На долю пациентов мужского пола приходится не более 3,5 % всех случаев заболеваний, женщин – 96,5 %. В основном ДФ развивается в молодой популяции, чаще в возрасте от 25 до 35 лет [1]. В настоящее время в лечении пациентов с ДФ применяют различные подходы. В основном рекомендуют хирургическое удаление опухоли в пределах здоровых тканей. В ряде случаев прибегают к комбинации лучевой и системной терапии [4–12]. Классическая абдоминальная форма ДФ характеризуется развитием опухоли в толще прямых мышц живота в пределах апоневротического футляра. По достижении определенных размеров опухоль может инфильтрировать передний или задний листок влагалища прямой мышцы, брюшину или даже подрастать к органам брюшной полости. В настоящее время отсутствуют единые подходы в выборе метода лечения и объема операции. Многие авторы и Европейские рекомендации указывают на необходимость удаления опухоли в пределах видимых границ, при этом применение лучевой и лекарственной терапии рассматривается как дополнительные опции [1, 13–17]. МНИОИ им. П.А. Герцена обладает уникальным опытом лечения этой редкой патологии [3]: с 1945 г. по настоящее время пролечено более 700 пациентов с ДФ различных локализаций. Накопленный хирургический опыт позволил оптимизировать программы лечения пациентов с ДФ абдоминальной локализации с учётом особенностей их клинического течения и высоким риском рецидивирования [1, 3].

Материал и методы. В период с 2009 по 2019 г. в торакоабдоминальном отделении МНИОИ им. П.А. Герцена по поводу первичных и рецидивных десмоидных фибром передней брюшной стенки были оперированы 88 пациентов, в том числе 3 (3,4 %) мужчин и 85 (96,6 %) женщин. Средний возраст составил 33,2±3,1 года (15–61 год). У 31 (35 %) больного опухоль локализовалась в левой прямой мышце, у 28 (32 %) – в правой прямой

мышце, у 9 (10 %) – одновременно в правой и левой мышцах живота, у 6 (8,3 %) – в косых и поперечных, у 12 (14 %) пациентов опухоль вовлекала одновременно несколько мышц (прямую, косые и поперечную). Объем операции зависел от локализации новообразования и включал удаление опухоли в едином блоке с мышечно-апоневротическим футляром и последующей пластикой дефекта композитной сеткой. Операции по поводу первичных ДФ выполнены у 72 (82 %) пациентов. Операции по поводу рецидивов после лечения в других ЛПУ выполнены у 14 (16 %) пациентов. Только у одной пациентки произведено удаление опухоли с пластикой местными тканями, у остальных операционный дефект был замещен композитной сеткой. У семи (9,7 %) больных десмоидные опухоли были ассоциированы с семейным полипозом толстой кишки в рамках синдрома Гарднера. Объем операции зависел от локализации новообразования и включал удаление опухоли в едином блоке с мышечно-апоневротическим футляром и последующей пластикой дефекта композитной сеткой. При локализации опухоли в прямой мышце живота производили ее субтотальную резекцию вместе с апоневротическим футляром от уровня реберной дуги до лобковой кости. При латеральной локализации опухоли выполняли широкое иссечение мягких тканей брюшной стенки до предбрюшинной клетчатки. В объем резекции при этом входили косые и поперечная мышцы. В случае распространения ДФ при латеральной локализации на прямые мышцы у 11 пациентов выполнялась краевая резекция прямых мышц. Операции по поводу первичных ДФ выполнены у 72 (82 %) пациентов. Только у одной пациентки произведено удаление опухоли с пластикой местными тканями, у остальных операционный дефект был замещен композитной сеткой. У 28 пациентов (31,8 %) опухоль вовлекала две и более мышцы, что потребовало обширной резекции с одновременным удалением нескольких мышц брюшной стенки и тотальной и субтотальной абдоминопластикой. У 31 (48,8 %) пациента потребовалась резекция париетального листка брюшины в связи с инвазией опухолью. Для изоляции брюшной полости и предотвращения контакта сетки с петлями кишечника использовался большой сальник. Операции по поводу рецидивов после лечения в других ЛПУ выполнены у 14 (16 %) пациентов. У семи (9,7 %) больных десмоидные опухоли были ассоциированы с семейным полипозом толстой кишки в рамках синдрома Гарднера. Из них у 3 пациентов после тотальной колэктомии по поводу семейного аденоматозного полипоза в сроки 7, 9 и 18 мес диагностированы ДФ передней брюшной стенки. У 4 пациентов синдром Гарднера был диагностирован на этапе обследования в МНИОИ им. П.А. Герцена по поводу ДФ. В этом случае удаление ДФ передней брюшной стенки выполнено на первом этапе, а после полной реабилитации этим пациентам произведена тотальная колэктомия. Следует отметить, что у больных с синдромом Гарднера приоритетной задачей является лечение толстой кишки в связи с высоким риском малигнизации полипов, а удаление десмоидов выполняют при наличии клинически значимых проявлений (быстрый рост, большие размеры, болевой синдром).

Результаты. R0 резекция выполнена у 68 (94,5 %) из 72 пациентов, первично оперированных в МНИОИ им. П.А. Герцена. У 9 (64,2 %) больных R0 резекция выполнена в группе из 14 пациентов, которым первичная операция выполнена в другом ЛПУ, а в МНИОИ им. П.А. Герцена был диагностирован рецидив заболевания. Летальных исходов в группе оперированных не было. Частота послеоперационных осложнений составила 26,1 %. У 21 (23,8 %) больного наблюдалось накопление серозной жидкости в пространстве между подкожной клетчаткой и сеткой, что требовало повторных пункций под контролем УЗИ и пролонгированного ношения компрессионного трикотажа (до 2 мес). Длительность накопления серозной жидкости варьировала от двух до восьми недель. При этом 9 из 14 наблюдений пришлось на группу больных, оперированных по поводу рецидивных опухолей. У одной больной после обширной резекции мягких тканей с кожным фрагментом по поводу второго рецидива ДФ отмечался краевой некроз перемещенного кожного лоскута, что привело к длительному заживлению вторичным натяжением. Еще у одной пациентки после удаления ДФ с распространением в предпузырное пространство на 8 сут после операции диагностирован точечный дефект по передней стенке мочевого пузыря (некроз в зоне термического воздействия), который был ушит лапароскопическим доступом с сохранением сетки. Большая выписана на 12-е сут после повторной операции. По данным планового гистологического исследования у 4 (5,5 %) больных, оперированных в МНИОИ им. П.А. Герцена по поводу первичных ДФ, обнаружены элементы опухоли в одном из краев резекции (R1). При этом местный рецидив в виде небольшого узла в подкожной клетчатке реализовался лишь у 1 пациентки, которой выполнена реоперация в объеме R0. Операции по поводу рецидивных ДФ у больных, оперированных ранее в других медицинских учреждениях, выполнены 14

(16 %) больным, у двух из них позже возник повторный рецидив, что потребовало повторной операции. Все оперированные пациенты в настоящее время живы. Сроки наблюдения составили от 1 до 92 мес, медиана наблюдения – 38,84 мес. Медиана безрецидивной выживаемости не достигнута. У всех оперированных пациентов удалось обеспечить хороший косметический эффект, сохранить симметрию передней брюшной стенки и конфигурацию живота. Случаев развития послеоперационных вентральных грыж после пластики композитной сеткой не зафиксировано.

Выводы. Хирургическое лечение является основным методом лечения ДФ абдоминальной локализации. Субтотальное удаление пораженной прямой мышцы в едином блоке с апоневротическим футляром (R0) позволяет минимизировать частоту местных рецидивов. Пластика послеоперационных дефектов брюшной стенки с применением композитной сетки обеспечивает хорошие эстетические и функциональные результаты лечения. Хирургическое лечение при развитии местных рецидивов показано, однако сопряжено с более высоким риском развития повторного рецидива и развития послеоперационных осложнений по сравнению с операциями, выполняемыми в объеме (R0) по поводу первичных ДФ. Перенесенное по поводу ДФ брюшной стенки вмешательство с абдоминопластикой не является противопоказанием к реализации репродуктивной функции при адекватном сопровождении беременности и родов. У больных с ДФ на фоне синдрома Гарднера приоритетной задачей является лечение по поводу полипоза толстой кишки, в связи с высоким риском малигнизации полипов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Хомяков В.М., Черемисов В.В., Чайка А.В., Вашихмадзе Л.А., Дарьялова С.Л., Новикова О.В., Кострыгин А.К. Опыт хирургического лечения десмоидных фибром абдоминальной и интраабдоминальной локализации. Хирургия. 2014; 11: 17–25.
2. Couto Netto S.D., Teixeira F.Jr., Menegozzo C.A.M., Albertini A., Akaishi E.H., Utiyama E.M. Abdominal wall reconstruction after desmoid type fibromatosis radical resection: Case series from a single institution and review of the literature. International journal of surgery case reports. 2017; 33: 167–72.
3. Новикова О.В. Половые гормоны в этиологии, патогенезе и лечении десмоидных фибром [дис. на соиск. ст. док. мед. наук]. [Москва]. 2008. 324.
4. Lev D., Kotilingam D., Wei C., Ballo M.T., Zagars G.K., Pisters P.W., Lazar A.A., Patel S.R., Benjamin R.S., Pollock R.E. Optimizing treatment of desmoid tumors. Journal of clinical oncology. J Clin Oncol. 2007 May 1; 25(13): 1785–91. doi: 10.1200/JCO.2006.10.5015.
5. Mullen J.T., Delaney T.F., Kobayashi W.K., Szymonifka J., Yeap B.Y., Chen Y.L., Rosenberg A.E., Harmon D.C., Choy E., Yoon S.S., Raskin K.A., Petur Nielsen G., Hornicek F.J. Desmoid tumor: analysis of prognostic factors and outcomes in a surgical series. Ann Surg Oncol. 2012 Dec; 19(13): 4028–35. doi: 10.1245/s10434-012-2638-2.
6. Bonvalot S., Eldweny H., Haddad V., Rimareix F., Missenard G., Oberlin O., Vanel D., Terrier P., Blay J.Y., Le Cesne A., Le Péchoux C. Extra-abdominal primary fibromatosis: Aggressive management could be avoided in a subgroup of patients. Eur J Surg Oncol. 2008 Apr; 34(4): 462–8.
7. Peng P.D., Hyder O., Mavros M.N., Turley R., Groeschl R., Firoozmand A., Lidsky M., Herman J.M., Choti M., Ahuja N., Anders R., Blazer D.G. 3rd, Gamblin T.C., Pawlik T.M. Management and recurrence patterns of desmoids tumors: a multi-institutional analysis of 211 patients. Ann Surg Oncol. 2012 Dec; 19(13): 4036–42. doi: 10.1245/s10434-012-2634-6.
8. Salas S., Dufresne A., Bui B., Blay J.Y., Terrier P., Ranchere-Vince D., Bonvalot S., Stoeckle E., Guillou L., Le Cesne A., Oberlin O., Brouste V., Coindre J.M. Prognostic factors influencing progression-free survival determined from a series of sporadic desmoid tumors: a wait-and-see policy according to tumor presentation. Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology. 2011; 29(26): 3553–8.
9. Bertani E., Testori A., Chiappa A., Misitano P., Biffi R., Viale G., Mazzarol G., De Pas T., Botteri E., Contino G., Verrecchia F., Bazolli B., Andreoni B. Recurrence and prognostic factors in patients with aggressive fibromatosis. World J Surg Oncol. 2012 Sep 10; 10: 184. doi: 10.1186/1477-7819-10-184.
10. Mankin H.J., Hornicek F.J., Springfield D.S. Extra-abdominal desmoid tumors: a report of 234 cases. J Surg Oncol. 2010 Oct 1; 102(5): 3804. doi: 10.1002/jso.21433.
11. Berri R.N., Baumann D.P., Madewell J.E., Lazar A., Pollock R.E. Desmoid tumor: current multidisciplinary approaches. Ann Plast Surg. 2011 Nov; 67(5): 551–64. doi: 10.1097/SAP.0b013e3182084cf6.
12. Nuyttens J.J., Rust P.F., Thomas C.R.Jr., Turrisi A.T. 3rd. Surgery versus radiation therapy for patients with aggressive fibromatosis or desmoid tumors: A comparative review of 22 articles. Cancer. 2000; 88(7): 1517–23.
13. Singer S Nielsen T., Antonescu C.R. Molecular biology of soft tissue sarcoma. Cancer Principles and Practice of Oncology. 2011.
14. Tejpar S., Nollet F., Li C., Wunder J.S., Michils G., dal Cin P., Van Cutsem E., Bapat B., van Roy F., Cassiman J.J., Alman B.A. Predominance of beta-catenin mutations and beta-catenin dysregulation in sporadic aggressive fibromatosis (desmoid tumor). Oncogene. 1999; 18(47): 6615–20. doi: 10.1038/sj.onc.1203041.
15. Lazar A.J., Tuvin D., Hajibashi S., Habeeb S., Bolshakov S., Mayordomo-Aranda E., Warneke C.L., Lopez-Terrada D., Pollock R.E., Lev D. Specific mutations in the beta-catenin gene (CTNNB1) correlate with local recurrence in sporadic desmoid tumors. The American journal of pathology. 2008; 173(5): 1518–27.
16. National Comprehensive Cancer Network Guidelines in Oncology. Soft Tissue Sarcoma [Internet]. URL: www.nccn.org. (cited 1.02.2019).
17. Priolli D.G., Martinez C.A.R., Mazzini D.L.S. Desmoid tumor of the abdominal wall during pregnancy: a case report. Rev Bras Ginecol Obstet. 2005; 27(5): 283–8.

ЦИСПЛАТИН ПОДАВЛЯЕТ СКАВЕНДЖИНГ- ФУНКЦИЮ МОДЕЛЬНЫХ ОПУХОЛЕАССОЦИИРОВАННЫХ МАКРОФАГОВ IN VITRO

И.В. Ларионова^{1,2}

ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский государственный университет»,
г. Томск, Россия¹

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

Аннотация

Недавние исследования продемонстрировали, что опухолеассоциированные макрофаги (ОАМ) могут способствовать химиорезистентности и рецидиву опухоли посредством нескольких механизмов, включая секрецию факторов, поддерживающих рост опухоли, ингибирование сигналов апоптоза в опухолевых клетках, а также подавление Т-клеточного иммунитета и активацию реваскуляризации опухоли. Однако данные о механизмах действия химиотерапевтических агентов на макрофаги, а также механизмы макрофаг-опосредованной химиорезистентности не изучены и должны быть исследованы более тщательно. Более того, понимание возможного механизма лекарственной устойчивости, опосредованной нарушением скавенджинг-функции ОАМ, может открыть новые перспективы в исследованиях рака. В настоящем исследовании мы проанализировали влияние химиотерапевтического препарата цисплатина на опосредованный стабилином-1 клиренс acLDL, в модельных опухолеассоциированных макрофагах (ОАМ). Мы показали, что цисплатин уменьшает опосредованную стабилином-1 интернализацию и внутриклеточный транспорт acLDL в EEA1+ ранние эндосомы, но не оказывает значительного влияния на генную экспрессию стабиллина-1. Используя биоинформатические данные, полученные при секвенировании следующего поколения, мы обнаружили, что цисплатин способствует снижению процессов биогенеза мембран и везикулярного транспорта, что может приводить к неэффективной функции скавенджер-рецепторов и нарушению эндоцитоза необходимых для опухоли лигандов.

Ключевые слова: опухолеассоциированные макрофаги, скавенджер-рецепторы, стабиллин-1, эндоцитоз, цисплатин.

CISPLATIN DECREASES THE SCAVENGING FUNCTION OF TUMOR-ASSOCIATED MACROPHAGES IN VITRO

I.V. Larionova^{1,2}

Tomsk State University, Tomsk, Russia¹

Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia²

Abstract

Recent studies demonstrated that tumor-associated macrophages (TAM) may contribute to chemoresistance and tumor recurrence via several mechanisms, including secretion of growth factors supporting tumor growth, inhibition of cell death signaling pathways in tumor cells, as well as suppression of T-cell immunity and activation of tumor revascularization. However, the data concerning the mechanisms of action of chemotherapeutic agents on macrophages and mechanistic component of macrophage-mediated chemoresistance are not studied and must to be investigated more thoroughly. Moreover, understanding of the possible mechanism of drug resistance mediated by impaired scavenging function of TAM may open new prospect in cancer research. In the present study we analyzed the influence of chemotherapeutic drug cisplatin on stabilin-1 mediated clearance of acLDL in tumor-associated macrophages (TAM), reprogrammed by conditioned tumor supernatants of breast (MCF-7) and colorectal cancer (Colo206F) cell lines. We have shown that cisplatin decreases stabilin-1-mediated internalization and endocytic trafficking of acLDL to EEA1 early endosomes in modeled TAM, but do not significantly affect gene expression of stabilin-1. Using bioinformatics data, obtained from next-generation sequencing, we found that cisplatin contributes to reduced membrane biogenesis and vesicular transport. This data show that cisplatin affects an important elements of endocytic machinery processes in macrophages that may lead to ineffective function of scavenger receptors and endocytic trafficking of the essential ligands.

Key words: tumor-associated macrophages, scavenger receptors, stabilin-1, endocytosis, cisplatin.

Актуальность. Опухولةассоциированные макрофаги (ОАМ) являются основными клетками иммунной системы в опухолевом микроокружении [1], которые поддерживают пролиферацию, выживание и рост опухолевых клеток и способствуют ангиогенезу, метастазированию, подавлению иммунитета и рецидиву опухоли после лечения [1, 2]. Скавенджер-рецепторы представляют собой широкий класс рецепторов клеточной поверхности, которые экспрессируются миелоидными клетками, включая макрофаги, и способны связывать эндогенные и чужеродные молекулы и способствовать удалению чужеродных веществ [3]. Функции этих рецепторов включают очистку от патогенов, адгезию, транспорт лигандов и презентацию антигенов [4]. Некоторые исследования продемонстрировали участие скавенджер-рецепторов в опухолевой прогрессии [5]. Стабилилин-1 является трансмембранным рецептором типа 1, который относится к скавенджер-рецепторам класса Н и играет важную роль в клиренсе «нежелательных» собственных компонентов. Стабилилин-1 является рецептором для некоторых хорошо известных лигандов, включая oxLDL, acLDL, гиалурон, плацентарный лактоген, гепарин и матрицеллюлярный белок SPARC [6].

Цель исследования – проанализировать влияние химиотерапевтического препарата цисплатина на опосредованный стабилилином-1 клиренс acLDL, в модельных опухолеассоциированных макрофагах (ОАМ).

Материал и методы. В качестве модельной системы для ОАМ была использована система стимуляции первичных моноцитов человека супернатантами опухолевых клеток MCF-7 (аденокарцинома молочной железы) и Colo206F (карцинома кишечника человека). Цисплатин был добавлен в культуру дифференцированных ОАМ на 72 ч. Эндоцитоз проводился в присутствии флуоресцентно меченного лиганда acLDL-AlexaFluor488 и количественно оценивался при помощи проточной цитометрии. Анализ генной экспрессии стабилилина-1 был проведен при помощи ПЦР в режиме реального времени. Поглощение и транспорт флуоресцентно меченного лиганда к EEA1-позитивным ранним/сортирующим эндосомам визуализировали с помощью иммунофлуоресцентного анализа и конфокальной микроскопии. Для поиска биологически значимых в процессе эндоцитоза путей было проведено полнотранскриптомное секвенирование следующего поколения.

Результаты. В данном исследовании, чтобы оценить влияние цисплатина на скавенджер-функцию ОАМ, мы использовали acLDL в качестве общего лиганда скавенджер-рецепторов. После 30-минутного воздействия поглощение acLDL-AlexaFluor488 количественно определяли с помощью проточной цитометрии. ОАМ, дифференцированные кондиционированными супернатантами опухолевых клеток, продемонстрировали усиленное поглощение флуоресцентно меченного acLDL, по сравнению с M2 макрофагами, стимулированными IL-4 или комбинацией IL-4 и TGF-бета (рис. 1). При этом цисплатин оказывал ингибирующее действие на поглощение acLDL в модельных ОАМ. Самый сильный эффект цисплатина наблюдался в случае с супернатантами от MCF-7 ($p=0,038$ для MCF7 и $p=0,023$ для MCF-7 +TGFb).

В то же самое время мы обнаружили, что генная экспрессия стабилилина-1 существенно не изменялась после обработки цисплатином. Эти данные указывают на то, что цисплатин значительно подавляет эндоцитозную функцию ОАМ по механизму, не зависящему от регуляции экспрессии скавенджер-рецептора.

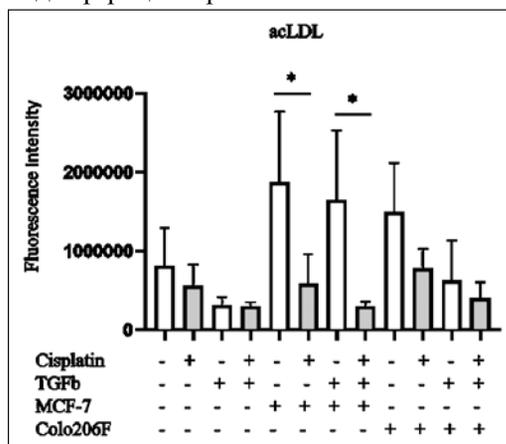


Рис. 1. Анализ эндоцитоза acLDL в модельных ОАМ при помощи проточной цитометрии. Результаты суммированы для 4 доноров. * – $p < 0,05$

Затем мы проанализировали опосредованную стабилином-1 интернализацию acLDL в модельных ОАМ после воздействия цисплатином. В отсутствие цисплатина acLDL эффективно интернализировался M2 макрофагами, стимулированными TGFbeta и ОАМ, дифференцированными в присутствии супернатантов от MCF-7 и Colo206F. acLDL был обнаружен в EEA1+ ранних эндосомах, где они ко-локализовались со стабилином-1. Добавление цисплатина привело к значительному снижению интернализации и транспорта acLDL к EEA1+ ранним эндосомам. Цисплатин также подавлял рекрутирование стабиллина-1 в эндоцитарные везикулы, но не оказывал влияния на везикулярную локализацию EEA1 в макрофагах. Наши данные указывают на то, что цисплатин нарушает рецептор-опосредованный транспорт лигандов в эндосомальную систему в ОАМ.

Далее мы проверили, какие механизмы могут быть вовлечены в этот процесс. Мы выполнили полнотранскриптомное секвенирование следующего поколения образцов РНК, полученных от наших модельных ОАМ. Для эксперимента использовались базы данных Hallmark, базы Reactome и KEGG. Мы обнаружили, что воздействие цисплатина приводит к снижению экспрессии ряда генов, участвующих в следующих процессах: везикулярный транспорт, эндоцитоз, функции лизосом и мембранный биогенез.

Выводы. Таким образом, мы показали, что цисплатин уменьшает поглощение и эндоцитарный транспорт классического лиганда acLDL в ОАМ, но не оказывает существенного влияния на экспрессию скавенджер-рецептора стабиллина-1. Эти данные показывают, что цисплатин влияет на важные этапы эндоцитоза и биогенеза мембран в макрофагах, что может приводить к неэффективной функции скавенджер-рецепторов и нарушению эндоцитоза необходимых для опухоли лигандов.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ, проект №14-15-00350

ЛИТЕРАТУРА

1. Qian B.Z., Pollard J.W. Macrophage diversity enhances tumor progression and metastasis. Cell. 2010; 141(1): 39–51. doi:10.1016/j.cell.2010.03.014.
2. Riabov V., Gudima A., Wang N., Mickley A., Orekhov A., Kzhyshkowska J. Role of tumor associated macrophages in tumor angiogenesis and lymphangiogenesis. Front Physiol. 2014; 5 MAR(March): 1–13. doi: 10.3389/fphys.2014.00075.
3. Peiser L., Gordon S. The function of scavenger receptorsexpressed by macrophages and their rolein the regulation of inflammation. Microbes and Infection. 2001; 3: 149–159.
4. Yu X., Guo C., Fisher P.B. Scavenger receptors: emerging roles in cancer biology and immunology. Advances in cancer research. Elsevier. 2015; 309–364.
5. Neyen C., Plüddemann A., Mukhopadhyay S., Maniati E., Bossard M., Gordon S., Hagemann T. Macrophage scavenger receptor a promotes tumor progression in murine models of ovarian and pancreatic cancer. J Immunol. 2013 Apr 1; 190(7): 3798805. doi: 10.4049/jimmunol.1203194.
6. Kzhyshkowska J. Multifunctional receptor stabilin-1 in homeostasis and disease. ScientificWorldJournal. 2010 Oct 12; 10: 2039–53. doi: 10.1100/tsw.2010.189.

РАЗРАБОТКА АНАЛЬГЕТИКА НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ ДЛЯ ОНКОЛОГИЧЕСКОЙ ПРАКТИКИ

К.А. Лопатина, Е.А. Сафонова, О.Ю. Рыбалкина

Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия

Аннотация

Проблема обезболивания онкологических больных требует разработки новых подходов и фармакологических препаратов с высоким анальгетическим потенциалом. На моделях острой висцеральной и соматической глубокой боли недавно синтезированное соединение из ряда гексаазаизовюрцитана (тиовюрцин) проявляло выраженную анальгетическую активность. В условиях экспериментального опухолевого роста тиовюрцин не вызывал стимуляции развития злокачественного новообразования и потенцировал антиметастатическую активность циклофосфана.

Ключевые слова: анальгезия, опухоль, тиовюрцин, гексаазаизовюрцитан, карцинома легких Льюиса.

NEW GENERATION ANALGESICS IN CANCER PAIN MANAGEMENT

K.A. Lopatina, E.A. Safonova, O.Y. Rybalkina

Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

Abstract

The problem of pain relief for cancer patients requires the development of new approaches and pharmacological drugs with high analgesic potential. In models of acute visceral and somatic deep pain, a newly synthesized compound from the hexaazaisowurzitan series (thiowurtzine) showed pronounced analgesic activity. Under conditions of experimental tumor growth, thiowurtzine potentiated the antimetastatic activity of cyclophosphamide and did not cause stimulation of the main tumor process.

Key words: analgesia, tumor, thiowurtzine, hexaazaisowurzitan, Lewis lung carcinoma.

Актуальность. В современной онкологической практике мультимодальная аналгезия является методом выбора для обезболивания пациентов. Основным принципом такого подхода является совместное применение препаратов разных групп: НПВП в сочетании с внутривенным, подкожным или внутримышечным введением опиоидных анальгетиков и/или использованием методов регионарной аналгезии (у пациентов с болью высокой интенсивности). В качестве адъювантов в рамках сбалансированной аналгезии могут использоваться кетамин, габапентиноиды, дексмедетомидин, лидокаин и кортикостероиды. Такой подход позволяет существенно снизить потребность в применении опиоидных анальгетиков, обладающих рядом побочных эффектов, среди которых для онкологической практики наиболее значимыми являются такие, как угнетение иммунитета и снижение устойчивости к метастазированию, реактивация герпетической инфекции, развитие острой толерантности. Кроме того, опиоиды в высоких дозах могут вызвать гипералгезию. Одним из подходов к снижению количества побочных эффектов (тошноты, рвоты, кожного зуда) является комбинирование опиоидных анальгетиков с различными механизмами действия. Комбинация опиатов с агонистами опиоидных рецепторов также рассматривается как эффективная стратегия аналгезии. В последние годы все большее значение отводится упреждающей аналгезии как подходу, позволяющему снизить риск развития гипералгезии (избыточного болевого ответа), аллодинии (болевого ответа на безболезненный в норме стимул) и хронизации послеоперационной боли [1, 2]. В ИПХЭТ СО РАН синтезированы молекулы на основе нового фармакофора – производных гексаазаизовюрцитана 4-(3,4-дибромтио-фенкарбонил)-2,6,8,12-тетраацетил-2,4,6,8,10,12-гексаазатетрацикло[5,5,0,0^{3,11},0^{5,9}]додекан (тиовюрцин). Совместно с НИИФиРМ им. Е. Д. Гольдберга (Томский НИМЦ) данное вещество предлагается в качестве высокоэффективного анальгетика, альтернативного существующим.

Цель – изучение анальгетического потенциала тиовюрцина и оценка безопасности применения совместно с цитостатиком в условиях экспериментального опухолевого роста.

Материал и методы. Исследование выполнено на половозрелых крысах обоего пола стока SD (массой 200–360 г, 10–12 нед) и мышах-самках линии C57Bl/6 (массой 22–28 г, 7–8 нед). Животные аутобредные, конвенциональные 1 категории, получены из отдела экспериментального биомоделирования НИИФиРМ им. Е. Д. Гольдберга Томского НИМЦ. Содержание животных и дизайн экспериментов были одобрены Комиссией по биоэтике НИИФиРМ им. Е. Д. Гольдберга (протокол IACUC) и соответствовали Директиве 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза по охране животных, используемых в научных целях; Приказу МЗ РФ от 1 августа 2016 N 199н.

Тиовюрцин – полиазотистое полициклическое соединение каркасного строения 4-(3,4-дибромтиофенкарбонил)-2,6,8,12-тетраацетил-2,4,6,8,10,12-гексаазатетрацикло[5,5,0,0^{3,11},0^{5,9}]додекан – синтезирован и предоставлен для исследования ИПХЭТ СО РАН.

Анальгетический потенциал определяли на моделях острой висцеральной боли «куксунные корчи» и в тесте термического раздражения «горячая пластина». Эксперименты выполнены и описаны в источниках [3, 4].

Влияние тиовюрцина на рост и метастазирование опухоли. Перевивку карциномы легких Льюис проводили, как описано в Руководстве по доклиническому изучению новых

лекарственных средств [5]. Тиовюрцин назначали в дозе 100 мг/кг длительным курсом, циклофосфан в дозе 125 мг/кг применяли однократно. По окончании экспериментов у мышей определяли показатели, характеризующие рост и диссеминацию неоплазмы. Обработку полученных результатов проводили с использованием непараметрических критериев Вилкоксона – Манна – Уитни. Различия считали достоверными при $p < 0,05$ [5].

Результаты. В экспериментах показано, что тиовюрцин обладает мощным анальгетическим эффектом: после 4-суточного введения статистически достоверно подавляет висцеральную боль в тесте «уксусные корчи» – на 56,9 % относительно негативного контроля, что превышало активность референс-препарата диклофенака. В тесте «горячая пластина», характеризующем супраспинальный уровень болевой чувствительности, при субхроническом введении тиовюрцин вызывал максимальное повышение латентного времени развития болевой реакции в 1,8 раза относительно контроля. Сложный многоуровневый механизм действия предполагает его использование в условиях болей средней и высокой интенсивности, что может быть использовано и в онкологической практике. В эксперименте с карциномой легких Льюис была показана безопасность применения тиовюрцина совместно с циклофосфаном. Длительный курс назначения тиовюрцина не приводил к стимуляции экспериментального опухолевого процесса: показатель торможения роста опухоли в группе «циклофосфан» составил 51 %, тогда как в группе «циклофосфан+тиовюрцин» – 68 %. Наблюдалось потенцирование антиметастатического действия цитостатика: число метастатических узлов в легких животных, леченных по комбинированной схеме «цитостатик+тиовюрцин», снижалось на 92 % относительно группы изолированной химиотерапии.

Выводы. Тиовюрцин – инновационный препарат с мощным анальгетическим потенциалом может быть рекомендован к клиническим испытаниям у пациентов онкологического профиля.

Работа выполнена в рамках ФЦП «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности Российской Федерации на период до 2020 года и дальнейшую перспективу», госконтракт от 15 августа 2017 г. № 14.Н08.11.0179 «Доклинические исследования лекарственного средства на основе производных гексаазаизовюрцитана для терапии болевого синдрома различной этиологии»

ЛИТЕРАТУРА

1. Абузарова Г.Р. Боль в онкологии: грани проблемы. Медицинский совет. 2018; 19: 97–100.
2. Розенко Д.А., Ушакова Н.Д., Дмитриади С.Н. Анестезиологическое обеспечение сочетанием многокомпонентной общей анестезии и эпидуральной аналгезии в онкологической практике. Современные проблемы науки и образования. 2016; 6: 150.
3. Крылова С.Г., Поветьева Т.Н., Зуева Е.П., Сулов Н.И., Амосова Е.Н., Разина Т.Г., Лопатина К.А., Рыбалкина О.Ю., Нестерова Ю.В., Афанасьева О.Г., Киселева Е.А., Сысолятин С.В., Кулагина Д.А., Жданов В.В. Анальгетическая активность производных гексаазаизовюрцитана. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2018; 10(166): 451–456.
4. Крылова С.Г., Амосова Е.Н., Зуева Е.П., Разина Т.Г. и др. 4-(3,4-дибромтиофенкарбонил)-2,6,8,12-тетраацетил-2,4,6,8,10,12-гексаазатетрацикло[5,5,0,0,3,11,05,9]додекан в качестве анальгетического средства и способ его получения. Патент №2565766 РФ, МПК С07D 487/22, А61P 29/00 № 2014146024/04; Заявл.17.11.2014. Оpubл. 20.10.2015, Бюл. № 29.
5. Хабриев Р.У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. М.: ОАО Издательство Медицина. 2005. 832.

ВОЗМОЖНОСТИ ПРЕДОПЕРАЦИОННОЙ ТАРГЕТНОЙ ТЕРАПИИ В ЛЕЧЕНИИ КОСТНЫХ МЕТАСТАЗОВ РАКА ПОЧКИ

**Н.А. Лушникова, З.А. Юрмазов, Е.М. Слонимская,
Е.А. Усынин, Л.В. Спирина**

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

Аннотация

В работе представлен анализ результатов комбинированного лечения больных с почечно-клеточным раком (ПКР). Исследование проведено на базе НИИ онкологии Томского НИМЦ с 2014 по 2018 г. В исследование включено 34 пациента с верифицированным светлоклеточным метастатическим почечно-клеточным раком (мПКР) с поражением костей скелета. Все пациенты получали предоперационную таргетную терапию (ПТТ) тирозинкиназным ингибитором – Пазопанибом в течение 8 нед. Затем выпол-

нялось паллиативное хирургическое лечение. Оперативное вмешательство проводилось в 2 этапа. На первом этапе выполнялось удаление метастатического костного очага. Вторым этапом осуществлялось удаление первичной опухоли с помощью нефрэктомии либо резекции почки. В постоперационном периоде продолжалась таргетная терапия в адьювантном режиме. В ходе исследования была проведена оценка качества жизни пациентов на фоне проводимой таргетной терапии с помощью опросников FKSI-15 и FACT-G. В результате исследования были получены следующие данные. Проведение ПТТ характеризуется высокой частотой достижения клинического ответа. Получение таргетной терапии в предоперационном режиме сопровождается относительно низкой токсичностью. Встречающиеся побочные эффекты относятся к 1–2 степени тяжести и легко корректируются. Применение таргетных препаратов в более ранние сроки позволяет снизить болевой и паранеопластической синдромы, что положительно сказывается на психо-эмоциональном состоянии пациента. В ряде случаев ПТТ улучшает условия для выполнения хирургического этапа на костных метастатических очагах, снижает интраоперационную кровопотерю, уменьшает объем и продолжительность выполнения оперативного вмешательства, что, в свою очередь, позволяет сохранить больший объем движений в пораженном костном сегменте, а также улучшить качество жизни данной категории пациентов.

Ключевые слова: почечно-клеточный рак, костные метастазы, таргетная терапия, пазопаниб, качество жизни, хирургическое лечение.

PREOPERATIVE TARGETED THERAPY FOR BONE METASTASES FROM RENAL CELL CARCINOMA

N.A. Lushnikova, Z.A. Yurmazov, E.M. Slonimskaya, E.A. Usinin, L.V. Spirina

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

Abstract

This article provides the analysis of combined modality treatment in patients with bone metastases from renal cell carcinoma (RCC). Thirty-four patients with histologically verified metastatic clear cell renal cell carcinoma were treated at Tomsk Cancer Research Institute in the period from 2014 to 2017. All patients received preoperative targeted therapy with Pazopanib for 8 weeks followed by surgery with palliative intent.

Key words: renal cell carcinoma, bone metastases, targeted therapy, Pazopanib, quality of life, surgical treatment.

Актуальность. Ежегодно в мире выявляется около 250 тыс. новых случаев ПКР [1]. В России в 2017 г. зарегистрировано 23 764 первичных больных ПКР, а абсолютное количество умерших составило 7063 человек [2]. У половины заболевших процесс уже изначально имеет или в ранние сроки приобретает генерализованный характер. Наиболее частыми локализациями метастатического поражения почечно-клеточного рака являются: легкие (50–60%), кости скелета (30–40%), лимфатические узлы, печень, надпочечники. Поражение скелета при мПКР, как правило, носит множественный характер, проявляется агрессивным литическим процессом, выраженным болевым синдромом и развитием патологических переломов [3]. В настоящее время наиболее распространенным гистологическим типом ПКР является светлоклеточный вариант, который характеризуется мутацией гена VHL и составляет 75% всех опухолей почки [4]. Так как рак почки резистентен к лучевой и химиотерапии, «золотым стандартом» лечения пациентов с мПКР является таргетная терапия. В последние годы активно обсуждается вопрос о целесообразности назначения таргетной терапии в предоперационном режиме. Такой подход в ряде случаев позволяет не только уменьшить объем первичной опухоли, но и размеры костных метастазов, в основном за счет экстраоссального компонента, что, в свою очередь, дает возможность оценить ответ опухоли на проводимую терапию и облегчает выполнение хирургического вмешательства [5]. Также назначение таргетных препаратов в предоперационном режиме позволяет улучшить качество жизни пациентов за счет снижения болевого синдрома и увеличить объем движения в пораженном костном сегменте. Следует отметить, что все исследования, посвященные данной проблеме, исключительно пилотные и практически единичные. С представленных позиций изучение эффективности и переносимости предоперационной таргетной терапии у пациентов с костными метастазами ПКР, особенностей хирургического этапа после ее про-

ведения, отдаленных результатов комбинированного лечения, а также динамики качества жизни пациентов является важной задачей клинической онкологии. Для лечения больных светлоклеточным ПКР с благоприятным или промежуточным прогнозом используются ингибиторы VEGFR. Пазопаниб является мощным селективным тирозинкиназным ингибитором. Механизм действия Пазопаниба заключается в его антиангиогенных свойствах посредством ингибирования внутриклеточной тирозинкиназы рецептора фактора роста эндотелия сосудов (VEGFR-1, -2 и -3) и рецептора фактора роста тромбоцитов (PDGFR- α и - β). Основным преимуществом Пазопаниба перед другими тирозинкиназными ингибиторами является его низкая миелотоксичность [6].

Цель – оценить непосредственную эффективность предоперационной таргетной терапии (ПТТ), спектр и частоту побочных явлений, а также качество жизни (КЖ) на фоне ее проведения у пациентов с костными метастазами ПКР.

Материал и методы. Исследование проводилось на базе НИИ онкологии Томского НИМЦ с 2013 по 2018 г. В исследование были включены 34 больных с костными метастазами светлоклеточного ПКР (T1–4N0–2M1). Из них мужчин – 21 (63 %), женщин – 13 (37 %). Средний возраст пациентов составил 54,9 (34–78) года. Локализация костных метастазов: позвоночник – 11 (32,3 %), плечевая кость – 7 (20,5 %), бедренная кость – 4 (11,6 %), ребра – 4 (11,6 %), кости таза – 3 (8,8 %), лопатка – 2 (5,8 %), другие кости (грудина, кости черепа, ключиц) – по 3 (8,8 %). Единичные костные метастазы – 23 (67,6 %), множественные – 11 (32,4 %). Наличие экстраоссального мягкотканного компонента наблюдалось в 75 % случаев. Всем больным с мПКР проводилось комбинированное лечение, включающее в себя 2-месячный курс предоперационной таргетной терапии Пазопанибом. В связи с возможной необходимостью гемотрансфузии при вмешательстве на пораженном костном фрагменте хирургическое лечение костных метастазов выполнялось в первую очередь в условиях двух функционирующих почек, затем осуществлялась нефрэктомия или резекция первичной опухоли. С целью восстановления костных дефектов использовались как биодеградируемые поликомпозиционные материалы, так и мультимодальные металлоконструкции. В послеоперационном периоде пациенты продолжали получать таргетную терапию (рис. 1).



Рис.1. Дизайн исследования

Эффективность ПТТ в первичной опухоли оценивалась по критериям RECIST 1.1, а в оценке метастатических костных очагов использовались критерии MDA, которые давали возможность оценить ответ на лечение не только экстраоссального мягкотканного компонента, но и внутрикостного фрагмента опухоли. Исследование качества жизни (КЖ) проводилось методом анкетирования до и после проведения ПТТ. Использовались опросники «Functional Assessment of Cancer Therapy Kidney Symptom Index» (FKSI-15) и «Functional Assessment of Cancer Therapy General» (FACT-G).

Результаты. Проведение ПТТ характеризовалось относительно низкой токсичностью, большинство нежелательных явлений, связанных с приемом препаратов (91,7 %), относились к 1–2-й степени тяжести и легко поддавались коррекции (табл.1).

Таблица 1

Побочные действия вызванные приемом Пазопаниба

Побочные явления	Количество больных, n=34	
	1-2 степени	3 степени
Астения	14 (46,7 %)	
Гипертензия	12 (40 %)	1 (3,3 %)
Обесцвечивание волос	12 (40 %)	
Кожная токсичность	8 (26,7 %)	
Повышение уровня АЛТ/АСТ	7 (23,3 %)	2 (6,7 %)
Головная боль	5 (16,7%)	
Диарея	3 (10 %)	
Тошнота	3 (10 %)	
Нейтропения	2 (6,7 %)	1 (3,3 %)
Анемия	1 (3,3 %)	1 (3,3 %)

При оценке динамики КЖ отмечено значимое изменение данного показателя в лучшую сторону как по шкале FKSI-15 (до ПТТ – 42,5±2,32, после ПТТ – 46,7±2,17, p≤0,05), так и по опроснику FACT-G (до ПТТ – 82,5±3,85, после ПТТ – 86,3±3,74, p≤0,05). Улучшение качества жизни отмечалось, в большей степени, за счет уменьшения интенсивности боли и увеличения объема движений (p≥0,05) (рис. 2, 3). Проведение ПТТ пазопанибом у больных мПКР с костными метастазами характеризовалось высокой эффективностью как в отношении первичной опухоли – клинический ответ по сумме частичных регрессий опухоли и стабилизаций процесса составил 88,2 % по критериям RECIST 1.1 (частичная регрессия – 9, стабилизация – 21), – так и в метастатическом очаге – 64,7 % по MDA критериям (частичная регрессия – 7, стабилизация – 15). Ответ внутрикостного компонента метастатического очага проявлялся изменением плотности литического дефекта, в том числе появлением склеротического ободка по периферии, а также зон склероза внутри опухолевого узла (табл. 2).

Таблица 2

Эффективность применения Пазопаниба в предоперационном режиме

Эффект	Первичный очаг	Метастаз
	n=34 (100 %) RECIST 1.1	n=34 (100 %) MDA
Полная регрессия (ПР)	0 (0 %)	0 (0 %)
Частичная регрессия (ЧР)	8 (2,5 %)	7 (20,5 %)
Стабилизация	19 (61,7 %)	15 (44 %)
Прогрессирование	7 (11,7 %)	12 (35,3 %)
Клинический ответ (ПР+ЧР+стабилизация)	27 (88,2 %)	22 (64,7 %)

Регрессия мягкотканного компонента и репарация костного компонента метастатического очага позволили у 29 (85,2 %) пациентов выполнить органосохраняющие операции на пораженном костном сегменте. Следует отметить, что у 5 (14,7 %) больных после проведения ПТТ, в связи со значительным уменьшением распространенности метастатического поражения, объем хирургического пособия был изменен в пользу сегментарной резекции кости, вместо исходно планировавшейся экстирпации либо ампутации. Медиана уменьшения размеров первичного очага составила 17,4 % (2,3–31,1 %), а для метастатического очага – 19,3 % (2,7–36,8 %).

Выводы. Проведение ПТТ у больных с костными мПКР позволяет выраженно снизить болевой синдром, обусловленный метастатическим поражением костной ткани, уменьшить объем кровопотери на хирургическом этапе, в ряде случаев уменьшить запланированный объем оперативного вмешательства на метастатическом очаге, возможность проведения органосохраняющих операций позволяет сохранить функцию в пораженном костном сегменте, тем самым проведение ПТТ выраженно улучшает качество жизни пациентов с костными метастазами рака почки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Heng D.Y. External validation and comparison with other models of the International Metastatic Renal-Cell Carcinoma Database Consortium prognostic model: a populationbased study. *Lancet Oncology*. 2013; 14(2): 141–148.
2. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Состояние онкологической помощи населению России в 2016 году. М.: МФГБУ «МНИОИ им. П.А. Герцена» Минздрава России. 2017. 236.
3. Chandrasekar T, Klaassen Z, Goldberg H, Kulkarni G.S, Hamilton R.J, Fleshner N.E. Metastatic renal cell carcinoma: Patterns and predictors of metastases—A contemporary population-based series. *Urol Oncol*. 2017 Nov; 35(11): 661.e7661.e14. doi: 10.1016/j.urolonc.2017.06.060.
4. Юрмазов З.А., Усынин Е.А., Спирина Л.В., Кондакова И.В., Слонимская Е.М. Прогностическое значение экспрессии транскрипционных факторов, фактора роста VEGF, его рецептора, протеинкиназы M-Tor и активности внутриклеточных протеиназ у больных диссеминированным раком почки. *Сибирский онкологический журнал*. 2015; 1(5): 44–50.
5. Алексеев Б.Я. Неoadьювантная таргетная терапия у больных почечно-клеточным раком. *Онкоурология*. 2015; 2: 24–33.
6. Chandrasekar T, Klaassen Z, Goldberg H, Kulkarni G.S, Hamilton R.J, Fleshner N.E. Metastatic renal cell carcinoma: Patterns and predictors of metastases—A contemporary population-based series. *Urol Oncol*. 2017 Nov; 35(11): 661.e7661.e14. doi: 10.1016/j.urolonc.2017.06.060.

ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ РОЛЬ TH2-ЛИМФОЦИТОВ ПРИ ИНВАЗИВНОЙ КАРЦИНОМЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОГО ТИПА

Л.С. Ляпунова, Л.А. Таширева, М.В. Завьялова

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

Аннотация

В настоящее время накоплено большое количество данных о важности воспалительной инфильтрации для опухолевой прогрессии, причем все большее количество исследований указывает на значимость субпопуляционного состава инфильтрата, а также его локализации внутри опухолевого узла. Выраженность инфильтрации опухоли лимфоцитами является хорошим прогностическим фактором при многих карциномах человека. Большая часть лимфоцитов в солидных опухолях является CD3+ Т-клетками, в том числе Th2-хелперами, потенциально имеющими проопухолевое влияние. С использованием метода многоцветной иммунофлуоресценции были получены данные, указывающие на связь Th2-лимфоцитов с гематогенным метастазированием. Так, Th2-лимфоциты вблизи альвеолярных, солидных структур и дискретных групп опухолевых клеток чаще обнаруживались у больных ИКНТ с наличием гематогенных метастазов, и большее их количество вблизи альвеолярных структур было ассоциировано с увеличением риска развития гематогенных метастазов.

Ключевые слова: Th2-лимфоциты, морфологическая гетерогенность, ИКНТ.

THE PROGNOSTIC ROLE OF TH2 LYMPHOCYTES IN INVASIVE BREAST CARCINOMA OF NON-SPECIFIC TYPE

L.S. Lyapunova, L.A. Tashireva, M.V. Zavyalova

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

Abstract

To date a large amount of data has been accumulated on the importance of inflammatory infiltration for tumor progression, with an increasing number of studies indicating the importance of the subpopulation composition of the infiltrate, as well as its localization in the tumor. Tumor infiltrating lymphocytes represent a good prognostic factor in many human carcinomas. Most lymphocytes in solid tumors are CD3 + T cells, including Th2 lymphocytes, potentially having a pro-tumor effect. Using the method of multicolor immunofluorescence, the association of Th2 lymphocytes with hematogenous metastasis was found. Th2 lymphocytes located close to the alveolar structures, solid structures and discrete groups of tumor cells were more often detected in IC NST patients with hematogenous metastases, and their greater number located near the alveolar structures was associated with an increased risk of hematogenous metastases.

Key words: Th2-lymphocytes, morphological heterogeneity, IC NST.

Актуальность. Развитие отдаленных метастазов становится причиной более 90 % всех случаев смерти, связанных с раком молочной железы, однако эта форма прогрессирования остается наиболее плохо изученным компонентом патогенеза рака [1]. Определенную роль в этом играет существующая сложная взаимная коммуникация опухолевых клеток и микроокружения [2]. Инфильтрирующие строму опухоли лимфоциты (TIL) считаются проявлением противоопухолевой реакции организма. Выраженность инфильтрации опухоли лимфоцитами является хорошим прогностическим фактором при колоректальном раке, меланоме, раке легких [3] и раке молочной железы [4, 5]. Тем не менее разработанные рекомендации по использованию выраженности TIL в качестве прогностического фактора эффективны лишь для трижды негативного и Her2neu-позитивного подтипа РМЖ [6]. Причиной этого может быть существующая гетерогенность как популяций лимфоцитов в опухоли, так и самих опухолевых клеток, в частности морфологическая.

Большая часть TIL в солидных опухолях является CD3+ Т-клетками. В эту популяцию входят хелперные CD4+ клетки, включая подтипы Th1 и Th2, в зависимости от их профиля цитокинов, регуляторные CD4+ Т-клетки (Treg) и цитотоксические эффекторные CD8+ клетки. Накоплено множество данных о вкладе отдельных клеток в течение опухолевой болезни. Так, существуют факты, говорящие о благоприятном влиянии CD8+, Th1-лимфоцитов, M1-макрофагов, N1-нейтрофилов на исход многих типов карцином. Противоположные эффекты описаны для Th2-лимфоцитов, B-лимфоцитов, M2-макрофагов и N2-нейтрофилов [7, 8].

Однако убедительных данных о прогностической значимости популяции Th2-лимфоцитов при инвазивной карциноме неспецифического типа (ИКНТ) на данный момент не представлено, в этой связи данный вопрос остается весьма актуальным.

Цель исследования – оценить связь Th2-лимфоцитов, локализующихся вблизи различных морфологических структур инвазивной карциномы неспецифического типа молочной железы, с гематогенным метастазированием.

Материал и методы. В исследование включено 148 больных с диагнозом ИКНТ (T1–4N0–3M0, люминальный А тип – 62 пациента, люминальный В – 51, тройной негативный – 20 и Her2neu-позитивный вариант – 15 пациентов), проходивших лечение в отделении общей онкологии НИИ онкологии Томского НИМЦ. Всем пациенткам было проведено оперативное лечение в объеме секторальной резекции или радикальной или подкожной мастэктомии. Химиотерапевтическое лечение в неoadъювантном режиме не проводилось. Для всех пациенток было оценено структурное разнообразие опухоли и выделены такие виды морфологических структур, как тубулярные, альвеолярные, солидные, трабекулярные, а также дискретные группы опухолевых клеток и одиночные опухолевые клетки [7].

Для оценки иммунофенотипа воспалительного инфильтрата вблизи различных структур был применен метод мультиплексного иммуногистохимического окрашивания гистологических срезов с использованием первичных антител против CK7 (clone OV-TV 12/30, Dako, USA), CD3 (Dako, USA), GATA3 (clone L50-823, Cell Marque, Germany) и технологии Tyramide Signal Amplification (TSA). Визуализацию полученных результатов производили с помощью мультиспектральной сканирующей системы Vectra 3.0 (Perkin Elmer, Hopkinton, MA), а анализ полученных изображений осуществляли, используя программное обеспечение inForm 2.4 (PerkinElmer, Hopkinton, MA). В каждом случае в микроокружении не менее 10 структур каждого типа был произведен подсчет количества CK7-/CD3+/GATA3+ клеток, а затем рассчитано среднее количество данных клеток в микроокружении структуры.

Статистическая обработка данных проводилась с использованием пакета программ «Statistica 8.0». Для анализа полученных данных были использованы критерии Вилкоксона и Манна – Уитни, точный критерий Фишера, а также регрессия Кокса. Результаты считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты. Проведено сравнение частот встречаемости GATA3+/CD3+/CK7- клеток в микроокружении различных морфологических структур ИКНТ. В общей группе больных достоверных различий изучаемого параметра не было обнаружено, однако при люминальном А типе GATA3+/CD3+/CK7- клетки чаще встречались вблизи тубулярных структур (табл. 1), по сравнению с остальными типами структур и по сравнению с люминальным В типом ИКНТ.

Таблица 1

Частота встречаемости GATA3+/CD3+/CK7- клеток вблизи различных структур ИКНТ, n/N (%)

Тип морфологических структур		Тубулярные	Альвеолярные	Солидные	Трабекулярные	Дискретные группы опухолевых клеток	Одиночные опухолевые клетки
		1	2	3	4	5	6
В общей группе	а	1/13 (7,69)	4/28 (14,29)	6/28 (21,43)	5/30 (16,67)	3/29 (10,34)	4/30 (13,33)
Люминальный А	б	6/7 (85,71) p2=0,015 p3=0,041 p4=0,015 p5=0,001 p6=0,049	2/10 (20,00)	2/9 (22,22)	2/10 (20,00)	0/10 (0,00)	3/10 (30,00)
Люминальный В	в	0/5 (0,00) P ₆ =0,015	1/13 (7,69)	3/14 (21,43)	3/15 (20,00)	2/14 (14,29)	1/15 (6,67)
Трижды негативный	г	Нет структур	1/2 (50,00)	1/2 (50,00)	0/2 (0,00)	1/2 (50,00)	0/2 (0,00)
Her2-позитивный	д	0/1 (0,00)	0/3 (0,00)	0/3 (0,00)	0/3 (0,00)	0/3 (0,00)	0/3 (0,00)

Для оценки связи GATA3+/CD3+/CK7- клеток с гематогенным метастазированием в первую очередь оценили частоту их встречаемости вблизи морфологических структур в группах пациентов с гематогенными метастазами и без таковых (табл. 2).

Таблица 2

Частота встречаемости GATA3+/CD3+/CK7- клеток вблизи различных структур ИКНТ у пациентов с гематогенными метастазами и без, n/N (%)

Тип морфологических структур		Тубулярные	Альвеолярные	Солидные	Трабекулярные	Дискретные группы опухолевых клеток	Одиночные опухолевые клетки
Пациенты без гематогенных метастазов		0/7 (0,00)	0/14 (0,00)	1/14 (7,14)	2/15 (13,33)	0/15 (0,00)	1/15 (6,67)
Пациенты с гематогенными метастазами		1/5 (20,00) p=0,417	4/13 (30,77) p=0,041	5/13 (38,46) p=0,077	3/14 (21,43) p=0,651	3/13 (23,08) p=0,087	3/14 (21,43) p=0,330

Примечание: p – по сравнению с пациентами без гематогенных метастазов.

В группе больных с гематогенными метастазами среднее количество GATA3+/CD3+/CK7- клеток было выше вблизи солидных структур, по сравнению с трабекулярными структурами и дискретными группами опухолевых клеток (p=0,043 и p=0,043, соответственно). Достоверных различий в среднем количестве Th2-лимфоцитов вблизи различных морфологических структур в группе больных без гематогенных метастазов обнаружено не было. Стоит отметить, что с учетом молекулярно-генетического типа опухоли показатели частоты встречаемости и количества GATA3+/CD3+/CK7- клеток вблизи различных структур ИКНТ не отличались для пациентов с гематогенными метастазами и без.

Было показано, что у пациентов с гематогенными метастазами вблизи альвеолярных структур, солидных структур и дискретных групп опухолевых клеток чаще встречаются GATA3+/CD3+/CK7- клетки (p=0,041, p=0,077 и p=0,087 соответственно) по сравнению с пациентами без гематогенных метастазов.

Описанная закономерность сохранялась на уровне тенденций для дискретных групп опухолевых клеток у пациентов с люминальным В, тройным негативным и Her2neu-позитивным типом ИКНТ (p=0,066, p=0,066 и p=0,066, соответственно).

Регрессионный анализ Кокса, где в качестве независимой переменной было использовано среднее количество GATA3+/CD3+/CK7- клеток в микроокружении альвеолярных струк-

тур, позволил показать, что увеличение количества Th2-лимфоцитов вблизи альвеолярных структур достоверно ассоциировано с увеличением риска развития отдаленных метастазов (HR=10 % при увеличении показателя среднего количества Th2-лимфоцитов вблизи альвеолярных структур на 0,1; p=0,011).

Выводы. В результате проведенного исследования было показано, что в инфильтрате вблизи каждого типа структур ИКНТ молочной железы могут быть обнаружены Th2-лимфоциты. Было показано, что у больных, в послеоперационном периоде которых развились гематогенные метастазы, Th2-лимфоциты чаще инфильтрировали строму вокруг альвеолярных и солидных структур и дискретных групп опухолевых клеток. Увеличение среднего количества данных клеток вблизи альвеолярных структур на 0,1 было достоверно ассоциировано с увеличением риска развития гематогенных метастазов на 10 % (согласно построенной модели Кокса, p=0,011).

ЛИТЕРАТУРА

1. Chaffer C.L., Weinberg R.A. A perspective on cancer cell metastasis. *Science*. 2011; 331(6024): 1559–1564.
2. Yuan Y., Jiang Y., Sun C., Chen Q. Role of the tumor microenvironment in tumor progression and the clinical applications. *Oncology Reports*. 2016; 35: 2499–2515. doi: 10.3892/or.2016.4660.
3. Reiser J., Banerjee A. Effector, Memory and Dysfunctional CD8 + T Cell Fates in the Antitumor Immune Response. *J Immunol Res*. 2016; 2016: 8941260. doi: 10.1155/2016/8941260.
4. Mahmoud S.M., Paish E.C., Powe D.G., Macmillan R.D., Grainge M.J., Lee A.H., Ellis I.O., Green A.R. Tumor-infiltrating CD8+ lymphocytes predict clinical outcome in breast cancer. *Journal of Clinical Oncology*. 2011; 29(15): 1949–1955.
5. de la Cruz-Merino L., Barco-Sánchez A., Henaó Carrasco F., Nogales Fernández E., Vallejo Benítez A., Brugal Molina J., Martínez Peinado A., Grueso López A., Ruiz Borrego M., Codes Manuel de Villena M., Sánchez-Margalet V., Nieto-García A., Alba Conejo E., Casares Lagar N., Ibáñez Martínez J. New insights into the role of the immune microenvironment in breast carcinoma. *Clin Dev Immunol*. 2013; 2013: 785317. doi: 10.1155/2013/785317.
6. Salgado R., Denkert C., Demaria S., Sirtaine N., Klauschen F., Pruneri G., Wienert S., Van den Eynden G., Baehner F.L., Penault-Llorca F., Perez E.A., Thompson E.A., Symmans W.F., Richardson A.L., Brock J., Criscitiello C., Bailey H., Ignatiadis M., Floris G., Sparano J., Kos Z., Nielsen T., Rimm D.L., Allison K.H., Reis-Filho J.S., Loibl S., Sotiriou C., Viale G., Badve S., Adams S., Willard-Gallo K., Loi S.; International TILs Working Group 2014. Harmonization of the evaluation of tumor infiltrating lymphocytes (TILs) in breast cancer: recommendations by an International TILs- Working Group 2014. *Ann Oncol*. 2015; 26(2): 259–271.
7. Перельмутер В.М., Таширева Л.А., Манских В.Н., Денисов Е.В., Савельева О.Е., Кайгородова Е.В., Завьялова М.В. Иммуновоспалительные реакции в микроокружении гетерогенны, пластичны, определяют противоопухолевый эффект или агрессивное поведение опухоли. *Журнал общей биологии*. 2017; 78(5): 15–36.
8. Petitprez F., Sun C.M., Lacroix L., Sautès-Fridman C., de Reyniès A., Fridman W.H. Quantitative Analyses of the Tumor Microenvironment Composition and Orientation in the Era of Precision Medicine. *Front. Oncol*. 2018; 8: 390.

ИММУНОФЕРМЕНТНЫЙ АНАЛИЗ В ОБНАРУЖЕНИИ БЕЛКОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С ОНКОЛОГИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ

К.А. Мальсагова, А.А. Изотов, А.Л. Кайшева

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича», г. Москва, Россия

Аннотация

В медико-биологических исследованиях привлекает внимание применение иммуносенсоров, которые регистрируют специфические взаимодействия антиген-антитело и характеризуются высокой селективностью и чувствительностью. Иммуносенсоры позволяют выявлять биологические компоненты (гормоны, ферменты, нейропептиды, факторы иммунной системы, антигены и т. д.) в низких и сверхнизких концентрациях. Иммуноферментный вариант анализа (ИФА) вызывает большой интерес у исследователей благодаря простоте использования, возможности выполнения мультиплексных измерений, комбинации с миниатюрными аналитическими системами и сравнительно низкой стоимости. В последнее десятилетие активно разрабатываются методы для обнаружения низкокопийных белков, ассоциированных с развитием онкологических заболеваний. Современные технологии значительно улучшили чувствительность ИФА-систем, необходимую для детекции целевых белков. Настоящая работа посвящена способам создания электрохимических иммуносенсоров для диагностики онкологических заболеваний.

Ключевые слова: электрохимический ИФА, антитела, иммуноанализ, диагностика рака, постгеномные технологии.

ENZYME IMMUNOASSAY FOR DETECTION OF CANCER-ASSOCIATED PROTEINS

K.A. Malsagova, A.A. Izotov, A.L. Kaysheva

Institute of Biomedical Chemistry (IBMC), Moscow, Russia

Abstract

The use of immunosensors to register specific antigen-antibody interactions with high selectivity and sensitivity is attractive in biomedical research. Immunosensors allow the biological molecules (hormones, enzymes, neuropeptides, factors of immune system, antigens, etc.) in low and ultra-low concentrations to be detected. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) is of great interest to researchers due to its high sensitivity, ease of use, the ability to automate and perform multiplex measurements, combination with miniature analytical systems and low cost. In the last decade, the methods for detection of low-abundance cancer-associated proteins are actively developed. Modern technologies have significantly improved the sensitivity of ELISA systems necessary for the detection of the target proteins. The research is devoted to the methods of creating electrochemical immunosensors for cancer diagnosis.

Key words: electrochemical ELISA, antibodies, immunoassay, cancer detection, post-genomic technologies.

Введение. Онкологические заболевания по своей природе многофакториальны и являются одной из основных причин смертности в мире. К факторам, вызывающим эти заболевания, относят облучение, инфекции, генетические модификации, которые нарушают целостность клетки, приводят к модификации клеточных процессов и бесконтрольной пролиферации. Высокая смертность от онкопатологий обусловлена поздней диагностикой, как правило, на терминальных стадиях, когда хорошо выражены симптомы [1]. В связи с этим разработка методов диагностики онкозаболеваний на ранних бессимптомных стадиях является актуальным направлением медико-биологических исследований. Наиболее привлекательно создание простых и недорогих аналитических систем, которые обеспечат высокую чувствительность и специфичность детекции целевых белков [2]. В лабораторной практике для обнаружения биомолекул, ассоциированных с онкопатологией, используют ИФА, вестерн-блот, оптические, электрохимические, флуоресцентные и радиоиммуносенсорные системы [3]. К золотому стандарту относят оптический ИФА «сэндвич» типа. Однако применение оптического ИФА для ранней диагностики ограничено низкой концентрационной чувствительностью $\sim 10^{-9}$ М [4].

В электрохимическом ИФА «сэндвич» типа распознавание целевой молекулы осуществляется методом двойного узнавания, а детекция – электрохимическим методом [5]. Сам иммуноанализ представлен тремя компонентами (рис. 1): (1) ковалентно иммобилизованными молекулярными зондами, (2) целевым анализом, который специфически связывается с молекулярными зондами, (3) вторичной молекулой распознавания с электрохимически активной сигнальной меткой [6]. Генерируемый сигнал пропорционален содержанию аналита, для регистрации которого используют вольтамперометрические методы. Этот тип анализа обеспечивает высокий уровень чувствительности и специфичности, мультиплексности и делает его пригодным для ранней диагностики онкопатологий [7]. В качестве молекулярных зондов используют комбинации антител и аптамеров [2]. Сигнальные метки могут быть представлены окислительно-восстановительными ферментами, металлическими частицами, квантовыми точками и пр. [3, 7, 8]. Так, в литературе анонсирована успешная электрохимическая ИФА детекция (R&D) для раково-эмбрионального антигена (РЭА), альфа-фетопротеина (АФП) и интерлейкина 8 (IL-8) с фемномолярной чувствительностью [8].

В электрохимическом ИФА «сэндвич» типа усиление сигнала обеспечивается путем увеличения площади сенсорной поверхности, тщательного выбора препарата антител. Предпринимаются попытки иммобилизовать молекулярные зонды в желаемой ориентации.

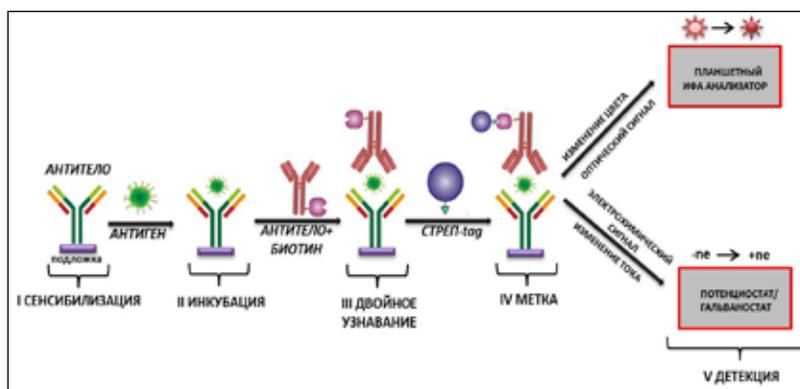


Рис. 1. Схема обнаружения целевых молекул с помощью электрохимического ИФА «сэндвич» типа

Выбор матрицы, модификация и разработка иммуносенсоров. Разработка иммуносенсоров включает выбор сенсорной матрицы с последующей иммобилизацией зондов на поверхности электрода. Матрица для электрохимического датчика может содержать монослои, полимеры, наноматериалы или их композиты [7, 9, 10]. Наиболее часто в качестве зондов используют антитела и их фрагменты, аптамеры и комплексы ДНК/РНК, которые иммобилизованы непосредственно на поверхности проводящего электрода [11]. В последние годы привлекают к себе большое внимание углеродные матрицы на основе оксида графена [12], восстановленного оксида графена [13], графеновых листов [14], углеродных нанотрубок [15] и их композитов с наночастицами [16] в связи с их высокой проводимостью, развитой поверхностью и стабильностью. В исследовании Gao (2014) авторы использовали β -циклодекстрин-графен для покрытия стеклогуглеродного электрода. При этом иммобилизацию молекул антител осуществляли путем физической адсорбции [12]. Профессор Li (2016) описал другой подход для увеличения сенсорной поверхности. Одностенные углеродные нанотрубки смешивали с хитозаном, модифицированным L-цистеином для получения структур с концевыми тиольными группами, которые использовали для связывания с золотыми наночастицами [5]. Kavosi et al. (2014) описали разработку иммуносенсора с использованием нанокompозита, состоящего из наночастиц золота, полиамидаминов, нанесенных на поверхность стеклогуглеродного электрода [17]. Использование гибридных и наноматериалов, свойства которых возможно контролировать и адаптировать желаемым образом, предоставило широкие возможности для разработки новых типов чувствительных иммуноанализов.

Обнаружение окислительно-восстановительного фермента. Большинство современных иммуносенсоров используют окислительно-восстановительные ферменты (ОВФ) для усиления сигнала и повышения чувствительности иммуноанализа [18]. В таких анализах вторичная молекула распознавания метится непосредственно ОВФ либо меткой, связывающей модифицированный ОВФ. После связывания ОВФ катализирует превращение субстрата в регистрируемый электроактивный продукт. Так, в исследовании Feng et al. (2016) использовали нанокompозиты с антителами, меченными пероксидазой хрена (ПХ) для усиления сигнала иммуносенсора при обнаружении РЭА [19]. При этом предел обнаружения РЭА составил 50 фМ, который был зарегистрирован с помощью дифференциальной импульсной вольтамперометрии. Kavosi et al. описали применение аптамер-модифицированного конъюгата ПХ и ПСА, при этом минимальная концентрация ПСА, которую удалось зарегистрировать, составила около 1 фМ [20]. Разработка зонда обнаружения на основе графена и полиамидаминового дендримера была описана Shen. При этом графен и полиамидаминовый дендример были конъюгированы посредством 1-этил-3(3-диметиламинопропил) карбодиимид гидрохлорида и N-гидроксисукцинимидом, а затем использованы для связывания с анти-АФП и ПХ. Используя такую методику, исследователям удалось с помощью амперометрии зарегистрировать АФП при наномолярной концентрации [21].

Закключение. За последние несколько лет исследователи показали, что электрохимические иммуносенсоры на основе ИФА могут достигать схожих и даже лучших результатов по сравнению с традиционными оптическими методами ИФА и способны заменить их в ближайшем будущем. Инновации в нано- и биотехнологиях привели к разработке новых «сэндвич» анализов с улучшенными характеристиками и стабильностью. Кроме того, электрохимические методы ИФА оптимальны для использования вне лабораторных условий без специальной подготовки биоматериала. Новые матрицы для иммобилизации зондов обеспечивают вы-

сокую степень захвата молекул и усиление регистрируемого сигнала. Предполагается, что дальнейшие достижения в области нанотехнологий наряду с химией, материаловедением, физикой и электроникой приведут к широкому применению этих разработок в лабораторной и клинической практике.

ЛИТЕРАТУРА

1. Tamkovich S.N., Voitsitskiĭ V.E., Laktionov P.P. Modern approach to breast cancer diagnostics. *Biomed Khim.* 2014 Mar-Apr; 60(2): 141–60.
2. Jayanthi V.S.P.K., Sankara A., Das A.B., Saxena U. Recent advances in biosensor development for the detection of cancer biomarkers. *Biosens Bioelectron.* 2017 May 15; 91: 15–23. doi: 10.1016/j.bios.2016.12.014.
3. Ranjan R., Esimbekova E.N., Kratasyuk V.A. Rapid biosensing tools for cancer biomarkers. *Biosens Bioelectron.* 2017 Jan 15; 87: 918–930. doi: 10.1016/j.bios.2016.09.061.
4. Chikkaveeraiah B.V., Bhirde A., Morgan N.Y., Eden H.S., Chen X. Electrochemical Immunosensors for Detection of Cancer Protein Biomarkers. *ACS Nano.* 2012; 6(8): 6546–6561.
5. Li Y., Zhang Y., Jiang L., Chu P.K., Dong Y., Wei Q. A sandwich-type electrochemical immunosensor based on the biotin-streptavidin-biotin structure for detection of human immunoglobulin G. *Sci Rep.* 2016 Mar 7; 6: 22694. doi: 10.1038/srep22694.
6. Shen J., Li Y., Gu H., Xia F., Zuo X. Recent development of sandwich assay based on the nanobiotechnologies for proteins, nucleic acids, small molecules, and ions. *Chem. Rev.* 2014; 114: 7631–7677. doi: 10.1021/cr300248x.
7. Anik U., Timur S. Towards the electrochemical diagnosis of cancer: Nanomaterial-based immunosensors and cytosensors. *RSC Adv.* 2016; 6: 111831–111841.
8. Feng T., Wang Y., Qiao X. Recent advances of carbon nanotubes-based electrochemical immunosensors for the detection of protein cancer biomarkers. *Electroanalysis.* 2016; 28: 1–15.
9. Wang L., Rong Q., Ma Z. Construction of electrochemical immunosensing interface for multiple cancer biomarkers detection. *Electroanalysis.* 2016; 28: 1692–1699.
10. Arduini F., Micheli L., Moscone D., Pallechi G., Piermarini S., Ricci F., Volpe G. Electrochemical biosensors based on nano-modified screen-printed electrodes: Recent applications in clinical analysis. *TrAC Trends Anal. Chem.* 2016; 79: 114–126.
11. Wan Y., Su Y., Zhu X., Liu G., Fan C. Development of electrochemical immunosensors towards point of care diagnostics. *Biosens. Bioelectron.* 2013; 47: 1–11.
12. Gao J., Du B., Zhang X., Guo A., Zhang Y., Wu D., Ma H., Wei Q. Ultrasensitive enzyme-free immunoassay for squamous cell carcinoma antigen using carbon supported Pd–Au as electrocatalytic labels. *Anal. Chim. Acta.* 2014; 833: 9–14.
13. Wang Z., Liu N., Ma Z. Platinum porous nanoparticles hybrid with metal ions as probes for simultaneous detection of multiplex cancer biomarkers. *Biosens Bioelectron.* 2014 Mar 15; 53: 324–9. doi: 10.1016/j.bios.2013.10.009.
14. Cui Z., Wu D., Zhang Y., Ma H., Li H., Du B., Wei Q., Ju H. Ultrasensitive electrochemical immunosensors for multiplexed determination using mesoporous platinum nanoparticles as nonenzymatic labels. *Anal. Chim. Acta.* 2014; 807: 44–50.
15. Feng T., Wang Y., Qiao X. Recent advances of carbon nanotubes-based electrochemical immunosensors for the detection of protein cancer biomarkers. *Electroanalysis.* 2016; 28: 1–15.
16. Ji L., Guo Z., Yan T., Ma H., Du B., Li Y., Wei Q. Ultrasensitive sandwich-type electrochemical immunosensor based on a novel signal amplification strategy using highly loaded palladium nanoparticles/carbon decorated magnetic microspheres as signal labels. *Biosens. Bioelectron.* 2015; 68: 757–762.
17. Kavosi B., Salimi A., Hallaj R., Amani K. A highly sensitive prostate-specific antigen immunosensor based on gold nanoparticles/PAMAM dendrimer loaded on MWCNTS/chitosan/ionic liquid nanocomposite. *Biosens. Bioelectron.* 2014; 52: 20–28.
18. Shen J., Li Y., Gu H., Xia F., Zuo X. Recent development of sandwich assay based on the nanobiotechnologies for proteins, nucleic acids, small molecules, and ions. *Chem. Rev.* 2014; 114: 7631–7677.
19. Feng T., Li L., Fang X., Han X., Zhang Y. Dual signal amplification of horseradish peroxidase functionalized nanocomposite as trace label for the electrochemical detection of carcinoembryonic antigen. *Electrochim. Acta.* 2014; 127: 334–341.
20. Kavosi B., Salimi A., Hallaj R., Moradi F. Ultrasensitive electrochemical immunosensor for PSA biomarker detection in prostate cancer cells using gold nanoparticles/PAMAM dendrimer loaded with enzyme linked aptamer as integrated triple signal amplification strategy. *Biosens. Bioelectron.* 2015; 74: 915–923.
21. Shen G., Hu X., Zhang S. A signal-enhanced electrochemical immunosensor based on dendrimer functionalized-graphene as a label for the detection of α -fetoprotein. *J. Electroanal. Chem.* 2014; 717–718: 172–176.

РАЗРАБОТКА НОВОЙ МЕТОДИКИ РЕКОНСТРУКТИВНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНОГО МЕТОДА ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ ДЛЯ ОДНОМОМЕНТНОГО ЗАМЕЩЕНИЯ ОБЪЕМНЫХ ДЕФЕКТОВ ПОСЛЕ РАДИКАЛЬНЫХ ОПЕРАЦИЙ ПО ПОВОДУ ТОТАЛЬНОГО ОПУХОЛЕВОГО ПОРАЖЕНИЯ НАРУЖНОГО НОСА

Е.Н. Менькова

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

Аннотация

Статья посвящена анализу анатомической специфики носа и вариантам реконструкции дефектов после выполнения радикальных хирургических операций по поводу опухолевого поражения наружного носа. Уже доказано, что первично произведенные реконструктивно-восстановительные операции не являются причиной появления рецидивов опухолей. Более того, процент рецидивов при первичной

пластике значительно ниже, чем при отсроченных операциях. В частности, рецидивы развиваются только по краю кожного трансплантата, не прорастая в него. Поэтому все большее количество хирургов склоняются к мысли о необходимости одновременно с удалением опухоли проводить пластическую операцию для замещения образующихся дефектов. Нами описана разработанная на базе НИИ онкологии Томского ТИМЦ методика реконструктивно-восстановительного хирургического лечения для одномоментного замещения объемных дефектов после радикальных операций по поводу тотального опухолевого поражения наружного носа. Данный метод заключается в реконструкции носа с помощью 3 полнослойных лоскутов: два полнослойных лоскута из носогубной области и один полнослойный лобный лоскут. После резекции наружного носа выкраивали два лоскута из носогубных складок, которые перемещали в проекцию дефекта кожи внутрь и сшивали между собой и остатками слизистой дна полости носа. После этого выкраивали лоскут со лба и формировали из него наружный нос. Спецификой лоскутов является их независимое кровоснабжение и разные функции, которые они выполняют после произведенной пластики. Приведен опыт работы отделения головы и шеи НИИ онкологии Томского научного исследовательского медицинского центра при восстановлении тотального дефекта наружного носа у 7 пациентов после онкологических операций по поводу продолженного роста/рецидива либо неэффективности предыдущих методов консервативного лечения.

Ключевые слова: опухоли кожи, реконструкция носа, онкология.

THE NEW METHOD OF SIMULTANEOUS RESECTION OF MALIGNANT MASS LESION AND EXTERNAL NOSE RECONSTRUCTION

E.N. Menkova

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

Abstract

The **Aim** of this article was to analyze anatomic features of the nose, as well as to consider different options of nasal reconstruction after radical surgery for external nose tumor. It has already been proven that the initially performed nasal reconstruction do not contribute to the tumor recurrence rate. Moreover, the recurrence rate is significantly lower in cases with primary plastic surgeries than in delayed surgeries. Tumor relapses developed only along edges of skin graft without it's ingrowing. Therefore, an increasing number of surgeons tend to consider the necessity of performing one-stage surgery with combination of tumor resection and nasal reconstruction in order to replace post-resective nasal defects. In this article we have described a new technique of one-step surgery with simultaneous resection of malignant mass lesion and external nose reconstruction. This method was developed on the basis of the Tomsk Cancer Research Institute. The technique consists of nose reconstruction with three full-thickness flaps: two of them are from the nasolabial region and one is a frontal flap. First, we cut out two flaps from the nasolabial folds after external nose resection. Second, we transfer these flaps to the defect projection with inward position of skin fragments; sew them between themselves and mucous coat of nasal cavity floor. Finally, we should cut out a flap from the forehead and form an external nose from it. The peculiarity of the flaps consists in their independent blood supply and the various functions in postoperative period. This article was based on data obtained from the head and neck department of Tomsk Cancer Research Institute. We observed seven patients with nasal reconstruction of post-resection total defect of external nose. These patients underwent surgery for continued tumor growth, tumor recurrence or the inefficiency of previous conservative treatment.

Key words: skin tumor, nose reconstruction, oncology.

Актуальность. Наружный нос является органом, который имеет сложное анатомическое строение и состоит из костных, хрящевых структур, а также мягкотканной выстилки с внутренней и наружной поверхностью. Он служит фокусной точкой лица, играет особенную роль в восприятии наружности человека, именно поэтому любые косметические недостатки (дефекты) носа неизбежно становятся тяжелейшим психотравмирующим фактором [1]. По частоте опухолевого поражения наружного носа чаще приходится сталкиваться с плоскоклеточным или базально-клеточным раком кожи, реже меланомой, кератоакантомой и раком из клеток Меркеля. По данным J. H. Choi et al. [2], кожа носа служит наиболее частой локализацией базально-клеточного рака на лице – от 33 до 42 % случаев. Соответственно, при резекции костной, хрящевой или любой из структур наружного носа, несущих на себе

опору, перед хирургом стоит большой вопрос о методе реконструкции данного дефекта [1, 2]. Проблема соответствующего норме реконструктивного восстановления наружного носа остается актуальной и частично не решенной задачей ринопластической хирургии. В определенных случаях результаты лечения наружного носа приводят к полному удалению мягкотканых, опорных-хрящевых и костных структур, что приводит к огромному дефекту (обезображенности) данной анатомической области, приводя, таким образом, к функциональным и эстетическим страданиям, что значительно ухудшает качество жизни данной категории больных [2]. Хирургическое восстановление наружного носа располагает множеством вариаций, но присутствует и ряд нерешенных проблем, например одномоментное устранение дефекта анатомической зоны области носа после тотальной резекции наружного носа. В настоящее время существует несколько вариантов реконструкций, которые можно разделить на 3 большие группы: экзопротезы, реваскуляризированные лоскуты, местные полнослойные лоскуты. Экзопротезирование заключается в изготовлении наружного протеза отсутствующего носа. Плюсы данной методики заключаются в отсутствии травматичности, снижении психологической травмы пациента, что способствует раннему восстановлению трудоспособности. Из недостатков экзопротезов можно назвать дороговизну и субъективное «отсутствие носа» у пациента [3]. Также при тотальных дефектах применяются свободные трансплантаты, реваскуляризированные лоскуты, которые дают достаточный объем материала и служат хорошим ложем для дальнейших реконструктивных этапов операций [4, 5]. Такая методика требует специальных знаний, наличия микрохирургической бригады врачей, дополнительного оборудования. К недостаткам методики, как показывает литература, относятся осложнения, которые достигают до 52,2 % при закрытии раны кожным трансплантатом, в виде частичного или полного его некроза, венозной недостаточности. Также в отдаленном периоде происходит уменьшение объема неосоноса на 10–30 % [6].

Таким образом, анализ современных литературных данных показывает, что большинство хирургов вернулись к использованию древней «индийской» пластики, внося в технику выполнения вмешательства лишь перемещение лоскутов лица и применение различных вариаций. В процессе пластики должны параллельно решаться несколько задач, а именно восстановление кожного покрова, костно-хрящевого каркаса и внутренней выстилки, а удаление наружного носа ставит большой вопрос о методе его реконструкции.

Цель исследования – достижение лучших эстетических и функциональных результатов при использовании данного варианта реконструктивно-восстановительного метода хирургического лечения для одномоментного замещения объемных дефектов после радикальных операций по поводу тотального опухолевого поражения наружного носа.

Материал и методы. Исследование по методу хирургической реконструкции наружного носа проводилось на базе НИИ онкологии Томского НИМЦ с 2013 по 2018 г. В исследовании были включены 7 больных с местнораспространенным процессом наружного носа (T3–4N0–1M0), все мужчины. Возраст пациентов колебался в пределах от 43 до 62 лет при среднем значении 51,8 года. В зависимости от гистологического строения опухоли были представлены следующим образом: базальноклеточный рак кожи – 2 (28,6 %) случая, плоскоклеточный рак кожи – 4 (71,4 %). Отличительной особенностью больных с опухолями кожи носа явилось то, что у пациентов был распространенный процесс в результате рецидивирования после хирургического лечения и неэффективности предшествующего лечения (криодеструкция, ФДТ, лазеролечение, лучевая терапия). В связи с прогрессированием, распространенностью процесса требовалось радикальное хирургическое лечение в объеме тотального удаления наружного носа с прилежащими анатомическими зонами, после чего возникали комбинированные сквозные дефекты, выходящие за пределы одной эстетической субъединицы. Реконструктивно-восстановительная операция осуществлялась следующим образом: под общим обезболиванием производили иссечение старых послеоперационных рубцов, далее иссекали опухоль в соответствии со стандартами проведения вмешательства в онкологии и создавался тотальный (в некоторых случаях комбинированный) дефект. Использовались два лоскута из носогубных складок и один лобный лоскут: выкраивалось 2 симметричных кожно-жировых лоскута из носогубных складок на питающих ножках в области, прилежащей к послеоперационному дефекту, основанием обращенных к анатомическому расположению крыльев носа. За счет хорошего кровоснабжения кожных покровов лица через систему поверхностной височной и лицевой артерии с развитой подкожной сетью сосудов возможна широкая мобилизация окружающей кожи и выкраивание кожно-жировых полнослойных лоскутов на питающей ножке со значительным углом ротации и основанием лоскута, максимально близко расположенным к дефекту. Данные лоскуты используют для

одновременного образования 2 крыльев носа и перегородки носа. Эти лоскуты опрокидывают в проекцию дефекта кожей внутрь, затем их сшивают между собой и с остатками внутренней выстилки слизистой дна полости носа. Из них образуются крылья носа, а также перегородка носа путем помещения между ними реберного аутохряща. Третий – лобный кожно-жировой – лоскут имеет особенности кровоснабжения, заключающиеся в том, что в области медиального угла глаза существует богатая сеть анастомозов между надблоковой, надглазничной и угловой артериями. Эта сосудистая сеть и хирургическая техника забора лоскута, сохраняющая местный кровоток, позволяют забирать парамедиальный лоскут на ножке, которая дает большую свободу ротации вокруг опорной точки и в силу этого дает большую эффективную длину лоскута. Основывающийся на надблоковой артерии и ее анастомозах с окружающими сосудами парамедиальный лобный лоскут представляет собой осевой поворотный вставочный лоскут с обильным кровоснабжением. Концом лобного лоскута формируется кончик носа и его преддверие путем сшивания всех 3 лоскутов между собой. Полость носа тампонируют йодоформным тампоном. Для обеспечения дыхания возможно использование силиконовых трубочек. Носовой тампон удаляют на 5–6-е сут. Снятие кожных швов осуществляют на 10–12-е сут.

Результаты. Комплексная оценка заживления раны после иссечения новообразования наружного носа с ликвидацией образовавшегося дефекта реконструктивно-восстановительной операцией с помощью 3 лоскутов заключалась в отслеживании динамики клинической симптоматики, клинико-лабораторных показателей, данных локальной термометрии, морфологического исследования, а также фотографирование в 5 проекциях и видеоэндоскопическое сопровождение в послеоперационном периоде. При видеоэндоскопическом сопровождении процессы заживления в полости носа в послеоперационном периоде протекали без особенностей, без признаков воспаления. Заживление происходило первичным натяжением. В раннем послеоперационном периоде не установлены случаи некроза, венозной недостаточности лоскутов или расхождения швов. В зависимости от вида забора лобного лоскута в отсроченном послеоперационном периоде наблюдалось различное уменьшение объема неоноса. При выкройке лоскута без апоневроза сокращение объема неоноса происходило на 20–30 %, что требовало дальнейших вмешательств в виде липофиллинга. При выкройке лоскута с апоневрозом – на 5–10 %. В ходе наблюдения за пациентами в течении 5 лет в одном случае возник продолженный рост на соседнюю анатомическую область спустя 4 мес после операции, потребовалось повторное хирургическое вмешательство в объеме резекции верхней губы. В остальных случаях признака рецидива не выявлено.

Выводы. Восстановление наружного носа с использованием 3 полнослойных лоскутов у больных со злокачественными новообразованиями кожи носа позволяет добиться стабильных косметических результатов при незначительном количестве осложнений и низкой склонности к последующей деформации лоскутов. Практическое применение данного способа реконструкции наружного носа показало его высокую эффективность, обусловленную и одномоментным этапом реконструкции, и хорошими эстетическими, функциональными результатами: сохранение естественной (приближенной к окружающим тканям лица) окраски кожи, формирование носовых ходов (ноздрей) естественных размеров, формирование неоноса анатомической конфигурации.

ЛИТЕРАТУРА

1. Сергеев Ю.Н., Медведев Ю.А., Усатов Д.А. Особенности лечения базалиом лица и шеи. Онкохирургия. 2013; (1): 147.
2. Choi J.H., Kim Y.J., Kim H., Nam S.H., Choi Y.W. Distribution of basal cell carcinoma and squamous cell carcinoma by facial aesthetic unit. Arch Plast Surg. 2013 Jul; 40(4): 387–91.
3. Брусов А.Б., Орловский И.П. Эктопротезирование дефектов и деформаций средней зоны лица. Стоматология. 2010; 3: 52–56.
4. Васильев С.А. Выбор метода реконструкции носа. Ринология. 2005; 39–42.
5. Сергеев Ю.Н., Медведев Ю.А., Усатов Д.А. Особенности лечения базалиом лица и шеи. Онкохирургия. 2013; (1):147.
6. Ларичев А.Б., Чистяков А.Л., Комлев В.Л. Сравнительная оценка заживления раны при использовании локального лоскута и полнослойного кожного трансплантата в реконструктивно-восстановительной хирургии головы и шеи. Раны и раневые инфекции. Журнал имени профессора Б.М. Костюченка. 2016; 2: 37–46.

СУБПОПУЛЯЦИИ МОНОНУКЛЕАРНЫХ ЛЕЙКОЦИТОВ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С МЕЛАНМОЙ КОЖИ

Б.Ю. Мурашев, А.С. Аверчук, Е.Ю. Сергеева, Т.Г. Рукша

ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения, г. Красноярск, Россия

Аннотация

Заболеваемость меланомой сохраняет тенденцию к росту. Одним из перспективных терапевтических подходов при злокачественных новообразованиях, включая меланому, является иммунотерапия. На антигенные особенности клеток иммунной системы влияют как вещества, вырабатываемые опухолевыми клетками, так и продукты, высвобождаемые опухолевым микроокружением. В работе исследованы изменения спектра кластеров дифференцировки мононуклеарных лейкоцитов крови у больных с меланомой кожи и здоровых доноров после инкубирования в кондиционированной среде. Лейкоциты, выделяемые из венозной крови опытной и контрольной группы, культивировались в условиях обычной и кондиционированной среды полученной культуры клеток меланомы BRO. Поверхностные маркеры лимфоцитов CD3+, CD8+, CD45R0+ определяли методом лазерной проточной цитофлуориметрии с использованием соответствующих моноклональных антител с мембранными CD-рецепторами. Установлено, что в условиях обычной питательной среды у пациентов с меланомой уровень лейкоцитов с фенотипом CD45R0+ и CD3+CD8- достоверно выше, чем у лиц контрольной группы. Культивирование в условиях кондиционированной среды приводило к более значительному повышению субпопуляций незрелых и функционально не активных лимфоцитов (CD45R0+ и CD3+CD8-) у пациентов с меланомой, в то время как уровень этих клеток у здоровых лиц снижался. Повышение количества лейкоцитов, не обладающих цитотоксическим действием, у пациентов с меланомой может быть обусловлено взаимодействием клеток иммунной системы со специфическими антигенами меланомы. Использование кондиционированной среды при культивировании позволяет создать модель взаимодействия факторов, выделяемых опухолевым микроокружением, с иммунной системой пациентов. Показано, что добавление кондиционированной среды приводит к еще более выраженному повышению незрелых и функционально не активных лимфоцитов по сравнению с условиями обычной среды, в то время как у здоровых лиц выявлена обратная закономерность. Таким образом, клетки иммунной системы пациентов с меланомой обладают измененной чувствительностью к действию факторов опухолевого микроокружения, что проявляется снижением эффективности иммунного ответа организма.

Ключевые слова: меланوما кожи, мононуклеарные лейкоциты, иммунофенотипирование, CD-маркеры, проточная цитофлуориметрия.

SUBPOPULATIONS OF MONONUCLEAR BLOOD LEUKOCYTES IN PATIENTS WITH MELANOMA OF SKIN

B.Yu. Murashev, A.S. Averchuk, E.Yu. Sergeeva, T.G. Ruksha

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Krasnoyarsk State Medical University named after Professor V.F. Voino-Yasensky» Ministries of Health, Krasnoyarsk, Russia

Abstract

The incidence of melanoma continues to grow. One of the promising therapeutic approaches for malignant tumors, including melanoma, is immunotherapy. The antigenic characteristics of the cells of the immune system are influenced both by substances produced by tumor cells and products released by the tumor microenvironment. In our study, we investigated changes in the spectrum of clusters of differentiation of mononuclear blood leukocytes in patients with skin melanoma and healthy donors after incubation in a conditioned medium. Leukocytes secreted from the venous blood of the experimental and control groups were cultured under the conditions of a normal and conditioned medium obtained from a culture of BRO melanoma cells. The surface markers of lymphocyte CD3+, CD8+, CD45R0+ were determined by laser flow cytometry using appropriate monoclonal antibodies with membrane CD receptors. We found that in conditions of a normal nutrient medium, the level of leukocytes with the phenotype CD45R0 + and CD3+CD8- was significantly higher in patients with melanoma than in the control group. Cultivation in a conditioned environment led to a more significant increase in subpopulations of immature and functionally inactive lymphocytes (CD45R0+ and CD3+CD8-) in patients with melanoma, while the level of these cells

in healthy individuals decreased. The increased number of leukocytes having no cytotoxic effect in patients with melanoma could be due to the interaction of the cells of the immune system with specific antigens of melanoma. The use of conditioned medium during cultivation allowed creation of the model of the interaction of factors secreted by the tumor microenvironment with the immune system of patients. It was shown that the addition of the conditioned medium led to a more increased level of immature and functionally inactive lymphocytes compared to that under the normal environmental condition, while the inverse relationship was revealed in healthy individuals. Thus, the cells of the immune system of melanoma patients have an altered sensitivity to the action of tumor microenvironmental factors that is manifested by the reduction in the effectiveness of the immune response.

Key words: melanoma of skin, mononuclear leukocytes, immunophenotyping, CD markers, flow cytometry.

Актуальность. Рак кожи, в том числе меланома, представляет собой наиболее распространенный тип злокачественных новообразований [1–4]. Заболеваемость данной патологией растет во всем мире. В то время как препараты, направленные на ингибирование экспрессии онкогенов, могут вызывать развитие лекарственной устойчивости, является перспективным использование иммунотерапии [5]. Один из новых подходов в лечении меланомы – применение блокаторов контрольных точек иммунного ответа. Однако на эффект иммунотерапии влияет, в том числе, и фенотипический профиль лейкоцитов пациента. В частности, показано, что присутствие регуляторных Т-клеток при меланоме кожи с иммунофенотипом CD4+CD25+FoxP3+ может способствовать развитию резистентности к анти-PD1/PDL1 терапии [6]. На изменение антигенных свойств лимфоцитов могут повлиять как продукты малигнизированных клеток, так и факторы, выделяемые ассоциированными с опухолью клетками. Таким образом, исследование спектра антигенных свойств лейкоцитов в опухолевом микроокружении остается актуальным и требует дальнейшего изучения.

Целью исследования являлось изучение изменения спектра кластеров дифференцировки мононуклеарных лейкоцитов крови у больных с меланомой кожи и здоровых доноров.

Материал и методы. Проведено одномоментное исследование 3 пациентов с меланомой кожи. Средний возраст пациентов составил 40,5 (21; 76) лет, все пациенты были мужского пола. Группу контроля составили 4 здоровых человека, не болеющих меланомой кожи и сопоставимых по возрастным и гендерным характеристикам с пациентами основной группы. Все пациенты, включенные в исследование, подписали информированное согласие. Протокол исследования одобрен этическим комитетом Красноярского государственного медицинского университета, Красноярского краевого клинического онкологического диспансера имени А.И. Кржжановского (протокол №70 от 06.06.2016 и №8 от 14.06.17). Материалом исследования являлась **Цельная** венозная кровь. Венозная кровь у пациентов бралась из локтевой вены, согласно всем правилам преаналитического этапа исследований, в вакуумные пробирки объемом 9 мл с добавлением ЭДТА-К3 («INSEPACK», Sekisui Medical Technology, г. Пекин, Китай) для культуральных методов исследования. Мононуклеарные лейкоциты выделяли в стерильных условиях из **Цельной** крови методом градиентного центрифугирования с использованием фиколла («Биолот», г. Санкт-Петербург, Россия) ($p=1,077$). Затем культивировали в полной питательной среде, согласно протоколу исследования при температуре 37 °C и 5 % CO₂ в течение суток [7]. После 24-часового инкубирования лейкоцитов супернатант отбрасывали и продолжали культивировать мононуклеарные лейкоциты крови в условиях кондиционированной среды. Кондиционированная среда готовилась предварительно, согласно протоколу приготовления. Для этого клетки культуры меланомы BRO культивировали в CO₂ инкубаторе (Sanyo, JP) при температуре 37 °C несколько пассажей для достижения высокой пролиферативной активности и жизнеспособности культуры, после пересаживали в планшеты на 24 лунки в концентрации 1×10^5 кл/мл. Через 24 ч, после прикрепления клеток ко дну лунки, среду заменяли на свежую, состоящую исключительно из RPMI-1640 (Gibco, Life Technologies, Paisley, UK), без фетальной бычьей сыворотки и комплекса антибиотик-антимикотик, в объеме 450 мкл и культивировали 24 ч в CO₂ инкубаторе при температуре 37°C. Через сутки питательную среду заменяли на свежую RPMI-1640 без добавления фетальной бычьей сыворотки и комплекса антибиотик-антимикотик в объеме 500 мкл и продолжали культивировать сутки при тех же условиях. После инкубации супернатант-кондиционированную среду собирали и хранили при температуре –20°C для дальнейшего использования. Определение поверхностных маркеров мононуклеарных лейкоцитов крови CD3+, CD8+, CD45R0+ осуществляли с использованием соответствующих моноклональных антител с мембранными CD-рецепторами в соответствии с инструкцией

производителя («Beckman Coulter», г Бреа, США) [7]. Готовые пробы анализировали с помощью лазерного проточного цитофлуориметра NAVIOS («Beckman Coulter», г. Бреа, США), определяли процентное содержание клеток в гейтах лейкоцитов, положительных к CD3-PE/Cy5, CD8-ECD, CD45R0-FITC. Результаты исследования выражали в условных единицах (у.ед.). Статистический анализ данных проводился с использованием статистического пакета IBM SPSS Statistics v.19. Подчинение закону нормального распределения количественных данных определялось с использованием критерия Шапиро – Уилка. Все количественные данные подчинялись закону нормального распределения, в связи с чем они представлены в виде среднего арифметического, минимального и максимального значений. В качестве критического значения уровня значимости было принято значение $p=0,05$.

Результаты. Результаты исследования показали, что уровень лимфоцитов как зрелых форм CD45R0+, так и субпопуляции CD3+CD8– в условиях обычной питательной среды был выше у пациентов с меланомой по сравнению с таковыми у здоровых доноров (рис. 1).

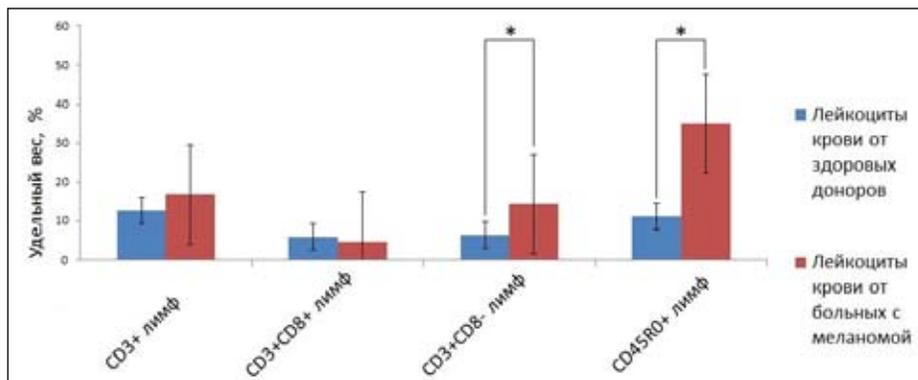


Рис 1. Субпопуляционный состав мононуклеарных лейкоцитов крови у пациентов с меланомой и здоровых доноров

Удельный вес CD3+ и CD3+CD8+ лимфоцитов в условиях культивирования в обычной питательной среде статистически значимо не изменялся как у пациентов с меланомой кожи, так и у здоровых доноров. Было установлено, что удельный вес CD45R0+, а также CD3+CD8– лимфоцитов в условиях добавления кондиционированной среды у пациентов с меланомой достоверно превышал их содержание, по сравнению с контрольной группой, и был значительно выше, чем в условиях культивирования в обычной питательной среде. При этом культивирование лейкоцитов здоровых лиц в кондиционированной среде приводило к снижению субпопуляций CD45R0+ и CD3+CD8– по сравнению с культивированием в обычных условиях.

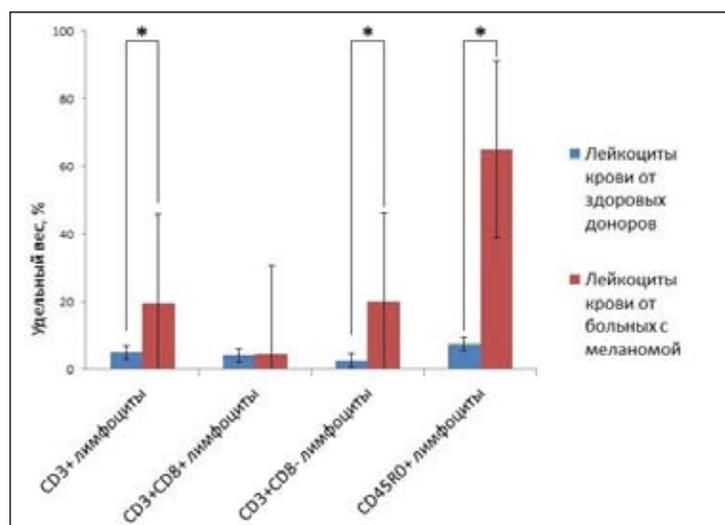


Рис 2. Субпопуляционный состав мононуклеарных лейкоцитов крови у пациентов с меланомой и здоровых доноров в условиях кондиционированной среды

Лейкоциты CD45R0+ являются активированными Т-хелперами (клетками памяти), CD3+CD8– – фракция незрелых Т-лимфоцитов. Известно, что у CD45R0+ лейкоцитов сни-

жена экспрессия L-селектина и они менее активно отвечают на стимулы [8]. Ни первые, ни вторые не обладают цитотоксическими свойствами, а их повышение в крови пациентов с меланомой может быть обусловлено взаимодействием иммунной системы со специфичными для меланомы антигенами, в частности melan-A [9]. Использование кондиционированной среды позволяет осуществить моделирование взаимодействия клеток меланомы и опухолевого микроокружения. В кондиционированной среде количество лейкоцитов с фенотипами CD45R0+ и CD3+CD8– достоверно повышалось. Таким образом, действие факторов, выделяемых опухолью, приводит к повышению количества лейкоцитов, не обладающих цитотоксическим действием. К опухолевым факторам относится VEGF, который способен нарушать дифференцировку и созревание клеток иммунной системы, блокируя активацию NF-κB в гемопоэтических клетках-предшественниках, при этом усиливаются миграционные способности незрелых и функционально не активных клеток. Семейство TGF-β тоже может замедлять созревание, влиять на миграцию клеток иммунной системы посредством регуляции экспрессии хемокинов и рецепторов к ним. TGF-β снижает экспрессию провоспалительных цитокинов ФНО-α, ИЛ-1, ИЛ-12 и интерферона-α, содействующих созреванию клеток иммунной системы. Лиганды семейства активина тоже меняют фенотип и функциональную активность клеток иммунной системы. К числу опухолевых факторов, влияющих на миграцию и активность клеток иммунной системы, относятся ИЛ-10, ИЛ-6, ИЛ-8, макрофагальный колониестимулирующий фактор (M-CSF), белок RANKL и др [10].

Выводы. Таким образом, при опухолевом процессе в ответ на выработку клетками опухоли биологически активных веществ снижается эффективность иммунного ответа. Лимфоциты, полученные от пациентов с меланомой и помещенные в условия кондиционированной среды (модель опухоль-ассоциированных лимфоцитов), реагируют на факторы микроокружения, в отличие от лимфоцитов здоровых лиц, повышением популяции функционально не активных клеток, что позволяет сделать вывод об измененной исходной чувствительности иммунной системы пациентов с меланомой к действию веществ, вырабатываемых опухолевыми клетками.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ, проект №14-15-00074П.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Apalla Z., Lallas A., Sotiriou E., Lazaridou E., Ioannides D.* Epidemiological trends in skin cancer. *Dermatol Pract Concept.* 2017; 7(2): 1–6. doi: 10.5826/dpc.0702a01.
2. *D'Aguzzo S., Valentini E., Tupone M.G., Desideri M., Di Martile M., Spagnuolo M., Buglioni S., Ercolani C., Falcone I., De Dominicis M., Milella M., Rizzo M.G., Calabretta B., Cota C., Anichini A., Triscioglio D., Del Bufalo D.* Semaphorin 5A drives melanoma progression: role of Bcl-2, miR-204 and c-Myb. *J Exp Clin Cancer Res.* 2018 Nov 19; 37(1): 278. doi: 10.1186/s13046-018-0933-x.
3. *Galasso M., Morrison C., Minotti L., Corrà F., Zerbinati C., Agnoletto C., Baldassari F., Fassan M., Bartolazzi A., Vecchione A., Nuovo G.J., Di Leva G., D'Atri S., Alvino E., Previali M., Nickoloff B.J., Croce C.M., Volinia S.* Loss of miR-204 expression is a key event in melanoma. *Mol Cancer.* 2018 Mar 9; 17(1): 71. doi: 10.1186/s12943-018-0819-8.
4. *Vitiello M., D'Aurizio R., Polisenio L.* Biological role of miR-204 and miR-211 in melanoma. *Oncoscience.* 2018; 5(78): 248–251.
5. *Palkina N., Komina A., Aksenenko M., Moshev A., Savchenko A., Ruksha T.* miR-204-5p and miR-3065-5p exert antitumor effects on melanoma cells. *Oncology letters.* 2018; 15: 8269–8280. doi: 10.3892/ol.2018.8443.
6. *Pulluri B., Kumar A., Shaheen M., Jeter J., Sundararajan S.* Tumor microenvironment changes leading to resistance of immune checkpoint inhibitors in metastatic melanoma and strategies to overcome resistance. *Pharmacol Res.* 2017 Sep; 123: 95–102. doi: 10.1016/j.phrs.2017.07.006.
7. *Беспалова И.Д., Рязанцева Н.В., Каложин В.В., Мурашев Б.Ю., Осихов И.А., Медянецев Ю.А., Афанасьева Д.С.* Субпопуляции и метаболическая активность мононуклеаров крови при метаболическом синдроме. *Медицинская иммунология.* 2014; 16(4): 345–352.
8. *Johannisson A., Festin R.* Phenotype transition of CD4+ T cells from CD45RA to CD45R0 is accompanied by cell activation and proliferation. *Cytometry.* 1995 Apr 1; 19(4): 343–52. doi: 10.1002/cyto.990190409.
9. *Dunbar P.R., Smith C.L., Chao D., Salio M., Shepherd D., Mirza F., Lipp M., Lanzavecchia A., Sallusto F., Evans A., Russell-Jones R., Harris A.L., Cerundolo V.* A Shift in the Phenotype of Melan-A-Specific CTL Identifies Melanoma Patients with an Active Tumor-Specific Immune Response. *J Immunol.* 2000; 165: 6644–6652.
10. *Chiaruttini G., Mele S., Opzommer J., Crescioli S., Ilieva K.M., Lacy K.E., Karagiannis S.N.* B cells and the humoral response in melanoma: The overlooked players of the tumor microenvironment. *Oncimmunology.* 2017; 6(4): e1294296(11p).

ПРИЗНАКИ ЭПИТЕЛИАЛЬНО-МЕЗЕНХИМАЛЬНОГО ПЕРЕХОДА В АТИПИЧНОЙ/ГИБРИДНОЙ ПОПУЛЯЦИИ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Р.Х. Мухамеджанов, Н.А. Тарабановская, М.В. Завьялова, О.Е. Савельева

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

Аннотация

Атипичные/гибридные клетки могут являться «семенами» для будущих метастазов, поскольку их наличие, например, при метастатическом раке яичника связано с возникновением гематогенных метастазов. В связи с этим изучение субпопуляций атипичных/гибридных опухолевых клеток представляет значительный фундаментальный и клинический интерес. В исследование были включены 22 больных инвазивной карциномой неспецифического типа молочной железы, у которых было изучено наличие признаков эпителиально-мезенхимального перехода в атипичной/гибридной популяции клеток как в крови, так и в опухоли. Для изучения фенотипа атипичных/гибридных опухолевых клеток в крови использовали метод проточной цитометрии. Оценку атипичных/гибридных клеток в первичной опухоли осуществляли методом конфокальной микроскопии. Была установлена связь наличия двух субпопуляций атипичных/гибридных клеток (CD45+CK7–EpCAM+NCadh+ и CD45+CK7–EpCAM+NCadh–) с вероятностью развития лимфогенных метастазов. Следует подчеркнуть, что признаком, объединяющим эти клетки, которые, по-видимому, обладают свойствами «семян», является потеря экспрессии CK7, при этом экспрессия N-кадгерина не столь значима.

Ключевые слова: атипичные/гибридные клетки, циркулирующие опухолевые клетки, эпителиально-мезенхимальный переход, метастазирование, рак молочной железы.

CHARACTERISTICS OF EPITHELIAL-MESENCHYMAL TRANSITION IN ATYPICAL/HYBRID TUMOR CELL POPULATION IN BREAST CANCER

R.K. Mukhamedzhanov, N.A. Tarabanovskaya, M.V. Zavyalova, O.E. Savelieva

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

Abstract

Atypical/hybrid cells have potential features of «seeds» for future metastasis as its presence in metastatic ovarian cancer is associated with haematogenous metastasis formation. Hence, study of atypical/hybrid tumor cell subsets has a fundamental and clinical importance. The study includes 22 patients with invasive carcinoma of no specific type. The presence of the characteristics of epithelial-mesenchymal transition in atypical/hybrid cells in blood and in tumor of the patients was studied. Flow cytometry was used to study the phenotype of atypical/hybrid cells in blood. Confocal microscopy was used to estimate atypical/hybrid cells in primary tumor. The relationship between the presence of two atypical/hybrid cell subsets (CD45+CK7–EpCAM+NCadh+ and CD45+CK7–EpCAM+NCadh–) and lymphogenic metastasis was observed. It is to be noted that the characteristic which combines all that cells with «seeds» features is the loss of CK7 expression whereas the N-Cadherin expression is not important.

Key words: atypical/hybrid cells, circulating tumor cells, epithelial-mesenchymal transition, metastasis, breast cancer.

Актуальность. Лидирующее место среди гипотез возникновения метастазов занимает концепция «семян и почвы» («seed and soil»), согласно которой для формирования метастаза должны совпасть процессы, обуславливающие появление клонов опухолевых клеток, способных метастазировать («семян»), и формирование оптимального клеточного и молекулярного микроокружения в местах развития гематогенных метастазов («почвы») [1]. В настоящее время отечественные и зарубежные учёные рассматривают в качестве «семян» циркулирующие опухолевые клетки (ЦОК), и их изучению уделяется большое внимание. Помимо типичных ЦОК в крови пациентов с раком молочной железы (РМЖ) были обнаружены клетки, экспрессирующие как общий лейкоцитарный маркер (CD45), так и эпителиальные маркеры (EpCAM и цитокератины) [2, 3]. Клетки с аналогичным фенотипом были также найдены в асцитической жидкости у больных с метастатическим раком яичника [4]. Кроме того, в экспериментах *in vivo* были получены гибриды клеток крови (лимфоцитов и макрофагов) и опухолевых клеток колоректального рака [5]. Lustberg M. et al. называют такие клетки атипичными [3]. Другие исследователи клетки с подобным фенотипом в опухоли называют гибридными [6–8]. Однако фактических данных об этих популяциях клеток очень мало,

до сих пор не ясны их происхождение и роль в опухолевом процессе, а также клиническое значение. При этом отмечается, что наличие таких клеток-гибридов при метастатическом раке яичника связано с возникновением гематогенных метастазов [4]. Поскольку наличие у типичных ЦОК признаков эпителиально-мезенхимального перехода (ЭМП) ассоциировано с неблагоприятным прогнозом и дальнейшей прогрессией опухоли [9], изучение экспрессии маркеров ЭМП у атипичных/гибридных опухолевых клеток представляет значительный фундаментальный и клинический интерес.

Учитывая вышесказанное, **Целью исследования** является оценка параметров ЭМП в атипичной/гибридной популяции опухолевых клеток при инвазивной карциноме неспецифического типа молочной железы (ИКНТ МЖ).

Материал и методы. В исследование были включены 22 больных ИКНТ МЖ T1–4N0–3M0 в возрасте 45,59±9,04 года, находившихся на лечении в отделении общей онкологии НИИ онкологии Томского НИМЦ с 2016 по 2018 г. Для изучения фенотипа атипичных/гибридных опухолевых клеток использовали антитела против поверхностных маркеров EpCAM (клон EBA-1, BD Biosciences, США), меченных FITC, CD45 (клон HI30, BD Biosciences, США), меченных PE-Cy7, и N-cadherin (клон 8C11, BD Biosciences, США), меченных PE, или соответствующие им изотипические контроли (BD Biosciences, США). Для определения внутриклеточного маркера CK7 добавляли антитела против CK7 (клон CAM5.2, BD Biosciences, США), меченные Alexa Fluor 647, или соответствующий изотипический контроль (BD Biosciences, США). Клетки подвергали проточной цитофлуориметрии на цитометре BD FACS Canto II (BD Biosciences, США). Абсолютное количество гибридных клеток считывали на 1 мл клеток крови.

Визуализацию атипичных/гибридных клеток в опухоли проводили с помощью метода конфокальной микроскопии. Использовали первичные антитела guinea pig anti-CK7 (Polyclonal, 1:50, Acris Antibodies, Германия), mouse anti-CD45 (RTU, clone PD7/26 + 2B11, Dako, Дания), rabbit anti-EpCam (polyclonal, 1:2000, Abcam, Великобритания), goat anti-N-cadherin (clone K-20, 1:50, Santa Cruz Biotechnology, США) в 1% BSA и коктейль вторичных конъюгированных антител anti-guinea pig IgG H&L (CF405) (Biotium, США), anti-mouse IgG H&L (Alexa Fluor 488) (Abcam, Великобритания), anti-rabbit IgG H&L (Cy3) (Abcam, Великобритания), anti-goat IgG H&L (Alexa Fluor 647) (Abcam, Великобритания) и ядерный краситель DRAQ5. Срезы анализировали с помощью лазерного сканирующего микроскопа LSM 780 NLO (CarlZeiss, Германия) при увеличении 630.

Для оценки полученных данных, их сравнения и выявления статистически значимых различий между группами был использован пакет прикладных программ SPSS Statistics 17.0. Проверка нормальности распределения проводилась с помощью критерия Колмогорова – Смирнова. Параметры, не подчиняющиеся нормальному закону распределения, описывали с помощью медианы (Me) и интерквартильного интервала (Q1–Q3). Сравнение показателей проводили с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни. Различия считались достоверными при уровне значимости $p < 0,05$ (5 %).

Результаты. По результатам цитометрического исследования крови пациентов, а также визуальной оценки клеточного состава опухолевых срезов с использованием конфокальной микроскопии нами была установлена иммунофенотипическая гетерогенность и признаки разных этапов ЭМП в атипичной/гибридной популяции клеток (рис. 1, 2). ЭМП представляет собой стадийный процесс. Проходя ЭМП, клетка теряет эпителиальные маркеры, такие как EpCam, цитокератин, E-кадгерин, и приобретает маркеры мезенхимности, такие как N-кадгерин, виментин и др. В связи с этим клетки с фенотипом CD45+CK7+EpCAM+NCadh– мы рассматриваем как клетки с эпителиальным фенотипом. Кроме этого, нами обнаружены пять субпопуляций атипичных/гибридных клеток с разными проявлениями ЭМП: CD45+CK7+EpCAM+NCadh+, CD45+CK7+EpCAM–NCadh–, CD45+CK7–EpCAM+NCadh–, CD45+CK7+EpCAM–NCadh+ и CD45+CK7–EpCAM+NCadh+.

Установлена прямая корреляционная зависимость между количеством атипичных/гибридных клеток с фенотипом CD45+CK7+EpCAM+ ($R=0,694$, $p=0,03$) в крови и опухоли. У пациентов, имевших лимфогенные метастазы, в крови было обнаружено более высокое количество CD45+CK7+EpCAM+ ($p=0,046$) и CD45+CK7–EpCAM+ ($p=0,029$) субпопуляций атипичных/гибридных клеток по сравнению с пациентами без метастазов (рис. 3).

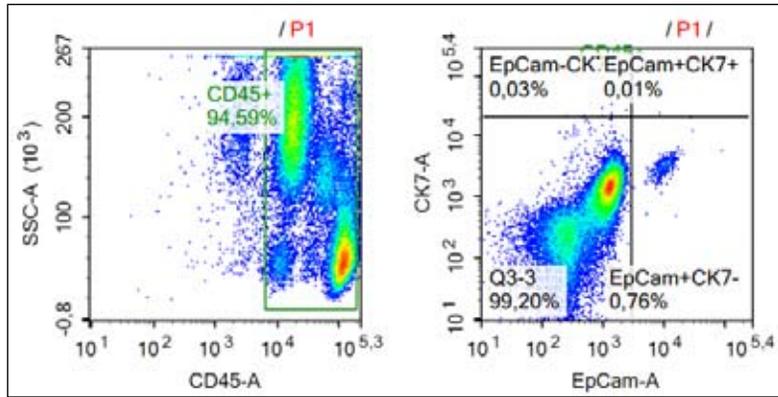


Рис. 1. Оценка содержания гибридных клеток в крови методом проточной цитометрии. По оси абсцисс – интенсивность флуоресценции (FITC-меченный EpCAM); по оси ординат – интенсивность флуоресценции (Alexa Fluor 647-меченный CK7). Квадранты: Q1-3 – CD45+CK7+EpCAM– клетки; Q2-3 – CD45+CK7+EpCAM+ клетки; Q3-3 – CD45+CK7–EpCAM– клетки; Q4-3 – CD45+EpCAM+CK7– клетки

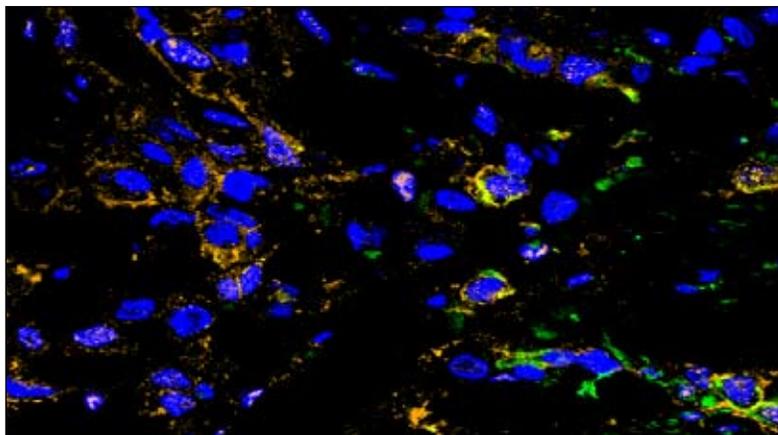


Рис. 2. Атипичные/гибридные клетки с фенотипом CD45+EpCAM+, полученные с помощью конфокального микроскопа. Синий цвет – ядро, зелёный цвет – CD45, оранжевый цвет – EpCAM; х630

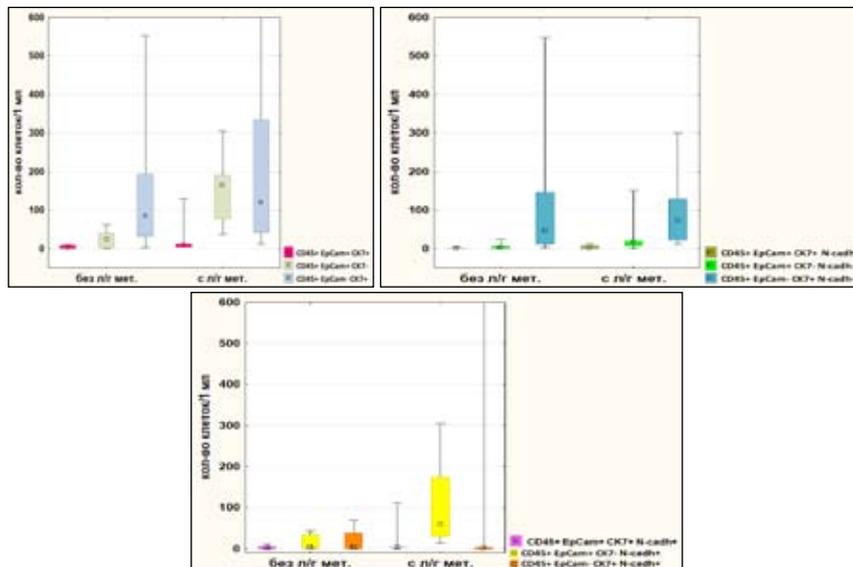


Рис. 3. Количество гибридных клеток в крови у больных инвазивной карциномой молочной железы с лимфогенными метастазами и без таковых

При этом достоверных различий в количестве CD45+CK7+EpCAM+ клеток, экспрессировавших и не экспрессировавших N-кадгерин, у пациентов с лимфогенными метастазами и без таковых установлено не было. Тогда как при потере маркера эпителиальности CK7 количество клеток, экспрессировавших (CD45+CK7–EpCAM+N-cadh+) и не экспрессировавших N-кадгерин (CD45+CK7–EpCAM–NCadh–), было достоверно выше при лимфогенном

метастазировании ($p=0,018$ и $p=0,029$ соответственно). При сравнении абсолютного количества других субпопуляций гибридных клеток у больных с лимфогенными метастазами и без таковых достоверных различий обнаружено не было.

Выводы. Таким образом, в ходе нашего исследования у больных ИКНТ МЖ было подтверждено наличие атипичных/гибридных клеток с признаками ЭМП и без таковых. Необходимо отметить гетерогенность данной популяции и встречаемость этих клеток у пациентов с наличием и отсутствием лимфогенных метастазов. Обнаружена связь наличия двух субпопуляций атипичных/гибридных клеток (CD45+CK7–EpCAM+NCadh+ и CD45+CK7–EpCAM+NCadh–) с вероятностью развития лимфогенных метастазов. Следует подчеркнуть, что признаком, объединяющим эти клетки, которые, по-видимому, обладают свойствами «семян», является потеря экспрессии CK7, при этом экспрессия N-кадгерина не столь значима.

ЛИТЕРАТУРА

1. Paget S. The distribution of secondary growths in cancer of the breast. *Cancer Metastasis Rev.* 1989 Aug; 8(2): 98–101.
2. Clawson G.A., Kimchi E., Patrick S.D., Xin P., Harouaka R., Zheng S., Berg A., Schell T., Staveley-O'Carroll K.F., Neves R.I., Mosca P.J., Thiboutot D. Circulating Tumor Cells in Melanoma Patients. *PLoS ONE.* 2012; 7(7): e41052.
3. Lustberg M.B., Balasubramanian P., Miller B., Garcia-Villa A., Deighan C., Wu Y., Carothers S., Berger M., Ramaswamy B., Macrae E.R., Wesolowski R., Layman R.M., Mrozek E., Pan X., Summers T.A., Shapiro C.L., Chalmers J.J. Heterogeneous atypical cell populations are present in blood of metastatic breast cancer patients. *Breast Cancer Research. Breast Cancer Res.* 2014 Mar 6; 16(2): R23. doi: 10.1186/bcr3622.
4. Ramakrishnan M., Mathur S.R., Mukhopadhyay A. Fusion-derived epithelial cancer cells express hematopoietic markers and contribute to stem cell and migratory phenotype in ovarian carcinoma. *Cancer Res.* 2013; 73(17): 5360–5370.
5. Powell A.E., Anderson E.C., Davies P.S., Silk A.D., Pelz C., Impey S., Wong M.H. Fusion between intestinal epithelial cells and macrophages in a cancer context results in nuclear reprogramming. *Cancer Res.* 2011; 71: 1497–1505.
6. Pawelek J.M., Chakraborty A.K. The cancer cell-leukocyte fusion theory of metastasis. *Adv Cancer Res.* 2008; 101: 397–444.
7. Dittmar T., Zänker K.S. Tissue Regeneration in the Chronically Inflamed Tumor Environment: Implications for Cell Fusion Driven Tumor Progression and Therapy Resistant Tumor Hybrid Cells. *Int J Mol Sci.* 2015 Dec 19; 16(12): 30362–81. doi: 10.3390/ijms161226240.
8. Noubissi F.K., Ogle B.M. Cancer Cell Fusion: Mechanisms Slowly Unravel. *Int J Mol Sci.* 2016 Sep 21; 17(9). pii: E1587.
9. Lamouille S., Xu J., Derynck R. Molecular mechanisms of epithelial–mesenchymal transition. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2014 Mar; 15(3): 178–96. doi: 10.1038/nrm3758.

ОЦЕНКА ЭКОЛОГИЧЕСКИХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЙ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ IN VITRO

Ю.А. Небова^{1,2}, А.М. Певзнер^{1,2}, В.А. Бычков¹, Н.В. Литвяков^{1,2}

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный
исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия¹
Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск, Россия²

Аннотация

Целью работы являлось моделирование межклеточных отношений внутри опухолевого очага и установление типов экологических взаимодействий на примере трёх клеточных линий рака молочной железы разных молекулярных подтипов. Установление типа взаимодействия осуществлялось посредством иммуноцитохимии и анализа динамики роста клеточных культур в реальном времени. Было показано, что при совместном пассаже клеточных линий MDA-MB-231 и BT-474 наблюдался негативный тип взаимодействия (аменсализм), в то время как при пассаже BT-474 и MCF-7 – позитивный (комменсализм).

Ключевые слова: аменсализм, комменсализм, гетерогенность, молекулярно-генетические признаки.

EVALUATION OF ECOLOGICAL INTERACTIONS OF BREAST CANCER CELL LINES IN VITRO

J.A. Nebova^{1,2}, A.M. Pevzner^{1,2}, V.A. Bychkov¹, N.V. Litviakov^{1,2}

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center,
Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia¹
National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia²

Abstract

The purpose of this work was to simulate interclonal relationships within the tumor focus and to establish the types of environmental interactions using the example of three breast cancer cell lines of different molecular subtypes. The determination of the type of interaction was carried out by means of immunocytochemistry and analysis of the growth dynamics of cell cultures in real time. The joint type of MDA-MB-231 and BT-474 cell lines showed a negative type of interaction (amensalism), while the passage of BT-474 and MCF-7 showed a positive type (commensalism).

Key words: amensalism, commensalism, heterogeneity, molecular genetic traits.

Введение. Основной причиной смертности от рака является метастазирование опухолей [1, 2]. В значительной степени этот процесс ассоциирован с выраженностью внутриопухолевой гетерогенности – состоянием, при котором в опухолевом очаге обнаруживаются несколько клонов злокачественных клеток, отличающихся по генетическим и фенотипическим критериям. Наличие различных клеточных популяций в первичном опухолевом очаге, помимо образования метастазов, также влияет на рост опухоли, ее рецидивирование и развитие резистентности к терапии [3].

Согласно гипотезе развития опухоли в рамках теории эволюции [4], только наиболее приспособленные к окружающим условиям клоны опухолевых клеток способны к выживанию и инвазии. Ряд экспериментов показал, что субпопуляции опухолевых клеток способны к совместной кооперации в рамках первичного очага, что приводит к усилению злокачественности всей опухоли. Следовательно, нарушение этого взаимодействия может быть эффективным подходом к подавлению метастазирования и лекарственной резистентности. Более того, идентификация молекул, ассоциированных с тем или иным типом взаимодействия, в перспективе может стать основой для новых прогностических моделей течения болезни и разработки более эффективных противоопухолевых препаратов. Однако работ по целенаправленному изучению экологических взаимодействий клонов, а также методических подходов, определяющих характер таких взаимодействий, практически нет.

Мы полагаем, что определение типа взаимоотношений между клонами даст возможность установить дальнейшие шаги для разрушения сложившейся экосистемы в опухоли как при помощи специфических внешних факторов давления одного или нескольких типов клонов (например, химиопрепараты), так и при помощи контроля регуляции механизмов иммунной системы [5]. Однако предварительно необходимо установить молекулярно-генетические признаки каждого типа эволюционного взаимодействия, которые можно выявить и использовать *in situ*. В этой связи первым этапом исследования были выявление и описание типов межклональных взаимодействий *in vitro* на примере линий трёх молекулярных подтипов рака молочной железы (люминальный А – MCF-7; люминальный В – BT-474; трижды негативный – MDA-MB-231).

Материал и методы. Моделирование внутриопухолевой гетерогенности и межклональных взаимодействий осуществлялось *in vitro* путем попарного кокультивирования клеточных линий MCF-7, BT-474 и MDA-MB-231 (люминальный-А, люминальный-В и трипл-негативный рак молочной железы) с различной экспрессией рецепторов ER, PR, Her2/neu в стандартных условиях. Выбор линий обусловлен различным уровнем экспрессии рецепторов половых гормонов и HER2, по которым их можно идентифицировать (MCF-7 – ER+/Her2-/PR-, BT-474 – ER+/Her2+/PR- и MDA-MB-231 – ER-/Her2-/PR-), а также тем, что все эти линии культивируются в одинаковых условиях.

Межклеточные взаимодействия оценивали по изменению количества клеток двух линий РМЖ при их совместной инкубации в сравнении с двумя контролями. Увеличение количества клеток одной клеточной линии в условиях совместной инкубации в сравнении с контролем говорило о позитивном влиянии на нее другой клеточной линии, а уменьшение, наоборот, – о негативном.

Исследуемые клеточные линии ссаживали в 24-луночный планшет и, начиная со вторых по седьмые сутки инкубации, ежедневно снимали совместно с контролем. Эксперимент проводился в трёх репликах. При дальнейшем анализе значения количества клеток в каждой точке усредняли. Подсчет клеток в каждой лунке проводили методом световой микроскопии в камере Горяева. Идентификация совместно инкубируемых клеточных линий осуществлялась при помощи иммуноцитохимии с использованием первичных антител к рецепторам ER и HER2 («Dako», USA).

Анализ роста численности клеток в режиме реального времени осуществлялся посредством клеточного анализатора RTCA iCelligence™(ACEA Biosciences, USA).

Результаты. На первом этапе исследований в ходе различных комбинаций клеточных линий при помощи иммуноцитохимии было установлено два типа взаимодействий: негативное (аменсализм) – угнетение роста клеток линии MDA-MB-231 при совместной культивации с линией BT-474(рис. 1А, Б), позитивное (комменсализм) – ускорение роста клеточной линии BT-474 при взаимодействии с MCF-7 по сравнению с контролем, в то время как скорость роста линии MCF-7 остаётся неизменной (рис. 1В, Г).

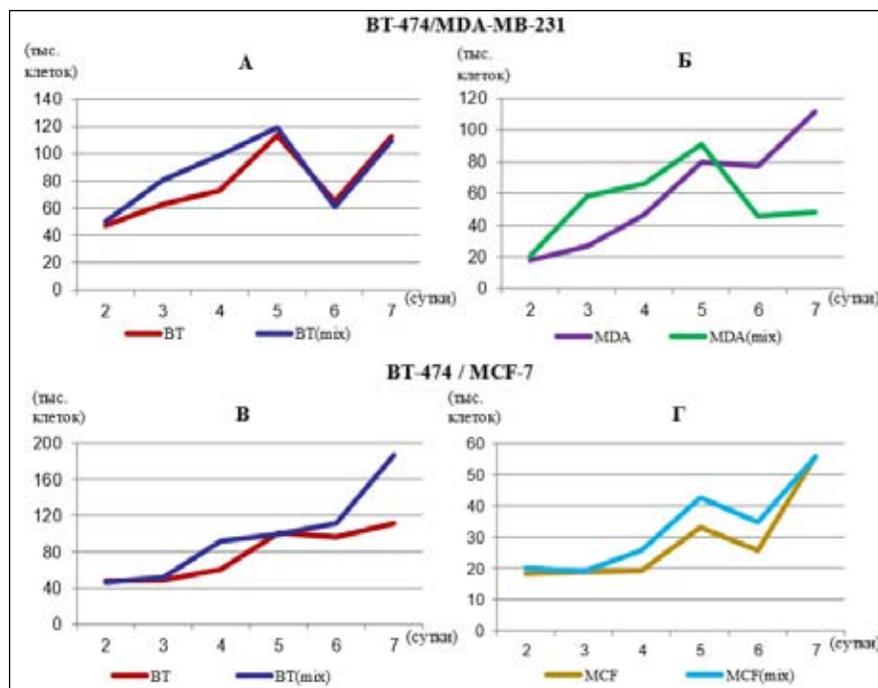


Рис. 1

Взаимодействие клеток может осуществляться двумя основными способами: контактным (взаимодействие непосредственно при соприкосновении клеток) и дистанционным (взаимодействие с помощью специфических молекулярных факторов на расстоянии). Нашим следующим этапом работы являлось установление возможного способа взаимовлияния линий.

Для этого нами была получена бесклеточная культуральная среда от трех линий MCF-7, BT-474 и MDA-MB-231 после их 4-дневной инкубации. В дальнейшем ее добавляли к среде и оценивали изменение роста каждой клеточной линии в режиме реального времени при помощи клеточного анализатора iCelligence в сравнении с контролем. Полученные ранее данные были полностью подтверждены: угнетение роста клеток линии MDA-MB-231 при совместной культивации с BT-474 (аменсализм), ускорение роста клеточной линии BT-474 при взаимодействии с MCF-7 по сравнению с контролем, в то время как скорость роста линии MCF-7 остаётся неизменной.

Выводы. Таким образом, в рамках модели внутриопухолевой гетерогенности *in vitro* обнаружено негативное взаимодействие (аменсализм) клеточных линий РМЖ BT-474 и MDA-MB-231, а также позитивное взаимодействие (комменсализм) линий BT-474 и MCF-7 при их совместном культивировании. Установлено, что взаимодействие клеток, в том числе, осуществляется дистанционным путем за счет выделения в культуральную среду биологически активных веществ. В дальнейшем идентификация этих веществ позволит оценить их роль в качестве маркеров того или иного типа взаимодействия.

ЛИТЕРАТУРА

1. Sporn M.B. The war on cancer. The lancet. 1996; 347(9012): 1377–1381.
2. Gupta G.P., Massagué J. Cancer metastasis: building a framework. Cell. 2006; 127(4): 679–695.
3. Lipinski K.A. Cancer evolution and the limits of predictability in precision cancer medicine. Trends in cancer. 2016; 2(1): 49–63.
4. Nowell P.C. The clonal evolution of tumor cell populations. Science. 1976; 194(4260): 23–28.
5. Gatenby R.A., Cunningham J.J., Brown J.S. Evolutionary triage governs fitness in driver and passenger mutations and suggests targeting never mutations. Nature communications. 2014; 5: 5499.

КОМБИНИРОВАННОЕ ЛЕЧЕНИЕ БОЛЬНЫХ МЕСТНОРАСПРОСТРАНЕННЫМ РАКОМ ПРЯМОЙ КИШКИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПРОЛОНГИРОВАННОЙ ХИМИОЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ И КОНСОЛИДИРУЮЩЕЙ ХИМИОТЕРАПИИ

**И.А. Орехов, А.А. Невольских, Д.В. Ерыгин, Л.О. Петров,
Т.П. Березовская, Ю.Ю. Михалева, Г.О. Рухадзе, Т.П. Почуев**

Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба –
филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, г. Обнинск, Россия

Аннотация

Разработка новых режимов комбинированного лечения прогностически неблагоприятного рака прямой кишки с включением в схему лечения неoadъювантной химиотерапии является актуальной. Внедрение в схему лечения больных местно-распространенным раком прямой кишки полихимиотерапии по схеме FOLFOX6 после химиолучевой терапии и удлинение интервала до операции сопровождаются увеличением частоты полных патоморфологических ответов (pCR). Пациенты с полным морфологическим ответом имеют лучший прогноз по сравнению с не ответившими на лечение. Несколько клинических исследований показали целесообразность применения тактики активного динамического наблюдения «watch & wait» у таких пациентов. Таким образом, тактика лечения направленная на улучшение ответа опухоли, может увеличить долю пациентов, которым возможно проведение органосохраняющего лечения.

Ключевые слова: рак прямой кишки, неoadъювантная химиолучевая терапия, консолидирующая химиотерапия, полный морфологический ответ.

COMBINED TREATMENT OF PATIENTS WITH LOCALLY ADVANCED COLORECTAL CANCER USING PROLONGED CHEMORADIATION THERAPY AND CONSOLIDATION CHEMOTHERAPY

**I.A. Orekhov, A.A. Nevolskikh, D.V. Erygin, L.O. Petrov,
T.P. Berezovskaya, Y.Y. Mihaleva, G.O. Rukhadze, T.P. Pochyuev**

A.F. Tsyb Medical Radiological Research Center – Branch of Federal State Budget Institution
«National Medical Research Radiological Center» Ministry of Public Health of the Russian Federation.
Russian Federation, Obninsk, Russia

Abstract

Currently, the development of new regimens of combined modality treatment including adjuvant chemotherapy for prognostically unfavorable colorectal cancer is of great importance. The use of FOLFOX6 chemotherapy regimen after chemoradiotherapy (CRT) and the lengthening the interval between neoadjuvant radiochemotherapy and surgery in rectal cancer patient was reported to be associated with increased incidence of pathological complete responses (pCRs). Patients who achieved pCR had better prognosis compared with non-responders. Several clinical trials reported the feasibility of using 'watch and wait' approach (W&W) for these patients. Therefore, treatment strategies aimed to improving tumor response can alter the current algorithm by increasing the proportion of patients eligible for less invasive surgical approaches.

Key words: rectal cancer, chemoradiation therapy, consolidation chemotherapy, pathological complete response.

Актуальность. Разработка новых режимов комбинированного лечения прогностически неблагоприятного рака прямой кишки с включением в схему лечения неoadъювантной химиотерапии является актуальной. Разновидностью неoadъювантной химиотерапии, применяемой при местнораспространенном раке прямой кишки, является консолидирующая

химиотерапия, которая проводится в период между лучевой терапией и хирургическим вмешательством. Проведено несколько исследований II фазы, показавших эффективность такого подхода [1–3]. Вместе с тем остается много вопросов в отношении оптимального количества циклов химиотерапии, ее переносимости, частоты послеоперационных осложнений и полных ответов у больных раком прямой кишки.

Цель – изучить непосредственные результаты пролонгированной химиолучевой терапии СОД 50 Гр с 4 циклами консолидирующей химиотерапии в режиме FOLFOX6 у больных местнораспространенным и прогностически неблагоприятным раком прямой кишки.

Материал и методы. В исследование включено 30 больных местнораспространенным раком средне- и нижнеампулярного отдела прямой кишки (таблица).

Таблица

Характеристика больных

Характеристика	Значение
Медиана возраста, годы	61(28–77)
Мужчины/женщины	22/8
Медиана расстояния от анального края до нижнего полюса опухоли, см	5 (1–9)
Клиническая стадия	Число пациентов, n (%)
I стадия (cT2N0M0)	1 (3,3 %)
II стадия (cT2–4N0M0)	8 (26,7 %)
III стадия (cT2–4N1–2M0)	21(70 %)

Всем больным проводили пролонгированную лучевую терапию в дозе 2 Гр в течение 5 нед до СОД 50 Гр в сочетании с капецитабином (825 мг/м² дважды в день в течение всего курса облучения в дни проведения лучевой терапии). Через 4±1 нед после завершения лучевой терапии начинали консолидирующую химиотерапию в режиме FOLFOX6 – 4 цикла с интервалом 2 нед. Через 3–4 нед после окончания консолидирующей химиотерапии всем пациентам выполняли оценку клинической регрессии опухоли по совокупности данных МРТ, пальцевого исследования и эндоскопической картины. Данные МРТ оценивались с помощью шкалы tumor regression grade (TRG) [4]. Полной клинической регрессией опухоли считали отсутствие первичной опухоли и ее метастазов в мезоректуме на МРТ (TRG1-2) и при эндоскопическом исследовании. При наличии остаточной опухоли по данным эндоскопии и МРТ (TRG3-5) больным проводили хирургическое вмешательство в объеме тотальной мезоректумэктомии. Патоморфологическую оценку эффективности лечения проводили по степени патоморфологической регрессии опухоли в классификации J.E. Ryan et al. [5]. Оценку послеоперационных осложнений проводили по шкале Clavien-Dindo [6].

Результаты. У всех 30 больных курс лучевой терапии в сочетании с одновременной химиотерапией капецитабином был завершен в полном объеме. У 6 (24 %) пациентов в процессе лучевой терапии наблюдались ранние лучевые реакции в виде эпителиита промежности, ректита. В процессе консолидирующей химиотерапии токсические реакции наблюдались у 6 (24 %) больных, при этом токсичность 3-й степени у 2 пациентов проявлялась нейтропенией 3-й степени и диареей 3-й степени, в связи с чем последний цикл консолидирующей химиотерапии был отменен. Таким образом, неoadьювантный этап лечения был полностью завершен у 28 (93 %) больных.

Полная клиническая регрессия установлена у 5 (16,7 %) больных (рис. 1).

Эти пациенты включены в группу активного динамического наблюдения. В настоящее время на сроках наблюдения 3, 5, 5, 11, 15 мес данных за прогрессирование не получено. Хирургическое лечение проведено 25 больным (19 больных – низкая передняя резекция прямой кишки с ТМЭ, 2 – брюшно-анальная резекция прямой кишки, 4 –брюшно-промежностная экстирпация прямой кишки). При гистологическом исследовании удаленного препарата прямой кишки полный патоморфологический ответ зарегистрирован у 5 (20 %) больных. Послеоперационные осложнения II степени возникли у 4 пациентов (16 %), III степени – у 1 пациента (4 %).

Выводы. Метод комбинированного лечения с использованием пролонгированной лучевой терапии в СОД 50 Гр с капецитабином и последующей консолидирующей химиотерапии в режиме FOLFOX6 удовлетворительно переносится пациентами, сопровождается умеренным количеством токсических и лучевых реакций.

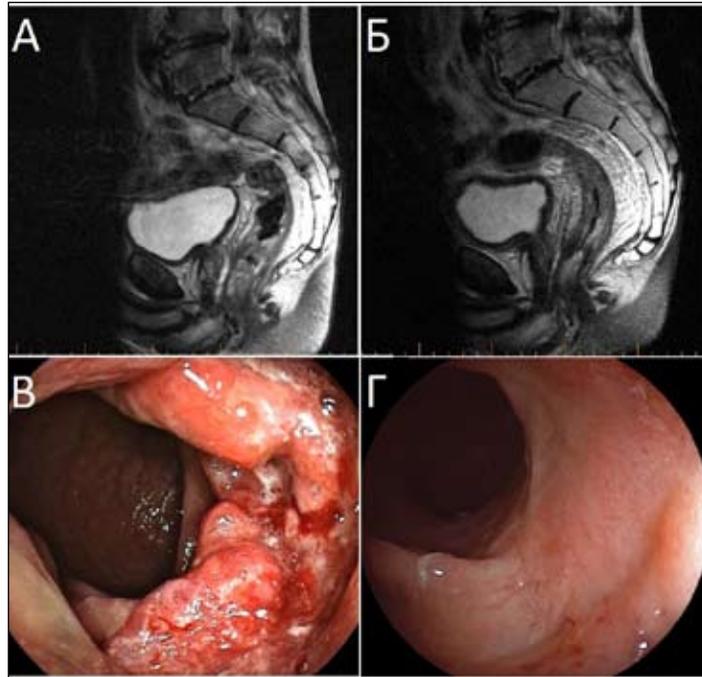


Рис. 1. Пациент Н. Полная клиническая регрессия опухоли: А – МР-картина рака прямой кишки сТ3N1b; Б – МР-картина через 13 мес после завершения консолидирующей химиотерапии: восстановление дифференциации слоев стенки кишки, данных за прогрессирование нет; В – эндоскопическая картина аденокарциномы нижеампулярного отдела прямой кишки до лечения; Г – неизменная слизистая прямой кишки, 13 мес после завершения консолидирующей химиотерапии

Полный клинический ответ со стороны первичной опухоли достигнут у 16,7 % больных местнораспространенным раком прямой кишки.

Полный морфологический ответ достигнут у 20 % больных местнораспространенным раком прямой кишки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Marco M.R., Zhou L., Patil S., Marcet J.E., Varma M.G., Oommen S., Cataldo P.A., Hunt S.R., Kumar A., Herzig D.O., Fichera A., Polite B.N., Hyman N.H., Ternent C.A., Stamos M.J., Pigazzi A., Dietz D., Yakunina Y., Pelossof R., Garcia-Aguilar J.; Timing of Rectal Cancer Response to Chemoradiation Consortium. Consolidation mFOLFOX6 Chemotherapy After Chemoradiotherapy Improves Survival in Patients With Locally Advanced Rectal Cancer: Final Results of a Multicenter Phase II Trial. *Dis Colon Rectum*. 2018 Oct; 61(10): 1146–1155. doi: 10.1097/DCR.0000000000001207.
2. Расулов А.О., Мамедли З.З., Кузьмичев Д.В. Органосохраняющее лечение рака прямой кишки. *Онкологическая колопроктология*. 2016; 4: 13–17.
3. Smith J.J., Chow O.S., Gollub M.J., Nash G.M., Temple L.K., Weiser M.R., Guillem J.G., Paty P.B., Avila K., Garcia-Aguilar J.; Rectal Cancer Consortium. Organ Preservation in Rectal Adenocarcinoma: a phase II randomized controlled trial evaluating 3-year disease-free survival in patients with locally advanced rectal cancer treated with chemoradiation plus induction or consolidation chemotherapy, and total mesorectal excision or nonoperative management. *BMC Cancer*. 2015 Oct 23; 15: 767. doi: 10.1186/s12885-015-1632-z.
4. Siddiqui M.R., Bhoday J., Battersby N.J., Chand M., West N.P., Abulafi A.M., Tekkis P.P., Brown G. Defining response to radiotherapy in rectal cancer using magnetic resonance imaging and histopathological scales. *World J Gastroenterol*. 2016 Oct 7; 22(37): 8414–8434.
5. Ryan J.E., Warrier S.K., Lynch A.C., Heriot A.G. Assessing pathological complete response to neoadjuvant chemoradiotherapy in locally advanced rectal cancer: a systematic review. // *Colorectal Dis*. 2015 Oct; 17(10): 849–61. doi: 10.1111/codi.13081.
6. Clavien P.A., Barkun J., de Oliveira M.L., Vauthey J.N., Dindo D., Schulick R.D., de Santibañes E., Pekolj J., Slankamenac K., Bassi C., Graf R., Vonlanthen R., Padbury R., Cameron J.L., Makuuchi M. The Clavien-Dindo classification of surgical complications: five-year experience. *Ann Surg*. 2009 Aug; 250(2): 187–96. doi: 10.1097/SLA.0b013e3181b13ca2.

ДООПЕРАЦИОННОЕ ПРОГНОЗИРОВАНИЕ РИСКА ЛИМФОГЕННОГО МЕТАСТАЗИРОВАНИЯ У БОЛЬНЫХ РАКОМ ЭНДОМЕТРИЯ I КЛИНИЧЕСКОЙ СТАДИИ

М.О. Очиров, А.Ю. Кишкина

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

Аннотация

Целью работы стало изучение эффективности разработанной модели прогнозирования вероятности риска лимфогенного метастазирования у больных раком эндометрия первой клинической стадии. Исследование показало, что предложенная модель позволяет объективизировать необходимость проведения лимфаденэктомии у больных раком эндометрия I клинической стадии с низким и промежуточным риском лимфогенного метастазирования. Чувствительность и специфичность полученной математической модели составили 93,7 % и 62,5 % соответственно.

Ключевые слова: рак эндометрия, математическая модель, лимфогенные метастазы.

PREOPERATIVE PREDICTION OF LYMPH NODE METASTASIS IN PATIENTS WITH STAGE I ENDOMETRIAL CANCER

M.O. Ochirov, A.Yu. Kishkina

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center,
Russian Academy of Science, Tomsk, Russia

Abstract

The **Aim** of the research was to study the effectiveness of the model for predicting lymph node metastasis in patients with stage I endometrial cancer. The proposed model allowed objectification the necessity of lymph node dissection in patients with stage I endometrial cancer with low and intermediate risk of lymphatic metastasis. The sensitivity and specificity of the mathematical model were 93.7 % and 62.5 %, respectively.

Key words: endometrial cancer, mathematical model, lymphatic metastasis.

Актуальность. После того как были опубликованы данные двух рандомизированных исследования [1, 2], в которых не было показано преимущество в выживаемости пациентов после проведения рутинной лимфаденэктомии у больных раком эндометрия I клинической стадии, но было выявлено увеличение количества послеоперационных осложнений, все исследования были направлены на выявление пациентов, которым не будет полезна рутинная лимфаденэктомия, что позволит свести к минимуму количество осложнений, тем самым повысив качество жизни данной группы больных. Двумя наиболее часто используемыми стратегиями при определении необходимости проведения лимфаденэктомии являются оценка факторов риска лимфогенного метастазирования и определение статуса «сторожевого» лимфатического узла (СЛУ).

Концепция детекции «сторожевых» лимфатических узлов при лечении больных гинекологическим раком впервые была разработана для лечения больных раком шейки матки, чтобы выявить пациентов, наиболее подходящих для проведения оперативного лечения [3–6]. Существуют три основных метода картирования «сторожевых» лимфатических узлов: метод радионуклидной индикации, контрастно-визуальный метод и сочетанный метод. Методы радионуклидной индикации нашли широкое применение в диагностике неврологических, кардиологических и онкологических заболеваний [7–11]. Этот метод картирования, основанный на измерении концентрации радиофармпрепарата (РФП) в СЛУ, позволяет точно определять его локализацию как интраоперационно, так и на дооперационном этапе. Хотя данный способ позволяет достоверно судить о метастатическом поражении «сторожевых» лимфатических узлов, тем самым позволяя обоснованно проводить лимфаденэктомию, это требует наличия надежной интраоперационной морфологической диагностики удаленных СЛУ, которая может быть ограничена для некоторых учреждений.

Еще одной стратегией является определение факторов риска лимфогенного метастазирования. В течение нескольких десятилетий исследователи предлагали различные критерии для выявления пациентов с меньшим риском метастазирования в лимфатические узлы [12–15]. На основании этих критериев позднее были разработаны модели для прогнозирования риска лимфогенного метастазирования у больных раком эндометрия I клинической стадии [16–18]. Согласно рекомендованной модели прогноза, предложенной консенсусом (ESMO, ESGO, ESTRO 2015) [19], определяют три степени риска лимфогенных метастазов: низкий риск (про-

ведение лимфодиссекции не показано), промежуточный риск (проведение лимфодиссекции возможно для уточнения стадии) и высокий риск (показано проведение лимфодиссекции). Имеется ряд наблюдений, когда у пациентов с низким и промежуточным риском лимфогенных метастазов, при проведении лимфаденэктомии определялись метастазы в лимфатические узлы [16], что говорит о необходимости дальнейших исследований в этом направлении для объективизации подходов в оценке рисков лимфогенного метастазирования.

Цель исследования – изучение эффективности разработанной модели прогнозирования вероятности риска лимфогенного метастазирования у больных раком эндометрия первой клинической стадии.

Материал и методы. В исследование были включены 60 больных раком эндометрия I клинической стадии, которым проводилось оперативное лечение в объеме тотальной гистерэктомии с билатеральной сальпингоовариоэктомией, тазовой лимфаденэктомией. Средний возраст пациенток составил $57,6 \pm 9,8$ года. Медиана числа удаленных лимфатических узлов составила 11 (5–35). Стадия заболевания определялась по системам FIGO и TNM 7-го переосмотра. Была разработана математическая модель прогнозирования риска лимфогенного метастазирования у больных раком эндометрия I клинической стадии [20]. Математическая модель прогнозирования имела следующий вид:

$$Y1 = -11,2 + 2,98 * X1 + 2,1 * X2 + 1,9 * X3 + 7,2 * X4 + (-0,38) * X5 + 1,5 * X6$$

(группа больных с низким риском лимфогенного метастазирования)

$$Y2 = -19,86 + 4,5 * X1 + 2,96 * X2 + (-0,1) * X3 + 11,4 * X4 + (-0,9) * X5 + 2,2 * X6$$

(группа больных с высоким риском лимфогенного метастазирования),

где X1 – объем опухоли по данным МРТ (см^3);

X2 – инвазия опухоли эндометрия по данным МРТ;

X3 – толщина стенки матки в наибольшем измерении по данным МРТ;

X4 – толщина переходной зоны в наибольшем измерении по данным МРТ;

X5 – лимфаденопатия по данным МРТ в максимальном размере;

X6 – степень дифференцировки опухоли.

При этом, если значение $Y1 > Y2$, то прогнозируют низкий риск лимфогенного метастазирования; если $Y1 < Y2$, то прогнозируют высокий риск лимфогенного метастазирования.

Клиническая оценка эффективности определения риска лимфогенного метастазирования у больных раком эндометрия I клинической группы на дооперационном этапе проводилась с помощью рекомендованной модели согласно consensus ESMO, ESGO, ESTRO 2014 г.

Результаты. На основании проведенного на дооперационном этапе комплексного исследования у 60 больных раком эндометрия I клинической стадии, у которых оперативное лечение было дополнено тазовой лимфаденэктомией, выявлено, что низкий риск лимфогенных метастазов согласно данным консенсуса ESMO, ESGO, ESTRO выявлен у 46 % ($n=28$) больных, промежуточный риск – 44 % ($n=26$), высокий риск – у 6 пациентов (10 %). Таким образом, проведение лимфаденэктомии, согласно критериям консенсуса 2015 г., было показано лишь 10 % пациентов. Лимфогенные метастазы были выявлены у 6 (10 %) пациентов с эндометриоидной аденокарциномой эндометрия. В то же время у 2 пациенток (7 %), относящихся к низкому риску лимфогенного метастазирования, и у 4 пациентов (9 %), относящихся к промежуточному риску лимфогенного метастазирования, было выявлено метастатическое поражение лимфатических узлов. Согласно разработанной математической модели, все пациентки с лимфогенными метастазами относились у группе высокого риска лимфогенного метастазирования.

Вывод. Таким образом, простота, доступность и эффективность использования разработанной математической модели прогнозирования риска лимфогенного метастазирования у больных раком эндометрия I клинической стадии на дооперационном этапе определяются возможностью ее широкого использования в лечебной практике там, где определение сигнальных лимфатических узлов является пока недоступным.

ЛИТЕРАТУРА

1. Benedetti Panici P., Basile S., Maneschi F., Alberto Lissoni A., Signorelli M., Scambia G., Angioli R., Tateo S., Mangili G., Katsaros D., Garozzo G., Campagnutta E., Donadello N., Greggi S., Melpignano M., Raspagliesi F., Ragni N., Cormio G., Grassi R., Franchi M., Giannarelli D., Fossati R., Torri V., Amoroso M., Crocè C., Mangioni C. Systematic pelvic lymphadenectomy vs. no lymphadenectomy in early-stage endometrial carcinoma: Randomized clinical trial. *J Natl Cancer Inst.* 2008 Dec 3; 100(23): 1707–16. doi: 10.1093/jnci/djn397.
2. ASTEC study group, Kitchener H., Swart A.M., Qian Q., Amos C., Parmar M.K. Efficacy of systematic pelvic lymphadenectomy in endometrial cancer (MRC ASTEC trial): A randomised study. *Lancet.* 2009 Jan 10; 373(9658): 125–36. doi: 10.1016/S0140-6736(08)61766-3.
3. Colombo N., Creutzberg C., Amant F., Bosse T., González-Martín A., Ledermann J., Marth C., Nout R., Querleu D., Mirza M.R., Sessa C.; ESMO-ESGO-ESTRO Endometrial Consensus Conference Working Group. ESMO-ESGO-ESTRO Consensus Confer-

- ence on Endometrial Cancer: Diagnosis, Treatment and Follow-up. *Radiother Oncol.* 2015 Dec; 117(3): 559–81. doi: 10.1016/j.radonc.2015.11.013.
4. Чернышова А.Л., Коломиец Л.А., Синилкин И.Г., Чернов В.И., Ляпунов А.Ю. Выбор объема хирургического лечения у больных раком шейки матки. Злокачественные опухоли. 2015; 2(13): 64–70.
 5. Чернов В.И., Медведева А.А., Синилкин И.Г., Зельчан Р.В., Брагина О.Д., Скуридин В.С. Опыт разработки инновационных радиофармпрепаратов в Томском НИИ онкологии. Сибирский онкологический журнал. 2015; Приложение 2.
 6. Chernov V.I., Sinilkina I.G., Zelchan R.V., Medvedeva A.A., Lyapunov A.Yu., Bragina O.D., Varlamova N.V., Skuridin V.S. Experimental Study Of ^{99m}Tc- aluminum oxide use for sentinel lymph nodes detection. AIP Conference Proceedings. 2016; 020012-020012-5.
 7. Ефимова Н.Ю., Чернов В.И., Ефимова И.Ю., Афанасьева Н.Л., Лишманов Ю.Б. Когнитивные дисфункции и состояние мозгового кровообращения у больных артериальной гипертензией: возможности медикаментозной коррекции. Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2008; 11(108): 10–15.
 8. Карпов П.С., Павлюкова Е.Н., Врублевский А.В., Чернов В.И., Усов В.Ю. Современные методы диагностики коронарного атеросклероза. Бюллетень Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. 2006; 2(26): 105–117.
 9. Лишманов Ю.Б., Чернов В.И., Кривоногов Н.Г., Ефимова И.Ю., Веснина Ж.В., Завадовский К.В., Минин С.М., Сазонова С.И., Скуридин В.С., Панькова А.Н., Саушкин В.В., Ильошенкова Ю.Н., Ефимова Н.Ю. Радионуклидные методы исследования в диагностике сердечно-сосудистых заболеваний. Сибирский медицинский журнал. 2010; 41(25): 8–13.
 10. Чернов В.И., Гарганеева А.А., Веснина Ж.В., Лишманов Ю.Б. Перфузионная сцинтиграфия миокарда в оценке результатов курсового лечения триметазидином больных ишемической болезнью сердца. Кардиология. 2001; 8(41): 14–16.
 11. Чернов В.И., Медведева А.А., Синилкин И.Г., Зельчан Р.В., Брагина О.Д., Чойнзонов Е.Л. Ядерная медицина в диагностике и адресной терапии злокачественных новообразований. Бюллетень сибирской медицины. 2018; 1(17): 220–231.
 12. Boronow R.C. Surgical staging of endometrial cancer: Evolution, evaluation, and responsible challenge A personal perspective. *Gynecol Oncol.* 1997; 66: 179–189.
 13. Boronow R.C., Morrow C.P., Creasman W.T., Disaia P.J., Silverberg S.G., Miller A., Blessing J.A. Surgical staging in endometrial cancer: Clinicalpathologic findings of a prospective study. *Obstet Gynecol.* 1984 Jun; 63(6): 825–32.
 14. Creasman W.T., Morrow C.P., Bundy B.N., Homesley H.D., Graham J.E., Heller P.B. Surgical pathologic spread patterns of endometrial cancer: A Gynecologic Oncology Group Study. *Cancer.* 1987 Oct 15; 60(8 Suppl): 2035–41.
 15. Mariani A., Webb M.J., Keeney G.L., Haddock M.G., Calori G., Podratz K.C. Low-risk corpus cancer: Is lymphadenectomy or radiotherapy necessary? *Am J Obstet Gynecol.* 2000 Jun; 182(6): 1506–19. doi: 10.1067/mob.2000.107335.
 16. Yang B., Shan B., Xue X., Wang H., Shan W., Ning C., Zhou Q., Chen X., Luo X. Predicting Lymph Node Metastasis in Endometrial Cancer Using Serum CA125 Combined with Immunohistochemical Markers PR and Ki67, and a Comparison with Other Prediction Models. *PLoS One.* 2016 May 10; 11(5): e0155145. doi: 10.1371/journal.pone.0155145.
 17. Mariani A., Dowdy S.C., Cliby W.A., Gostout B.S., Jones M.B., Wilson T.O., Podratz K.C. Prospective assessment of lymphatic dissemination in endometrial cancer: a paradigm shift in surgical staging. *Gynecol Oncol.* 2008; 109: 11–18. doi: 10.1016/j.ygyno.2008.01.023.
 18. Kang S., Kang W.D., Chung H.H., Jeong D.H., Seo S.S., Lee J.M., Lee J.K., Kim J.W., Kim S.M., Park S.Y., Kim K.T. Preoperative identification of a low risk group for lymph node metastasis in endometrial cancer: a Korean gynecologic oncology group study. *J Clin Oncol.* 2012 Apr 20; 30(12): 1329–34. doi: 10.1200/JCO.2011.38.2416.
 19. Colombo N., Creutzberg C., Amant F., Bosse T., González-Martín A., Ledermann J., Marth C., Nout R., Querleu D., Mirza MR., Sessa C.; ESMO-ESGO-ESTRO Endometrial Consensus Conference Working Group. ESMO-ESGO-ESTRO Consensus Conference on Endometrial Cancer: Diagnosis, Treatment and Follow-up. *Radiother Oncol.* 2015 Dec; 117(3): 559–81. doi: 10.1016/j.radonc.2015.11.013.
 20. Очиров М.О., Трухачева Н.Г., Коломиец Л.А., Фролова И.Г., Чернов В.И., Чернышова А.Л., Вильтерт А.Б., Молчанов С.В., Чуруксаева О.Н., Спирина Л.В. МРТ в дооперационном прогнозировании риска лимфогенного метастазирования у больных раком эндометрия I клинической стадии. *REJR* 2018; 8(3):190–204. doi:10.21569/2222-7415-2018-8-3-190-204.

СВЯЗЬ ПАРАМЕТРОВ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНОГО СТАТУСА С ЛИМФОГЕННЫМ МЕТАСТАЗИРОВАНИЕМ У БОЛЬНЫХ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНЫМ РАКОМ ЛЕГКОГО

Д.С. Письменный^{1,2}, Л.А. Таширева¹, Е.О. Родионов¹,
М.В. Завьялова^{1,2}, О.Е. Савельева¹

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный
исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия¹
Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Томск, Россия²

Аннотация

Хроническое воспаление является важным компонентом прогрессирования опухоли. На основе определения воспалительных маркеров, характеризующих провоспалительный статус (ПС) пациента, и популяций клеток-предшественников костномозгового происхождения можно оценить потенцию к формированию премегастатической ниши и прогнозировать риск возникновения метастазов. В исследование включены 36 пациентов с немелкоклеточным раком легкого (НМРЛ). Характер корреляционных связей позволяет говорить о том, что выраженность ПС можно рассматривать как состояние, которое ассоциировано с уровнем стрессированности (УС). Характер связей между параметрами ПС и УС, с одной стороны, и наличие костномозговых предшественников в крови – позволяют выявить существенные различия между группами пациентов без лимфогенных метастазов и с лимфогенными метастазами. В группе пациентов с лимфогенными метастазами имеются предпосылки для увеличения в периферической крови двух типов клеток-предшественников, являющихся важнейшими участниками в построении премегастатических ниш и развитии отдаленных метастазов.

Ключевые слова: провоспалительный статус, воспаление, стресс, лимфогенные метастазы, немелкоклеточный рак легкого, клетки-предшественники.

RELATIONSHIP BETWEEN PARAMETERS OF PRO-INFLAMMATORY STATUS AND LYMPHOGENOUS METASTASIS IN PATIENTS WITH NON-SMALL CELL LUNG CANCER

**D.S. Pismenny^{1,2}, L.A. Tashireva¹, E.O. Rodionov¹,
M.V. Zavyalova^{1,2}, O.E. Savelieva¹**

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia¹
Siberian State Medical University, Tomsk, Russia²

Abstract

Chronic inflammation is an important component of tumor progression. Based on the definition of inflammatory markers characterizing the proinflammatory status (PS) of the patient and populations of bone marrow progenitor cells, one can assess the potency to the formation of a premetastatic niche and predict the risk of metastases. The study included 36 patients with non-small cell lung cancer. The nature of correlations suggests that the severity of PS can be considered as a condition that is associated with the stress level (SL). The nature of the relationship between the PS and SL parameters and the presence of bone marrow progenitors in the blood allow significant differences between groups of patients with lymphogenic metastases and without lymphogenic metastases to be revealed. In the group of patients with lymphogenic metastases, there are prerequisites for an increase in peripheral blood of two types of precursor cells, which are the most important participants in the construction of premetastatic niches and the development of distant metastases.

Key word: proinflammatory status, inflammation, stress, lymphogenic metastases, non-small cell lung cancer, progenitor cells.

Актуальность. Хроническое воспаление – важный компонент прогрессирования опухоли. Участниками хронического воспаления являются различные субпопуляции макрофагов, нейтрофилов и лимфоцитов, продуцирующих воспалительные медиаторы, в том числе цитокины, хемокины и факторы роста, которые, в свою очередь, являются компонентами преметастатической ниши – оптимального клеточного и молекулярного микроокружения («почвы») вдали от очага первичной опухоли [1, 2]. Концепцию преметастатической ниши предложил Д. Лайден, взяв в основу гипотезу «семян и почвы» С. Педжета [2, 3]. Гематогенным путем опухолевые клетки-«семена» рекрутируются в преметастатическую нишу, поддерживающую их выживание путем взаимодействия с различными типами клеток-предшественников [4]. Преметастатическая ниша, вероятно, может формироваться на месте прениши – очага персистирующего хронического воспаления. Все известные молекулы-участники формирования ниш известны как факторы, задействованные при развитии воспалительных реакций, возникающих без какого-либо участия опухолевого роста [5]. В связи с этим на основе определения воспалительных маркеров, характеризующих ПС пациента, и популяций клеток-предшественников костномозгового происхождения можно оценить потенции к формированию преметастатической ниши и прогнозировать риск возникновения метастазов. УС, с одной стороны, зависит от выраженности проявлений опухолевой болезни, с другой стороны, он влияет на количество и соотношение разных форм лейкоцитов и клеток-предшественников в крови, отражающих проявления ПС.

Целью исследования является оценка параметров провоспалительного статуса у больных немелкоклеточным раком лёгкого, их связь с уровнем стрессированности и лимфогенным метастазированием.

Материал и методы. В исследование были включены 36 пациентов с НМРЛ (Т1–3N0–3M0). Для характеристики ПС оценивали содержание «острофазных» белков, тромбоцитов, различных популяций лейкоцитов и «воспалительные» индексы в крови и экспрессию генов цитокинов в опухоли. Для оценки УС определяли концентрацию кортизола в крови. Количество лимфоцитов, моноцитов, гранулоцитов, тромбоцитов и уровень фибриногена оценивали стандартным гематологическим методом. На основании показателей клеток

крови рассчитывали «воспалительные» индексы NLR (neutrophil-lymphocyte ratio), LMR (lymphocyte-monocyte ratio) и PLR (platelet-lymphocyte ratio). Концентрацию кортизола и С-реактивного белка (СРБ) в крови определяли методом ИФА. Оценка экспрессии генов цитокинов (IL-1, CXCL12, VEGFA, TGFb) в опухоли осуществлялась методом ПЦР. Наличие инфламмасом в клетках опухоли (коэкспрессию и колокализацию компонентов ASC и каспазы-1) определяли методом многоцветной флуоресцентной микроскопии. Определение содержания клеток-предшественников макрофагов (MPC), эндотелиальных (EPC), гемопоэтических прогениторных клеток (HPC) и мезенхимальных стволовых клеток (MSC) в крови проводилось с использованием метода проточной цитофлуориметрии. Для статистической оценки полученных данных был использован пакет прикладных программ SPSS Statistics 17.0. Проверка нормальности распределения производилась с помощью критерия Колмогорова – Смирнова. Параметры, не подчиняющиеся нормальному закону распределения, описывали с помощью медианы (Me) и интерквартильного интервала (Q1–Q3). Сравнение показателей производили с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни. Различия считались достоверными при уровне значимости $p < 0,05$, на уровне тенденции – при уровне значимости $p < 0,1$. Для исследования взаимосвязей между параметрами использовался ранговый коэффициент корреляции Спирмена.

Результаты. На первом этапе исследования оценивали ПС и выраженность УС у больных НМРЛ с наличием и отсутствием лимфогенных метастазов (табл. 1). Сравнение параметров, характеризующих ПС и выраженность УС в группах с лимфогенным метастазированием и без такового, выявило достоверные различия показателей лейкоцитов, лимфоцитов, PLR и LMR. Различия в содержании моноцитов, тромбоцитов, NLR и кортизола находились на уровне тенденций (табл. 1).

Таблица 1

Параметры провоспалительного статуса и уровня стрессированности у больных немелкоклеточным раком легкого

Показатели	Референсные значения	Пациенты без лимфогенного метастазирования (n=23)*	Пациенты с лимфогенным метастазированием (n=13)**
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	4,0–10,0	7,4(5,9–9,0)	8,4(7,1–9,0), p=0,021
Лимфоциты, %	20,0–40,0	39,7(30,0–43,3)	29,6(27,6–33,8), p=0,006
Нейтрофилы, %	50,0–70,0	54,4(52,3–64,4)	62,3(49,0–65,6), p=0,745
Моноциты, %	3,0–9,0	5,8(4,8–6,0)	5,3(5,2–6,1), p=0,073
Тромбоциты 10 ⁹ /л	100–300	233(180–313)	277(245–351), p=0,054
Фибриноген, г/л	2–4	5,7(4,7–7,1)	6,6(5,0–7,6), p=0,580
NLR	1,8–2,5	1,4(1,2–2,1)	1,9(1,2–2,3), p=0,052
PLR	5,0–7,5	6,7(5,3–7,8)	5,3(4,4–5,5), p=0,001
LMR	4,4–6,7	6,7(5,8–8,1)	4,8(4,4–5,3), p=0,034
Кортизол, нмоль/л	190–690	384(321–450)	350(265–379), p=0,440
СРБ, мг/л	0,0–5,0	7,6(3,4–8,5)	7,1(4,8–9,4), p=0,539

Примечание: кортизол и СРБ определяли у 12 пациентов без лимфогенного метастазирования (*– n=12) и 6 пациентов с лимфогенными метастазами (**– n=6).

Кроме того, в крови больных НМРЛ проводили количественную оценку клеток-предшественников костномозгового происхождения (MPC, EPC, HPC и MSC). Достоверных различий между их содержанием у пациентов без лимфогенных метастазов и с лимфогенными метастазами обнаружено не было (табл. 2).

На втором этапе было проведено исследование связи между параметрами провоспалительного статуса и количеством циркулирующих костномозговых клеток-предшественников, поскольку их наличие в крови отражает потенции к формированию премеагастатических ниш.

Таблица 2

Характеристика в периферической крови популяционного состава клеток-предшественников костномозгового происхождения у больных немелкоклеточным раком легкого

Показатели	Пациенты без лимфогенного метастазирования (n=11)	Пациенты с лимфогенным метастазированием (n=5)
MPC	19(11–32)	15(7–28), p=0,22
EPC	3(1–12)	9(2–16), p=0,37
HPC	20(9–87)	9(8–10), p=0,58
MSC	9(4–19)	3(1–17), p=0,32

У пациентов без лимфогенных метастазов была обнаружена связь между MPC в периферической крови и уровнем фибриногена, NLR и активации инфламмосомы в опухоли (табл. 3). Причем, судя по знаку корреляционных связей, при повышении уровня маркеров ПС (в крови – фибриногена и количества нейтрофилов, в опухоли – ASC+каспаза-1) следует ожидать уменьшения количества MPC в крови (рис. 1А). Связей параметров ПС и УС между собой и с содержанием других популяций клеток-предшественников у больных без лимфогенных метастазов обнаружено не было.

У пациентов с лимфогенными метастазами были обнаружены связи между тремя популяциями клеток-предшественников и параметрами ПС и УС (табл. 3).

Таблица 3

Взаимосвязь количества клеток-предшественников в крови с показателями провоспалительного статуса у больных немелкоклеточным раком легкого

Пациенты без лимфогенного метастазирования, n=12		Пациенты с лимфогенными метастазами, n=6	
Взаимосвязь показателей	Значение корреляции	Взаимосвязь показателей	Значение корреляции
MPC – нейтрофилы	R= -0,647, p=0,031	HPC – кортизол	R=0,900, p=0,038
MPC – фибриноген	R= -0,588, p=0,074	HPC – СРБ	R=0,900, p=0,037
MPC – NLR	R= -0,656, p=0,028	HPC – лимфоциты	R= -0,900, p=0,037
MPC – ASC+каспаза-1	R= -0,646, p=0,043	HPC – моноциты	R= -0,872, p=0,054
		EPC лейкоциты	R=0.800, p=0.100
		MSC тромбоциты	R=0.872, p=0.054

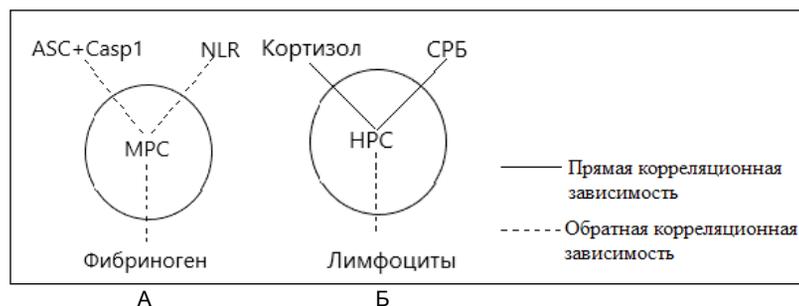


Рис. 1.А – корреляционные взаимосвязи количества предшественников макрофагов и параметров ПС у пациентов без лимфогенных метастазов; Б – корреляционные взаимосвязи количества гемопоэтических клеток предшественников и параметров ПС у пациентов с лимфогенными метастазами

Прямая корреляция между HPC, с одной стороны, и концентрацией кортизола и СРБ – с другой, а также обратная корреляция количества HPC с лимфоцитами в крови позволяют предполагать, что высокие показатели УС и ПС должны сопровождаться увеличением количества HPC в крови. При высоком уровне общего количества лейкоцитов в крови (показателя ПС) следует ожидать увеличение в крови количества EPC (рис. 1Б).

Выводы. Сравнение параметров, характеризующих ПС и УС, выявило значимые различия в группе пациентов с лимфогенным метастазированием. Параметры этих состояний были более выраженными в группе с лимфогенными метастазами, за счет увеличения лейкоцитов

и тенденции к увеличению NLR. Характер корреляционных связей позволяет говорить о том, что выраженность ПС можно рассматривать как состояние, которое ассоциировано с УС. Характер связей между параметрами ПС и УС, с одной стороны, и наличием костномозговых предшественников в крови – с другой позволяет выявить существенные различия между группами пациентов без лимфогенных метастазов и с лимфогенными метастазами. В первой группе мы наблюдаем ассоциацию с клетками-предшественниками макрофагов. Причем, чем более выражены ПС и УС, тем меньше этих клеток в крови. В группе с лимфогенными метастазами, которая является прогностически менее благоприятной относительно риска развития гематогенных метастазов, меняется характер связи изучаемых состояний. Так, увеличение уровня маркеров ПС и выраженности УС сопровождается увеличением числа МРС и НРС в крови. Поскольку выше было отмечено, что по описанным признакам в группе больных с лимфогенными метастазами более выражены уровни маркеров ПС и УС, то, с учётом характера корреляционной зависимости, можно предполагать, что в данной группе пациентов имеются предпосылки для увеличения в периферической крови двух типов клеток-предшественников (НРС и ЕРС), являющихся важнейшими участниками в построении преметастатических ниш и развитии отдаленных метастазов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Kidane D., Chae W.J., Czochor J., Eckert K.A., Glazer P.M., Bothwell M., Sweasy B. Interplay between DNA repair and inflammation, and the link to cancer. *Critical reviews in biochemistry and molecular biology*. 2014; 49(2): 116–139.
2. Kaplan R.N., Riba R.D., Zacharoulis S., Bramley A.H., Vincent L., Costa C., MacDonald D.D., Jin D.K., Shido K., Kerns S.A., Zhu Z., Hicklin D., Wu Y., Port J.L., Altorki N., Port E.R., Ruggero D., Shmelkov S.V., Jensen K.K., Rafii S., Lyden D. VEGFR1-positive haematopoietic bone marrow progenitors initiate the pre-metastatic niche. *Nature*. 2005 Dec 8; 438(7069): 820–7. doi: 10.1038/nature04186.
3. Paget S. The distribution of secondary growths in cancer of the breast. *Cancer Metastasis Rev*. 1989; 8: 98–101.
4. Weidle U.H., Birzele F., Kollmorgen G., Rütger R. The multiple roles of exosomes in metastasis. *Cancer Genomics-Proteomics*. 2017; 14(1): 1–15.
5. Perelmuter V.M., Manskikh V.N. Tumors of the Central Nervous System. Springer, Dordrecht. Volume 13. 2014. 93–106.

РОЛЬ БЕЛКА VHL В РАЗВИТИИ СВЕТЛОКЛЕТОЧНОГО РАКА ПОЧКИ, СВЯЗЬ С МЕТАСТАЗИРОВАНИЕМ ЗАБОЛЕВАНИЯ

Д.В. Поднебеснова¹, Н.А. Лушникова²

Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Томск, Россия¹
 Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный
 исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия²

Аннотация

Актуальность. Рак почки представляет собой гетерогенную группу опухолей, из которых более 79 % приходится на светлоклеточный почечно-клеточный тип, связанный с функциональной неполноценностью белка фон Хиппель-Линдау, активацией метастазирования и прогрессированием заболевания. **Цель исследования** заключалась в изучении экспрессии белка VHL в ткани рака почки, в зависимости от распространенности процесса. **Материал и методы.** В исследование было включено 39 пациентов с почечно-клеточным раком. T1–2N0M0 стадия заболевания диагностирована у 20 больных, 19 имели диссеминированный процесс – T1–3N0–1M1. Всем пациентам в ткани опухоли и прилежащей неизменной ткани определяли уровень мРНК VHL. **Результаты и обсуждение.** Выявлена равномерность распределения экспрессии VHL среди больных раком почки в зависимости от распространенности процесса. Отмечено повышение уровня экспрессии VHL у пациентов с диссеминированной формой заболевания по сравнению с пациентами, имеющими локализованную форму. Вероятно, молекулярный механизм развития и прогрессирования рака почки тесным образом связан с экспрессией VHL, определяя исход заболевания. **Заключение.** Таким образом, белок VHL играет важную роль в процессе метастазирования злокачественного заболевания.

Ключевые слова: VHL, рак почки, NF-κBp65, NF-κBp50, HIF-1, HIF-2, ростовой фактор VEGF, CAIX, VEGFR2, компоненты АКТ/m-TORсигнального пути.

ROLE OF VHL IN CLEAR-CELL RENAL CELL CARCINOMA, ASSOCIATION WITH METASTASIS DEVELOPMENT

D.V. Podnebesnova¹, N.A. Lushnikova²

Siberian State Medical University, Tomsk, Russia¹

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center,

Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia²

Abstract

Introduction. Renal cell carcinoma (RCC) is a heterogeneous group of cancers of the kidney, consisting of different subtypes with the most frequent being clear cell RCC (79%). Clear-cell renal cell carcinoma (ccRCC) is associated with the functional deficiency of the von Hippel-Lindau protein, activation of metastasis and progression of the disease. The purpose of the study was to study the VHL protein expression level in ccRCC tissue, depending on the extent of the tumor involvement. **Material and Methods.** The study included 39 patients with ccRCC. Of them, 20 patients had T1-2N0M0 stage and 19 patients had - T1-3N0-1M1 stage. The level of VHL mRNA was determined in all patients in the tumor tissue and the adjacent unchanged tissue. **Results and discussion.** A uniform distribution of VHL expression within the kidney was found. An increased level of VHL expression was observed in patients with disseminated cancer compared to the localized RCC. The molecular mechanism for the development and progression of RCC is likely to be closely related to the expression of VHL, determining the outcome of the disease. **Conclusion.** Thus, the VHL protein plays an important role in the development of metastasis.

Key words: VHL, kidney cancer, metastasis.

Введение. Рак почки представляет собой гетерогенную группу опухолей, из которых более 79 % приходится на светлоклеточный почечно-клеточный тип, связанный с функциональной неполноценностью белка фон Хиппель-Линдау, сопровождающейся увеличением содержания ядерного фактора HIF-1, гиперэкспрессией эндотелиального фактора роста (VEGF) [1, 2]. Однако наличие таких мутаций не влияет на течение и исход заболевания, эффективность таргетной терапии [3].

Мутантная форма белка VHL способствует резистентности к NF-κB-опосредованному апоптозу, а также связана с блокированием процессов клеточной цитотоксичности [4]. Показано, что уровень экспрессии VHL при развитии рака почки снижен [5]. В настоящее время подтверждена роль молекулярных параметров опухоли, определяющих развитие и прогрессирование светлоклеточного рака почки [6, 7]

В связи с этим **цель исследования** заключалась в определении экспрессии гена VHL в ткани рака почки, а также в ассоциации с процессом метастазирования.

Материал и методы. В исследование было включено 39 пациентов с почечно-клеточным раком. T1–2N0M0 стадия заболевания диагностирована у 20 больных, 19 имели диссеминированный процесс – T1–3N0–1M1. Всем пациентам с локализованным раком было проведено комбинированное лечение в клиниках НИИ онкологии Томского НИМЦ. Больным с диссеминированным процессом проводилось комбинированное лечение, которое включало 2-месячный курс предоперационной таргетной терапии тирозинкиназным ингибитором пазопанибом 800 мг 1 раз в сутки с последующим выполнением хирургического этапа в объеме нефрэктомии/резекции почки. Объемы диагностики и лечения больных раком почки соответствовали рекомендуемым алгоритмам, утвержденным Министерством здравоохранения РФ. Проведение данной работы одобрено этическим комитетом НИИ онкологии Томского НИМЦ РАН.

Материалом исследования являлись образцы опухолевой и неизменной ткани почки, находящиеся на расстоянии не менее 1 см от границы опухолей, которые после забора замораживались и хранились при t –80 °C.

Для исследования экспрессии молекулярных показателей и выделения мРНК образцы тканей помещали в раствор RNeasy lysis buffer (Qiagen, Germany) и сохраняли при температуре –80 °C (после 24-часовой инкубации при +4 °C).

Выделение РНК. РНК выделяли с помощью набора RNeasy mini Kit, содержащего ДНК-азу I (Qiagen, Germany). Для оценки количества выделенной РНК на спектрофотометре NanoDrop-2000 (Thermo Scientific, USA) оценивали концентрацию и чистоту выделения РНК.

Количественная ПЦР с обратной транскрипцией в режиме реального времени. Уровень экспрессии генов оценивали при помощи количественной обратно-транскриптазной ПЦР в режиме реального времени (RT-qPCR) с использованием красителя SYBR Green на амплификаторе iCycler (Bio-Rad, USA). Для получения кДНК на матрице РНК проводили реакцию обратной транскрипции с помощью набора ОТ m-MuLV-RH (БиоЛабмикс, Россия) со случайными гексануклеотидными праймерами в соответствии с инструкцией. ПЦР ставили в трех репликах в объеме 25 мкл, содержащем 12,5 мкл БиоМастер HS-qPCR SYBR Blue (БиоЛабмикс, Россия), 300 нМ прямого и обратного праймеров и 50 нг кДНК. Двухшаговая программа амплификации включала 1 цикл – 94 °С, 10 мин – предварительная денатурация; 40 циклов – 1 шаг 94 °С, 10 сек и 2 шаг 20 сек – при температуре 60 °С. Праймеры были подобраны с использованием программы Vector NTI Advance 11.5 и базы данных NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucore>). Праймеры для VHL: (NM_000551.3) F 5'-GGCAGGCGAATCTCTTGA; R 5'-CTATTTCTTTACTCAGCACCAT. В качестве референсного гена использовали ген «домашнего хозяйства» фермента GAPDH (glyceraldehydes-3-phosphate dehydrogenase), уровень экспрессии каждого целевого гена нормализовали по отношению к экспрессии GAPDH (NM_001256799.2): F 5'-GGAAGTCAGGTGGAGCGA-3; R 5'-GCAACAATATCCACTTTACCAGA-3.

Статистическую обработку результатов проводили с применением пакета программ Statistica 8.0. Проверку нормальности проводили с помощью критерия Колмогорова – Смирнова. Результаты определения экспрессии генов представлены как Me (Q1; Q3). Значимость различий оценивали по критерию Манна – Уитни. Различия считали значимыми при $p < 0,05$. Значимость различий частот качественных признаков оценивали с помощью Хи-квадрат критерия с поправкой Йетса.

Результаты и обсуждение. В результате проведенного исследования показано, что экспрессия VHL связана с распространенностью заболевания и развитием отдаленных метастазов. Так, отмечен рост экспрессии VHL в 32,0 раза у пациентов с диссеминированной формой заболевания, по сравнению с пациентами с локализованным раком (табл. 1). Известно, что уровень экспрессии VHL при развитии рака почки снижен [5]. Однако выявленный факт свидетельствует о возрастании роли VHL в развитии заболевания, в частности в процессе метастазирования.

Таблица 1

Экспрессия VHL у пациентов с локализованным и диссеминированным раком почки

Локализованная форма (T ₁₋₂ N ₀ M ₀), УЕ	Диссеминированная форма (T1-4N0-1M1), УЕ
2,00 (0,50;4,0)	64,00 (8,46;128,00)*

Примечание: * – значимость различий по сравнению с локализованной формой, $p < 0,05$.

При исследовании распространенности повышенного и пониженного уровня VHL среди больных в зависимости от распространенности заболевания были выделены 3 группы: пациенты с пониженной экспрессией VHL, менее 1,0 УЕ, (n=14) и повышенной, более 1,0 УЕ, (n=25) относительно нормальной ткани (табл. 2), – имеющие локализованную и диссеминированную формы заболевания. Следует отметить, что пациенты с пониженной и повышенной экспрессией равномерно распределились по группам больных с локализованной и диссеминированной формой.

Таблица 2

Уровни экспрессии VHL относительно нормальной ткани

Экспрессия VHL	Локализованная форма	Диссеминированная форма	Значимость
Пониженная (менее 1,0)	33% (n=2)	15% (n=3)	p=0,726
Повышенная (более 1,0)	66% (n=4)	85% (n=16)	
Критерий Хи-квадрат с поправкой Йейтса 0.123			

В проведенных ранее работах была показана значимость молекулярно-биологических характеристик опухоли в метастазировании рака почки [5–7]. Возрастание экспрессии VHL, несмотря на равномерное распределение пациентов с пониженной и повышенной экспрессией данного маркера в группах с локализованным и диссеминированным раком, вероятно, опосредованно влияет на течение заболевания и формирование отдаленных метастазов.

Заключение. Таким образом, метастазирование рака почки протекает на фоне повышения экспрессии VHL, что подтверждает факт того, что не только функциональная неполноценность белка может определять механизмы опухолевого прогрессирувания, но и уровень экспрессии его гена. Развитие отдаленных метастазов сопровождается ростом уровня мРНК VHL. При этом выявлено равномерное распределение уровня его экспрессии в группах с локализованным и диссеминированным раком, что, несомненно, требует дальнейшего изучения. В целом, представленные данные свидетельствуют о значимости молекулярно-биологических параметров опухоли в онкогенезе, в частности, показана роль VHL в процессе метастазирования при раке почки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2016 году (заболеваемость и смертность). М.: МНИОИ им. П.А. Герцена, 2018. 250.
2. Kaelin W.G. Jr: Treatment of kidney cancer: insights provided by the VHL tumor-suppressor protein. *Cancer*. 2009 May 15; 115(10 Suppl): 2262–72. doi: 10.1002/encr.24232.
3. Kim B.J., Kim J.H., Kim H.S., Zang D.Y. Prognostic and predictive value of VHL gene alteration in renal cell carcinoma: a meta-analysis and review. *Oncotarget*. 2017 Feb 21; 8(8): 13979–13985. doi: 10.18632/oncotarget.14704.
4. Menke J., Iwata Y., Rabacal W.A., Basu R., Yeung Y.G., Humphreys B.D., Wada T., Schwarting A., Stanley E.R., Kelley V.R. CSF-1 signals directly to renal tubular epithelial cells to mediate repair in mice. *J Clin Invest*. 2009 Aug; 119(8): 2330–42. doi: 10.1172/JCI39087.
5. Labrousse-Arias D., Martínez-Alonso E., Corral-Escariz M., Bienes-Martínez R., Berridy J., Serrano-Oviedo L., Conde E., García-Bermejo M.L., Giménez-Bachs J.M., Salinas-Sánchez A.S., Sánchez-Prieto R., Yao M., Lasa M., Calzada M.J. VHL promotes immune response against renal cell carcinoma via NF- κ B-dependent regulation of VCAM-1. *J Cell Biol*. 2017 Mar 6; 216(3): 835–847. doi: 10.1083/jcb.201608024.
6. Spirina L.V., Usynin E.A., Yurmazov Z.A., Slonimskaya E.M., Kondakova I.V. Effect of Targeted Therapy With Pazopanib on Expression Levels of Transcription, Growth Factors and Components of AKT/m-TOR Signaling Pathway in Patients with Renal Cell Carcinoma. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2017; 18(11): 2977–2983.
7. Спирина Л.В., Усынин Е.А., Юрмазов З.А., Слонимская Е.М., Колегова Е.С., Кондакова И.В. Экспрессия мРНК и содержание NF- κ B, HIF-1, HIF-2, VEGF, VEGFR2 и карбоангидразы IX при метастазировании рака почки. Молекулярная биология. 2017; 51(2): 372–377.

СОЗДАНИЕ ТРЁХМЕРНОЙ STL МОДЕЛИ ВЕРХНЕЙ КОНЕЧНОСТИ ЧЕЛОВЕКА НА ОСНОВЕ ТОМОГРАФИЧЕСКИХ ДАННЫХ

**А.Э. Прокопьев¹, А.А. Красных¹, И.А. Милойчикова^{1,2},
Ю.М. Черепенников¹, С.Г. Стучебров¹**

Национальный исследовательский Томский политехнический университет, г. Томск, Россия¹
Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный
исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия²

Аннотация

В медицинской практике фантомы используют для планирования облучения пациента и верификации дозы, которая должна доставляться в опухоль с высокой точностью. Для верификации сложных планов облучения необходимо разработать гетерогенный фантом человека, имитирующий взаимодействие различных тканей с ионизирующим излучением. В работе описывается процесс создания модели на основе данных, полученных с помощью компьютерной томографии. Была разработана модель верхней конечности человека с раковой опухолью при помощи программного пакета InVesalius 3 с последующей корректировкой в CAD-системе Adobe Meshmixer.

Ключевые слова: верификация планов, дозиметрический фантом, томография, 3D-печать, DICOM, STL модель.

DEVELOPMENT OF HUMAN ARM STL 3D-MODEL BASED ON TOMOGRAPHIC DATA

**A.E. Prokopyev¹, A.A. Krasnykh¹, I.A. Miloichikova^{1,2},
Yu.M. Cherepennikov¹, S.G. Stuchebrov¹**

National Research Tomsk Polytechnic University, Tomsk, Russia¹
Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences,
Tomsk, Russia²

Abstract

In modern medical practice the special dosimetry phantoms are used to plan radiotherapy sessions and verify the dose that should be delivered to a tumor with high accuracy. To verify complex irradiation plans, it is necessary to develop a human heterogeneous phantom that simulates the interaction of various tissues with ionizing radiation. The work describes the process of creating a 3D-model using computed tomography data. A model of the human arm which contains a tumor was developed using InVesalius 3 software package with further corrections by means of Adobe Meshmixer CAD system.

Key words: verification of radiotherapy plans, dosimetry phantoms, tomography, 3D-printing, DICOM, STL model.

Актуальность. Разработка новых приборов и методов для лечения злокачественных новообразований и их внедрение в клиническую практику позволят повысить качество помощи, оказываемой онкологическим больным, что, несомненно, является делом первоочередной важности. Эффективным способом лечения злокачественных новообразований является лучевая терапия, главной задачей которой является захват в объём облучения максимального количества раковых клеток при минимальном включении в этот же объём здоровых клеток [1–3].

Для проведения оптимального лечения доза излучения должна доставляться с высокой точностью. Для этого проводятся планирование облучения расчетными методами и верификация плана при помощи дозиметрических фантомов.

Существуют два типа фантомов: геометрические и антропоморфные [4]. Данные фантомы представляют собой упрощенные модели тела человека. Однако для верификации сложных планов облучения необходимо создавать индивидуальные фантомы. В работе [5] предложен метод создания таких изделий с помощью технологий трёхмерной печати. Для разработки такого фантома необходимо создать модель поражённой области человека, пригодную для устройств трёхмерной печати.

Цель исследования – разработка объёмной модели тела человека в формате STL для создания дозиметрического фантома методами трёхмерной печати.

Материал и методы. Процесс изготовления дозиметрического фантома можно условно разделить на три этапа.

На первом этапе производится визуализация анатомической структуры с помощью компьютерной томографии. В результате сканирования получают набор данных в формате DICOM. Этот набор представляет собой снимки плоских срезов (слайсов) исследуемой области.

На втором этапе из набора файлов DICOM, с помощью специальных компьютерных комплексов, таких как InVesalius [6], создается мультипланарная реконструкция 3D-поверхностей тканей пациента путем сегментации. Анатомическая область разделяется на несколько моделей, которые определяются в соответствии КТ-индексами отдельных тканей, например костная, мышечная, жировая.

На третьем этапе производится обработка трёхмерной модели в CAD-системе, которая включает в себя сглаживание рельефа и при необходимости доработку конструкции. Для этого 3D-модель экспортируется в программный комплекс Meshmixer [7].

Результаты. В данной работе проводилось создание модели верхней конечности пациента, поражённой опухолью. На рис. 1, представлены трёхмерные модели, полученные в программе InVesalius.

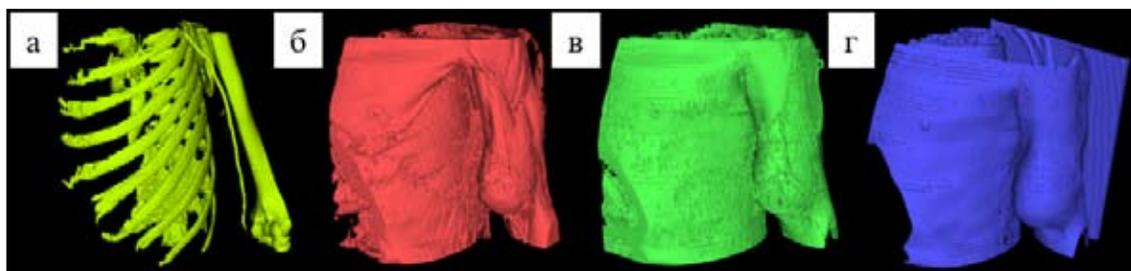


Рис.1. Трёхмерные модели, полученные в программе InVesalius: а – костная ткань, б – мышечная ткань, в – жировая ткань, г – кожа

На рис. 1 видно большое количество «шумов». Избежать их образования при сегментации практически невозможно, так как маски, накладываются на ткани определенной плотности. Причем плотности каждой из тканей не имеют строго фиксированных значений, а всегда изменяются в некотором диапазоне. Соответственно, генерируемые трехмерные STL-файлы также имеют грубую фактуру рельефа поверхности с большим количеством отдельных изолированных вкраплений. Поэтому STL-файлы необходимо экспортировать в CAD для редактирования. На рис. 2 представлена доработанная модель.

Основной проблемой при моделировании и дальнейшей обработке получившейся 3D-модели является отделение частей тела пациента от поверхности стола компьютерного томографа. При моделировании в программе InVesalius стол определяется как продолжение кожи пациента (рис. 2).

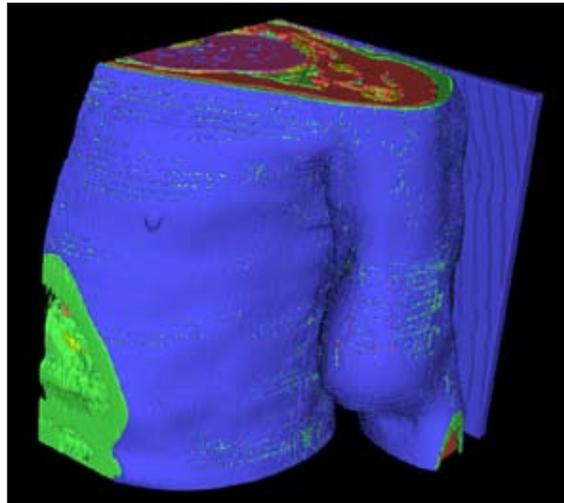


Рис.2. Доработанная комплексная трехмерная модель верхней конечности и части грудной клетки человека

Выводы. Таким образом, в ходе проделанного исследования были успешно решены все поставленные задачи, а именно:

1) была разработана модель верхней конечности человека при помощи программы InVesalius;

2) результатом моделирования верхней конечности и части грудной клетки человека стала пригодная для дальнейшей обработки 3D-модель, но при компоновке и обработке были замечены трудности с отделением стола от кожи пациента. Решением данной проблемы является ручное редактирование модели в CAD-системе.

Следующим этапом исследования станет разработка моделей других частей тела.

ЛИТЕРАТУРА

1. Bernier J., Hall E.J., Giaccia A. Radiation oncology: a century of achievements. *Nature Reviews Cancer*. 2004; 4(9): 737.
2. Gerber D.E., Chan T.A. Recent advances in radiation therapy. *Am Fam Physician*. 2008; 78(11): 1254–1262.
3. Gribova O.V., Musabaeva L.L., Choynzonov E.L., Lysin V.A., Novikov V.A. Neutron therapy for salivary and thyroid gland cancer. *AIP Conference Proceedings*. AIP Publishing, 2016. 1760(1): 020021.
4. DeWerd L.A. The phantoms of medical and health physics. New York: Springer. 2014; 286.
5. Данилова И.Б., Красных А.А., Милойчикова И.А., Стучебров С.Г. Моделирование взаимодействия гамма-излучения и АБС-пластика с различными металлическими примесями. *Вестник Национального исследовательского ядерного университета МИФИ*. 2017; 6(1): 78–82.
6. InVesalius 3 [Internet]. URL: <https://www.cti.gov.br/pt-br/invesalius> (дата обращения: 29.01.2019).
7. Meshmixer [Internet]. URL: <http://www.meshmixer.com> (дата обращения: 29.01.2019).

ДИАГНОСТИКА КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА: ВОЗМОЖНОСТИ ПИЛОТНЫХ ПАНЕЛЕЙ НА ОСНОВЕ ЭЛЕКТРИЧЕСКИХ И ВЯЗКОУПРУГИХ ХАРАКТЕРИСТИК ЭРИТРОЦИТОВ

**Я.И. Прудникова¹, М.В. Кручинина^{1,4,5}, А.А. Громов¹, В.М. Генералов^{2,5},
К.В. Генералов^{2,5}, В.Н. Кручинин³, Э.В. Кручинина⁴, Г.В. Шувалов⁵,
И.Н. Яковина⁶, Н.А. Баннова⁶, М.Е. Рягузов⁷**

Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины – филиал Института цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, г. Новосибирск, Россия¹
Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, пос. Кольцово, Новосибирская область, Россия²

Институт физики полупроводников им. А.В. Ржанова Сибирского отделения Российской академии наук, г. Новосибирск, Россия³

Новосибирский государственный медицинский университет, г. Новосибирск, Россия⁴

Сибирский государственный ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский институт метрологии, г. Новосибирск, Россия⁵

Новосибирский государственный технический университет, г. Новосибирск, Россия⁶

Государственное бюджетное учреждение здравоохранения НСО «Новосибирский областной клинический онкологический диспансер», г. Новосибирск, Россия⁷

Аннотация

Представлены результаты исследования электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов с помощью метода диэлектрофореза у пациентов с колоректальным раком (КРР) различных стадий. Выявлено, что прогрессирование заболевания ассоциировано с увеличением уровней электропроводности клеток, индексов агрегации и деструкции, обобщенных показателей жесткости и вязкости, содержания деформированных эритроцитов и, напротив, со снижением амплитуды деформации эритроцитов, емкости клеток, дипольного момента и поляризуемости на всех частотах ($p < 0,0001 - 0,001$). Наиболее значимыми для дифференцирования здоровых лиц от пациентов с КРР, а также между ранними и поздними стадиями, вошедшими в сформированные модели рискметра диагностики заболевания, оказались доля деформированных клеток, амплитуда деформации, обобщенные показатели вязкости, жесткости, положение равновесной частоты, электропроводность эритроцитов. Созданные диагностические «панели» с высокой диагностической точностью, чувствительностью и специфичностью позволили дифференцировать здоровых обследуемых от пациентов с КРР (специфичность 0,91, чувствительность 0,96), а также различать ранние и поздние стадии заболевания (специфичность 0,64, чувствительность 0,86).

Ключевые слова: колоректальный рак, диагностика, стадии, электрические и вязкоупругие характеристики, диэлектрофорез, эритроциты, диагностические панели.

ROLE OF PILOT PANELS BASED ON THE ELECTRICAL AND VISCOELASTIC CHARACTERISTICS OF ERYTHROCYTES IN THE DIAGNOSIS OF COLORECTAL CANCER

Ia.I. Prudnikova¹, M.V. Kruchinina^{1,4,5}, A.A. Gromov¹, V.M. Generalov^{2,5},
K.V. Generalov^{2,5}, V.N. Kruchinin³, E.V. Kruchinina⁴, G.V. Shuvalov⁵,
I.N. Yakovina⁶, N.A. Bannova⁶, M.E. Ryaguzov⁷

Institute of internal and preventive medicine branch of the Institute of cytology and genetics, Siberian branch of the Russian academy of sciences, Novosibirsk, Russia¹

State research center of virology and biotechnology «Vector», Federal service for surveillance on consumer rights protection and human well-being, Novosibirsk region, Koltsovo, Russia²

Rzhanov Institute of semiconductor physics Siberian branch of Russian academy of sciences, Novosibirsk, Russia³

Novosibirsk state medical university, Novosibirsk, Russia⁴

Siberian state order of the Red banner of labor Institute of metrology, Novosibirsk, Russia⁵

Novosibirsk state technical university, Novosibirsk, Russia⁶

State budgetary institution of health care NSO «Novosibirsk Regional Clinical Oncology Center», Novosibirsk, Russia⁷

Abstract

The results of the study of electrical and viscoelastic parameters of erythrocytes using the method of dielectrophoresis in patients with colorectal cancer (CRC) of various stages were presented. It was revealed that the progression of the disease was associated with an increase in the electrical conductivity of cells, aggregation and destruction indices, generalized indicators of rigidity and viscosity, quantity of deformed erythrocytes, and conversely with a decrease in the amplitude deformation of red blood cell, cell capacity, dipole moment and polarizability at all frequencies ($p < 0.00010.001$). The most significant differences between healthy individuals and patients with CRC, as well as between early and late stages included in the risk assessment models were: the proportion of deformed cells, strain amplitude, generalized indicators of viscosity, stiffness, equilibrium frequency position, and erythrocyte conductivity. The diagnostic "panels" with high diagnostic accuracy, sensitivity and specificity allowed us to differentiate healthy subjects from patients with CRC (0.91 specificity, 0.96 sensitivity), as well as to distinguish between early and late stages of the disease (0.64 specificity, 0.86 sensitivity).

Key words: colorectal cancer, diagnostics, stages, electrical and viscoelastic characteristics, dielectrophoresis, red blood cells, diagnostic panels.

Введение. Мировая статистика (GLOBOCAN 2018) свидетельствует о высокой заболеваемости и смертности от колоректального рака (КРР), на который приходится около трети случаев всех злокачественных новообразований [1]. Стратегия скрининга КРР основана на поиске молекулярных биомаркеров в жидкостях организма, таких как кровь, моча, фекалии, поскольку такой подход обладает минимальной инвазивностью и прост в получении проб [2].

В диагностике популярна методика исследования клеток крови, включая эритроциты, с помощью диэлектрофореза (ДЭФ) – направленного движения частиц в неоднородном переменном электрическом поле (НПЭП) с их оптической детекцией [3, 4]. Метод точен, информативен, малоинвазивен, низкокзатратен и не требует трудоемкой подготовки образца; его данные хорошо дополняют информацию современных методов анализа, широко используемых в медицине, таких как Raman-, ИК-спектроскопия, хромато-масс-спектрометрия [5, 6].

Цель работы – изучить возможности использования электрических и вязкоупругих характеристик эритроцитов, полученных с помощью диэлектрофореза для диагностики КРР путем создания пилотных диагностических панелей.

Материал и методы. Обследованы 123 пациента с КРР – гистологически подтвержденная аденокарцинома (средний возраст $62,6 \pm 8,8$ года; 66 мужчин, 57 женщин) и 35 человек группы сравнения, сопоставимых по возрасту и полу (средний возраст $58,5 \pm 6,8$ года, 19 мужчин, 16 женщин). Стадия опухоли толстой кишки уточнялась после операции с исследованием патологического образца и с учетом наличия метастазирования в регионарные

лимфатические узлы (классификация по TNM). У 64 пациентов выявлены ранние стадии заболевания (I стадия – в 14, II – в 50 случаях), оставшиеся 59 больных оказались с продвинутыми стадиями КРР (III стадия – у 33, IV – у 26 человек).

Исследование выполнено с одобрения Комитета биомедицинской этики Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины» (29.11.2016, протокол №123). Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Всем пациентам и лицам группы сравнения, кроме общеклинических и инструментальных методов исследования, проведено исследование электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов методом ДЭФ с помощью электрооптической системы детекции клеток. Подготовка взвесей эритроцитов описана в [4]. Оценивали индексы агрегации и деструкции, электропроводность, емкость мембран клеток, скорость движения эритроцитов к электродам, положение равновесной частоты, амплитуду деформации, обобщенные показатели вязкости и жесткости, поляризуемость клеток, величины индуцированного дипольного момента.

Для оценки статистической значимости различий трех выборок (выборка А – группа контроля (35 пациентов), выборка В – ранние стадии КРР (64 пациента), выборка С – поздние стадии КРР (59 пациентов) использовали одновременно U-критерий Манна – Уитни для попарного сравнения групп и критерии Краскела – Уоллеса для одновременного сравнения всех выборок. Во всех процедурах статистического анализа критический уровень значимости нулевой гипотезы (p) принимался равным 0,05. Для оценки степени коррелированности показателей для всех выборок и показателей были рассчитаны коэффициенты корреляции с использованием стандартных средств пакета Statistica 10.0. Для разработки рискометров использовались методы системного и графического анализа. Модели формировались с учетом разных шкал. Оценка результатов проводилась с использованием графического и ROC-анализов.

Результаты. В группе сравнения преобладали дискоциты, которые под действием НПЭП с высокой скоростью притягивались к электродам на частотах 1×10^6 ; $0,5 \times 10^6$ Гц, демонстрируя высокую способность к деформации (рис. 1, левая часть). У пациентов с КРР доля дискоцитарных форм достоверно снижалась ($55,2 \pm 0,23$ % против $74,6 \pm 0,12$ % в группе сравнения, $p < 0,001$), клетки образовывали агрегаты (индекс агрегации $6,2 \pm 0,08/10^2$ против $1,9 \pm 0,05/10^2$ усл. ед. в контроле, $p < 0,0001$), которые медленно двигались к электродам; амплитуда деформации эритроцитов оказалась существенно ниже, чем у здоровых лиц ($6,25 \pm 0,008$ против $8,25 \pm 0,009$ [м] у здоровых, $p < 0,0001$) (рис. 1, правая часть).

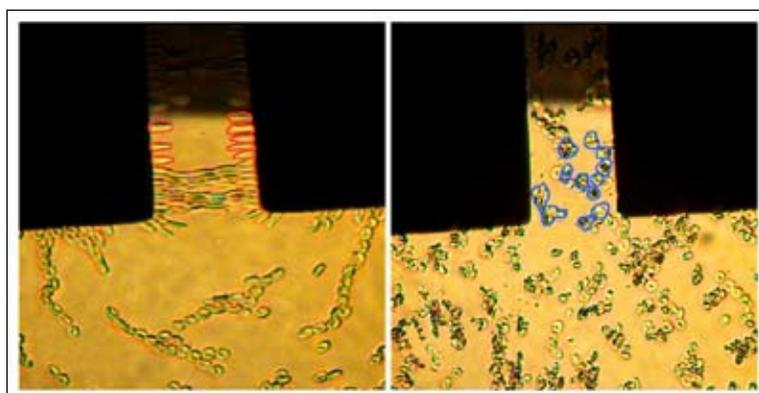


Рис. 1. Электрооптический ДЭФ-мониторинг эритроцитов. Левая часть – здоровые обследуемые; правая часть – больные КРР

По мере утяжеления заболевания отмечалось увеличение полиморфизма клеток красной крови – преобладающими в терминальных стадиях оказались шиповидные, сфероцитарные, деструктивные формы эритроцитов ($66,03 \pm 0,32$ % в поздних против $47,79 \pm 0,29$ % в ранних стадиях, $p < 0,0001$) с выраженными явлениями анизо-, пойкилоцитоза и анизохромии ($p < 0,05$), наличие которых затрудняет транспорт кислорода из клеток к тканям и усугубляет гипоксию [7].

Прогрессирование КРР ассоциировано с увеличением уровней обобщенных показателей вязкости, жесткости, значений электропроводности (табл. 1), степени агрегатообразования и гемолиза клеток на всех частотах (так, на частоте 1×10^6 Гц индекс агрегации составил $8,0 \pm 0,16/10^2$ усл. ед. в поздних против $4,0 \pm 0,08/10^2$ усл. ед. в ранних стадиях, $p < 0,0001$; ин-

декс деструкции – $1,21 \pm 0,03\%$ против $0,43 \pm 0,02\%$, $p=0,0004$, соответственно); в то же время радиус эритроцитов ($3,13 \pm 0,0039$ против $3,27 \pm 0,0035$ мкм, $p < 0,0001$), амплитуда деформации на частотах 5×10^5 , 1×10^6 Гц, поляризуемость клеток на частоте 1×10^6 Гц ($3,69 \pm 0,016$) $\times 10^{-15}$ против ($4,75 \pm 0,018$) $\times 10^{-15}$ м³, $p=0,0004$), величина дипольного момента ($4,72 \pm 0,019$) $\times 10^{-22}$ против ($6,32 \pm 0,02$) $\times 10^{-22}$ Кл.м, $p < 0,0001$), электрическая емкость ($2,86 \pm 0,04$) $\times 10^{-14}$ против ($5,56 \pm 0,03$) $\times 10^{-14}$ Ф, $p < 0,0001$) мембран эритроцитов снижались. Выявлено смещение равновесной частоты в высокочастотный диапазон на поздних стадиях КРР ($1,73 \pm 0,02$ против $0,92 \pm 0,02$ Гц, $p < 0,001$). Установлены обратные корреляции стадии заболевания с долей деформированных клеток ($r = -0,51$, $p < 0,0001$), амплитудой деформации ($r = -0,557$, $p < 0,0001$), емкостью мембран эритроцитов ($r = -0,558$, $p < 0,0001$), величиной дипольного момента ($r = -0,589$, $p < 0,0001$), прямые – с обобщенными показателями жесткости ($r = 0,541$, $p < 0,0001$), вязкости эритроцитов ($r = 0,596$, $p < 0,0001$), электропроводности ($r = 0,513$, $p < 0,0001$), положения равновесной частоты ($r = 0,383$, $p < 0,0001$).

Полученные результаты легли в основу пилотных «диагностических панелей», позволяющих дифференцировать пациентов с КРР от здоровых обследуемых, а также дифференцировать ранние стадии заболевания от поздних.

В ходе сравнительного анализа результатов, полученных для всего множества параметров, было выявлено, что некоторые из них имеют ярко выраженный тренд не только средних значений, но и центров масс, а также минимальных и максимальных значений выборок. Это позволило сформировать вариант рискметра (модель 1), в который были включены 5 параметров с наличием положительного тренда от минимальных значений для группы контроля (выборка А) к максимальным значениям, характерным для пациентов с поздними стадиями КРР (выборка С). Учитывая характер тренда, было предложено использовать линейную комбинацию параметров (табл. 1) с учетом шкалы их измерения.

Второй вариант рискметра (модель 2) получен на основании графического анализа диаграмм рассеяния, позволяющих выявить ярко выраженные кластеры для исследуемых диагностических групп по 4 параметрам.

Результаты применения разработанных рискметров для трех исследуемых групп пациентов приведены на рис. 2, 3. Для упрощения использования рискметров в клинической практике планируется разработка калькулятора, позволяющего по результатам введенных значений параметров электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов получать оценку степени риска наличия колоректального рака, с определенной вероятностью различать ранние и поздние стадии и осуществлять интерпретацию полученных данных.

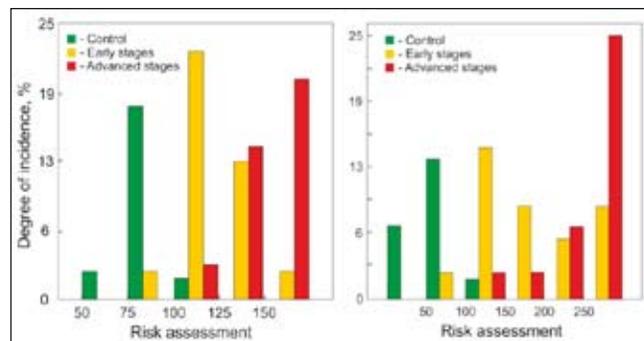


Рис. 2. Результаты применения разработанных рискметров (модели 1 и 2) для трех исследуемых групп пациентов. Левая часть – модель 1, правая часть – модель 2 (см. текст)

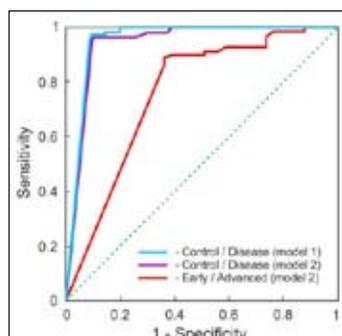


Рис. 3. ROC-анализ исследуемых диагностических панелей для пар групп пациентов (модель 1 – здоровые vs пациенты с КРР; модель 2 – здоровые vs пациенты с КРР; модель 2 – ранние стадии vs поздние)

Заключение. Установлено, что наличие КРР приводит к деполяризации эритроцитов, при этом амплитудно-частотные характеристики клетки в НПЭП являются хорошим индикатором физико-химических свойств ее мембраны и цитоплазмы, а также отражают состояние ее биологической активности. Полученные данные ДЭФ с использованием оптической системы детекции клеток достоверных изменений параметров красной крови у пациентов с КРР по мере утяжеления заболевания легли в основу создания пилотных «диагностических панелей» – рискометров. Высокая диагностическая точность последних позволяет не только выявлять пациентов с КРР, но и дифференцировать ранние стадии заболевания от поздних, что подтверждает перспективность использования данного подхода.

Работа выполнена в рамках темы «Эпидемиологический мониторинг состояния здоровья населения и изучение молекулярно-генетических и молекулярно-биологических механизмов развития распространенных терапевтических заболеваний в Сибири для совершенствования подходов к их диагностике, профилактике и лечению» ГЗ № 0324-2018-0001, Рег. № АААА-А17-117112850280-2, опытно-конструкторской работы (шифр «Эритроциты»)

ЛИТЕРАТУРА

1. Мейерхардт Дж., Сандерз М. Рак толстой кишки: пер. с англ.; под ред. Скарина А.Т. М.: ООО «Рид Элсивер». 2009. 186.
2. Di Lena M., Travaglio E., Altomare D.F. New strategies for colorectal cancer screening. World J. Gastroenterol. 2013; 19(12): 1855–1860.
3. Генералов В.М., Кручинина М.В., Дурьманов А.Г., Медведев А.А., Сафатов А.С., Сергеев А.Н., Буряк Г.А., Курилович С.А., Громов А.А. Дилектрофорез в диагностике инфекционных и неинфекционных заболеваний. Новосибирск: Изд-во «ЦЭРИС». 2011. 172.
4. Генералов В.М., Кручинина М.В., Громов А.А., Шувалов Г.В. Дилектрофорез в биологии и медицине: учебное пособие. Новосибирск: Изд-во НГТУ. 2017. 179.
5. Elahi N., Kamali M., Baghersad M.H. Recent biomedical applications of gold nanoparticles: A review. Talanta. 2018 Jul 1; 184: 537–556. doi: 10.1016/j.talanta.2018.02.088.
6. Ogawa M., Takakura H. In Vivo molecular imaging for biomedical analysis and therapies. Anal. Sci. 2018; 34(3): 273–281. doi: 10.2116/analsci.34.273.
7. Новицкий В.В., Рязанцева Н.В., Степовая Е.А. Физиология и патофизиология эритроцита. Томск: Наука, 2004; 202.

ВЫЖИВАЕМОСТЬ БОЛЬНЫХ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНЫМ РАКОМ ЛЕГКОГО ПОСЛЕ КОМБИНИРОВАННОГО ЛЕЧЕНИЯ С ПРЕДОПЕРАЦИОННОЙ ХИМИОТЕРАПИЕЙ И ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННЫМ НАЗНАЧЕНИЕМ АДЪЮВАНТНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ

**Е.О. Родионов^{1,2}, М.М. Цыганов¹, И.В. Дерюшева¹, С.В. Миллер¹,
Л.А. Ефтеев¹, Н.В. Литвяков^{1,3}, С.А. Тузиков^{1,2}, А.А. Силантьева²,
В.А. Маркович¹**

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный
исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия¹
ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России,
г. Томск, Россия²
ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский государственный университет»,
г. Томск, Россия³

Аннотация

Актуальность. Персонализированная химиотерапия, основанная на определении молекулярных биомаркеров химиочувствительности, представляет собой новый путь для лечения больных операбельным немелкоклеточным раком легкого. **Цель исследования** – изучить отдаленные результаты комбинированного лечения НМРЛ с использованием предоперационной химиотерапии, радикального хирургического вмешательства и персонализированного назначения адъювантной химиотерапии на основании уровня экспрессии генов монорезистентности в опухоли. **Материал и методы.** В работе проанализированы четырехлетние результаты лечения 72 больных НМРЛ II–III стадии. Всем больным проводилось 2 курса неадъювантной химиотерапии винорелбин/карбоплатин и хирургическое лечение. В основной группе (n=35) проведена персонализированная адъювантная химиотерапия на основании уровней экспрессии генов ABCC5, RRM1, TYMS, TOP1, TOP2α, TUBB3, BRCA1 и ERCC1. В группе контроля (n=37) проведено 3 курса адъювантной химиотерапии винорелбин/карбоплатин.

Результаты. В основной группе прогрессирование заболевания наблюдалось у 14/35 больных, в контрольной группе – у 21/37 больных. Безрецидивная выживаемость в основной группе составила 60,0 % (95 % ДИ: 43,6–74,5), в группе контроля – 43,2 % (95 % ДИ: 28,7–59,1); Log-Rank test $\chi^2=3,071$, $p=0,080$; OR = 1,808 (95 % ДИ: 0,918–3,561). Медиана БРВ в контрольной группе составила 27 мес (95 % ДИ: 5,7–48,3). Общая выживаемость в основной группе составила 77,1 % (95 % ДИ: 61,0–87,9), в контрольной группе – 54,1 % (95 % ДИ: 38,4–69,0); Log-Rank test $\chi^2=2,813$, $p=0,094$; OR = 2,024 (95 % ДИ: 0,870–4,709). **Заключение.** Разработанный способ персонализированного назначения адъювантной химиотерапии больным НМРЛ на основании молекулярно-генетических характеристик опухоли позволяет улучшить показатели безрецидивной и общей выживаемости.

Ключевые слова: немелкоклеточный рак легкого, гены монорезистентности, персонализированная химиотерапия.

SURVIVAL OF PATIENTS WITH SMALL CELL LUNG CANCER AFTER COMBINED MODALITY TREATMENT INCLUDING PREOPERATIVE CHEMOTHERAPY AND PERSONALIZED ADJUVANT CHEMOTHERAPY

E.O. Rodionov^{1,2}, M.M. Tsyganov¹, I.V. Deryusheva¹, S.V. Miller¹, L.A. Efteev¹, N.V. Litvyakov^{1,3}, S.A. Tuzikov^{1,2}, A.A. Silant'eva²

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center,
Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia¹
Siberian State Medical University, Tomsk, Russia²
National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia³

Abstract

Background. Personalized chemotherapy based on the determination of molecular biomarkers of chemosensitivity is a new approach to the treatment of patients with operable non-small cell lung cancer. The **Aim** of the study was to study the long-term outcomes of combined modality treatment of NSCLC using preoperative chemotherapy, radical surgery and personalized adjuvant chemotherapy based on the level of expression of monoresistance genes in the tumor. **Material and Methods.** Four-year treatment outcomes of 72 patients with stage II-III NSCLC were analyzed. All patients received 2 courses of neoadjuvant chemotherapy with vinorelbine / carboplatin followed by surgery. In the main group (n=35), personalized adjuvant chemotherapy was based on the levels of expression of the genes ABCC5, RRM1, TYMS, TOP1, Top2a, TUBB3, BRCA1 and ERCC1. The control group (n=37) received 3 courses of adjuvant chemotherapy with vinorelbine/carboplatin. **Results.** The disease progression was observed in 14/35 patients of the main group and in 21/37 patients of the control group. The relapse-free survival rates in the study and in the control groups were 60.0 % and 43.2 %, respectively (95 % CI: 43.6–74.5 and 95% CI: 28.759.1, respectively); Log-Rank test $\chi^2=3.071$, $p=0.080$; OR = 1.808 (95% CI: 0.9183.561). The median relapse-free survival time in the control group was 27 months (95% CI: 5.748.3). The overall survival rates in the main and control groups were 77.1 % and 54.1 %, respectively (95% CI: 61.087.9 and 95 % CI: 38.469.0, respectively); Log-Rank test $\chi^2=2,813$, $p=0,094$; RR = 2.024 (95 % CI: 0.870–4.709). **Conclusion.** The method of personalized adjuvant chemotherapy based on the molecular genetic characteristics of the tumor can improve relapse-free and overall survival of patients with NSCLC

Key words: non-small cell lung cancer, monoresistance genes, personalized chemotherapy.

Актуальность. Персонализированная химиотерапия, основанная на определении молекулярных биомаркеров химиочувствительности, представляет собой новый путь для лечения больных НМРЛ [1]. Перспективными маркерами в отношении химиочувствительности являются гены монорезистентности, поскольку их экспрессия патофизиологически связана с ответом на тот или иной препарат посредством участия в метаболизме препаратов в клетках опухоли, трансмембранном транспорте, взаимодействии с мишенью, механизмах реализации апоптоза и репарации. В настоящее время при немелкоклеточном раке легкого охарактеризованы такие гены монорезистентности, как BRCA1, RRM1, ERCC1, TOP1, TOP2a, TUBB3, TYMS и ABCC5 [25]. Таким образом, представляется перспективным определение генов монорезистентности в опухоли НМРЛ с целью персонализации конвенциональной химиотерапии, что позволит повысить эффективность химиотерапии и/или уменьшить побочные явления проводимого лекарственного лечения.

Цель исследования – изучить отдаленные результаты комбинированного лечения немелкоклеточного рака легкого с использованием предоперационной химиотерапии, радикального хирургического вмешательства и персонализированного назначения адъювантной химиотерапии на основании уровня экспрессии генов монорезистентности в опухоли.

Материал и методы. В работе проанализированы четырехлетние результаты лечения 72 больных немелкоклеточным раком легкого II–III стадии за период с 2010 по 2017 г., находившихся на лечении в отделении торакальной онкологии онкологической клиники Томского НИМЦ. Всем больным на первом этапе комбинированного лечения проводились 2 курса неoadъювантной химиотерапии (НАХТ) по схеме винорелбин/карбоплатин и хирургическое лечение. Далее больные были распределены на две группы. Основную группу составили 35 пациентов, которым после операции проведено 3 курса персонализированной адъювантной химиотерапии, назначенной на основании уровней экспрессии генов *ABCC5*, *RRM1*, *ERCC1*, *BRCA1*, *TOP1*, *TOP2α*, *TUBB3* и *TUMS* в виде карбоплатинсодержащих дублетов со следующими химиопрепаратами: винорелбин, гемцитабин, доксорубицин, паклитаксел. Контрольную группу составили 37 пациентов, которым послеоперационная химиотерапия проводилась по схеме винорелбин/карбоплатин.

Уровень экспрессии генов монорезистентности в операционном материале оценивался при помощи количественной ПЦР в режиме реального времени (qPCR) по технологии TaqMan на амплификаторе RotorGene 6000, Corbett Research Australia.

Для анализа выживаемости использовались кривые, построенные по методу Каплана – Майера. Сравнение достоверности различий между группами производилось с помощью Log-Rank test. Различия считались достоверным при $p < 0,05$, т.е. в тех случаях, когда вероятность различия составляла больше 95 %.

Сравнение основных клинико-патологических характеристик двух групп представлено в таблице.

Таблица

Сравнение клинико-патологических характеристик основной и контрольной групп

Показатель		Основная группа, n=35	Контрольная группа, n=37	Уровень p
	Мужчин (%) / женщин (%)	31 (88,6 %) / 4 (11,4 %)	32 (86,5 %) / 5 (13,5 %)	1,000*
	Возраст, лет	58,4 ± 6,5	57,1 ± 6,0	0,385#
Стадия	IIA	2 (5,7 %)	3 (8,1 %)	0,232+
	IIB	5 (14,3 %)	9 (24,3 %)	
	IIIA	25 (71,4 %)	21 (56,8 %)	
	IIIB	3 (8,6 %)	4 (10,8 %)	
Локализация	Центральный	22 (62,9 %)	19 (51,4 %)	0,324+
	Периферический	13 (37,1 %)	18 (48,6 %)	
Гистологическая форма	Плоскоклеточный	28 (80,0 %)	23 (62,2 %)	0,315*
	Аденокарцинома	6 (17,1 %)	12 (32,4 %)	
	Крупноклеточный	1 (2,9 %)	2 (5,4 %)	

Примечание: * – уровень статистической значимости различий по двустороннему критерию Фишера; # – уровень статистической значимости различий по t-критерию Стьюдента; + – уровень статистической значимости различий по критерию Хи-квадрат Пирсона.

Результаты. После проведения 2 курсов НАХТ в обеих группах наиболее распространенным эффектом явилась стабилизация процесса (48 больных – 66,7 %; 95 % ДИ: 55,2–76,5). У 22 больных (30,6 %; 95 % ДИ: 21,1–42,0) зафиксирована частичная регрессия, и лишь у 2 больных (2,8 %; 95 % ДИ: 0,8–9,6) – полная регрессия опухолевого процесса. Прогрессирование заболевания выявлено не было. Отличия больных в сравниваемых группах оказались на уровне тенденции в сторону большего количества ЧР в основной группе (15 против 7) ($p=0,0556$).

Пневмонэктомии выполнены 27 (37,5%; 95 % ДИ: 27,2–49,1) больным – 8 (22,9 %) в основной и 19 (51,4 %) в контрольной группах. Резекции легких в объеме билобэктомий выполнены 6 (17,1 %) пациентам основной и 1 (2,7 %) пациенту контрольной группы; лобэктомии – 21 (60,0 %) больному основной группы и 17 (45,9 %) пациентам контрольной группы. Отличия

по объемам операций в группах больных оказались статистически значимыми ($p=0,0166$), что связано с большим количеством частичных регрессий после неoadьювантной химиотерапии и органосохраняющих операций с реконструктивно-пластическим компонентом в основной группе по сравнению с группой контроля.

Статистически незначимых отличий по количеству осложнений при проведении НАХТ и АХТ в сравниваемых группах не выявлено ($p>0,05$).

Период наблюдения за больными составил от 2 до 48 мес. В основной группе прогрессирование заболевания наблюдалось у 14/35 (40 %) больных (95 % ДИ: 25,5–56,4), в контрольной группе – у 21/37 (56,8%) (95 % ДИ: 40,9–71,3).

Средняя длительность безрецидивного периода составила в основной группе 33,3 мес (95 % ДИ: 27,8–38,9), во второй группе – 25,2 мес (95 % ДИ: 19,1–31,3). Различия в исследуемых группах находятся на уровне тенденции: $U=487$, $p=0,066$.

Безрецидивная выживаемость в основной группе составила 60,0 % (95 % ДИ: 43,6–74,5), в группе контроля – 43,2 % (95 % ДИ: 28,7–59,1). Медиана БРВ в контрольной группе составила 27 мес (95 % ДИ: 5,7–48,3); различия на уровне тенденции: Log-Rank test $\chi^2=3,071$, $p=0,080$; OR = 1,808 (95 % ДИ: 0,918–3,561).

В основной группе умерло 8/35 (22,9 %) больных (95 % ДИ: 12,1–39,0), в контрольной группе – 17/37 (46,0 %) (95 % ДИ: 31,0–61,6). Общая выживаемость в основной группе составила 77,1 % (95 % ДИ: 61,0–87,9), в контрольной группе – 54,1 % (95 % ДИ: 38,4–69,0), медиана не достигнута. Различия на уровне тенденции: Log-Rank test $\chi^2=2,813$, $p=0,094$; OR = 2,024 (95 % ДИ: 0,870–4,709) (рис. 1).

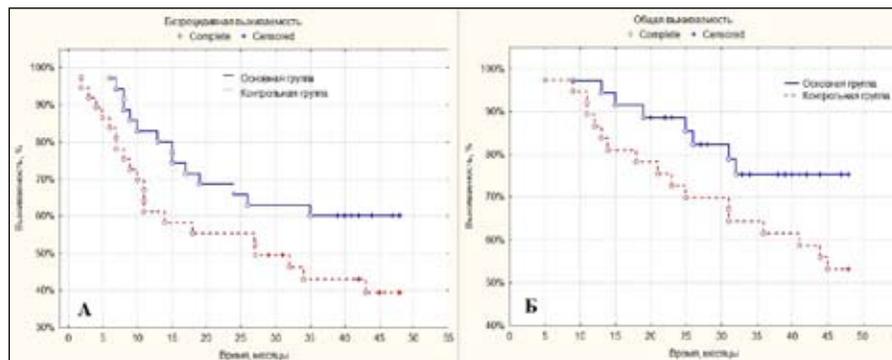


Рис. 1. Безрецидивная (А) и общая (Б) выживаемость больных в исследуемых группах по методу Каплана – Майера

Заключение. Разработанный алгоритм персонализированного назначения адьювантной химиотерапии больным немелкоклеточным раком легкого на основании молекулярно-генетических характеристик опухоли позволяет преодолеть механизмы резистентности и повысить эффективность проводимого комбинированного лечения с улучшением показателей безрецидивной выживаемости на 16,8 % и общей выживаемости на 23,0 % по сравнению с группой контроля.

ЛИТЕРАТУРА

1. Zhang Q., Zhu X., Zhang L., Sun S., Huang J., Lin Y. A prospective study of biomarker-guided chemotherapy in patients with non-small cell lung cancer. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 2014; 4(4): 839–46. doi: 10.1007/s00280-014-2513-x.
2. Huang Z., Cao X., Luo R., Chen Y., Zhu L., Wen Z. Analysis of ERCC1, BRCA1, RRM1 and TUBB3 as predictors of prognosis in patients with non-small cell lung cancer who received cisplatin-based adjuvant chemotherapy: A prospective study. *Oncol. Lett.* 2015; 11(1): 299–305. doi:10.3892/ol.2015.3894.
3. Kim E.S. Chemotherapy resistance in lung cancer. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2016; 893: 189–209. doi: 10.1007/978-3-319-24223-1_10.
4. Liu D., Nakashima N., Nakano J., Tarumi S., Matsuura N., Nakano T., Nii K., Tokunaga Y., Go T., Yokomise H. Customized adjuvant chemotherapy based on biomarker examination may improve survival of patients completely resected for non-small-cell lung cancer. *Anticancer Res.* 2017; 37(5): 2501–7. doi:10.21873/anticancer.11591.
5. Цыганов М.М., Родионов Е.О., Миллер С.В., Литвяков Н.В. Обоснование использования экспрессионных маркеров для персонализации химиотерапии рака легкого. *Антибиотики и химиотерапия.* 2015; 910: 3442.

ОСОБЕННОСТЬ КЛИНИЧЕСКОГО ТЕЧЕНИЯ МЕЛАНОМЫ КОЖИ КОНЕЧНОСТЕЙ

У.Х. Рустамов¹, С.Н. Атабеков²

Ташкентская медицинская академия, г. Ташкент, Узбекистан¹

Ташкентский городской филиал РСНПМЦОиР, г. Ташкент, Узбекистан²

Аннотация

В работе представлены результаты изучения особенностей клинического течения меланомы кожи верхних и нижних конечностей. Меланома нижних конечностей значительно чаще встречается у женщин. Большинство опухолей кожи верхних конечностей возникает на месте пигментных невусов. Прогноз при меланоме нижних конечностей хуже, особенно при поражении опухолью кожи стоп.

Ключевые слова: меланома, кожа, конечности, клиническое течение, лечения.

SKIN MELANOMA IN EXTREMITIES

U.X. Rustamov¹, S.N. Atabekov²

Tashkent Medical Academy, Tashkent, Uzbekistan¹

Tashkent City Branch RSSPMCO and R, Tashkent, Uzbekistan²

Abstract

In this article we present the results of studies of clinical course of skin melanoma of upper and lower extremities. Melanoma of lower extremities is found considerably more frequently in women. The most often skin tumors of upper extremities develop on the place of pigment nevus. Prognosis of skin melanoma of lower extremities is worse, especially if feet skin is affected with tumor.

Key words: melanoma, skin, extremities, clinical course, treatment.

Введение. Меланома кожи (МК) является одним из наиболее агрессивных новообразований и существенно отличается от всех злокачественных опухолей по гистогенезу, биологическим особенностям роста, быстротечному и часто тяжелому клиническому течению [1, 2]. Меланома конечностей занимает 2-е место среди всех локализаций опухоли. Причем наиболее часто отмечается поражение нижних конечностей (НК) [2, 3]. Несмотря на то, что в настоящее время тактика хирургического лечения МК этих локализаций хорошо известна [2, 3], отдаленные результаты не могут удовлетворять практикующих онкологов. Отчасти это связано с довольно высоким числом диагностических ошибок, достигающим 25,8 %. Кроме того, на наш взгляд, в специальной литературе недостаточно отражены особенности клинического течения МК при поражении опухолью различных отделов конечностей, что нередко вызывает затруднения при составлении плана лечения.

Целью исследования явилось изучение особенностей клинического течения МК различных локализаций.

Материал и методы. В исследование включены сведения о 121 первичном больном МК, наблюдавшемся в Ташкентском городском филиале РСНПМЦОиР в 2000–2010 гг. Из них на коже верхних конечностей (ВК) опухоль располагалась у 28 больных (8 мужчин и 20 женщин), на нижних – у 93 (17 мужчин и 76 женщин). У всех больных изучены анамнез, клинические проявления, стадия заболевания, при этом для определения критерия «Т» использовалась глубина инвазии по Кларку, характер проведенного лечения. В работе рассчитаны показатели 5-, 7- и 10-летней выживаемости.

Результаты и обсуждение. Среди всех локализаций меланома кожи нижних конечностей занимала у женщин 1-е место, у мужчин – 2-е место, а ВК, соответственно, 4-е и 6-е места. Половые различия были более выражены при МК НК – 1:4,5, чем при МК ВК – 1:2,5. Следует отметить, что поражение кожи ног у женщин отмечалось в 3,8 раза, а у мужчин – в 2,1 раза чаще, чем рук. Подобные различия отмечались и другими исследователями [2, 4]. В то время как в различных возрастных группах частота МКНК практически не изменялась,

заболеваемость МКВК с возрастом увеличивалась, достигая наибольших значений в группе 50–59 лет.

МК ВК чаще возникали на месте врожденных и длительно существовавших невусов – $64,3 \pm 9,2$ %, в то время как частота невогенных МК НК составила $46,2 \pm 5,2$ %. С травмой возникновение опухоли связывали 88,9 и 76,7 % больных соответственно.

Наиболее часто наблюдалось поражение опухолью кожи плеча (60,7 %) и голени (52,7 %). МК предплечья, стоп, бедер встречались с практически одинаковой частотой (соответственно 28,6; 24,7 и 22,6 %). При этом половые различия были не выражены. В то же время МК кисти отмечена только у 3 больных (10,7 %). У 3 больных МК ВК была диагностирована в фазе регрессии. При этом клинически опухоль представляла собой депигментированный участок кожи со светло-коричневым ободком по периферии. У 1 больной одновременно выявлены метастазы (МТС) в подмышечных лимфатических узлах. Среди Мк «классические» черные и темно-коричневые опухоли несколько чаще встречались на НК – у 54,9 % пациентов, а на голени они составляли 63,3 %, в то время как на ВК – только 42,9 %.

Беспигментные новообразования значительно чаще отмечались среди МК НК: 15 случаев из 16 – 6 из них развились на стопе. Несмотря на то, что 50,0 % больных МК ВК и 43,0 % МК НК обратились к специалисту в течение первых 6 мес от момента появления клинических симптомов заболевания, такой неблагоприятный прогностический признак, как изъязвление опухоли [2, 3], при локализации опухоли на коже НК встречался значительно чаще ($60,2 \pm 5,1$ %), чем при МКВК ($32,1 \pm 9,0$ %) ($p < 0,05$), что связано с большей подверженностью травматизации уже развившихся меланом НК.

I стадия заболевания (T1–2N0M0) диагностирована у 60,7 % больных МК ВК и 53,8 % – при МК НК, а поражение регионарных лимфоузлов отмечалось у 21,4 и 22,6 % пациентов соответственно. Однако при последующем диспансерном наблюдении регионарные лечебные лимфаденэктомии выполнены 2 больным МКВК (10,5 %) и 16 (26,2 %) больным МК НК. Существенных различий в клиническом течении и прогнозе между МК бедра и голени, а также плеча и предплечья выявлено не было. Однако считаем целесообразным более подробно остановиться на особенностях течения акральных меланом (аМк). Под этим термином подразумевается поражение опухолью кожи кистей и стоп [2]. В основных работах, посвященных МК, имеются главным образом только сведения о ее редкой встречаемости (8 %) и склонности к более раннему метастазированию [2, 3], либо рассматривается подногтевая форма МК [4]. За период с 2000 по 2010 г. нами наблюдались 26 больных аМк (21,5 % от всех больных Мк конечностей) – 20 женщин (20,8 %) и 6 мужчин (24,8 %). Опухоль преимущественно локализовалась на коже стопы – у 23 чел., а на кисти – у 3 чел. на месте невуса опухоль развилась у 4 больных (15,4 %), а *de novo* – у 20 (76,9 %). С предшествующей травмой, в основном хронической, возникновение опухоли связывал 21 чел. (80,8 %). Черные и темно-коричневые МК отмечены в 10 случаях (38,5 %), у 6 (23,1 %) пациентов диагностированы беспигментные опухоли. В то же время среди других локализаций беспигментные МК встречались в 11,5 % случаев. 20 больных (76,9 %) обратились в течение одного года от момента появления первых признаков заболевания. Однако несмотря на одинаковые сроки обращения, МК I стадии выявлена у 13 женщин, а у мужчин установлены более распространенные стадии. При первом обращении у 8 (30,8 %) больных диагностированы МТС в регионарные лимфоузлы, кроме того, еще у 7 пациентов МТС были определены при диспансерном наблюдении. В целом у 57,8 % больных аМк одновременно с опухолью или в ближайшем послеоперационном периоде выявляется поражение лимфоузлов. 5-летняя выживаемость при аМк ($46,2 \pm 9,9$ %) была ниже, чем при опухолях других отделов конечностей, – $65,3 \pm 4,9$ %, однако статистически значимые различия она приобретала при 7-летнем периоде наблюдения ($22,7 \pm 9,1$ и $62,7 \pm 5,6$ % соответственно, $p < 0,01$), а 10 лет прожил только 1 больной МК стопы из 12. Таким образом, для аМк характерно: частое поражение стоп, преимущественное возникновение на неизменной коже, отчетливая связь с предшествующей хронической травмой, высокая частота беспигментных форм. Кроме того, для аМк характерно более агрессивное течение, что, по-видимому, связано с постоянной травматизацией опухоли.

В таблице представлены отдаленные результаты лечения МК ВК и НК.

Таблица

Выживаемость больных меланомой кожи верхних и нижних конечностей (M±m %)

Период наблюдения	Верхняя конечность			Нижняя конечность		
	Муж.	Жен.	Оба пола	Муж.	Жен.	Оба пола
5 лет	75,0±16,4	75,0±9,9	75,0±8,3	47,1±12,5	59,2±5,6	57,0±5,1
7 лет	71,4±18,4	57,1±13,7	61,9±10,9	46,7±13,3	54,5±6,4	51,3±5,7
10 лет	66,7±21,0	57,1±20,2	61,5±13,5	25,0±16,4	31,4±7,8	30,2±7,0

10-летняя выживаемость при МК ВК была выше, чем при МК НК, статистически значимыми эти различия были только при 10-летнем периоде наблюдения ($p < 0,05$). Следует отметить отсутствие половых различий выживаемости. На наш взгляд, это может быть связано с тем, что при МК НК чаще встречаются такие факторы неблагоприятного прогноза, как изъязвление опухоли, поражение дистальных отделов конечностей, беспигментные опухоли. Кроме того, новообразования НК чаще развивались на неизменной коже.

Выводы. 1. Среди всех локализаций МК поражение опухолью кожи НК занимало у женщин 1-е место, у мужчин – 2–3-е место, а ВК – соответственно 4-е и 6-е место.

2. Выживаемость больных МК НК ниже, чем при локализации опухоли на ВК. наиболее неблагоприятный прогноз отмечается у больных аМк.

3. Менее благоприятный прогноз при МК НК связан с большей частотой среди них опухолей, развившихся на неизменной коже, беспигментных и изъязвившихся МК, более частым поражением дистальных отделов конечностей и регионарных лимфатических узлов. Кроме того, МК НК в большей степени подвержены травматизации.

ЛИТЕРАТУРА

1. Анисимов В.В. Меланома кожи (перспективы улучшения диагностики и лечения): [автореф. дис. д-ра мед. наук]. СПб., 2000. 97.
 2. Фрадкин С.З., Залуцкий И.В. Меланома кожи. Минск, 2000. 221.
 3. Трапезников Н.Н., Рабен А.С., Яворский В.В. Пигментные невусы и новообразования кожи. М.: Медицина, 1976. 177.
 4. Иконописов Р., Райчев Р., Киров С. Пигментные опухоли. София: Медицина и физкультура, 1977. 268.

**ХИРУРГИЧЕСКОЕ ЛЕЧЕНИЕ УРОТЕЛИАЛЬНОГО РАКА
 ВЕРХНИХ МОЧЕВЫХ ПУТЕЙ**

М.А. Сальников^{1,2}, А.В. Пономарев^{1,2}, А.А. Кельн^{1,2,3}

Государственное автономное учреждение здравоохранения Тюменской области Многопрофильный клинический медицинский центр «Медицинский город», г. Тюмень, Россия¹

Областной урологический центр акционерное общество медико-санитарная часть «Нефтяник», г. Тюмень, Россия²

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Тюменский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Тюмень, Россия³

Аннотация

Введение. Уротелиальный рак в структуре злокачественных опухолей (ЗНО) занимает 4-е место. Данный вид опухоли может возникать как в нижних, так и в верхних мочевыводящих трактах. Уротелиальный рак верхних мочевыводящих путей встречается редко и составляет 5–10 % от всех случаев уротелиального рака, отличается агрессивным течением. Стандартом лечения уротелиального рака является нефруретерэктомия с резекцией интрамурального отдела мочеточника. Варианты доступа могут быть различные: срединная лапаротомия или лапароскопия, соответственно, удаление мочеточника завершается либо открытой резекцией мочевого пузыря, либо трансуретральной резекцией устья мочеточника до паравезикальной клетчатки. **Материал и методы.** В течение 3 лет выполнено 29 операций по поводу уротелиального рака верхних мочевых путей. Мужчин 16 (55,2 %), женщин 13 (44,8 %). Дооперационное распределение пациентов по стадиям: сТ1–4 (13,7 %), сТ2–17 (58,6 %), сТ3 – 8 (27,7 %). **Результаты.** Продолжительность операции в среднем составляла 190±20(150–215) мин. Средний объем кровопотери составил 200±30 мл. Интраоперационных осложнений не отмечалось, в одном случае в группе пациентов, перенесших лапаротомию в послеоперационном периоде, развилась тонкокишечная странгуляционная непроходимость. Продолжительность госпитализации в группе лапароскопического метода составила в среднем 6±1,5(4–8) сут, против 8±1,7(6–10) сут в группах по-

сле лапаротомии. За период наблюдения 16 ± 4 (4–24) мес в 1, 2-й группах выявлено 2 (6,8 %) случая имплантационного метастазирования в мочевой пузырь, в 3-й группе у одного (3,4 %) пациента. **Выводы.** В результате проведенного анализа лечения пациентов с УРВМП видеоэндоскопический доступ с ТУР мочевого пузыря показал высокую эффективность, отсутствие тяжелых осложнений и меньшую травматичность, низкий процент возникновения имплантационных метастазов в мочевой пузырь.

Ключевые слова: уротелиальный рак верхних мочевыводящих путей, рак лоханки, рак мочеточника.

SURGICAL TREATMENT OF UPPER URINARY TRACT UROTHELIAL CARCINOMA

M.A. Salnikov^{2,3}, A.V. Ponomarev^{2,3}, A.A. Keln^{1,2,3}

MCMC «Medical City», Tyumen, Russia¹

Regional Urological Center Health-care unit «Neftyanik», Tyumen, Russia²

Tyumen State Medical University of the Russia Ministry of Health, Tyumen, Russia³

Abstract

Background. Urothelial cancer is the 4th most common cancer type in men worldwide. This type of tumor can occur in both the lower and upper urinary tracts. Urothelial carcinoma of the upper urinary tract is a rare disease, accounting for 510 % of all cases of urothelial cancer and characterizing by an aggressive course. The standard treatment for urothelial cancer is nephroureterectomy with resection of the intramural ureter. Access options can be different: median laparotomy or laparoscopy, respectively, the removal of the ureter is completed with either open resection of the bladder or transurethral resection of the mouth of the ureter to paravesical tissue. **Material and Methods.** Within 3 years, 29 surgeries for urothelial cancer of the upper urinary tract were performed. There were 16 men (55.2 %) and 13 women (44.8 %). The preoperative distribution of patients according to stages: cT1 4 (13.7%), cT2 17 (58.6 %), cT3 8 (27.7 %). **Results.** The mean duration of surgery was 190 ± 20 (150-215) min. The average volume of blood loss was 200 ± 30 ml. Intraoperative complications were not observed. Strangulated small bowel obstruction was observed in one case in the group of patients who underwent laparotomy in the postoperative period. The duration of hospitalization in the laparoscopic method group was on average 6 ± 1.5 (48) days, versus 8 ± 1.7 (610) days in groups after laparotomy. During the follow-up period of 16 ± 4 (424) months, 2 (6.8 %) cases of implantation metastasis into the bladder were detected in groups 1 and 2, and one (3.4 %) case in group 3. **Conclusion.** Video-assistant transurethral resection of the bladder showed high efficacy, no serious complications and low incidence of implantation metastases in the bladder.

Key words: urothelial cancer of the upper urinary tract, pelvis cancer, ureteral cancer.

Введение. Уротелиальный рак в структуре злокачественных опухолей (ЗНО) занимает 4-е место по распространенности после рака простаты (у мужчин) или молочных желез (у женщин), легкого и колоректального рака [1, 2]. Данный вид опухоли может возникнуть как в нижних мочевыводящих путях (мочевой пузырь или уретра), так и в верхних (чашечно-лоханочная система почки или мочеточник). Рак мочевого пузыря составляет 90–95 % среди всех случаев уротелиального рака. Уротелиальный рак верхних мочевыводящих путей (УРВМП) встречается довольно редко и составляет 5–10 % от всех случаев уротелиального рака, но отличается агрессивным течением (60 % УРВМП являются инвазивными на момент установления диагноза) [3]. По данным клинических наблюдений опухоли лоханки составляют 10 % всех новообразований почки и 5 % всех уротелиальных опухолей. В 8–13 % случаев выявляется сочетанный рак мочевого пузыря. Рецидив заболевания в мочевом пузыре встречается у 31–50 % пациентов, страдающих УРВМП, в то время как рецидив в лоханке с контралатеральной стороны встречается только в 2–6 % [4, 5]. Более чем у 80 % пациентов УРВМП встречается в возрасте от 60 до 79 лет, пик заболеваемости приходится на 65 лет. Мужчины болеют в 2–3 раза чаще. Гистологический вариант – преимущественно переходно-клеточный рак (82–90 %), плоскоклеточный рак встречается в 10–17 % и характеризуется более агрессивным клиническим течением и худшим прогнозом, аденокарцинома – менее 1% случаев. Опухоли лоханки встречаются в 2 раза чаще, чем опухоли мочеточника. Стандартом лечения УРВМП является нефруретерэктомия с резекцией интрамурального отдела мочеточника. Варианты доступа могут быть различные: срединная лапаротомия или лапароскопия, соответственно, удаление мочеточника завершается либо

открытой резекцией мочевого пузыря, либо трансуретральной резекцией устья мочеточника до паравезикальной клетчатки [6]. Открытый доступ в основном оправдан у пациентов с местнораспространенной стадией T3–T4, N1. При локализованной стадии T1–T2, согласно рекомендациям Европейского общества онкоурологов, нет достоверной разницы в варианте доступа и удалении мочеточника.

Материал и методы. С 9 ноября 2015 г. по 30 сентября 2018 г. в условиях онкологического отделения АО МСЧ «Нефтяник» было выполнено 29 операций по поводу УРВМП. Из них мужчин было 16 (55,2 %), женщин 13 (44,8 %). Левая сторона была поражена в 12 (41,4 %) случаях, поражение справа в 17 (58,6 %) случаях. Поражение лоханки встречалось в 23 (79,3 %), мочеточника в 6 (20,7 %) случаях. По виду оперативных методов были выделены следующие группы: 1 – пациенты, которым выполнена срединная лапаротомия с последующей нефруретерэктомией и резекцией стенки мочевого пузыря – 13,7 % (n=4), 2 – пациенты после лапаротомии с нефруретерэктомией и последующей ТУР устья мочеточника – 31,1% (n=9), 3 – пациенты, которым выполнена лапароскопическая нефруретерэктомия с ТУР устья мочеточника – 55,2 % (n=16). Средний возраст пациентов составил 64±4 (43–81) года. Все пациенты перед оперативным вмешательством с **Целью** стадирования проходили компьютерную томографию с контрастированием и цистоскопию. Дооперационное распределение пациентов по стадиям: сT1 – 4 (13,7 %), сT2 – 17 (58,6 %), сT3 – 8 (27,7 %). В послеоперационном периоде оценивались такие параметры, как длительность операции, объем кровопотери, продолжительность госпитализации, наличие осложнений и частота возникновения имплантационных метастазов в мочевом пузыре.

Результаты. Всем пациентам было проведено успешное оперативное лечение, конверсии при выполнении лапароскопической нефруретерэктомии не отмечалось. Продолжительность операции в среднем составляла 190±20 (150–215) мин. Средний объем кровопотери составил 200±30 мл. Интраоперационных осложнений не отмечалось, в одном случае в группе пациентов, перенесших лапаротомию в послеоперационном периоде, развилась тонкокишечная странгуляционная непроходимость, что потребовало релапаротомии. Продолжительность госпитализации в группе лапароскопического метода составила в среднем 6±1,5 (4–8) сут, против 8±1,7 (6–10) сут в группах после лапаротомии. За период наблюдения 16±4 (4–24) мес в 1, 2-й группах выявлено 2 (6,8 %) случая имплантационного метастазирования в мочевой пузырь, в 3-й группе – у одного (3,4 %) пациента. Этим пациентам проведена ТУР мочевого пузыря с внутривезикулярной химиотерапией Митомидином С. За период наблюдения местных рецидивов и признаков прогрессирования не отмечено.

Выводы. В результате проведенного анализа лечения пациентов с УРВМП видеоэндоскопический доступ с ТУР мочевого пузыря показал высокую эффективность, отсутствие тяжелых осложнений и меньшую травматичность, низкий процент возникновения имплантационных метастазов в мочевой пузырь.

ЛИТЕРАТУРА

1. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2015 году (заболеваемость и смертность). М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России, 2017. 250.
2. Зырянов А.В., Федоров Н.М., Зотов П.Б., Налётов А.А., Бурханова Л.А., Смирнов В.О., Абалканова М.М. Заболеваемость и смертность от злокачественных новообразований населения Тюменской области в 2017 г. Тюменский медицинский журнал. 2017; 19(2): 55–59.
3. Лыков А.В., Кельн А.А., Зырянов А.В., Пономарёв А.В. Проблемы хирургических осложнений радикальной цистэктомии: опыт одной клиники. Уральский медицинский журнал. 2017; 2(146): 109–113.
4. Рак мочевого пузыря. Клинические рекомендации 2017 год. Ассоциация онкологов России. Российское общество онкоурологов. Российское общество урологов, 2017. 58.
5. Кельн А.А. Анализ результатов радикального лечения пациентов с мышечно-инвазивным раком мочевого пузыря. Университетская медицина Урала. 2016; 2(2 (5)): 27–29.
6. Уротелиальный рак верхних мочевых путей. Клинические рекомендации 2017 год. Ассоциация онкологов России. Российское общество онкоурологов. Российское общество урологов, 2017. 37.

ВОЗМОЖНОСТЬ СНИЖЕНИЯ ПОВРЕЖДАЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ ЦИСПЛАТИНСОДЕРЖАЩЕЙ ПОЛИХИМИОТЕРАПИИ НА ЭПИТЕЛИЙ ТОНКОГО КИШЕЧНИКА С ПОМОЩЬЮ ПОЛИСАХАРИДОВ TUSSILAGO FARFARA L

Е.А. Сафонова, К.А. Лопатина, Л.А. Садрикина

Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия

Аннотация

В результате проведенных исследований установлена возможность коррекции повреждающего действия цисплатинсодержащей полихимиотерапии на слизистую оболочку тонкого кишечника у мышей линии C57BL/6 с карциномой легких Льюис с помощью полисахаридов Tussilago farfara L. Доказано, что полисахариды Tussilago farfara L. стимулируют восстановление или оказывают защитное действие на эпителий тонкого кишечника в условиях химиотерапевтического воздействия.

Ключевые слова: полихимиотерапия, полисахариды, эпителий тонкого кишечника, токсичность.

THE FEASIBILITY OF REDUCING SIDE EFFECTS OF CISPLATIN-CONTAINING POLYCHEMOTHERAPY ON THE SMALL INTESTINE EPITHELIUM USING POLYSACCHARIDES TUSSILAGO FARFARA L.

E.A. Safonova, K.A. Lopatina, L. A. Sadrikina

Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

Abstract

These studies established the feasibility of correction of side effects of cisplatin-containing chemotherapy on the small intestine epithelium in mice C57BL/6 with Lewis lung carcinoma using polysaccharides Tussilago farfara L. It has been proved that polysaccharides Tussilago farfara L. stimulate repair or have a protective effect on the small intestine epithelium during chemotherapy.

Key words: polychemotherapy, polysaccharides, epithelium of the small intestine, toxicity.

Актуальность. Частой причиной значительного ухудшения качества жизни онкологических больных при проведении химиотерапевтического лечения является гастроинтестинальная токсичность. Наиболее чувствительны к губительному действию цитостатиков быстро делящиеся клетки эпителия тонкого кишечника [1]. Достаточно широк спектр препаратов, уменьшающих симптоматику данного вида токсичности, однако практически не существует лекарственных средств, влияющих на причину патологии – способствующих нормализации структуры эпителия тонкого кишечника и активирующих процесс репаративной регенерации. Полисахариды Tussilago farfara L. (мать-и-мачехи обыкновенной) способны снижать гепатотоксичность, оказывать гомеостимулирующее действие и повышать противоопухолевое и антиметастатическое действие химиотерапии на различных экспериментальных моделях опухолевого роста [2]. В связи с этим **Целью исследования** явилось изучение влияния полисахаридов Tussilago farfara L. на морфометрические показатели и митотический индекс эпителия тонкого кишечника при полихимиотерапии.

Материал и методы. Эксперимент выполнен на мышьях-самках линии C57BL/6 с карциномой легких Льюис (LLC). Полисахариды вводили животным курсом в течение 10 сут, начиная с 7-х сут после перевивки опухоли, внутрибрюшинно в дозе 20 мг/кг. Цисплатин (ТЕВА) в дозе 2,5 мг/кг, паклитаксел (Д-р Редди'с Лабораторис Лтд) в дозе 12 мг/кг, этопозид

(ТЕВА) в дозе 5 мг/кг, иринотекан (ООО «Верофарм») в дозе 10 мг/кг вводили по схемам: цисплатин + этопозид; цисплатин + паклитаксел; цисплатин + иринотекан; цисплатин + этопозид + иринотекан. Цитостатики в комбинациях мыши получали трехкратно, внутривентриально на 10, 12 и 14-е сут после перевивки опухоли, интервал между введением каждого цитостатика составлял 20 мин. Гистологическое исследование тонкого кишечника и подсчет морфометрических показателей проводили на 1-е сут после второго и третьего введения противоопухолевых препаратов. Кусочек тонкой кишки фиксировали в жидкости Карнуа, заливали в парафин и готовили срезы толщиной 5 мкм. Депарафинированные срезы окрашивали гематоксилин-эозином по Карацци. На продольных срезах подсчитывали среднее количество эпителиальных клеток в криптах (не менее чем в 10). В этих же криптах подсчитывали количество митозов и вычисляли митотический индекс, как процент клеток в митозе от общего количества просмотренных клеток. Количество клеток на ворсинках подсчитывали от основания до вершины, выбирая 10 ворсинок на каждом препарате [3]. Эксперимент заканчивали на 18-е сут после перевивки опухоли, при этом определяли стандартные показатели опухолевого роста и процесса метастазирования [4]. Статистическую обработку результатов проводили с помощью критерия Вилкоксона – Манна – Уитни и углового преобразования Фишера [5].

Результаты. На 1-е сут после второго введения цитостатиков наиболее выраженное повреждающее действие на эпителий тонкого кишечника выявлено при использовании цисплатина и иринотекана: количество клеток в криптах и на ворсинках было сниженным относительно контроля – на 59 и 56 % соответственно ($p < 0,01$). Митотический индекс в

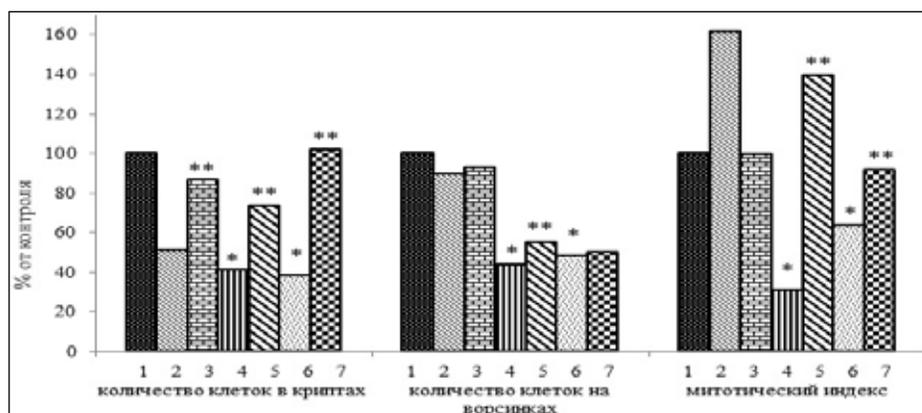


Рис. 1. Количество энтероцитов в криптах, на ворсинках эпителия тонкого кишечника и митотический индекс у мышей-самок линии С57ВL/6 с LLC при использовании полихимиотерапии в сочетании с полисахаридами *Tussilago farfara* L. на 1 сут после второго введения цитостатиков (% от контроля): 1 – контроль, 2 – цисплатин + этопозид, 3 – цисплатин + этопозид + полисахариды, 4 – цисплатин + иринотекан, 5 – цисплатин + иринотекан + полисахариды, 6 – цисплатин + этопозид + иринотекан, 7 – цисплатин + этопозид + иринотекан + полисахариды.

Примечание: здесь и в рис. 2 * – значимое различие с контрольной группой, ** – с группой животных, получавших полихимиотерапию

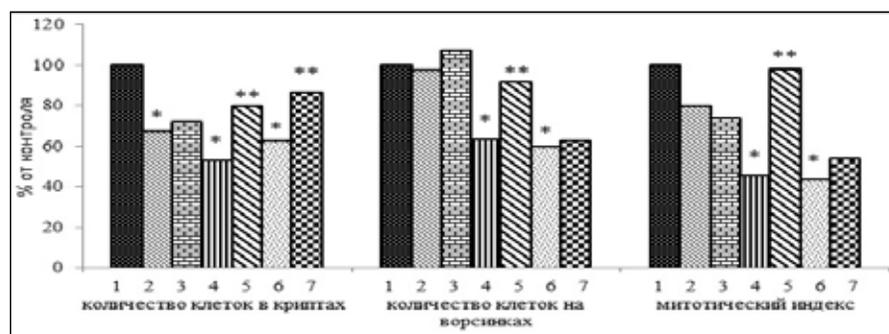


Рис. 2. Количество энтероцитов в криптах, на ворсинках эпителия тонкого кишечника и митотический индекс у мышей-самок линии С57ВL/6 с LLC при использовании полихимиотерапии в сочетании с полисахаридами *Tussilago farfara* L. на 1-е сут после третьего введения цитостатиков (% от контроля): 1 – контроль, 2 – цисплатин + этопозид, 3 – цисплатин + этопозид + полисахариды, 4 – цисплатин + иринотекан, 5 – цисплатин + иринотекан + полисахариды, 6 – цисплатин + этопозид + иринотекан, 7 – цисплатин + этопозид + иринотекан + полисахариды

этой группе полихимиотерапии оказался ниже на 69 % ($p < 0,01$). У животных, получавших дополнительно полисахариды *Tussilago farfara* L., зафиксировано достоверное увеличение количества клеток в криптах на 32 %, на ворсинках – на 11 % и митотического индекса – на 108 % по сравнению с этими показателями у мышей, леченных только цитостатиками (рис. 1). На этот срок наблюдения сходные по степени повреждения эпителиальных клеток изменения отмечались при использовании тройной комбинации противоопухолевых препаратов, состоящей из цисплатина, этопозиды и иринотекана. При совместном применении этих противоопухолевых препаратов и полисахаридов увеличенным оказалось количество клеток в криптах на 64 % ($p < 0,01$), а митотический индекс был выше на 28 % по сравнению с этими значениями у мышей, получавших только полихимиотерапию (рис. 1). На этот срок наблюдения среди трех схем полихимиотерапии введение комбинации, состоящей из цисплатина и этопозиды, приводило к наименьшему повреждающему воздействию на эпителий тонкого кишечника. Однако и в этом случае добавление в схему лечения полисахаридов приводило к увеличению количества клеток в криптах относительно такового у животных, получавших только полихимиотерапию (рис. 1). На 1-е сут после третьего введения цитостатиков токсическое действие полихимиотерапии на эпителий тонкого кишечника сохранялось: наиболее выраженные повреждения были у животных, леченных цисплатином и иринотеканом. Применение полисахаридов *Tussilago farfara* L. совместно с этими цитостатиками способствовало значимому увеличению всех исследуемых показателей (рис. 2). У животных, леченных по схеме «цисплатин + этопозид + иринотекан», на этот срок исследования отмечено уменьшение всех исследуемых показателей относительно таковых в контроле. У мышей, дополнительно получавших полисахариды, достоверно увеличенным оказалось количество клеток в криптах – на 24 % (рис. 2).

При слабо выраженных токсических повреждениях после третьего введения цисплатина и этопозиды корректорные свойства полисахаридов по отношению к численности клеточных популяций эпителиальной ткани и митотическому индексу не проявлялись (рис. 2).

При оценке влияния исследуемых полисахаридов на эффективность полихимиотерапии установлено, что их применение в комбинации с цитостатиками не приводило к стимуляции роста опухоли, а в ряде случаев повышало противоопухолевый и антиметастатический эффекты полихимиотерапии [6].

Выводы. В эксперименте установлено, что токсическое действие полихимиотерапии на эпителий тонкого кишечника проявлялось в разной степени, в зависимости от цитостатиков, входящих в схему лечения, и срока исследования. Наибольшей гастроинтестинальной токсичностью обладало сочетание цисплатина и иринотекана, наименьшей – цисплатина и этопозиды. Установлено, что корригирующее влияние полисахаридов *Tussilago farfara* L. на пораженный полихимиотерапией эпителий тонкого кишечника животных в большей степени проявлялось при их совместном применении с цисплатином и иринотеканом. Таким образом, полисахариды *Tussilago farfara* L. являются перспективным источником для создания на их основе нового препарата-корректора для снижения повреждающего действия полихимиотерапии на эпителий тонкого кишечника, при этом не стимулирующего рост опухоли и метастазов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Королева И.А., Вельшер Л.З., Казюлин А.Н., Кучерявый Ю.А., Оганесян Т.С. Изменения слизистой оболочки желудка и двенадцатиперстной кишки у больных раком молочной железы в процессе адьювантного и неoadьювантного лечения таксанами и доксорубицином. Сибирский онкологический журнал. 2010; 2(38): 5–10.
2. Сафонова Е.А., Лопатина К.А., Разина Т.Г., Зуева Е.П., Федорова Е.П., Гурьев А.М., Белоусов М.В. Модификация миелотоксического и противоопухолевого действия полихимиотерапии с помощью полисахаридов *Tussilago farfara* L. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2018; 166(8): 152–156.
3. Зуфаров К.А., Байбеков И.М., Ходжиметов А.А. Компенсаторно-приспособительные процессы в кишечнике. М.: Медицина, 1974. 208.
4. Хабриева Р.У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. М.: Медицина, 2005. 832.
5. Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высшая школа, 1980. 293.
6. Сафонова Е.А., Лопатина К.А., Федорова Е.П., Рыбалкина О.Ю., Разина Т.Г., Гурьев А.М., Белоусов М.В., Зуева Е.П. Полисахариды *Tussilago farfara* L. как составляющие схемы химиотерапевтического лечения. Вопросы онкологии. 2017; 63(5): 799–802.

НЕПОСРЕДСТВЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ПРОТОННОЙ ТЕРАПИИ АКТИВНЫМ СКАНИРУЮЩИМ ПУЧКОМ ХОРДОМ ОСНОВАНИЯ ЧЕРЕПА

А.В. Семенов, Д.В. Гоголин, К.Е. Медведева, О.Ю. Голованова

МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, г. Обнинск, Россия

Аннотация

Хордома – это редкая опухоль, происходящая из нотохорды. На сегодняшний день протонная терапия хордом основания черепа является наиболее эффективным из существующих методов лучевой терапии ввиду возможности безопасного подведения к опухоли суммарной дозы свыше 70 GyRBE с учетом радиационной толерантности окружающих тканей. Лучевая терапия на комплексе протонной терапии «Прометеус» (г. Обнинск) по поводу хордомы основания черепа проведена 9 пациентам. Средний возраст больных составил 46,6±14,1 года. Медианная суммарная доза, подведенная к опухоли, составила 70,0 GyRBE. Стабилизация опухолевого процесса была получена в 9 (100 %) случаях в рамках первого контрольного МРТ-исследования через 3 мес после окончания курса лучевой терапии. Явления ранней токсичности в процессе лечения ограничивались частичной алопецией в области вхождения полей облучения. Таким образом, протонная терапия в лечении хордом основания черепа является хорошо переносимым методом с низким уровнем ранней токсичности.

Ключевые слова: протонная терапия, хордома, лучевая терапия.

IMMEDIATE RESULTS OF INTENSITY-MODULATED PROTON THERAPY OF SKULL BASE CHORDOMA

A.V. Semenov, D.V. Gogolin, K.E. Medvedeva, O.Yu. Golovanova

Medical Radiological Research Center, Obninsk, Russia

Abstract

Chordoma is a rare tumor arising from the notochord. Today, proton therapy of cranial base chordomas is the most effective method due to the feasibility of delivering a total dose over 70 GyRBE safely, taking into account radiation tolerance of organs at risk. Nine patients were given radiation therapy on Proton Therapy Complex «Prometeus» (Obninsk). Mean age of patients was 46.6±14.1 years. Mean dose, delivered to a tumor was 70.0 GyRBE. Stabilization of disease was detected in 9 (100 %) cases after the first control MRI in 3 months after the termination of radiation treatment. Effects of early toxicity reduced to a partial alopecia in treatment field. Thus, proton therapy in treatment of skull base chordomas is well tolerated method of radiotherapy with low level of early toxicity.

Key words: proton therapy, chordoma, radiotherapy.

Актуальность. Хордома – это редкая опухоль с частотой встречаемости 1: 1 000 000 чел./год. Статистика по заболеваемости в России на данный момент не ведется. В США ежегодно регистрируют около 300 новых случаев заболевания [1]. Опухоль происходит из остатков нотохорды, зачатка позвоночного столба. Наиболее типичны следующие локализации: основание черепа (35 %), позвоночный столб (15 %), крестец (50 %). Подавляющее большинство больных хордомой основания черепа относятся к трудоспособному населению, что подчеркивает социальную значимость исследований по поиску оптимальной стратегии лечения.

Хирургическое лечение при хордомидах в объеме максимально возможной безопасной резекции является стандартом, однако расположение опухоли в области основания черепа и инвазивный характер новообразования крайне затрудняют выполнение радикального хирургического вмешательства, что подтверждает международный опыт [2, 3].

Для эффективного воздействия на опухоль в связи с ее радиорезистентностью необходимо подведение суммарной дозы свыше 70,0 Гр. Данный уровень дозы невозможно доставить с использованием современных возможностей фотонной терапии, особенно в тех случаях, когда остаточная или рецидивная опухоль находится в непосредственной близости к кри-

тическим структурам с низкой радиационной толерантностью, таких как ствол головного мозга, спинной мозг, зрительные нервы, хиазма.

Поскольку протонная терапия позволяет облучать опухоль в высоких дозах, сберегая здоровые ткани, данный метод является предпочтительнее фотонной терапии с модуляцией интенсивности. Самым современным методом протонной терапии считается облучение активным сканирующим пучком, когда «мишень» формируется из множества пучков, подведенных с нескольких направлений. Благодаря наличию массы протоны испытывают небольшое поперечное рассеяние в ткани. Облучение ткани достигает максимума на пике Брэгга, что дает возможность максимально прецизионно воздействовать на опухоль с резким падением градиента дозы на границе «опухоль-здоровые ткани». Применение метода сканирования с переменной интенсивностью (IMPT – Intensity Modulated Particle Therapy) позволяет свести к минимуму эффект наружного рассеяния, приводящий к нежелательному нейтронному фону. Кроме того, данный метод упрощает процесс планирования лучевой терапии по сравнению с облучением на ускорителях с пассивным рассеянием пучка в связи с отсутствием необходимости изготовления индивидуальных двух- и трехмерных коллиматоров. В настоящий момент для клинического использования зарегистрирован 81 протонный центр, большая часть из которых расположена в США, Японии, странах Европы с тенденцией к переходу к методу от технологии пассивно-рассеянного пучка к IMPT [4]. С недавних пор возможность проведения курсов протонной терапии появилась и в России [5].

Материал и методы. Работа выполнена в соответствии со стандартами надлежащей клинической практики и соблюдением этических принципов проведения научных медицинских исследований. Обязательным условием включения в исследование являлось наличие оформленного информированного согласия. В настоящем исследовании представлены непосредственные результаты лечения 9 пациентов с хордовой опухолью методом протонной терапии активным сканирующим пучком. Средний возраст больных составил $46,6 \pm 14,1$ года.

Всем пациентам изготавливали индивидуальную термопластическую маску с дополнительными ребрами жесткости, в которой выполняли рентген-топометрическую подготовку на встроенном в комплекс протонной терапии конусно-лучевом компьютерном томографе (КТ). С целью визуализации мишени лучевой терапии проводили магнитно-резонансную томографию (МРТ) с контрастным усилением. Для определения объема опухоли использовали серию МРТ T1 изображений с шагом томографа 1 мм, совмещенную с серией КТ в системе оконтуривания. Отступ на планируемый объем мишени (PTV) составлял 3 мм с учетом используемой системы фиксации и визуализации мишени в процессе лучевой терапии.

К опухоли подводилась максимально возможная суммарная очаговая доза с учетом радиационной толерантности критических структур [5]. Медианная суммарная доза, подведенная к опухоли, составила 70,0 GyRBE. Оценка острой токсичности проводимого лечения была дана в соответствии со шкалой EORTC/RTOG. Общий ответ на лечение оценивали согласно критериям RECIST 1.1 [6].

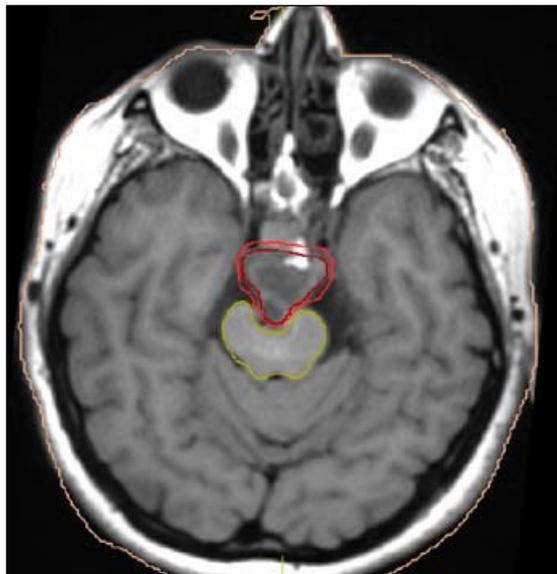


Рис 1. МРТ головного мозга с контрастным усилением (момент начала лечения)

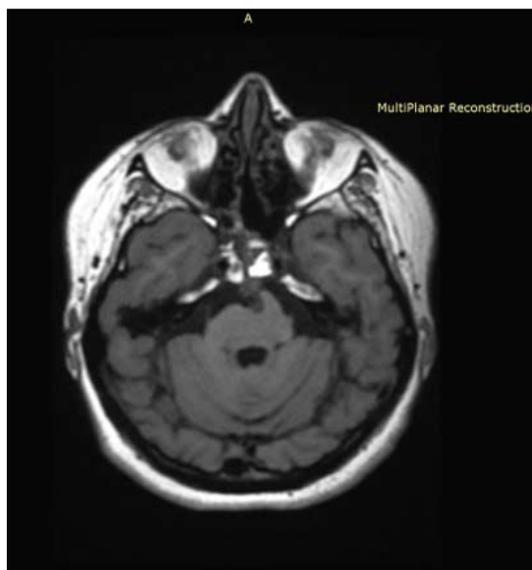


Рис 2. МРТ головного мозга с контрастным усилением (12 мес после окончания курса лучевой терапии)

Результаты. Медиана наблюдения за группой пациентов составляет 14 мес. Все пациенты перенесли курс лучевой терапии удовлетворительно, без необходимости перерыва в лечении. Явления ранней токсичности в процессе лечения ограничивались частичной алопецией в области вхождения полей облучения (Grade 1). Стабилизация опухолевого процесса была получена в 9 (100 %) случаях в рамках первого контрольного исследования через 3 мес. До настоящего времени не отмечено случаев прогрессирования заболевания.

Клинический случай. Пациентка К., 1968 г.р. Диагноз: D.16. Хондройд-хордома области скала. Хирургическое лечение 16.08.17. Зимой 2017 года пациентка стала отмечать слабость в левой руке. Выполнена МРТ. Диагностирована опухоль области скала. Выполнено хирургическое лечение в объеме субрадикальной резекции. Больная обратилась за консультацией в МРНЦ им. А.Ф. Цыба. На МРТ визуализировалась остаточная опухоль, сдавливающая ствол головного мозга 25×21×12 мм. Было принято решение о проведении протонной терапии на КПТ «Прометеус». РОД 2,0 GyRBE, СОД 70,0 GyRBE. Больной проведен курс протонной терапии с модуляцией интенсивности (ИМРТ). Использовалась 4-польная методика облучения. Лечение перенесла удовлетворительно на фоне профилактической системной противовоспалительной терапии. На контрольных МРТ (3, 6, 12 мес после проведенной протонной терапии) отмечается медленное сокращение опухоли в размерах, изменение ее структуры. На момент последнего контрольного исследования объем опухоли сократился на 20 %.

Выводы. Протонная терапия является одним из наиболее эффективных и безопасных методов подведения дозы к опухолям основания черепа за счет физических особенностей распределения дозы. Наиболее адаптированным к рутинному клиническому использованию является метод протонной терапией активным сканирующим пучком. Дальнейший набор больных в группу и наблюдение за пациентами позволит оценить частоту явлений поздней токсичности лечения, показатели общей и безрецидивной выживаемости.

ЛИТЕРАТУРА

1. McMaster M.L., Goldstein A.M., Bromley C.M., Ishibe N., Parry D.M. Chordoma: incidence and survival patterns in the United States. *Cancer Causes Control*. 2001; 12(1): 1–11.
2. Tzortzidis F., Elahi F., Wright D., Natarajan S.K., Sekhar L.N. Patient outcome at long-term follow-up after aggressive microsurgical resection of cranial base chordomas. *Neurosurgery*. 2006 Aug; 59(2): 2307; discussion 230–7. doi: 10.1227/01.NEU.0000223441.51012.9D.
3. Colli B.O., Al-Mefty O. Chordomas of the skull base: follow-up review and prognostic factors. *Neurosurg Focus*. 2001 Mar 15; 10(3): E1. doi: 10.3171/foc.2001.10.3.2.
4. Particle Therapy Cooperative Group [Internet]. URL: <https://www.ptcog.ch>. (дата обращения: 1.02.2019)
5. Гулидов И.А., Мардынский Ю.С., Балакин В.Е., Галкин В.Н., Гоголин Д.В., Гордон К.Б., Каприн А.Д., Лепилина О.Г., Ульяновко С.Е., Хмелевский Е.В. Новые возможности для протонной терапии в России. *Вопросы онкологии*. 2016; 5(62): 570–572.
6. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN Guidelines). Head and neck cancer. Version 1.2019.
7. 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 tumors: Revised RECIST guideline (v. 1.1). *Eur J Cancer*. 2009 Jan; 45(2): 228–47. doi: 10.1016/j.ejca.2008.10.026.

ЧАСТОТА ВСТРЕЧАЕМОСТИ ПОЛИСОМИИ ХРОМОСОМЫ 17 ПРИ HER2-ПОЛОЖИТЕЛЬНОМ И HER2-ОТРИЦАТЕЛЬНОМ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

А.А. Сердюкова, Е.В. Кайгородова

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

Аннотация

Наличие позитивной экспрессии рецептора Her2/neu на поверхности опухолевых клеток предопределяет специфичность к проведению таргетной терапии (трастузумаб, лапатиниб и др.). Высказано предположение, что наличие полисомии 17 хромосомы обуславливает феномен формирования гиперэкспрессии Her2 без амплификации гена ERBB2, в связи с чем **Целью** исследования явилась оценка частоты встречаемости полисомии хромосомы 17 при Her2-положительном и Her2-отрицательном раке молочной железы. Установление Her2/neu статуса проводили с помощью иммуногистохимии и FISH. «Полисомия 17 хромосомы» регистрировалась при количестве сигналов CEP17 \geq 3 на клетку. Проведенное исследование показало, что «полисомия 17 хромосомы» ассоциирована с экспрессией Her2/neu на мембране при отсутствии амплификации его гена и чаще встречается при HER2-отрицательном статусе РМЖ.

Ключевые слова: рак молочной железы, Her2/neu (ERBB2), мутация, флуоресцентная гибридизация *in situ*, полисомия, 17 хромосома.

FREQUENCY OF CHROMOSOME 17 POLYSOMY IN HER2-POSITIVE AND HER2-NEGATIVE CASES OF BREAST CANCER

A.A. Serdyukova, E.V. Kaygorodova

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

Abstract

The presence of positive expression of the Her2 / neu receptor on the surface of tumor cells determines the specificity for targeted therapy (trastuzumab, lapatinib, etc.). It has been suggested that the presence of chromosome 17 polysomy causes the phenomenon of the formation of Her2 over-expression without amplification of the ERBB2 gene. In this regard, the purpose of our study was to assess the frequency of occurrence of polysomy of chromosome 17 in Her2-positive and Her2-negative breast cancer. Her2 / neu status was determined by immunohistochemistry and FISH. "Polysomy 17 chromosomes" were recorded when the number of CEP17 was \geq 3 signals per cell. The study showed that "polysomy 17 chromosomes" was associated with the expression of Her2 / neu on the membrane in the absence of amplification of its gene and was more common in the HER2-negative status of breast cancer.

Key words: breast cancer, Her2 / neu (ERBB2), mutation, fluorescent *in situ* hybridization, polysomy, chromosome 17.

Актуальность. Амплификация или повышенная экспрессия гена HER2/NEU (ERBB2), который ответствен за выживание и рост клетки, расположенный на 17 хромосоме, является важным клиническим критерием в выборе терапии рака молочной железы [1, 2]. Наличие позитивной экспрессии рецептора Her2/neu на поверхности опухолевых клеток предопределяет специфичность к проведению таргетной терапии (трастузумаб, лапатиниб и др.). Известно, что амплификация гена ERBB2 является первопричиной гиперэкспрессии рецептора Her2 (Human epidermal growth factor receptor 2) на мембране опухолевых клеток рака молочной железы (РМЖ). Моноклональное антитело трастузумаб специфически предназначено для внеклеточного домена HER2, отбор пациентов основан на определении статуса опухоли – положительный или отрицательный. Полисомия хромосомы 17 обеспечивает альтернатив-

ный механизм увеличения дозировки гена HER2, ее влияние на экспрессию HER2, другие клиничко-патологические переменные, прогноз и ответ на лечение недостаточно точно установлены [3]. В исследовании Kyuonyul Lee et al. [4] показана связь между увеличением числа копий участков CEP17 и плохих прогностических параметров, таких как высокая степень гистологической дифференцировки, лимфо-гематогенное метастазирование, высокая экспрессия p53, активная пролиферация опухолевых клеток (экспрессия Ki-67). Данные авторы предполагают, что увеличение числа копий CEP17 также может стать причиной неправильного назначения химиотерапии трастузумабом. Механизмы формирования гиперэкспрессии Her2 без амплификации гена ERBB2 до конца не изучены, но предполагается, что данный феномен ассоциирован с наличием полисомии 17 хромосомы и протеинами, которые на пост-трансляционном уровне регулируют синтез и презентацию Her2 [5]. **Цель** – оценить частоту встречаемости полисомии хромосомы 17 при Her2-положительном и Her2-отрицательном раке молочной железы.

Материал и методы. В исследование были включены 348 больных в возрасте от 27 до 78 лет, проходивших лечение в клинике ФГБНУ НИИ онкологии Томского НИМЦ. В качестве материала исследования были использованы образцы опухолевой ткани рака молочной железы, полученные при выполнении пистолетной биопсии опухоли. Her2/neu статус устанавливали с помощью балльной шкалы, согласно критериям оценки интенсивности и типа иммунного окрашивания мембраны опухолевых клеток РМЖ по рекомендациям ASCO/CAP. Амплификацию гена erbB2 в опухолевых клетках РМЖ определяли методом FISH набором реагентов ДНК-зондов Kreatech. Визуализацию готовых препаратов проводили с использованием флуоресцентного микроскопа Axi Star plus («Carl ZEISS», Германия) при увеличении 1000. Амплификацию устанавливали путем подсчета сигналов гена erbB2 (красный сигнал) и центромеры 17 хромосомы (зелёный сигнал) в ядрах 20 клеток. При соотношении суммы сигналов гена erbB2 к сумме сигналов CEP17 $< 2,0$ результат амплификации гена erbB2 считался отрицательным. При отношении сигналов ≥ 2 результат оценивали как положительный. «Полисомия 17 хромосомы» регистрировалась при количестве сигналов CEP17 ≥ 3 на клетку. Обработка полученных данных выполнена с помощью программы STATISTICA 10.

Результаты. Из 348 случаев инвазивного рака молочной железы у 121 (34,77 %) пациента была обнаружена полисомия 17 хромосомы, у 227 (65,23 %) пациентов полисомия не обнаружена. Распределение по количеству HER2-положительных, HER2-отрицательных РМЖ, наличию или отсутствию полисомии хромосомы 17 по результатам FISH показало, что 90/165 (54,55 %) – это HER2-отрицательный статус и отсутствие полисомии 17 хромосомы, 75/165 (45,45 %) – HER2-отрицательный статус и наличие полисомии 17 хромосомы, 124/168 (74 %) – HER2-положительный статус и отсутствие полисомии 17 хромосомы, 44/168 (26 %) – HER2-положительный статус и наличие полисомии ($p = 0,00245$), что наглядно изображено на рис. 1, 2.

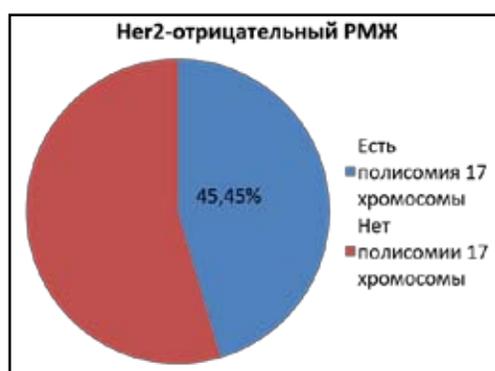


Рис.1. Частота встречаемости полисомии при Her2-отрицательном статусе РМЖ



Рис.2. Частота встречаемости полисомии при Her2-положительном статусе РМЖ

В это же время замечен высокий процент корреляции между суммой сигналов центромеры 17 хромосомы полисомией ($p > 0,05$), что подтверждает нашу теорию о том, что полисомия может влиять на уровень экспрессии белка HER2 и давать положительную реакцию при ИГХ, что может повлечь за собой неправильную оценку HER2 статуса опухоли и, как следствие, неверное лечение.

Наличие кластерного характера сигнала гена ERBB2 имело положительную очень слабую корреляционную связь с уровнем суммы сигналов центромеры 17 хромосомы (коэффициент Спирмена 0,231, $p < 0.05$).

Выводы. Таким образом, проведенное исследование показало, что «полисомия 17 хромосомы» ассоциирована с экспрессией Her2/neu на мембране при отсутствии амплификации его гена и чаще встречается при HER2-отрицательном статусе РМЖ.

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

ЛИТЕРАТУРА

1. Hsu J.L., Hung M.C. The role of HER2, EGFR, and other receptor tyrosine kinases in breast cancer. *Cancer Metastasis Rev.* 2016; 35(4): 575–588.
2. Hui L., Geiersbach K.B., Downs-Kelly E., Gulbahce H.E. RAI1 alternate probe identifies additional breast cancer cases as amplified following equivocal HER2 fluorescence in situ hybridization testing: experience from a national reference laboratory. *Arch Pathol Lab Med.* 2017; 141(2): 274–278.
3. Koudelakova V., Trojanec R., Vrbkova J., Donevska S., Bouchalova K., Kolar Z., Varanasi L., Hajduch M. Frequency of chromosome 17 polysomy in relation to CEP17 copy number in a large breast cancer cohort. *Genes Chromosomes Cancer.* 2016 May; 55(5): 409–17. doi: 10.1002/gcc.22337.
4. Lee K., Jang M.H., Chung Y.R., Lee Y., Kang E., Kim S.W., Kim Y.J., Kim J.H., Kim I.A., Park S.Y. Prognostic significance of centromere 17 copy number gain in breast cancer depends on breast cancer subtype. *Hum Pathol.* 2017 Mar; 61: 111–120. doi: 10.1016/j.humpath.2016.12.004.
5. Кайгородова Е.В., Богатюк М.В., Завьялова М.В. Роль белка теплового шока 27 кДа и «полисомии» 17 хромосомы в формировании гиперэкспрессии рецептора Her2 без амплификации гена ERBB2 при раке молочной железы. Актуальные вопросы экспериментальной и клинической онкологии: сборник материалов Всероссийской конференции молодых ученых-онкологов, посвященной памяти академика РАМН Н.В. Васильева. 2016: 70–73.

КОМПОНЕНТЫ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ ПРИ ПЛОСКОКЛЕТОЧНОМ РАКЕ ГОРТАНИ

Е.А. Сиденко, Г.В. Какурина, Д.А. Коршунов

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр, г. Томск, Россия

Аннотация

Рак гортани является одним из наиболее распространённых злокачественных новообразований верхних дыхательных путей. Важную роль в развитии плоскоклеточного рака гортани (ПРГ) играют циркулирующие протеазы и их ингибиторы ($\alpha 2$ -макроглобулин). **Цель исследования** заключалась в определении активностей циркулирующих протеасом и содержания $\alpha 2$ -макроглобулина ($\alpha 2M$) в сыворотке крови у пациентов с опухолью гортани. В работу были включены 75 пациентов с плоскоклеточным раком гортани (T1–4N0–1M0). Активность циркулирующих протеасом в сыворотке крови определялась с использованием коммерческих флуорогенных субстратов. Определение содержания $\alpha 2$ -макроглобулина проводили методом ИФА. Выявлены различия в активности циркулирующих протеасом и содержании $\alpha 2M$ у пациентов с ПРГ по сравнению с контрольной группой, обнаружены значимые изменения в зависимости от распространённости опухолевого процесса.

Ключевые слова: циркулирующие протеасомы, $\alpha 2$ -макроглобулин ($\alpha 2M$), рак гортани.

COMPONENTS OF THE PROTEOLYTIC SYSTEM IN SQUAMOUS CELL CARCINOMA OF THE LARYNX

E.A. Sidenko, G.V. Kakurina, D.A. Korshunov

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

Abstract

Laryngeal cancer is one of the most common malignant neoplasms of the upper respiratory tract. Circulating proteases and their inhibitors ($\alpha 2$ -macroglobulin) play an important role in the development of squamous cell carcinoma of the larynx. The **Aim** of the study was to determine the activities of circulating proteasomes and the concentration of $\alpha 2$ -macroglobulin ($\alpha 2M$) in the serum of patients with laryngeal tumors. 75 patients with

larynx squamous cell carcinoma (T_{1-4}, N_{0-1}, M_0) were included in the study. The activity of circulating proteasomes in the serum was determined using commercial fluorogenic substrates. The concentration of $\alpha 2$ -macroglobulin was determined by ELISA. Differences in the activity of circulating proteasomes and the concentration of $\alpha 2$ M in patients with squamous cell carcinoma of the larynx comparing with the control group were detected. Significant variations depending on extent of neoplastic process were observed.

Key words: circulating proteasomes, $\alpha 2$ -macroglobulin ($\alpha 2$ M), laryngeal cancer.

Актуальность. В структуре общей онкологической заболеваемости Российской Федерации рак гортани составляет 1,8–5 %, смертность среди мужского населения достигает 5 % [1]. Большинство опухолей гортани составляет плоскоклеточный рак, на долю которого приходится 85–95 % от всех злокачественных новообразований гортани [2]. В настоящее время гортань остаётся сложной для диагностики локализацией опухолевых процессов на ранних стадиях, несмотря на доступность для визуальных и инструментальных исследований [3]. Большое влияние на развитие опухолей оказывают протеолитические системы, к которым относится убиквитин-протеасомная система. Протеасомы – основные нелизосомальные мультисубъединичные протеазы эукариотических клеток, отвечающие за деградацию всех короткоживущих белков и от 70 до 90 % всех долгоживущих белков. Структура протеасом включает в себя ядро или 20S коровую частицу, состоящую из α - и β -субъединиц, и регуляторные комплексы. Два внешних кольца, называемые также α -кольцами, образуют семь различных α -субъединиц и служат якорными станциями для регуляторных частиц. Каждое из двух внутренних β -колец образовано семью различными β -субъединицами и отвечает за протеолиз. Протеасомы обладают различными протеазными активностями, в частности, $\beta 1$ -субъединица проявляет каспазоподобную активность, $\beta 2$ – трипсиноподобную и $\beta 5$ – хитотрипсиноподобную активность. Полный протеолиз происходит в 26S протеасоме, в состав которой входят 20S протеасома и один или два регуляторных субкомплекса 19S (PA700), которые распознают убиквитинированные белки, подлежащие протеолизу, разворачивают их и переносят внутрь 26S протеасомы. Если же в роли регуляторной частицы выступает другой белковый комплекс, например PA28, то такая ассоциация представляет собой активированную 20S протеасому, которая деградирует малые, аномальные и коротко живущие белки [4]. Выделяют два пула протеасом – внутриклеточный и циркулирующий. Циркулирующие формы присутствуют во внеклеточных жидкостях и крови здоровых и больных людей. В составе внеклеточной популяции протеасом присутствуют все субъединицы 20S протеасом и субъединицы 19S регуляторного комплекса. При опухолевых процессах раковые клетки могут секретировать протеасомы во внеклеточное пространство либо протеасомы могут выходить в циркуляцию при распаде опухолевых клеток. Кроме того, внеклеточные протеасомы могут появляться при разрушении микрочастиц, образованных в результате мембранного блеббинга или в составе экзосом. Внеклеточные протеасомы являются потенциальными диагностическими биомаркерами для различных злокачественных новообразований, таких как меланома, множественная миелома, рак яичников и гепатоцеллюлярная карцинома [5]. $\alpha 2$ -макроглобулин ($\alpha 2$ M) представляет собой гомотетрамерный белок с молекулярной массой 720 кДа. Данный белок является одним из ключевых ингибиторов протеиназ, участвующих в регуляции активности многих протеолитических энзимов человеческого организма [6]. **Целью исследования** являлась оценка активности циркулирующих протеасом и содержания $\alpha 2$ M в сыворотке крови пациентов с плоскоклеточным раком гортани. **Материал и методы.** В исследование были включены 75 пациентов с плоскоклеточным раком гортани ($T_{1-4}N_{0-1}M_0$). Группу контроля представляли 13 здоровых доноров. Материалом для исследования послужили образцы сыворотки крови. Для определения хитотрипсиноподобной (ХТП) и каспазоподобной (КП) активностей циркулирующих протеасом сыворотка крови предварительно активировалась 10 % SDS (sodium dodecyl sulfate). ХТП активность протеасом определялась с использованием коммерческого флуорогенного субстрата для ХТП центров протеасом – N-Succinyl-leu-leu-val-tyr-7-amido-4-methylcoumarin. КП активность – с использованием коммерческого флуорогенного субстрата для КП центров протеасом – Z-leu-leu-glu-amido-4-methylcoumarin. Для исключения активности примесных протеаз в образцах применяли специфический ингибитор протеасом – MG132. Содержание $\alpha 2$ -макроглобулина в сыворотке крови определяли иммуноферментным анализом. **Результаты.** На первом этапе исследования определили содержание $\alpha 2$ M в сыворотке крови пациентов с ПРГ по отношению к контрольной группе. Обнаружили, что содержание $\alpha 2$ M было в 1,7 раза ниже по сравнению со здоровыми донорами. В исследовании В.Д. Осипова содержание $\alpha 2$ M снижа-

лось у пациентов с опухолью гортани, что соответствует представленным данным [7]. Далее проводили оценку ХТП и КП активностей циркулирующих протеасом у пациентов с ПРГ. Показатели ХТП активности были значимо выше (в 1,7 раза) по сравнению с контрольной группой. Для КП активности не было обнаружено значимых изменений (табл. 1).

Таблица 1

Активность циркулирующих протеасом и содержание α 2-макроглобулина в сыворотке крови больных ПРГ

Анализируемые показатели Me (Q25Q75)	Пациенты с ПРГ n=75	Контр. группа n=13	Уровень значимости
a2M , пкг/мл	154,9* (119,6–222,1)	264,6 (212,1–276,4)	p=0,0212
ХТП активность , 10 ³ Ед/мг белка	1511,0* (1366,5–1940,0)	935,0 (883,0–1601,0)	p=0,0216
КП активность , 10 ³ Ед/мг белка	1916,5 (1374,5–2858,0)	1800,0 (1583,0–3300,0)	p=0,5444

Примечание: * – значимость различий по сравнению с контрольной группой, p < 0,05.

В табл. 2 приведены данные об изменениях изучаемых показателей в зависимости от распространённости опухолевого процесса. Так, при увеличении размера опухоли значимо повышается ХТП активность циркулирующих протеасом. Для пациентов с наличием регионарного метастазирования характерно значимое снижение a2M по сравнению с пациентами без метастазирования. Противоположные изменения содержания α 2M и ХТП активности протеасом дают возможность предположить, что этот ингибитор может служить возможным регулятором активности циркулирующего пула протеасом при опухолевых заболеваниях гортани.

Таблица 2

Активность циркулирующих протеасом и содержание α 2-макроглобулина в сыворотке крови больных ПРГ в зависимости от стадии

Стадия	Анализируемые показатели			Уровень значимости
	a2M, пкг/мл	ХТП активность, 10 ³ Ед/мг белка	КП активность, 10 ³ Ед/мг белка	
В зависимости от критерия T				
T ₁₋₂ N ₀₋₁ M ₀	157,0 (125,0–264,0)	1483,0 (1317,0–1600,0)	1873,0 (1358,0–2659,5)	
T ₃₋₄ N ₀₋₁ M ₀	145,7 (119,6–202,0)	1810,0* (1400,0–2500,0)	1926,5 (1450,0–3091,5)	p=0,0286
В зависимости от критерия N				
T1–4N0M0	157,0 (127,5241,1)	1490,5 (1333,51800)	1933,0 (1350,02900,0)	
T1–4N1M0	119,6** (88,5–146,0)	1813,0 (1453,0–2426,5)	1833,0 (1517,0–2500,0)	p=0,0038

Примечание: * – значимость различий по сравнению с T1–2N0–1M0 стадией, p < 0,05; ** – значимость различий по сравнению с T1–4N0M0 стадией, p < 0,05.

Исследование протеасом в тканях опухолей различных локализаций показало их вовлеченность в процесс развития рака. Так, повышение ХТП активности протеасом было характерно для рака эндометрия, рака молочной железы, рака желудка, колоректального рака и плоскоклеточного рака головы и шеи [4]. Представленные выше данные показывают, что активность циркулирующих протеасом также повышается у больных раком гортани.

Выводы. Обнаружены значимые различия в активности циркулирующих протеасом и содержании α 2M у пациентов с плоскоклеточным раком гортани по сравнению с контрольной группой. Показана роль компонентов протеолитической системы в развитии ПРГ. Полученные данные свидетельствуют о вовлеченности изучаемых компонентов в процессы опухолевой прогрессии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Канрин А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Состояние онкологической помощи населению России в 2017 году. Филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии». М.: МНИОИ им. П.А. Герцена, 2018. 236.
2. Forastiere A.A., Ismaila N., Lewin J.S., Nathan C.A., Adelstein D.J., Eisbruch A., Fass G., Fisher S.G., Laurie S.A., Le Q.T., O'Malley B., Mendenhall W.M., Patel S., Pfister D.G., Provenzano A.F., Weber R., Weinstein G.S., Wolf G.T. Use of larynx-preservation strategies in the treatment of laryngeal cancer: American Society of Clinical Oncology clinical practice guideline update. *J Clin Oncol*. 2018 Apr 10; 36(11): 1143–1169. doi: 10.1200/JCO.2017.75.7385.
3. Megwalu U.C., Sikora A.G. Survival outcomes in advanced laryngeal cancer. *JAMA Otolaryngol Head Neck Surg*. 2014 Sep; 140(9): 855–60. doi: 10.1001/jamaoto.2014.1671.
4. 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., Усьнин Е.А., Афанасьев С.Г. Химотрипсинподобная активность и субъединичный состав протеасом в злокачественных опухолях человека. *Молекулярная биология*. 2014; 48(3): 444–451.
5. Шашова Е.Е., Колегова Е.С., Кондакова И.В., Завьялов А.А. Внутриклеточный и циркулирующие пулы протеасом: значение при злокачественных новообразованиях различной локализации. *Сибирский онкологический журнал*. 2015; 6: 76–82.
6. Кривенцев Ю.А., Носков А.И., Осыко С.В., Кривенцева Л.А., Коханов А.В., Кривенцева М.Ю. Иммунохимический тест на альфа2-макроглобулин в оценке иммунного статуса человека. *Современные проблемы науки и образования*. 2016; 3: 94–94.
7. Осипов В.Д. Значение клинических и параклинических показателей при оценке эффективности лечения предрака и ранних стадий рака гортани. *Сибирский онкологический журнал*. 2003; 2: 47–49.

РЕКОНСТРУКЦИИ ПОСТРЕЗЕКЦИОННЫХ ДЕФЕКТОВ У БОЛЬНЫХ С ОПУХОЛЕВЫМ ПОРАЖЕНИЕМ КОСТЕЙ

П.К. Ситников, И.И. Анисеня, С.А. Табакаев, И.Г. Фролова, А.В. Богоутдинова, Л.С. Сапунова, А.А. Федоров, О.И. Ковалев

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

Аннотация

В исследование включено 50 пациентов с опухолевым поражением костей, которым выполнялось удаление опухоли с резекцией кости в пределах здоровой ткани и пластикой пострезекционного дефекта различными костно-пластическими материалами. 23 пациентам была выполнена криоабляция остаточной полости. Установлено, что биодegradация композитных материалов и остеорегенерация в зоне костной пластики происходят в более короткие сроки после криохирургического лечения.

Ключевые слова: опухолевое поражение костей, пострезекционный дефект, костно-пластические материалы, криохирургия.

RECONSTRUCTION OF POST-RESECTION DEFECTS IN PATIENTS WITH BONE TUMORS

P.K. Sitnikov, I.I. Anisenja, S.A. Tabakaev, I.G. Frolova, A.V. Bogoutdinova, L.S. Sapunova, A.A. Fedorov, O.I. Kovalev

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

Abstract

The study included 50 patients with bone tumors, who underwent tumor removal with bone resection within healthy and post-resection plastic surgery using various bone-plastic materials. 23 patients underwent cryoablation of the residual cavity. It was found that biodegradation of composite materials and osteoregeneration in the area of bone reconstruction occur in a shorter time after cryosurgical treatment.

Key words: bone tumor lesion, post-resection defect, osteoplastic materials, cryosurgery.

Актуальность. Опухолевое поражение костей, являясь редкой патологией, представляет собой обширную группу новообразований со специфической клинико-рентгенологической и патоморфологической картиной. Первичные злокачественные опухоли костей составляют 1,5 % от всех опухолевых поражений скелета человека [1, 2]. Доброкачественные опухоли костей встречаются в 2–3 раза чаще, чем злокачественные [2, 3]. 96 % всех новообразований костной системы и 3-е место после метастазов в легкие и печень занимает метастатическое

поражение скелета [2, 4]. Основным методом лечения опухолевого поражения костей является хирургический [1–5]. Современные подходы в лечении опухолей костей позволяют выполнять органосохраняющие операции [2–6]. Комбинированное хирургическое лечение с применением дополнительного интраоперационного лечебного воздействия (ультразвуковая, радиочастотная или криоабляция) позволяет достигать радикальности и снижения количества рецидивов [2–4]. Удаление опухоли в пределах здоровой ткани предусматривает последующее восстановление анатомической структуры оперированной кости за счет реконструкции пострезекционного дефекта, тем самым поддерживая и восстанавливая функцию, что, в свою очередь, улучшает качество жизни пациентов [1–5]. Применение аутотрансплантата считается «золотым стандартом», однако ряд факторов и возможных осложнений, которые, по данным литературы, могут достигать 20,6 %, ограничивают использование данного метода [5–9]. В мире в качестве альтернативы применяются натуральные, искусственные и композитные костно-пластические материалы [7–9]. Несмотря на их многообразие и различные физико-химические свойства, все они изучались и апробировались преимущественно в условиях челюстно-лицевой хирургии, стоматологии, травматологии, ортопедии и нейрохирургии [8, 9]. Не существует четких рекомендаций по применению конкретных костно-пластических материалов после выполнения различных вариантов хирургического и комбинированного лечения при опухолевом поражении костей [9]. Изменения пораженной кости и окружающей ее ткани после дополнительного лечебного воздействия могут существенно влиять на процессы адаптации элементов костной пластики. Анализ используемых в настоящее время пластических материалов в зоне пострезекционных костных дефектов после криохирургического лечения остается неизученным и является актуальной задачей.

Цель исследования – оценить возможность использования и обосновать выбор различных пластических материалов при реконструкции дефектов после хирургического и комбинированного лечения больных опухолями костей на основании клинико-рентгенологических данных.

Материал и методы. В исследование было включено 50 пациентов с морфологически верифицированным опухолевым поражением костей: хондрома (n=14, 28%), ГКО (n=11, 22% (ГКО)), хондросаркома (n=8, 16%), фиброзная дисплазия (n=3, 6%), МТС рака почки (n=3, 6%), киста (n=3, 6%), миеломная болезнь (n=2, 4%), хондробластома (n=2, 4%), липома (n=2, 4%), остеома (n=1, 2%) и бурая опухоль (n=1, 2%). Всем пациентам проводилось хирургическое лечение в объеме удаления опухоли с резекцией кости в пределах здоровых тканей. 23 пациентам (46%) была выполнена интраоперационная криоабляция остаточной полости жидким азотом 3 циклами с экспозицией замораживания 1 мин, с последующим самопроизвольным оттаиванием. Всем пациентам выполнялась пластика пострезекционного дефекта. Аутотрансплантат использовался в 16 % случаев (n=8). У 33 пациентов применялись композитные костно-пластические материалы: BoneMedik-S – у 14 (28%), Osteоматрикс – у 11 (22%), Коллапан – у 8 (16%). Реконструкция медицинским цементом выполнялась в 18 % случаев (n=9). Повторное хирургическое лечение по поводу рецидива выполнялось 3 (6%) пациентам с ГКО. Оценка изменения структуры оперированной кости и пластического материала, темпы и степень резорбции последнего проводились на основании КТ-денситометрии. Измерялись средняя плотность (НУ) и среднее отклонение плотности (НУ) в зоне реконструкции через 1, 3, 6, 9, 12 мес после хирургического лечения. Общее функциональное состояния больных оценивалось с помощью шкалы Карновского в сроки динамического наблюдения.

Результаты. После криохирургического лечения регистрировались изменения плотности по границам резекции в виде более быстрого нарастания зон остеосклероза, а плотность увеличивалась: Bone Medik-S – от 5,7 до 33,4 % (медиана – 13 %); Osteоматрикс – от 3,1 до 27,2 % (медиана – 15,5 %); Коллапан – от 1,4 до 28,3 % (медиана – 11,5 %). При визуальной оценке фиксировалась более быстрая биодеградация композитных костно-пластических материалов (размытость контуров гранул). После хирургического лечения нарастание плотности составило: Bone Medik-S – от 3,4 до 23,9 % (медиана – 11 %); Osteоматрикс – от 3,9 до 22,3 % (медиана – 14,5 %); Коллапан – от 1,1 до 25,9 % (медиана – 10 %). Медленная резорбция и остеорепарация наблюдались у пациентов, которым в качестве пластического материала применялся аутотрансплантат. Восстановления функции пораженной кости в более короткие сроки удалось достичь, используя медицинский цемент. Влияние на сроки нетрудоспособности и реабилитационный период оказывают размер опухолевого поражения и пострезекционного дефекта кости, а также их расположение относительно близлежащего сустава.

Заключение. Применение композитных костно-пластических материалов после криохирургического лечения опухолевого поражения костей способствует более быстрой остеогенерации в зоне пострезекционного дефекта. При обширных пострезекционных дефектах вблизи суставов для достижения более быстрого функционального результата следует использовать медицинский цемент.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алиев М.Д., Сушенцов Е.А. Современная онкоортопедия. Саркомы костей, мягких тканей и опухоли кожи. 2013; 3: 3–9.
2. Andreou D., Henrichs M.P., Gosheger G., Nottrott M., Streitbürger A., Harges J. Neue Operationsverfahren bei Knochentumoren. *Der Pathologe*. 2014 Nov; 35(2): 232–236. doi: 10.1007/s00292-014-2004-1.
3. Fritzsche H., Schaser K.-D., Hofbauer C. Benigne Tumoren und tumorähnliche Läsionen des Knochens. Allgemeine Behandlungsprinzipien. *Orthopäde*. 2017 Jun; 46(6): 484–497. doi: 10.1007/s00132-017-3429-z.
4. Freeman A.K., Sumathi V.P., Jeys L. Metastatic tumors of bone. *Surgery (Oxford)*. 2015 Jan. 33(1): 34–39. doi: 10.1016/j.mpsur.2014.10.005.
5. Jeys L., Morris G., Evans S., Stevenson J., Parry M., Gregory J. Surgical Innovation in Sarcoma Surgery. *Clin Oncol (R Coll Radiol)*. 2017 Aug; 29(8): 489–499. doi: 10.1016/j.clon.2017.04.003.
6. Анисеня И.И. Малоинвазивные, видеоассистированные и эндоскопические ревизионные операции в ортопедической онкологии. *Евразийский онкологический журнал*. 2016; 2(9): 109.
7. Курилова И.А., Садовой М.А., Подорожная В.Т. Сравнительная характеристика материалов для костной пластики: состав и свойства. *Хирургия позвоночника*. 2012; 3: 72–83.
8. Шумилова А.А., Шишацкая Е.И. Материалы для восстановления костной ткани. *Журнал сибирского федерального университета*. 2014; 2(7): 209–221.
9. Heinemann S., Gelinsky M., Worch H., Hanke T. Resorbierbare Knochenersatzmaterialien. *Orthopäde*. 2011 März. 40: 761–773. doi: 10.1007/s00132-011-1748-z.

МЕСТО ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ БОЛЬНЫХ С ДЕСМОИДНЫМИ ФИБРОМАМИ ИНТРААБДОМИНАЛЬНОЙ ЛОКАЛИЗАЦИИ

**А.Н. Стецюк, А.Б. Рябов, В.М. Хомяков,
В.В. Черемисов, А.М. Кузьминов, А.К. Кострыгин**

Московский научно-исследовательский онкологический институт имени П.А. Герцена – филиал Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Россия

Аннотация

Низкая резектабельность и высокая частота рецидивов ДФ интраабдоминальной локализации обусловлены местной распространенностью, инфильтративным характером роста, отсутствием псевдокапсулы и склонностью к инвазии прилежащих органов и брыжеечных сосудов. При резектабельном процессе показано хирургическое лечение. Циторедуктивные операции допускаются при наличии осложнений опухоли. Проведение консервативной терапии в различных сочетаниях после циторедуктивных вмешательств и при нерезектабельном процессе позволяет добиться длительной стабилизации, а в ряде случаев и регрессии опухоли с сохранением хорошего качества жизни.

Ключевые слова: десмоидные фибромы, хирургическое лечение, синдром Гарднера.

SURGERY FOR INTRA-ABDOMINAL DESMOID TUMORS

**A.N. Stetsyuk, A.B. Rybov, V.M. Khomyakov,
V.V. Cheremisov, A.M. Kuzminov, A.K. Kostrygin**

P.A. Hertsen Moscow Oncology Research Institute branch of the National Medical Research Centre of Radiology of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

Abstract

Low resectability rate and high recurrence rate of intra-abdominal desmoids tumors are explained by infiltrating growth, lack of pseudocapsule and tendency to invade adjacent organs and mesenteric vessels. In cases with resectable cancer, surgical treatment is indicated. Cytoreductive surgery is performed in cases with tumor-related complications. Conservative therapy in various combinations after cytoreductive surgery and in cases

with inoperable cancer allows achievement of long-term stabilization, and in some cases, tumor regression, while maintaining a good quality of life.

Key words: desmoid fibroids; surgical treatment; Gardner syndrome.

Введение. Десмоидные фибромы (ДФ) (синоним – агрессивный фиброматоз) – мезенхимальные опухоли мягких тканей, развивающиеся из дифференцированных фибробластов и избыточного количества коллагеновых волокон. ДФ представляют собой достаточно редкую патологию соединительной ткани и, согласно классификации ВОЗ (2013), относятся к миофибробластическим опухолям. Десмоидные фибромы – достаточно редкое заболевание, частота встречаемости составляет 2–4 случая на 1 млн человек в год и не более 0,01–0,03 % среди всех новообразований мягких тканей [1, 2]. Это, в свою очередь, обуславливает достаточно небольшое число публикаций, посвященных хирургическому и консервативному лечению ДФ именно интраабдоминальной локализации, за исключением описаний небольших групп пациентов в виде отдельных клинических наблюдений. ДФ развиваются из мышечно-апоневротических структур или рубцовой ткани, причинами их развития могут быть: генетические нарушения (мутация в кодонах 41 или 45 в экзоне, 3 бета-катенина – CTNNB1, эндокринные факторы (гиперэстрогения), предшествующая травма, Мутации гена APC в хромосоме 5q21 (ген аденоматозного полипоза толстой кишки). ДФ могут встречаться в любой анатомической области человеческого организма. По локализациям выделяют: абдоминальные (мягкие ткани передней брюшной стенки) – 18 %, интраабдоминальные (брюшная полость, забрюшинное пространство, малый таз) – 10 %, экстраабдоминальные (голова, шея, конечности, грудная стенка) – 68 %, мультифокальные формы (сочетание нескольких локализаций) – 4 %. Интраабдоминальная локализация ДФ является наиболее редкой по сравнению с остальными (10 %) и характеризуется существенно более серьезным прогнозом в отношении риска развития осложнений и возможного летального исхода [3, 4]. Интраабдоминальные ДФ отличаются более тяжелым клиническим течением по сравнению с опухолями наружных локализаций. Как правило, клиническая манифестация связана с ростом новообразования и развитием компрессионных осложнений, в частности обструкция мочевых путей, сосудистые нарушения (сдавление магистральных вен, тромбозы). Длительный инфильтративный рост опухоли может приводить к тяжелым осложнениям, таким как кишечная непроходимость, гидронефротическая трансформация почек, венозная недостаточность, мезентериальная ишемия. Учитывая характер возможных осложнений и высокий риск летального исхода, интраабдоминальная локализация ДФ считается одной из самых прогностически неблагоприятных. Основной контингент больных (>70 %), страдающих данной патологией, находится в репродуктивном возрасте (17–45 лет), пик заболеваемости приходится на возраст 20–40 лет. Соотношение мужчины/женщины в структуре заболевания составляет 6:1 [5]. Заболевание характеризуется тяжелым клиническим течением, частым рецидивированием и в итоге может вести к снижению или полной утрате трудоспособности. В этиологии интраабдоминальных десмоидов значительную роль играют мутации в гене APC (CTNNB1) в хромосоме 5q21 – ген аденоматозного полипоза толстой кишки (синдрома Гарднера), одной из функций которого является регуляция содержания белка β-катенина. Повышение клеточного протеина приводит к усилению пролиферативной активности фибробластов. У данной группы пациентов вероятность развития ДФ увеличивается в 1000 раз [6, 7]. На прогноз могут также повлиять случаи мутации CTNNB1 без развития полипоза толстой кишки [7, 10]. Основоположниками идеи об этиологической роли гормональных нарушений в развитии ДФ были С.Ф. Geschiekter и D. Lewis 1935 г. [6]. Экспериментальные данные об участии эстрогенов в патогенезе агрессивных ДФ были подтверждены и клиническими наблюдениями [6–9].

У 5–15 % больных ДФ развивается на фоне семейного аденоматозного полипоза. Кроме того, частое сочетание десмоидных фибром с семейным аденоматозом толстой кишки в рамках синдрома Гарднера диктует необходимость выполнения тотальной колопроктэктомии из-за угрозы развития колоректального рака (вероятность развития колоректального рака на фоне полипоза достигает 95 %). Данное хирургическое вмешательство может приводить к тяжелым нарушениям пищеварения (синдром короткой кишки), инвалидизации и в дальнейшем ограничивать возможный вариант хирургического лечения ДФ с наиболее частой локализацией в корне брыжейки тонкой кишки. Все это обуславливает высокий процент пробных и нерадикальных вмешательств при забрюшинных ДФ [11]. Частое сочетание с синдромом Гарднера требует обязательного обследования толстой кишки, сбора

наследственного анамнеза и молекулярно-генетических исследований (мутации APC). Для лечения ДФ применяют хирургические вмешательства, лучевую терапию, гормональную терапию и химиотерапию, а также их сочетания. Несмотря на определенные достижения в консервативном лечении ДФ, большинство авторов рассматривают хирургический метод в качестве основного [12–16]. Хирургические вмешательства при забрюшинных ДФ характеризуются технической сложностью и высоким операционным риском, что связано часто с большими размерами опухоли, отсутствием псевдокапсулы, вовлечением в патологический процесс крупных сосудов забрюшинного пространства (нижняя полая вена, подвздошные сосуды и магистральные ветви брыжеечных сосудов), которые нередко проходят в толще опухоли. Принимая во внимание инфильтративный характер роста опухоли, хирурги нередко испытывают трудности в определении истинных границ измененных и здоровых тканей во время операции. Попытки радикального удаления крупных ДФ забрюшинного пространства сопряжены с высоким риском массивной интраоперационной кровопотери и необходимостью резекции больших сегментов тонкой и толстой кишки в случае вовлечения брыжеечных сосудов. При сомнительной резектабельности, массивном вовлечении брыжейки, требующем субтотальной резекции тонкой кишки, у больных высокого хирургического риска могут использоваться консервативные методы лечения (химиотерапия, гормонотерапия, лучевая терапия).

Материал и методы. В период с 1990 по 2019 г. с диагнозом «Десмоидная фиброма брюшной полости» в МНИОИ им. П.А. Герцена наблюдался 81 пациент. Женщин было 55 (74 %), мужчин – 26 (26 %). Возраст – от 20 до 73 лет, средний возраст составил 42±14,98 года. У 38 (68 %) из 58 больных, наблюдавшихся в последние 7 лет, ДФ сочеталась с семейным аденоматозом толстой кишки в рамках синдрома Гарднера, у 19 (33 %) больных выявлена мутация гена 05q2/APC (adenomatous polyposis of the colon). Хирургическое лечение проведено 31 (39 %) пациенту, остальным 20 проводилось консервативное лечение. В радикальном объеме (R0) выполнено 16 (52 %) операций, в циторедуктивном (R1/R2) – 11 (35%). У 4 (13 %) больных объем операции ограничен эксплоративной лапаротомией в связи с распространенностью патологического процесса.

Результаты. Послеоперационные осложнения развились в шести наблюдениях (19 %). Отдаленные результаты прослежены у 60 (74,5 %) больных. Сроки наблюдения составили от 1 до 168 мес. Один из наблюдаемых пациентов умер от кишечной непроходимости на фоне прогрессирования заболевания. Частота рецидивов у пациентов, оперированных в объеме (R0), составила 25 %. Объем операции определялся локализацией и вовлечением соседних органов и структур. У большинства больных выполняли резекцию различных отделов тонкой и толстой кишки, в том числе тотальную колэктомия.

Выводы. Низкая резектабельность и высокая частота рецидивов ДФ интраабдоминальной локализации обусловлены местной распространенностью, инфильтративным характером роста, отсутствием псевдокапсулы и склонностью к инвазии прилежащих органов и брыжеечных сосудов. Показанием к хирургическому лечению являются локализованные резектабельные формы заболевания. При больших симптомных опухолях возможно выполнение циторедуктивных операций с последующей консервативной терапией. При сомнительной резектабельности, массивном вовлечении брыжейки, требующем субтотальной резекции тонкой кишки, у больных высокого хирургического риска предпочтение следует отдать консервативным методам лечения (химиотерапия, гормонотерапия, лучевая терапия).

ЛИТЕРАТУРА

1. Хомяков В.М., Черемисов В.В., Чайка А.В., Вашакмадзе Л.А., Дарьялова С.Л., Новикова О.В., Кострыгин А.К. Опыт хирургического лечения десмоидных фибром абдоминальной и интраабдоминальной локализации. Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. 2014; 11: 17–25.
2. Huang K., Fu H., Shi Y.Q., Zhou Y., Du C.Y. Prognostic factors for extra-abdominal and abdominal wall desmoids: a 20-year experience at a single institution. J. Surg. Oncol. 2009 Dec 1; 100 (7): 563–9.
3. Дарьялова С.Л., Кузнецова М.А. Использование лучевой терапии в лечении десмоидных фибром мягких тканей. Методические рекомендации. М., 1988. 12.
4. Дарьялова С.Л., Франк Г.А., Карпенко В.Ю., Илюшин А.Л., Бухаров А.В., Державин В.А., Епифанова С.В., Новикова О.В., Тепляков В.В. Хирургический метод как этап комбинированного лечения десмоидных фибром. Саркомы костей, мягких тканей и опухоли кожи. 2010; 4: 34–38.
5. Чиссов В.И., Дарьялова С.Л. Онкология. Клинические рекомендации. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. 791–810.
6. Чиссов В.И., Дарьялова С.Л., Бойко А.В., Новикова О.В., Гуревич Н.М. Гормонотерапия в лечении десмоидных фибром. Русский онкологический журнал. 2006; 1: 4–10.
7. Dômont J., Salas S., Lacroix L., Brouste V., Saulnier P., Terrier P., Ranchère D., Neuville A., Leroux A., Guillou L., Sciort R., Collin F., Dufresne A., Blay J.Y., Le Cesne A., Coindre J.M., Bonvalot S., Bénard J. High frequency of beta-caterin heterozygous mutation in extraabdominal fibromatosis: a potential molecular tool or disease management. Br J Cancer. 2010; 102: 1032–1036.
8. Sturt N.J., Phillips R.K., Clark S.K. High-dose tamoxifen and sulindac as first-line treatment for desmoid tumors. Cancer. 2004; 100: 612–20.

9. *Reitamo J.J., Scheinin T.M., Hayry P.* The desmoid syndrome. New aspects in the cause, pathogenesis and treatment of the desmoid tumor. *Am J Surg.* 1986; 151: 230–7.

10. *Lazar A.J., Tuvin D., Hajibashi S., Habeeb S., Bolshakov S., Mayordomo-Aranda E., Warneke C.L., Lopez-Terrada D., Pollock R.E., Lev D.* Specific mutations in the beta-catenin gene (CTNB1) correlate with local recurrence in sporadic desmoid tumors. *Am J Pathol.* 2008 Nov; 173(5): 1518–27. doi: 10.2353/ajpath.2008.080475.

11. *Хомяков В.М., Черемисов В.В., Чайка А.В., Вашикмадзе Л.А., Дарьялова С.Л., Новикова О.В., Кострыгин А.К.* Опыт хирургического лечения десмоидных фибром абдоминальной и интраабдоминальной локализации. *Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова.* 2014; 10: 17–25.

12. *Чиссов В.И., Дарьялова С.Л.* Десмоидные фибромы. *Онкология. Клинические рекомендации*. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. 791–810.

13. *Адамян А.А., Андреев С.Д., Аннаев А.Г.* Радикальное удаление десмоида с одномоментной пластикой дефекта передней брюшной стенки. *Хирургия.* 1989; 5: 123–124.

14. *Болотина Л.В., Новикова О.В., Прокофьева Е.А.* Роль химиотерапии в лечении агрессивного фиброматоза. *Онкология. Журнал им. П.А. Герцена.* 2012; 3: 72–76.

15. *Федоров В.Д., Колганова И.П., Будаев К.Д., Паклина О.В., Кудрявцева Т.Ю.* Множественные десмоиды передней брюшной стенки, возникшие после проведения гастропанкреатодуоденальной резекции (обзор литературы и клиническое наблюдение). *Медицинская визуализация,* 2007. 6: 86–96.

16. *Reitamo J.J., Hayry P., Nykyri E., Saxen E.* The desmoid tumor. I. Incidence, sex-, age- and anatomical distribution in the Finnish population. *Am J Clin Pathol.* 1982; 151: 230–237.

17. *Couto Netto S.D., Teixeira F.Jr., Menegozzo C.A.M., Albertini A., Akaishi E.H., Utiyama E.M.* Abdominal wall reconstruction after desmoid type fibromatosis radical resection: Case series from a single institution and review of the literature. *International journal of surgery case reports.* 2017; 33: 167–72.

18. *Чиссов В.И., Дарьялова С.Л., Бойко А.В., Королева Л.А.* Лечение десмоидных фибром в Московском научно-исследовательском онкологическом институте им. П.А.Герцена (эволюция принципиальных подходов в течение 30 лет). *Российский онкологический журнал.* 1997; 3: 13–7.

КОМПЬЮТЕРНАЯ ТОМОГРАФИЯ В ОЦЕНКЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ТАРГЕТНОЙ ТЕРАПИИ ДЕНОСУМАБОМ У ПАЦИЕНТОВ С ГИГАНТОКЛЕТОЧНОЙ ОПУХОЛЬЮ КОСТИ

С.А. Табакаев, И.Г. Фролова, Е.М. Слонимская, С.А. Величко, П.К. Ситников, А.В. Богоутдинова, И.И. Анисеня, Л.С. Сапунова

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

Аннотация

Существуют различные методики денситометрии костных структур. Однако не все из них применимы для оценки динамики изменения опухоли кости на этапах консервативной терапии. В исследование было включено 10 пациентов с гигантоклеточной опухолью кости до применения таргетного препарата деносуаб и на этапах реализации терапии через 3, 6 курсов. Данным пациентам была проведена визуальная оценка лучевых методов исследования и количественная компьютерная томография. Показано, что на основе данных лучевых методов исследования можно косвенно судить об ответе гигантоклеточной опухоли кости на проводимую таргетную терапию.

Ключевые слова: денситометрия, КТ-денситометрия, гигантоклеточная опухоль кости, деносуаб.

COMPUTER TOMOGRAPHY IN ASSESSING THE EFFECTIVENESS OF DENOSUMAB TARGETED THERAPY IN PATIENTS WITH A GIANT CELL TUMOR OF BONE

S.A. Tabakaev, I.G. Frolova, E.M. Slonimskaja, S.A. Velichko, P.K. Sitnikov, A.V. Bogoutdinova, I.I. Anisenja, L.S. Sapunova

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Science, Tomsk, Russia

Abstract

There are various bone densitometry techniques. However, not all of them are applicable to assess the dynamics of changes in bone tumors during conservative therapy. The study included 10 patients with a giant cell tumor of bone, who received target therapy with Denosumab followed by surgery. The study was carried out before administering Denosumab as well as 3 and 6 courses after administering Denosumab.

These patients were given a visual assessment of imaging methods and quantitative computer tomography. Based on the data of diagnostic imaging methods, one can indirectly judge the response of a giant cell tumor of bone to the targeted therapy.

Key words: densitometry, CT-densitometry, giant cell tumor of bone, denosumab.

Актуальность. По данным литературы, имеются различные методы денситометрии костной ткани: двухэнергетическая рентгеновская абсорбциометрия, количественная компьютерная томография, двухэнергетическая КТ, моноэнергетическая рентгеновская абсорбциометрия, ультразвуковая остеоденситометрия. При этом стандартные (автоматические) программы для денситометрии, рекомендованные Международным обществом по клинической денситометрии ISCD, исследуют поясничный отдел позвоночника, одновременно два проксимальных отдела бедренных костей, композиционный состав тела позвонка, латеральную проекцию позвоночника, кости предплечья [1]. Полученные результаты пациента сравниваются с референтной базой, заложенной в денситометрическую систему фирмой-производителем, содержащую нормативные показатели по полу и возрасту, которые используются для сравнения с ними показателей обследуемого пациента [2]. Для оценки же изменений в опухоли под воздействием консервативной терапии разработаны критерии RECIST1, RECIST1.1, SNOI, основанные на измерении как размеров, так и плотности образования.

Гигантоклеточная опухоль кости (ГКО) является наиболее частой доброкачественной первичной костной опухолью, частота ее встречаемости достигает 20 % [3, 4]. В последнее время для лечения ГКО появился новый генноинженерный препарат деносуаб, который обладает способностью ингибировать образование, активацию и продолжительность существования остеокластов [5], тем самым замедлить прогрессирование опухолевого процесса. На данный момент нет разработанных методик динамического наблюдения за пациентами с гигантоклеточной опухолью кости с помощью лучевых методов исследования. Наиболее информативным методом, позволяющим оценить костную структуру, является рентгеновская компьютерная томография. Однако при визуальном анализе данных КТ порой невозможно однозначно высказаться о динамике изменений в кости.

Цель исследования – изучить возможности КТ-денситометрии у пациентов с гигантоклеточной опухолью кости для оценки динамики изменений при применении таргетного препарата деносуаб.

Материал и методы. Материалом для исследования явились данные результатов обследования 10 пациентов с морфологически верифицированным диагнозом гигантоклеточной опухоли, получающих комбинированное лечение таргетным препаратом деносуаб с последующим хирургическим этапом. Исследования проводились до получения препарата, через 3 и 6 курсов лечения. Пациенты находились в возрастном интервале от 27 до 58 лет, средний возраст составил $41,5 \pm 4$ года. Все исследования проводились на мультиспиральном компьютерном томографе Somatom Emotion 6 «Siemens». Зонами исследования были проксимальный, средний и дистальный отделы опухоли с определением денситометрической плотности. Базовые точки располагались в каждой исследуемой зоне в следующем порядке: на уровне самой передней точки опухоли в аксиальной проекции, на уровне самой задней точки опухоли и 2 промежуточные точки в самых латеральных отделах опухоли. Путем построения закрытых многоугольников ROI через эти точки будет исследована средняя плотность и среднее отклонение плотности внутри многоугольника на указанных уровнях опухоли.

Результаты. При визуальной оценке определялось усиление неоднородности опухоли за счет появления участков повышенной плотности, нарастание зоны остеосклероза вокруг опухоли.

После 3 курсов при КТ-денситометрии определялось увеличение средней плотности в пределах от 10,4 до 15,6 %, среднее отклонение плотности – от 19,1 до 20,3 %. После 6 курсов отмечено более значительное повышение плотности – от 37,6 до 47,6 % и среднего отклонения – от 11,3 до 19,8 % соответственно.

Выводы. Таким образом, по данным КТ-денситометрии можно косвенно судить об ответе гигантоклеточной опухоли кости на проводимую таргетную терапию.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ларионова Т.А., Сазонова Н.В., Овчинников Е.Н. Рентгеновская абсорбциометрия в анализе минеральной плотности костной ткани у ортопедотравматологических больных. Гений ортопедии. 2009; 3: 98–102.

2. Мальцев С.В., Мансурова Г.Ш. Клиническое значение и методы определения снижения минеральной плотности кости у детей. *Практическая медицина*. 2016; 8(100): 87–90.
3. Huh A., Vilelli N., Martinez D., Ting J., Birhiray R., Payner T.D., Kulwin C.G. Denosumab Treatment for a Residual Giant Cell Tumor of the Clivus: A Case Report and Review of the Literature. *World Neurosurg.* 2018 Oct; 118: 98–101. doi: 10.1016/j.wneu.2018.06.242.
4. Блудов А.Б., Неред А.С., Замогильная Я.А., Кочергина Н.В. Гигантоклеточная опухоль кости. Саркомы костей, мягких тканей и опухоли кожи. 2014; 1: 16–34.
5. *Справочник ВИДАЛЬ. Лекарственные препараты в России*, 2013. М.: АстраФармСервис.

ВЛИЯНИЕ КАРБОНАТА ЛИТИЯ И РАПАМИЦИНА НА РАЗВИТИЕ АУТОФАГИИ В КЛЕТКАХ ГЕПАТОЦЕЛЛЮЛЯРНОЙ КАРЦИНОМЫ-29 IN VITRO

Ю.С. Таскаева^{1,2}, Н.П. Бгатова¹, А.О. Соловьева¹

Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», г. Новосибирск, Россия¹
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», г. Новосибирск, Россия²

Аннотация

Исследовали влияние карбоната лития и рапамицина на развитие аутофагии в клетках гепатоцеллюлярной карциномы-29 (Г-29). С помощью иммунофлуоресцентного исследования оценивались эффекты карбоната лития и рапамицина на экспрессию маркеров аутофагии LC3 β (LC3 beta – microtubule-associated proteins 1A/1B light chain 3B) и LAMP1 (Lysosomal-associated membrane protein 1) в условиях отдельного и совместного введения препаратов. Совместное введение карбоната лития и рапамицина повышало экспрессию LC3 beta и LAMP1 в клетках Г-29. Роль аутофагии в канцерогенезе неоднозначна: аутофагия, с одной стороны, может способствовать выживаемости раковых клеток в условиях стресса или недостатка питательных веществ, и в то же время аутофагия может выступать в роли опухолевого супрессора, стимулируя гибель раковых клеток. Полученные ранее данные свидетельствуют о способности лития индуцировать аутофагию и апоптоз в клетках Г-29. Результаты данного эксперимента показали, что совместное введение карбоната лития и рапамицина значительно повышает развитие аутофагии в клетках Г-29. Данная комбинация препаратов может являться перспективной стратегией для химиотерапии ГЦК, поскольку позволит интегрировать различные клеточные сигнальные пути, регулирующие аутофагию и апоптоз в опухолевых клетках.

Ключевые слова: гепатоцеллюлярная карцинома-29, карбонат лития, рапамицин, аутофагия.

EFFECTS OF LITHIUM CARBONATE AND RAPAMYCIN ON AUTOPHAGY IN HEPATOCELLULAR CARCINOMA-29 CELLS IN VITRO

Iu.S. Taskaeva^{1,2}, N.P. Bgatova¹, A.O. Solovieva¹

Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia¹
Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia²

Abstract

The influence of lithium carbonate and rapamycin on autophagy in hepatocellular carcinoma-29 (HCC-29) cells was investigated. Effects of lithium carbonate and rapamycin on the expression of autophagy markers LC3 β (LC3 beta - microtubule-associated proteins 1A/ 1B light chain 3B) and LAMP1 (Lysosomal-associated membrane protein 1) were estimated by immunofluorescence analysis. The LC3 beta and LAMP1 expressions in HCC-29 cells were increased after lithium carbonate and rapamycin co-administration. The role of autophagy in carcinogenesis is ambiguous. On the one hand, autophagy can contribute to the survival of cancer cells under stress or nutritional deficiency. On the other hand, autophagy can act as a tumor sup-

pressor, stimulating cancer cells death. Previously obtained data indicated that lithium can induce autophagy and apoptosis in HCC-29 cells. In the present study, it was found that autophagy was significantly increased after lithium carbonate and rapamycin co-administration. The combination of these drugs can be a promising strategy for chemotherapy of HCC, since it will allow the integration of various cellular signaling pathways that regulate autophagy and apoptosis in cancer cells.

Key words: hepatocellular carcinoma-29, lithium carbonate, rapamycin, autophagy.

Актуальность. Аутофагия – это внутриклеточный механизм изоляции и деградации субклеточных компонентов в лизосомах для снабжения клетки энергией и пластическим материалом [1]. Рапамицин и литий являются признанными индукторами аутофагии [2]. Рапамицин ингибирует серин/треонин киназу mTOR (mammalian target of rapamycin), что вызывает активацию аутофагии [2]; литий способен индуцировать аутофагию путем ингибирования фермента IMPase (inositol monophosphatase) [3, 4]. Одной из наиболее агрессивных и устойчивых к лекарственной терапии опухолей человека является гепатоцеллюлярная карцинома (ГЦК) [5, 6]. Роль аутофагии в развитии ГЦК неоднозначна, имеются данные, что ГЦК характеризуется дефицитной аутофагией [7]. Несмотря на относительную изученность аутофагии, ее функции в развитии и прогрессировании ГЦК до сих пор неизвестны [8]. Таким образом, стимуляция аутофагии может представлять особый интерес в противоопухолевой фармакотерапии ГЦК.

Цель исследования – сравнительная оценка способности карбоната лития и рапамицина влиять на развитие аутофагии в популяции клеток гепатоцеллюлярной карциномы-29.

Материал и методы. Для моделирования опухолевого процесса использовали клеточную линию гепатоцеллюлярной карциномы-29 (Г-29). Клетки Г-29 культивировали в течение 48 ч в ростовой питательной среде RPMI с содержанием 10 % сыворотки крови плодов коровы в CO₂ инкубаторе при 37 °С. Посевная концентрация составляла $2,0 \times 10^6$ клеток в 1 мл. Были сформированы 4 экспериментальные группы: контрольная (клетки, культивированные в питательной среде без добавления препаратов); группа, получавшая 5 мМ карбоната лития; группа, получавшая 10 нМ рапамицина, и группа, получавшая 5 мМ карбоната лития и 10 нМ рапамицина.

Для выявления аутофагии проводили иммунофлуоресцентное окрашивание клеточной культуры Г-29. Клетки наносили на полилизинные стекла, инкубировали с первичными (Anti-LC3B antibody, ab48394, Abcam и Anti-LAMP1 antibody [1D4B], ab25245, Abcam) и вторичными (Goat Anti-Rabbit IgG H&L (Alexa Fluor® 488), ab150077, Abcam и Goat Anti-Rat IgG H&L (Alexa Fluor® 568), ab175476, Abcam, соответственно) антителами и заключали в монтирующую среду (Fluoroshield Mounting Medium With DAPI, ab104139, Abcam). Фотографии получали с помощью микроскопа Axio Observer Z1 (Carl Zeiss). Морфометрию цифровых изображений, полученных в результате иммунофлуоресцентного окрашивания, проводили с помощью программного обеспечения Image J (Wayne Rasband, США). Было подсчитано количество клеток, содержащих везикулы, позитивные на маркеры LC3 beta- или LAMP1, а также общее количество клеток в каждом поле зрения. Данные представлены как средний процент клеток на группу, имеющих LC3 beta- или LAMP1-позитивные везикулы.

Среднее значение (M – mean) и стандартное отклонение (SD – standard deviation) вычисляли с помощью программного обеспечения Microsoft Excel (Microsoft, США). Достоверность различий между исследуемыми параметрами определяли с помощью программного обеспечения Statistica 6.0 (StatSoft, США) с использованием U-критерия Манна – Уитни (непараметрическая статистика) при уровне достоверности 95 % ($p < 0,05$).

Результаты. С помощью иммунофлуоресцентного исследования оценивалась способность карбоната лития и рапамицина влиять на экспрессию маркеров аутофагии – LC3 beta (рис. 1) и LAMP1 в клетках Г-29. Был подсчитан процент клеток, имеющих LC3 beta-позитивные аутофагические структуры и LAMP1-позитивные структуры. В среднем процент клеток в группе контроля с LC3 beta-позитивными везикулами составлял $6,08 \pm 5,6$. При введении карбоната лития по сравнению с контрольной группой достоверно повышалось количество таких клеток – в 3,9 раза ($p < 0,005$); при введении рапамицина – в 2,7 раза ($p < 0,005$); при совместном введении карбоната лития и рапамицина – в 8 раз ($p < 0,005$). Кроме того, было отмечено, что совместное введение карбоната лития и рапамицина способствовало достоверному увеличению количества клеток с LC3 beta-позитивными аутофагическими структурами – в 2,1 раза по сравнению с группой, получавшей только карбонат лития ($p < 0,05$) и в 3 раза по сравнению с группой, получавшей только рапамицин ($p < 0,05$).

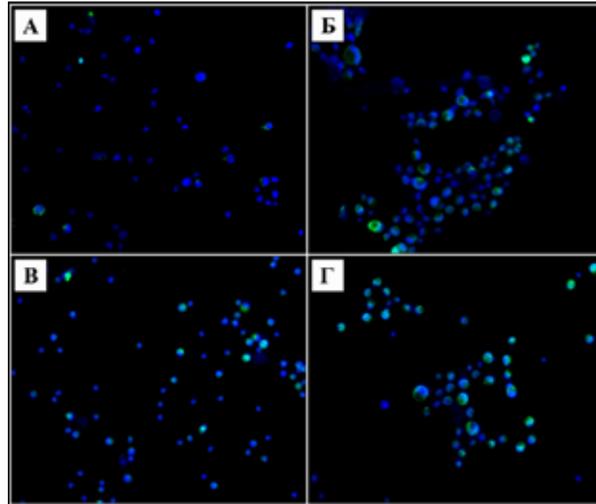


Рис. 1. Иммунофлуоресцентное окрашивание клеточной культуры гепатоцеллюлярной карциномы-29 на маркер аутофагии LC3 beta: А – контрольная группа; Б – группа, получавшая 5 мМ карбоната лития; В – группа, получавшая 10 нМ рапамицина; Г – группа, получавшая 5 мМ карбоната лития и 10 нМ рапамицина. LC3 beta – зеленый, окраска ядер DAPI – синий. Увеличение $\times 400$

При подсчете количества клеток, имеющих LAMP1-позитивные структуры, было выявлено, что такие клетки в группе контроля составляли $19,9 \pm 7,2$ % от общего числа. Совместное введение карбоната лития и рапамицина способствовало достоверному повышению количества клеток с LAMP1-позитивными структурами в 1,5 раза по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$) и в 2 раза по сравнению с группой, получавшей только рапамицин ($p < 0,005$).

Роль аутофагии в канцерогенезе неоднозначна [9]: с одной стороны, известно, что аутофагия может способствовать выживаемости раковых клеток в условиях стресса или недостатка питательных веществ; с другой стороны, аутофагия может выступать в роли опухолевого супрессора, стимулируя гибель раковых клеток [10]. Ранее нами были получены данные, свидетельствующие об активации аутофагии [11] и повышении апоптоза после введения солей лития [12]. Таким образом, литий способствует индукции аутофагии и апоптоза в опухолевых клетках Г-29, что в конечном итоге способствует стимуляции клеточной гибели.

Выводы. Результаты данного эксперимента свидетельствуют, что совместное введение карбоната лития и рапамицина значительно повышает развитие аутофагии в клетках Г-29. Данная комбинация препаратов может являться перспективной стратегией для химиотерапии ГЦК, поскольку позволит интегрировать различные клеточные сигнальные пути, регулирующие аутофагию и апоптоз в опухолевых клетках.

ЛИТЕРАТУРА

1. Bento C.F., Renna M., Ghislat G., Puri C., Ashkenazi A., Vicinanza M., Menzies F.M., Rubinsztein D.C. Mammalian autophagy: how does it work? *Annu. Rev. Biochem.* 2016; 85: 685–713.
2. Sarkar S., Ravikummar B., Floto R.A., Rubinsztein D.C. Rapamycin and mTOR-independent autophagy inducers ameliorate toxicity of polyglutamine-expanded huntingtin and related proteinopathies. *Cell Death Differ.* 2009; 16(1): 46–56.
3. Sarkar S., Floto R.A., Berger Z., Imarisio S., Cordenier A., Pasco M., Cook L.J., Rubinsztein D.C. Lithium induces autophagy by inhibiting inositol monophosphatase. *J. Cell Biol.* 2005; 170(7): 1101–1111.
4. Sade Y., Toker L., Kara N.Z., Einat H., Rapoport S., Moechars D., Berry G.T., Bersudsky Y., Agam G. IP3 accumulation and/or inositol depletion: two downstream lithium's effects that may mediate its behavioral and cellular changes. *Transl Psychiatry.* 2016 Dec 6; 6(12): e968. doi: 10.1038/tp.2016.217.
5. Germano D., Daniele B. Systemic therapy of hepatocellular carcinoma: current status and future perspectives. *World J Gastroenterol.* 2014 Mar 28; 20(12): 3087–99. doi: 10.3748/wjg.v20.i12.3087.
6. Song M.J., Bae S.H. Newer treatments for advanced hepatocellular carcinoma. *Korean J. Intern. Med.* 2014; 29(2): 149–55.
7. Dash S., Chava S., Chandra P.K., Aydin Y., Balart L.A., Wu T. Autophagy in hepatocellular carcinomas: from pathophysiology to therapeutic response. *Hepat. Med.* 2016; 8: 9–20.
8. Liu L., Liao J.Z., He X.X., Li P.Y. The role of autophagy in hepatocellular carcinoma: friend or foe. *Oncotarget.* 2017; 8(34): 57707–57722.
9. Avalos Y., Canales J., Bravo-Sagua R., Criollo A., Lavandero S., Quest A.F. Tumor suppression and promotion by autophagy. *Biomed. Res. Int.* 2014; 2014: 603980.
10. Zhi X., Zhong Q. Autophagy in cancer. *F1000Prime Rep.* 2015; 7: 18.
11. Taskaeva Iu., Bgatova N. Ultrastructural and immunofluorescent analysis of lithium effects on autophagy in hepatocellular carcinoma cells. *Asian Pac. J. Cancer. Biol.* 2018; 3(3): 83–87.
12. Бгатова Н.П., Гаврилова Ю.С., Лыков А.П., Соловьева А.О., Макарова В.В., Бородин Ю.И., Коненков В.И. Апоптоз и аутофагия в клетках гепатокарциномы, индуцированные различными формами солей лития. *Цитология.* 2017; 59(3): 178–184.

НЕСОСТОЯТЕЛЬНОСТЬ АНАСТОМОЗА ПОСЛЕ ПЕРЕДНЕЙ РЕЗЕКЦИИ: ЧАСТОТА, ФАКТОРЫ РИСКА, ОТДАЛЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

С.Ю. Трищенко, А.А. Невольских, Л.О. Петров, Д.В. Ерыгин, Г.О. Рухадзе,
Ю.Ю. Михалева, Т.П. Почуев

Медицинский радиологический научный центр имени А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Обнинск, Россия

Аннотация

Актуальность. Наиболее частым осложнением после передней резекции прямой кишки является несостоятельность колоректального или колоанального анастомозов (НА), развивающаяся у 3–21 %, а послеоперационная летальность, ассоциированная с НА, возникает у 6–39 % больных. **Цель исследования** – изучить факторы риска несостоятельности анастомозов, а также причины «незакрытий» стом (ПС) после передних резекций прямой кишки по поводу рака. **Материал и методы.** Исследование проведено у 474 пациентов, перенесших переднюю резекцию по поводу рака прямой кишки в период с апреля 2011 по февраль 2018 г. **Результаты.** Общая частота послеоперационных осложнений составила 20,6 % у больных с ПС и 26,1 % без ПС ($p=0,198$). НА была выявлена на 2–365 (медиана 29) сут после операции у 47 (9,8 %) больных, при этом у больных с ПС она составила 40 (11,6 %) и без ПС – 9 (6,9 %), ($p=0,134$). Частота повторных операций у больных с ПС составила 10,8 %, в то время как у больных с ПС – 15 % ($p<0,001$). Причиной повторных операций у больных с НА в группе без ПС являлся перитонит (5,4 %, $p<0,001$). При медиане наблюдения 28 мес (1–165) ПС не была закрыта у 46 (9,6 %) пациентов: из-за прогрессирования заболевания – у 14, из-за свища – у 14, стриктуры анастомоза – у 7 больных, сопутствующей патологии – у 8 и отказа от операции – у 3 больных. **Выводы.** Формирование превентивной стомы после передних резекций не снижает частоту несостоятельности анастомозов ($p=0,134$), однако снижает их тяжесть ($p=0,029$). Частота повторных операций у больных без превентивной стомы достоверно выше, чем у больных со стомой ($<0,0001$). Наиболее значимыми факторами риска незакрытия стом являются прогрессирование заболевания, а также наличие свищей прямой кишки и сопутствующей патологии.

Ключевые слова: рак прямой кишки, превентивная стома, несостоятельность анастомоза, незакрытие стомы.

ANASTOMOSIS FAILURE AFTER ANTERIOR RESECTION: FREQUENCY, RISK FACTORS, LONG-TERM RESULTS

S.Yu. Trishchenkov, A.A. Nevolskikh, L.O. Petrov, D.V. Erygin, G.O. Rukhadze,
Yu.Y. Mikhaleva, T.P. Pochuev

Medical Radiological Research Center named after AF. Tsyba branch of the FSBI «NMRC of radiology» of the Ministry of Health of the Russian Federation, Obninsk, Russia

Abstract

Relevance. The most frequent complication after anterior resection of the rectum is the failure of colorectal or coloanal anastomosis (FA), occurring in 32.1 % of cases, and postoperative mortality associated with FA occurs in 63.9 % of patients. Purpose of the study: to assess the risk factors for anastomotic failure and to determine the reasons of “unclosed” stoma after anterior resection for rectal cancer. **Material and Methods.** The study included 474 patients who underwent anterior resection for colorectal cancer from April 2011 to February 2018. **Results.** The overall rate of postoperative complications was 20.6 % in patients with preventive stoma (PS) and 26.1 % without PS ($p = 0.198$). FA occurred at median time of 29 days (range: 2365 days) after surgery in 47 (9.8 %) patients. The frequency of FA was 40 % (11.6 %) in patients with PS and 9 (6.9 %) in patients without PS ($p = 0.134$). The frequency of repeated operations was 10.8 % in patients with PS and 15 % in patients without PS 15% ($p < 0.001$). The reason for repeated operations in patients with FA in the group without PS was peritonitis (5.4 %, $p < 0.001$). With a median follow-up of 28 months (1165), the PS was not closed in 46 (9.6 %) patients: due to the progression of the disease in 14, due to fistula in 14, strictures of the anastomosis 7 patients, concomitant pathology - in 8 and the patient's

refusal of the operation 3 patients. **Conclusion.** The formation of a preventive stoma after anterior resection does not reduce the incidence of anastomotic failure ($p = 0.134$), but reduces their severity ($p = 0.029$). The frequency of reoperations in patients without a preventive stoma was significantly higher than in patients with a stoma (<0.0001). The most significant risk factors for non-closure of stomas are disease progression as well as rectal fistula and comorbidities.

Key words: rectal cancer, preventive stoma, anastomotic failure, stoma non-closure.

Актуальность. Наиболее частым осложнением после передней резекции прямой кишки является несостоятельность колоректального или колоанального анастомозов, развивающаяся у 3–21 %, а послеоперационная летальность, ассоциированная с несостоятельностью анастомоза, отмечается у 6–39 % больных [1]. По данным отечественных и зарубежных авторов, наиболее значимыми факторами риска развития данного осложнения являются возраст, пол пациента, локализация опухоли, стадия заболевания, предоперационная лучевая терапия [2], а также наличие сопутствующей патологии [3–6]. К числу факторов риска развития несостоятельности анастомоза ряд авторов также относят высоту перевязки нижней брыжеечной артерии и мобилизацию селезеночного изгиба [7]. М. Parthasarathy et al. в своем ретроспективном исследовании, в которое вошло 18 тысяч больных, показали, что вышеперечисленные факторы риска не были связаны с несостоятельностью анастомоза. По результатам исследования наиболее значимыми факторами риска оказались: сахарный диабет 2-го типа ($p=0,035$), мужской пол ($p=0,0001$), курение ($p=0,001$) а также мобилизация селезеночного изгиба ($p=0,043$). W. Zhang в своем исследовании показал, что K-ras мутации у больных, перенесших сфинктеросохраняющую переднюю резекцию без формирования превентивной стомы, являются независимым фактором риска развития несостоятельности анастомоза. На основании результатов своего исследования автор говорит о том, что формирование превентивной стомы должно проводиться всем пациентам с средне-(низко) ампулярным расположением опухоли и при наличии 2 и более факторов риска. Существуют различные методы профилактики развития несостоятельности анастомоза. Традиционным методом профилактики развития данного осложнения является формирование превентивных коло-(илео) стом. Результаты М. Parthasarathy показывают снижение частоты развития несостоятельности анастомоза у больных, получавших предоперационную антибиотикотерапию и прооперированных лапароскопическим доступом. По данным X. Zhou et al. и П.В. Царькова и др., превентивную стому не закрывают у 13–19 % больных. Причинами «незакрытия» стом в большинстве случаев являются: возраст более шестидесяти пяти лет, ASA score более трех, послеоперационные осложнения, несостоятельности анастомозов, местный рецидив, а также распространенная стадия заболевания [8].

Целью исследования является изучение частоты несостоятельности анастомозов после передних резекций прямой кишки по поводу рака, определение наиболее значимых факторов развития данного осложнения, а также определение частоты и причин «незакрытия» превентивных стом. Определение показаний к формированию превентивной стомы.

Материал и методы. Исследование проведено на базе Медицинского радиологического научного центра имени А.Ф. Цыба – филиала ФГБУ «НМИЦ» радиологии Минздрава России. В исследование были включены 474 больных, перенесших переднюю резекцию прямой кишки в период с апреля 2011 по февраль 2018 г. по поводу рака. В зависимости от исхода операции больные были разделены на две группы: с формированием превентивной стомы (ПС+ – основная группа, $n=344$) и без формирования (ПС- – контрольная группа, $n=140$). По возрасту, гистологическому типу опухоли, а также степени дифференцировки достоверных различий между группами не было. В группе больных без превентивной стомы преобладали женщины. Также в контрольную группу вошли пациенты с индексом массы тела выше, чем у больных из основной группы.

Результаты. Общая частота послеоперационных осложнений составила 20,6 % у больных с превентивной стомой и 26,1 % без превентивной стомы ($p=0,198$). Несостоятельность анастомоза была выявлена на 2–365 (медиана -29) сут после операции у 47 (9,8 %) больных, при этом у больных с превентивной стомой она составила 40 (11,6 %) и без превентивной стомы 9 (6,9 %) ($p=0,134$). Частота повторных операций у больных с ПС составила 10,8 %, в то время как у больных с превентивной стомой – 15 % ($p<0,001$). Причиной повторных операций у больных с несостоятельностью анастомоза в группе без превентивной стомы являлся перитонит (5,4 %, $p<0,001$). При медиане наблюдения 28 мес (1–165) превентивная стома не была закрыта у 46 (9,6 %) пациентов: из-за прогрессирования заболевания – у 14,

из-за свища – у 14, стриктуры анастомоза – у 7 больных, сопутствующей патологии – у 8 и отказа больного от операции – у 3 больных.

Выводы. Формирование превентивной стомы после передних резекций не снижает частоту несостоятельности анастомозов ($p=0,134$), однако снижает их тяжесть ($p=0,029$). Частота повторных операций у больных без превентивной стомы достоверно выше, чем у больных со стомой ($<0,0001$). Наиболее значимыми факторами риска незакрытия стом являются прогрессирование заболевания, а также наличие свищей прямой кишки и сопутствующей патологии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Kang C.Y., Halabi W.J., Chaudhry O.O., Nguyen V., Pigazzi A., Carmichael J.C., Mills S., Stamos M.J. Risk Factors for Anastomotic Leakage After Anterior Resection for Rectal Cancer. *JAMA Surg.* 2013 Jan; 148(1): 65–71. doi: 10.1001/2013.jamasurg.2.
2. Park J.S., Choi G.S., Kim S.H., Kim H.R., Kim N.K., Lee K.Y., Kang S.B., Kim J.Y., Lee K.Y., Kim B.C., Bae B.N., Son G.M., Lee S.I., Kang H. Multicenter Analysis of Risk Factors for Anastomotic Leakage After Laparoscopic Rectal Cancer Excision: The Korean Laparoscopic Colorectal Surgery Study Group. *Ann Surg.* 2013 Apr; 257(4): 665–71. doi: 10.1097/SLA.0b013e31827b8ed9.
3. Schiffmann L., Ozcan S., Schwarz F., Lange J., Prall F., Klar E. Colorectal cancer in the elderly – surgical treatment and long-term survival. *Int J Colorectal Dis.* 2008 Jun; 23(6): 601–10. doi: 10.1007/s00384-008-0457-5.
4. Zaharie F., Mocan L., Tomuş C., Mocan T., Zaharie R., Bartoş D., Bartoş A., Vlad L., Iancu C. Risk factors for anastomotic leakage following colorectal resection for cancer. *Chirurgia (Bucur).* 2012 Jan-Feb; 107(1): 27–32.
5. Nisar P.J., Lavery I.C., Kiran R.P. Influence of neoadjuvant radiotherapy on anastomotic leak after restorative resection for rectal cancer. *J Gastrointest Surg.* 2012 Sep; 16(9): 1750–7. doi: 10.1007/s11605-012-1936-0.
6. Mari G.M., Crippa J., Cocozza E., Berselli M., Livraghi L., Carzaniga P., Valenti F., Roscio F., Ferrari G., Mazzola M., Magistro C., Origi M., Forgiione A., Zuliani W., Scandroglio I., Pugliese R., Costanzi A.T.M., Maggioni D. Low Ligation of Inferior Mesenteric Artery in Laparoscopic Anterior Resection for Rectal Cancer Reduces Genitourinary Dysfunction: Results From a Randomized Controlled Trial (HIGHLOW Trial). *Ann Surg.* 2018 Jul 10. doi: 10.1097/SLA.0000000000002947.
7. Zhou X., Wang B., Li F., Wang J., Fu W. Risk factors associated with nonclosure of defunctioning stomas after sphincter-preserving low anterior resection of rectal cancer: A meta-analysis. *Dis Colon Rectum.* 2017 May; 60(5): 544–554. doi: 10.1097/DCR.0000000000000819.
8. Царьков П.В., Кравченко А.Ю., Тулина И.А., Цугуля П.В. Всегда ли формирование аппаратного анастомоза при передней резекции гарантирует восстановление непрерывности кишечника? Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 2012; XXII(4): 73–80.

СРАВНЕНИЕ МЕТОДИК ОЦЕНКИ ДИНАМИКИ ЛЕЧЕНИЯ НЕХОДЖКИНСКИХ ЛИМФОМ ВЫСОКОЙ СТЕПЕНИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОСТИ ПО ДАННЫМ ПОЗИТРОННОЙ ЭМИССИОННОЙ ТОМОГРАФИИ

Л.Ю. Трофимчук, Н.Г. Афанасьева, А.С. Субботин

Государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Челябинский областной клинический центр онкологии и ядерной медицины», г. Челябинск, Россия

Аннотация

Актуальность. Неходжкинские лимфомы высокой степени злокачественности характеризуются быстрым прогрессированием, агрессивным течением, но достаточно высокой чувствительностью к химиотерапии. Лечение их должно быть эффективным и максимально безопасным для пациента, поэтому важную роль играет оценка динамики лечения. С **Целью** объективизации оценки ответа опухолевой ткани на проведенное лечение был предложен ряд методик, среди которых в настоящее время широко применяется 5-балльная шкала Deauville, она проста в применении и характеризуется довольно высокой точностью. Однако пятибалльная шкала не имеет интервала пограничных значений, что влияет на информативность исследования, ее невозможно использовать для оценки динамики лечения при диффузном поражении печени. Поэтому в нашем отделении была разработана методика SURF (Standard Uptake value Referencing to Fat tissue), которая не имеет названных недостатков. **Цель исследования** – сравнить две методики оценки динамики лечения неходжкинских лимфом (пятибалльной шкалы Deauville и оригинальной методики SURF) и оценить возможности методики SURF в оценке динамики лечения. **Материал и методы.** Ретроспективно были проанализированы ПЭТ/КТ-сканы у 97 пациентов с гистологически верифицированной НХЛ высокой степени злокачественности. Оценивалась динамика лечения по 5-балльной шкале Deauville и оригинальной методике SURF. **Результаты.** 5-балльная шкала Deauville и SURF позволили с высокой точностью определить наличие полного ответа опухоли и наличие жизнеспособной опухолевой ткани. У 20 пациентов динамика лечения по шкале Deauville была оценена в 3 балла (условно приняли за пограничное значение), из них у 8 пациентов имелась жизнеспособная ткань (40 % от сомнительных результатов). Сомнительный результат по данным SURF был определен у 15 пациентов (15 % всех пациентов), при этом остаточная жизнеспособная опухолевая ткань имелась у 7 пациентов, что составило 46 % от сомнительных ре-

зультатов. **Выводы.** Пятибалльная шкала Deauville проста в использовании, оптимальна для оценки динамики лечения НХЛ, но не имеет интервала пограничных значений, её невозможно применить при диффузном поражении печени, воспалительных изменениях аорты, в отличие от методики SURF. Введение интервала пограничных значений позволяет повышать информативность исследования. Поэтому в некоторых ситуациях, когда критерии Deauville неприменимы, альтернативой может стать методика SURF, однако данная методика более трудоёмка и требует уточнения.

Ключевые слова: неходжкинская лимфома, Deauville, SURF, ПЭТ-КТ, 18F-фтордезоксиглюкоза.

COMPARISON OF METHODS FOR THE EVALUATION OF TREATMENT OF NON-HODGKIN'S LYMPHOMAS USING POSITRON EMISSION TOMOGRAPHY

L.Yu. Trofimchuk, N.G. Afanasyeva, A.S. Subbotin

Chelyabinsk Regional Clinical Center of Oncology and Nuclear Medicine, Chelyabinsk, Russia

Abstract

Aggressive Non-Hodgkin lymphomas are characterized by a rapid progression, aggressive course, but rather high sensitivity to chemotherapy. Their treatment should be sufficiently effective and as safe as possible for the patient, therefore the assessment of the dynamics of treatment plays an important role. For the objective evaluation of tumor response to treatment, a number of techniques has been proposed, among which a 5-point Deauville scale is currently widely used, which is easy to use and is characterized by rather high accuracy. However, the five-point scale does not have an interval of borderline values, it cannot be used to assess the dynamics of treatment for diffuse liver damage. Therefore, the SURF (Standard Uptake value Referencing to Fat tissue) method was developed in our department, which does not have these disadvantages. Purpose: to compare two methods for assessing the dynamics of treatment of non-Hodgkin's lymphoma, namely the Deauville five-point scale and the original SURF method, as well as to evaluate the role of the SURF method in assessing the dynamics of treatment. **Material and Methods.** PET / CT scans were analyzed retrospectively in 97 patients with histologically verified NHL with a high degree of malignancy. Treatment dynamics were assessed on a 5-point Deauville scale and the original SURF method. **Results.** The 5-point scale of Deauville and SURF made it possible to accurately determine the presence of a complete tumor response and the presence of viable tumor tissue. In 20 patients, the dynamics of treatment according to the Deauville scale was estimated at 3 points (conditionally taken for borderline value), of which 8 patients had viable tissue (40 % of questionable results). The doubtful results according to SURF were determined in 15 patients, and residual viable tumor tissue was present in 7 patients, which accounted for 46 % of doubtful **Results.** Conclusion: The five-point scale Deauville is easy to use, optimal for assessing the dynamics of treatment of NHL, but does not have an interval of boundary values. In contrast to the method of SURF, the five-point scale Deauville cannot be used for diffuse damage to the liver and inflammatory changes in the aorta. The introduction of the interval of boundary values allows the information content of the study to be increased. Therefore, in some situations when the Deauville criteria are not applicable, the SURF method may become an alternative, however this method is more laborious and requires clarification.

Key words: non-Hodgkin's lymphomas, Deauville, SURF, PET-CT, 18F-fluorodeoxyglucose.

Актуальность. Неходжкинские лимфома (НХЛ) – гетерогенная группа опухолей, возникающих из различного типа клеток лимфоидной ткани и различающихся между собой по ряду признаков [1]. К НХЛ высокой степени злокачественности относятся диффузная крупноклеточная лимфома, лимфома Беркитта, анапластическая крупноклеточная НХЛ. Данные виды лимфом характеризуются быстрым прогрессированием, агрессивным течением, но достаточно высокой чувствительностью к химиотерапии [2]. Риск развития опухоли увеличивается с возрастом, мужчины и женщины болеют приблизительно с одинаковой частотой [3]. Недостаточный объем лечения приводит к рецидивам заболевания и отдаленным последствиям, таким как возникновение вторых опухолей, кардио-, пульмоно-, гепато-, нейротоксичности, бесплодию. При наличии рецидива НХЛ необходимо применение более агрессивных лечебных подходов, обладающих большей токсичностью, чем первая линия химиотерапии [4], поэтому лечение НХЛ должно быть максимально безопасным и эффективным. В оценке динамики лечения НХЛ важную роль играет ПЭТ-КТ, которая позволяет оценить не только морфологические, но и функциональные изменения [5]. В настоящее время

для оценки ответа на терапию используют классификацию Lugano, которая рекомендует стадирование по данным ПЭТ-КТ с использованием 5-балльной шкалы Deauville [6]. Данная шкала проста в применении и характеризуется высокой точностью. Однако у пятибалльной шкалы нет интервала пограничных значений, что влияет на информативность исследования, её невозможно применить при воспалении стенок аорты и диффузном поражении паренхимы печени. Поэтому в нашем отделении была разработана методика SURF (Standard Uptake value Referencing to Fat tissue), которая не имеет таких недостатков.

Цель исследования – сравнить две методики оценки динамики лечения диффузной В-крупноклеточной лимфомы (Deauville и SURF) и оценить возможности методики SURF в оценке динамики лечения.

Материал и методы. Ретроспективно были проанализированы ПЭТ/КТ-сканы у 97 пациентов, выполненные в ПЭТ-центре ГБУЗ «ЧОКЦОиЯМ» в период с 2015 по 2017 г. У всех пациентов диагноз был гистологически верифицирован (гистология: диффузная В-крупноклеточная лимфома – 93 пациента, лимфома Беркитта – 3 пациента, анапластическая крупноклеточная НХЛ – 1 пациент), всем проводилось ПЭТ/КТ-исследование до начала лечения и оценивалась динамика лечения после 4–6 циклов химиотерапии. Динамика лечения оценивалась по общепризнанной методике с помощью пятибалльной шкалы Deauville и разработанной в нашем отделении методике SURF (Standard Uptake value Referencing to Fat tissue) [7]. Для оценки условного уровня фоновой метаболической активности области интереса (ROI) размещались в проекции интактной подкожной жировой клетчатки поясничных областей и бедра таким образом, чтобы в область ROI не включались другие ткани, а для оценки уровня метаболической активности определяли показатель SUVmean. Получив значения SUVmean для четырех ROI, было определено их среднее арифметическое. В дальнейшем определяется показатель SUVmax патологического очага и делится на среднее арифметическое для подкожной клетчатки. Данная методика была адаптирована для НХЛ – SURF от 12 до 20 расценивался как сомнительный результат, требующий усиленного динамического наблюдения.

Результаты. Оценка динамики лечения по шкале Deauville позволила определить с высокой точностью наличие полного ответа опухоли на проведенное лечение (1–2 балла) у 45 пациентов и наличие жизнеспособной опухолевой ткани (4–5 баллов) – у 32 пациентов. При этом у остальных 20 пациентов (21 % от всех пациентов) динамика лечения была оценена в 3 балла (условно приняли за пограничное значение), из них у 8 пациентов имелась жизнеспособная опухолевая ткань, что составило 40 % от данной группы пациентов.

При использовании методики SURF безошибочно был определен полный метаболический ответ у 55 пациентов и остаточная жизнеспособная ткань у 32 пациентов. Сомнительный результат по данным SURF был определен у 15 пациентов (15 % всех пациентов), при этом остаточная жизнеспособная опухолевая ткань имелась у 7 пациентов, что составило 46 % от сомнительных результатов.

Выводы. Пятибалльная шкала Deauville проста в использовании, оптимальна для оценки динамики лечения НХЛ, но не имеет интервала пограничных значений, её невозможно применить при диффузном поражении печени, воспалительных изменениях аорты, в отличие от методики SURF. Введение интервала пограничных значений позволяет повышать информативность исследования. Поэтому в некоторых ситуациях, когда критерии Deauville неприменимы, альтернативой может стать методика SURF, однако данная методика более трудоёмка и требует уточнения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Агеева Т.А., Архипова Н.В., Байков В.В. Диффузная В-крупноклеточная лимфома. Гематология. М.: ГЭОТАР-Медиа. 2015; 303–407.
2. Luo D.L., Liu Y.H., Zhuang H.G., Li L., Xu F.P., Zhang F., Luo X.L., Xu J. Diffuse large B-cell lymphoma, NOS. World Health Organization Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Lyon: IARC. 2008; 291–292.
3. Аносов Н.А., Бацков С.С., Богданов А.Н. Лимфопролиферативные заболевания. Клиническая гематология: руководство для врачей. СПб.: Фолиант. 2008; 331–364.
4. Труфанов Г.Е., Рязанов В.В., Дмитраченко А.А. Лимфомы. Совмещенная позитронно-эмиссионная и компьютерная томография в онкологии. СПб.: Элби-СПб. 2005; 124.
5. Johnson S.A., Kumar A., Matasar M.J., Schöder H., Rademaker J. Imaging for Staging and Response Assessment in Lymphoma. Radiology. 2015; 276(2): 323–38.
6. Субботин А.С., Важенин А.В., Афанасьева Н.Г. Позитронная эмиссионная томография в диагностике лимфомы Ходжкина: сравнение подходов при оценке динамики лечения. Онкологический журнал. 2018; 2: 72.

ПРИМЕНЕНИЕ ХОЛОДНОЙ ПЛАЗМЫ НА ОСНОВЕ БАРЬЕРНОГО РАЗРЯДА ДЛЯ ИНАКТИВАЦИИ МИКРООРГАНИЗМОВ

Н.Д. Тургунова², А.Н. Алейник¹, В.В. Великая², Ж.А. Старцева²

Национальный исследовательский Томский политехнический университет, г. Томск, Россия¹
Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный
исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия²

Аннотация

Одним из серьезных осложнений после лучевой терапии молочной железы являются лучевые язвы. Лучевые язвы требуют длительного лечения, что приводит к снижению качества жизни пациентов. В работе рассматривается возможность применения холодной плазмы на основе барьерного разряда для инактивации микроорганизмов. Проведено исследование воздействия холодной плазмы на *Micrococcus luteus*, *Candida albicans*, *Bacillus Atrophaeus* *Geobacillus stearothermophilus* и показана эффективность применения данного метода. Также проведено лечение постлучевой язвы, которое показало влияние плазмы на регенерацию тканей.

Ключевые слова: неравновесная (холодная) плазма, барьерный разряд, плазменная медицина, язва, инактивация микроорганизмов.

APPLICATION OF DIELECTRIC BARRIER DISCHARGE PLASMA FOR INACTIVATION OF MICROORGANISMS

N.D. Turgunova², A.N. Aleinik¹, V.V. Velikaya², Zh.A. Startseva²

National Research Tomsk Polytechnic University, Tomsk, Russia¹
Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center,
Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia²

Abstract

Radiation-induced ulcers are one of the complications of breast radiation therapy. Radiation ulcers require long-term treatment that leads to a decrease in the quality of life of patients. In this paper, we consider the feasibility of using dielectric barrier discharge plasma for inactivation of microorganisms. The effect of dielectric barrier discharge plasma on *Micrococcus luteus*, *Candida albicans*, *Bacillus Atrophaeus*, *Geobacillus stearothermophilus* was studied. The treatment of post-radiation ulcers using dielectric barrier discharge plasma was shown to be effective.

Key words: non-equilibrium (cold) plasma, barrier discharge, plasma medicine, ulcer, inactivation of microorganisms.

Актуальность. Одним из основных методов лечения злокачественных новообразований является лучевая терапия. Однако во время и после курса лучевой терапии могут возникнуть лучевые реакции, такие как фиброз, язва и т. д. [1] Лечение лучевых язв представляет серьезную проблему и требует значительного времени. Язвы могут вызывать у пациентов моральные и физические страдания [2]. Поэтому необходим поиск и внедрение нового метода лечения, который поможет быстро и эффективно излечить язвы у пациентов для улучшения качества жизни.

Цель исследования – изучить влияние холодной плазмы на культуры микроорганизмов и регенерацию тканей.

Материал и методы. Для исследования возможностей применения холодной плазмы в медицине и биологии был разработан компактный источник холодной плазмы. Плазма образуется с помощью барьерного разряда. Амплитуда импульсов – 15 кВ, частота – 5 кГц. Барьером служит стекло, толщиной 2 мм, марки С23. Напряженность электрического поля – 75 кВ/см. Форма импульсов – прямоугольная. Температура плазмы измерена с помощью термопары и не превышает 45 °С [3].

Для исследования частиц, входящих в состав барьерного разряда, использовался метод эмиссионной спектроскопии. В результате было выявлено наличие реактивных компонентов, таких как OH, NO, озон и атомарный кислород. Наличие этих компонентов и ультрафиолетового излучения обеспечивает стерилизующее и стабилизирующее действие плазмы. Реальное применение барьерного разряда желательно проводить в воздухе, так как в нем присутствует большее количество реактивных веществ [3,4].

Результаты. Для проверки возможности применения холодной плазмы на основе барьерного разряда для лечения постлучевых повреждений сначала проводились исследования по инактивации микроорганизмов на культурах *Micrococcus luteus*, *Candida albicans*, *Bacillus Atrophaeus*, *Geobacillus stearothermophilus*.

Из суточных культур микроорганизмов были приготовлены разведения на физиологическом растворе в концентрации 10^8 КОЕ/мл и засеяны на мясопептонный агар в объеме 0,1 мл. Инактивация проводилась в воздушной среде при атмосферном давлении и температуре 24 °С. Время обработки составляло 5, 10 и 15 сек [3].

В результате *in vitro* исследований было доказано эффективное антибактериальное воздействие неравновесной плазмы на *Micrococcus luteus*, *Candida albicans*, *Bacillus Atrophaeus*, *Geobacillus stearothermophilus*.

Рис.1 подтверждает высокую эффективность инактивации микроорганизмов с помощью источника неравновесной плазмы по сравнению с существующими методами стерилизации.

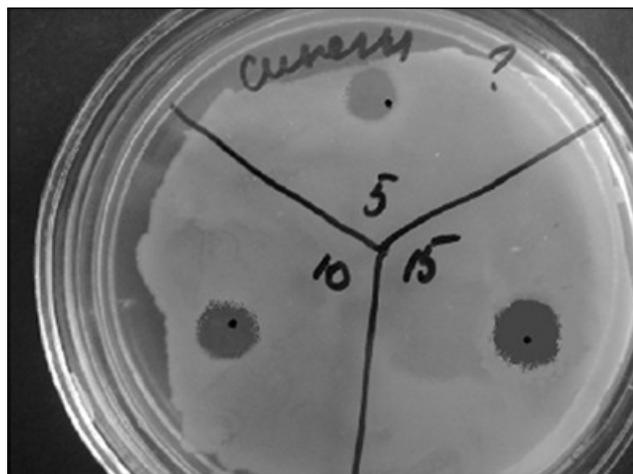


Рис.1 Вид поверхности агара, засеянного микроорганизмами *Micrococcus luteus*, спустя 24 ч после обработки неравновесной плазмой для трех промежутков времени – 5, 10 и 15 сек

Далее проводилась инактивация микроорганизмов на поверхности язвы, образовавшейся после курса радиотерапии. До применения холодной плазмы размер раны составлял около 30 мм в диаметре и около 5 мм в глубину, внутри был толстый слой некротической ткани (рис. 2).



Рис. 2. Язва до обработки

В течение полугода язва не поддавалась лечению. Обработка холодной плазмой на основе барьерного разряда позволила ускорить процесс заживления с помощью озонотерапии.

Из рисунка видно, что после трех сеансов обработки холодной плазмой поверхность язвы очистилась от некротической ткани. Отсутствие микроорганизмов ускорило заживление раны.



Рис.3. Язва после обработки холодной плазмой (3 сеанса)

Последующее применение сеансов озонотерапии привело к полному заживлению язвы.

Выводы. В ходе работы проведено исследование воздействия холодной плазмы на возбудителей гнойно-воспалительных процессов. Результаты исследования показали высокую эффективность холодной плазмы по сравнению с существующими методами. Обработка в течение 15 сек позволяет уничтожить любые культуры микроорганизмов. Также проведено лечение язвы, образовавшейся после курса радиотерапии. Уже после нескольких сеансов обработки холодной плазмы язва очистилась от некроза, и процесс регенерации тканей значительно ускорился. Несмотря на значительные успехи в развитии плазменной медицины, необходимы дальнейшие исследования влияния ультрафиолетового излучения, электрических токов, теплового повреждения тканей и состава частиц плазменного разряда на ткани.

ЛИТЕРАТУРА

1. Великая В.В., Старцева Ж.А., Симонов К.А., Лисин В.А., Попова Н.О., Гольдберг В.Е. Отдаленные результаты комплексного лечения с применением нейтронной терапии у больных местнораспространенным раком молочной железы. Радиация и риск (Бюллетень Национального радиационно-эпидемиологического регистра). 2018; 27: 1.
2. Overgaard M., Kvistgaard M.E., Thomsen M.S. Postoperative radiotherapy treatment of early breast cancer. Ugeskr. Laeger. 2007; 169 (36): 2993–2996.
3. Тургунова Н.Д., Денeko О.И., Семичев Е.В., Бушланов П.С. Холодная плазма в биологических приложениях. Известия вузов. Физика. 2013; 56(4/2): 302–304.
4. Fridman A. Plasma chemistry. Cambridge university press, 2008. 1022.

СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К ЛЕЧЕНИЮ МЕСТНОРАСПРОСТРАНЕННОГО РАКА ПИЩЕВОДА

У.Б. Урмонов, А.Ю. Добродеев, С.Г. Афанасьев

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

Аннотация

Отдаленные результаты хирургического лечения рака пищевода остаются неудовлетворительными, в связи с чем перспективным является применение мультидисциплинарного подхода. **Материал и методы.** Представлены результаты комбинированного и хирургического лечения 40 больных раком пищевода II–III стадии. В основной группе (n=20) проводилось комбинированное лечение: 2 курса неoadъювантной химиотерапии гемцитабин/цисплатин и радикальная операция, в контрольной группе (n=20) выполнялось только хирургическое лечение. **Результаты.** Непосредственная эффективность НАХТ по схеме гемцитабин/цисплатин составила 45,0 %, включая полную 1 (5,0±4,8 %) и частичную регрессию 8 (40,0±10,9 %). Лечение характеризовалось удовлетворительной переносимостью и низкой токсичностью. Послеоперационные осложнения в основной (20,0±8,9 %) и контрольной группах (25,0±9,6 %) достоверно не отличались (p>0,05). Комбинированное лечение позволило значимо

увеличить показатели 2-летней общей и безрецидивной выживаемости – $84,2 \pm 8,2$ % и $84,2 \pm 8,2$ % по сравнению с группой контроля – $63,2 \pm 11,1$ % и $42,1 \pm 11,4$ % соответственно ($p < 0,05$). **Заключение.** Неоадьювантная химиотерапия по схеме гемцитабин/цисплатин показала высокую непосредственную эффективность. Мультимодальный подход при лечении плоскоклеточного рака пищевода II–III стадии обеспечивает надежный локорегионарный контроль, предотвращает отдаленное метастазирование и позволяет значимо увеличить 2-летнюю выживаемость.

Ключевые слова: плоскоклеточный рак пищевода, комбинированное лечение, неоадьювантная химиотерапия, результаты лечения.

MODERN APPROACHES TO THE TREATMENT OF LOCALLY ADVANCED ESOPHAGEAL CANCER

U.B. Urmonov, A.Yu. Dobrodeev, S.G. Afanasyev

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

Abstract

Long-term outcomes after surgical treatment of esophageal cancer still remain poor, therefore multimodal approaches are required. **Material and Methods.** The results of the combined and surgical treatment of 40 patients with stage II – III esophagus cancer were presented. The main group of patients ($n = 20$) received combined modality treatment: 2 courses of neoadjuvant chemotherapy with gemcitabine / cisplatin and radical surgery. The control group ($n = 20$) underwent surgery alone. **Results.** The immediate response to neoadjuvant chemotherapy with gemcitabine / cisplatin was 45.0 %, including complete regression in 1 patient ($5.0 \pm 4.8\%$) and partial regression in 8 patients (40.0 ± 10.9 %). The treatment was characterized by satisfactory tolerance and low toxicity. No significant differences in postoperative complications between the main and control groups were found (20.0 ± 8.9 % versus 25.0 ± 9.6 %, $p > 0.05$). Combined modality treatment resulted in a significant increase in the 2-year overall and disease-free survival rates compared to the control group patients (84.2 ± 8.2 % and 84.2 ± 8.2 % versus 63.2 ± 11.1 % and 42.1 ± 11.4 %, respectively, $p < 0.05$). **Conclusion.** Neoadjuvant chemotherapy with gemcitabine and cisplatin showed high immediate response. Multimodal approach to the treatment of stage II-III esophageal cancer led to a significant increase in 2-year overall survival due to effective local control and prevention of distant metastasis.

Key words: squamous esophageal cancer, combined modality treatment, neoadjuvant chemotherapy, short-and long-term treatment outcomes.

Актуальность. В общей структуре онкологической заболеваемости рак пищевода (РП) занимает 8-е, а среди злокачественных опухолей пищеварительного тракта – 3-е место [1]. До настоящего времени хирургическое лечение является основным и единственно радикальным методом лечения рака пищевода. Однако результаты его лечения зависят от распространенности процесса: если при локализованной форме 5-летняя выживаемость составляет 37,8 %, то при наличии регионарных метастазов она снижается вдвое (19,8 %), а при выходе опухоли за пределы стенки органа ни один больной не переживает 5 лет [2, 3]. В связи с неудовлетворительными результатами только хирургического лечения РП перспективным является применение мультидисциплинарного подхода.

Цель исследования – изучить эффективность и переносимость комбинированного лечения рака пищевода с использованием неоадьювантной химиотерапии (НАХТ) в сочетании с радикальной операцией.

Материал и методы. В отделении абдоминальной онкологии НИИ онкологии Томского НИМЦ проведено лечение 40 больных плоскоклеточным РП II–III стадии. В основной группе ($n=20$) применялось комбинированное лечение: 2 курса НАХТ гемцитабин/цисплатин и радикальная операция. В группе контроля ($n=20$) выполнялось только хирургическое лечение. Распределение больных по группам проводилось методом «случай-контроль». Наиболее часто отмечалось поражение среднегрудного отдела пищевода – у 25 (62,5 %), затем нижнегрудного – у 15 (37,5 %) больных. Окончательная стадия РП устанавливалась после операции в соответствии с классификацией Международного противоракового союза по классификации TNM 7-го пересмотра (табл. 1).

Таблица 1

Распределение больных в зависимости от стадии опухолевого процесса (TNM), абс. ч. (%)

Стадия опухоли	НАХТ + операция (n=20)	Операция (n=20)	Всего (n=40)
IIa (T2–3N0M0)	4 (20,0 %)	5 (25,0 %)	9 (22,5 %)
IIb (T1–2N1M0)	6 (30,0 %)	7 (35,0 %)	13 (32,5 %)
III (T3N1M0 или T4N _{любая} M0)	10 (50,0 %)	8 (40,0 %)	19 (47,5 %)

На момент постановки диагноза у 11 (55,0 %) больных основной группы и у 9 (45,0 %) больных контроля имелась дисфагия различной степени выраженности, в связи с чем требовалось парентеральное питание. Кроме того, в основной группе с **Целью** коррекции дисфагии у 2 (10,0%) больных был установлен пищеводный зонд.

На первом этапе комбинированного лечения у больных основной группы проводилось 2 курса НАХТ по схеме гемцитабин 1250 мг/м² внутривенно в 1-й и 8-й дни, цисплатин 80 мг/м² внутривенно в 1-й день. Интервал между курсами химиотерапии и хирургическим этапом лечения составлял 3 нед.

Радикальная операция являлась основным методом лечения в обеих группах. Во всех случаях была выполнена расширенная субтотальная резекция пищевода с 2-зональной (2F) лимфодиссекцией из комбинированного лапаротомного и правостороннего торакотомного доступа с одномоментной эзофагопластикой. При выполнении реконструктивного этапа операции выбор метода пластики зависел от уровня поражения и резекции пищевода. Наиболее часто использовался широкий желудочный стебель (операция типа Льюиса) – 27 (67,5 %) случаев, значительно реже изоперистальтическая пластика проводилась левой половиной толстой кишки – 13 (32,5 %) наблюдений (табл. 2).

Таблица 2

Распределение больных в зависимости от методики эзофагопластики, абс. ч. (%)

Метод эзофагопластики	НАХТ + операция (n=20)	Операция (n=20)	Всего (n=40)
Желудочным стеблем	14 (70,0%)	13 (65,0%)	27 (67,5%)
Толстой кишкой	6 (30,0%)	7 (35,0%)	13 (32,5%)

Объективный ответ опухоли на НАХТ определялся по шкале RECIST 1.1, токсичность химиотерапии – по шкале CTC-NCIC. Оценка эффективности лечения дана на основании изучения частоты и сроков появления рецидивов и метастазов, анализа 2-летней выживаемости больных. Статистическая обработка проводилась с помощью компьютерной программы Statistica 10.0 (StatSoft).

Результаты и обсуждение. Непосредственная эффективность НАХТ по схеме гемцитабин/цисплатин составила 45,0 %, включая полную – 1 (5,0±4,8 %) и частичную регрессию – 8 (40,0±10,9%). Стабилизация зафиксирована у 9 (45,0±11,1 %) и прогрессирование – у 2 (10,0±6,7 %) больных. По данным литературы [4, 5], при проведении химиотерапии по поводу РП показатели общей эффективности варьируют в пределах 37,1–80,6 %, что в целом согласуется с нашими результатами. Следует отметить, что у всех 11 (55,0%) больных с исходной дисфагией после проведения 1-го курса НАХТ отмечалось восстановление полноценного энтерального питания.

Из побочных реакций химиотерапии наиболее часто встречалась тошнота/рвота – 11 (55,0±11,1 %) случаев. Гематологическая токсичность: тромбоцитопения – 9 (45,0±11,1 %) случаев, в том числе I–II степени – 7 (35,0±10,6 %), III степени – 2 (10,0±6,7 %) и лейкопения I–II степени – 5 (25,0±9,6 %). Аллергические реакции зафиксированы у 8 (40,0±10,9 %) больных. Нежелательные явления достаточно хорошо купировались симптоматической терапией.

При анализе структуры послеоперационных осложнений (табл. 3) значимых различий между группами не отмечено (p>0,05). Наиболее грозными осложнениями являлись недостаточность внутригрудного анастомоза и нарушение трофики интраторакальных трансплантатов в виде острых язв, которые наблюдались в 3 (7,5±5,8 %) случаях и сопровождалась развитием эмпиемы плевры и/или медиастинита. У данных больных потребовались повторные оперативные вмешательства в объеме реторакотомии с **Целью** санации плевральной полости и дополнительного дренирования.

Таблица 3

Частота и характер послеоперационных осложнений абс. ч. (%)

Послеоперационные осложнения	НАХТ + операция (n=20)	Операция (n=20)
Больные с осложнениями	4 (20,0±8,9)	5 (25,0±9,6%)
Недостаточность внутригрудного анастомоза		1 (5,0±4,8%)
Острая перфоративная язва гастротрансплантата	1 (5,0±4,8%)	1 (5,0±4,8%)
Послеоперационная пневмония	2 (10,0±6,7%)	2 (10,0±6,7%)
Острая сердечно-сосудистая недостаточность	1 (5,0±4,8%)	

При анализе послеоперационной летальности установлено, что в основной группе 1 (5,0±4,8 %) больной умер от сердечно-сосудистой недостаточности, в контрольной группе 1 (5,0±4,8 %) больной погиб от прогрессирующей полиорганной недостаточности, развившейся в результате гнойно-инфекционных осложнений. Статистических различий нет (p>0,05). Полученные результаты соответствуют литературным данным о частоте послеоперационных осложнений и летальности [6].

Одним из важнейших критериев эффективности проводимого лечения больных РП являются частота и сроки появления рецидивов и метастазов. Прослежены 2-летние результаты лечения: в основной группе – у 19 из 20 больных и в контрольной – у 19 из 20. В основной группе прогрессирование заболевания в виде метастатического поражения выявлено в 3 (15,8±8,3 %) случаях. Длительность безрецидивного периода составила 21,9 мес. В контрольной группе прогрессирование РП выявлено у 11 (57,9±11,3 %) больных: местные рецидивы – у 4 (21,1±9,3 %) и отдаленные метастазы – у 7 (36,8±11,0 %). Длительность безрецидивного периода – 18,7 мес. В итоге, безрецидивная двухлетняя выживаемость в основной и контрольной группах составила 84,2±8,2 % и 42,1±11,4 % соответственно, общая выживаемость – 84,2±8,2 % и 63,2±11,1 % соответственно. Различия статистически значимы (p<0,05).

Таким образом, комбинированное лечение больных РП II–III стадии с применением НАХТ по схеме гемцитабин/цисплатин и радикальной операции при удовлетворительной переносимости позволяет добиться надежного локорегионарного контроля и способствует снижению риска развития отдаленных метастазов. После проведения НАХТ хирургический этап лечения был реализован у всех больных РП в запланированном объеме, что обеспечивает обнадеживающие результаты.

Заключение. Мультидисциплинарный подход при лечении плоскоклеточного РП II–III стадии позволяет значимо увеличить 2-летнюю общую выживаемость (84,2 %) относительно хирургического лечения (63,2 %) (p<0,05). Неоадьювантная химиотерапия гемцитабин/цисплатин демонстрирует высокую непосредственную эффективность, однако отдаленные результаты требуют дальнейшего изучения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel R.L., Torre L.A., Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2018; 68(6): 394–424. doi: 10.3322/caac.21492.
2. Klevebro F, Lindblad M., Johansson J., Lundell L., Nilsson M. Outcome of neoadjuvant therapies for cancer of the oesophagus or gastro-oesophageal junction based on a national data registry. *Br. J. Surg.* 2016; 103(13): 1864–1873. doi: 10.1002/bjs.10304.
3. Napier K.J., Scheerer M., Misra S. Esophageal cancer: a review of epidemiology, pathogenesis, staging workup and treatment modalities. *World J. Gastrointest. Oncol.* 2014; 6(5): 112–20. doi: 10.4251/wjgo.v6.i5.112.
4. Duan X., Yu Z. Neoadjuvant chemoradiotherapy combined with operation vs. operation alone for resectable esophageal cancer: Meta-analysis randomized controlled trials. *Zhonghua Wei Chang WaiKeZaZhi.* 2017; 20(7): 809–815.
5. Zhang Y.S., Gao B.R., Wang H.J., Su Y.F., Yang Y.Z., Zhang J.H., Wang C. Comparison of anastomotic leakage and stricture formation following layered and stapler oesophagogastric anastomosis for cancer: a prospective randomized controlled trial. *J. Int. Med. Res.* 2010; 38(1): 227–33.
6. Yoshida N., Baba Y., Shigaki H., Harada K., Iwatsuki M., Sakamoto Y., Miyamoto Y., Kurashige J., Kosumi K., Tokunaga R., Watanabe M., Baba H. Risk factors of early recurrence within 6months after esophagectomy following neoadjuvant chemotherapy for resectable advanced esophageal squamous cell carcinoma. *Int. J.Clin.Oncol.* 2016 Dec. 21; 6: 1071–1078.

ИЗУЧЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ГЕМОСТАЗА АУТБРЕДНЫХ МЫШЕЙ НА ФОНЕ ДЕЙСТВИЯ ЦИСПЛАТИНА

М.В. Филонова^{1,2}, Е.П. Федорова¹, А.А. Чуринов^{1,2}

Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия¹
Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск, Россия²

Аннотация

В эксперименте на аутбредных мышах показано, что введение цисплатина в максимально переносимой дозе 10 мг/кг вызывает нарушения системы гемостаза со сдвигом в сторону тромбообразования. Максимальное снижение показателей ПВ и МНО, АПТВ отмечается на 10-е сут. Уровень фибриногена в этот период повышается, что свидетельствует о запуске процессов тромбообразования.

Ключевые слова: аутбредные мыши, цисплатин, нарушение гемостаза, тромбообразование.

THE STUDY OF HEMOSTATIC PARAMETERS IN OUTBRED MICE UNDER THE INFLUENCE OF CISPLATIN

M.V. Filonova^{1,2}, E.P. Fedorova¹, A.A. Churin^{1,2}

Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia¹
National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia²

Abstract

In outbred mice, the administration of cisplatin in a maximum tolerated dose of 10 mg / kg was shown to cause disorders of the hemostatic system with a shift towards thrombosis. The maximum decrease in PT, INR, and APTT was observed on day 10. The data indicated that the elevated fibrinogen levels were associated with increased risk of thrombosis.

Key words: outbred mice, cisplatin, impaired hemostasis, thrombosis.

В настоящее время одним из актуальных способов лечения рака является химиотерапия. Лечение противоопухолевыми препаратами имеет множество побочных эффектов и нередко связано с повышенным риском тромбоза, вероятность которого после химиотерапии колеблется от 2,5 до 12,5 % [1].

Основную роль в патогенезе тромботических осложнений онкологических больных играют изменения системы гемостаза, вызванные как самой опухолью, так и методами ее лечения не только химиотерапевтическими, но и хирургическими и гормональными [2].

Возникновение тромбозов у онкологических больных приводит к отсроченному проведению химиотерапии, а в некоторых случаях к отказу от нее. Это влечет за собой значительное снижение качества жизни [3, 4].

Цисплатин представляет собой химиотерапевтическое средство на основе платины, которое широко используется в лечении рака различной локализации. Известно, что одним из осложнений при использовании цисплатина является ускоренный тромбоз артерий и вен [5].

Разработка модели патологии гемостаза, в частности тромбообразования у экспериментальных животных, является актуальной задачей. Полученный результат позволит провести поиск новых патогенетически обоснованных способов коррекции нарушения гемостаза.

Цель – изучить изменение показателей системы гемостаза у аутбредных мышей на фоне действия цисплатина.

Материал и методы. Эксперименты проведены на 40 мышах (самцы и самки) линии CD 1 массой 20–30 г. (питомник НИИФирМ им. Е.Д. Гольдберга). Животных содержали в

соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей (Страсбург, 1986).

Для моделирования нарушений свертывающей системы крови цисплатин (Ebewe, Австрия) вводили мышам внутривенно однократно в максимально переносимой дозе (МПД) 10 мг/кг. Контрольным животным в аналогичных условиях в эквивалентном объеме вводили физиологический раствор.

Изучение показателей проводили в динамике на 5, 10, 15-е сут после введения цитостатика. Коагуляционное звено изучали в плазме, полученной из стабилизированной цитратом натрия крови.

Исследование показателей системы коагуляционного гемостаза выполняли на полуавтоматическом коагулометре Helena C-4 (Helena Biosciences Europe, Великобритания) с использованием реактивов компании «Технология-Стандарт» (г. Барнаул, Россия).

Нарушение активности коагуляционного звена системы гемостаза определяли по следующим показателям: активированное парциальное тромбопластиновое время (АПТВ), протромбиновое время (ПВ), международное нормализованное отношение (МНО), концентрация фибриногена.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием пакета программ Statistica 6. Межгрупповые различия были оценены с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни. Различия определялись при 0,05 % уровне достоверности и отражаются значком *.

Результаты. При введении цисплатина мышам в МПД на 10-е сут исследования наблюдали значимое увеличение содержания фибриногена у самок – на 103 % (рис 1) и у самцов на 82 % (рис. 2) по сравнению с контрольными величинами экспериментальных животных.

Фибриноген, один из основных белков свертывания крови (I фактор), повышение его концентрации свидетельствует о претромботическом состоянии.

В этот же период исследования отмечено сокращение ПВ и уменьшение значений показателей МНО у самок на 27, 28 % (рис.1), у самцов – на 30, 34 % (рис. 2) по сравнению с соответствующими показателями группы контроля. Со стороны ПВ и МНО наибольшее уменьшение значений показателей было отмечено на 15-е сут исследования у самок – на 30 и 34% соответственно (рис. 1), у самцов наблюдается тенденция к снижению (рис. 2), но значимых отличий от группы контроля не выявлено. Протромбиновое время характеризует состояние внешнего пути свертываемости крови и активности V и VII факторов. МНО – математическая коррекция, при помощи которой производится стандартизация протромбинового времени [6]. Снижение показателей ПВ, а также МНО отражает гиперреактивность факторов свертывания, что свидетельствует о гиперкоагуляции и риске тромбозов.

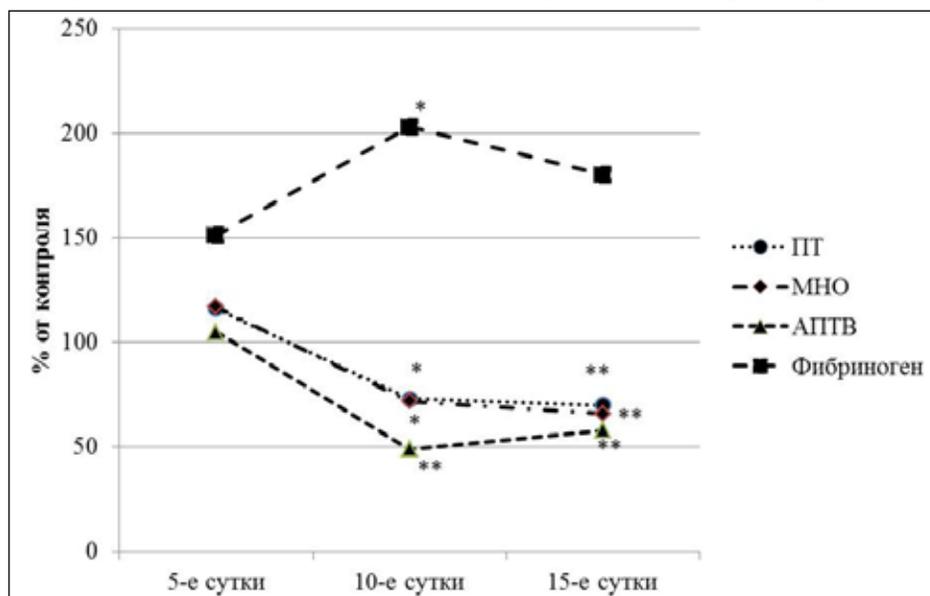


Рис.1. Влияние цисплатина при однократном введении в МПД на показатели гемостаза самок мышей

Также на 10-е сут наблюдается снижение значения АПТВ на 51 % у самок (рис. 1) и на 24 % у самцов (рис. 2) по сравнению с соответствующими показателями группы контроля.

Показатель АПТВ чувствителен к дефициту и изменениям активности всех плазменных факторов свертывания, кроме фактора VII [6, 7].

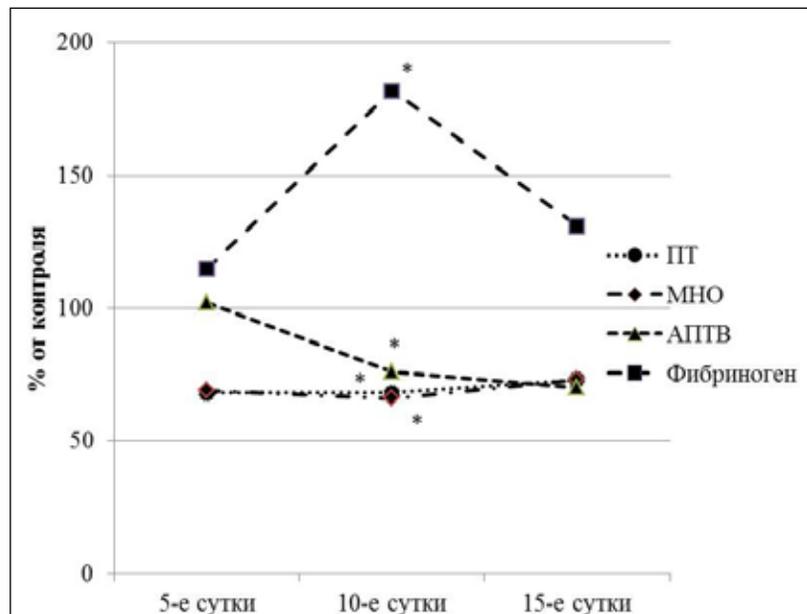


Рис.2. Влияние цисплатина при однократном введении в МПД на показатели гемостаза самцов мышей

Определение ПВ (внешний путь свёртывания) и МНО и АПТВ (внутренний путь свёртывания), концентрации фибриногена по Клауссу (общий путь свёртывания) позволяет выяснить не отдельные компоненты системы гемостаза, а функцию целых каскадов процесса свертывания, т.е. совместную активность нескольких факторов [8]. Увеличение концентрации фибриногена, а также одновременное снижение значений ПТ и АПТВ свидетельствуют о гиперкоагуляционном сдвиге коагулограммы у экспериментальных животных в ответ на применение цисплатина [9].

Выводы

1. В проведенном исследовании показано, что при введении цисплатина в МПД 10 мг/кг на 10-е и 15-е сут у мышей-самок наблюдается одновременное снижение значений протромбинового времени и активированного парциального тромбопластинового времени. При этом концентрация фибриногена увеличивалась только на 10-е сут.

2. У мышей-самцов при введении цисплатина в МПД 10 мг/кг на 10-е сут также было отмечено сокращение протромбинового времени, активированного парциального тромбопластинового времени и увеличение концентрации фибриногена.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Olgun D.C., Bakan S., Samanci C., Tutar O., Demiryas S., Korkmaz B., Kantarci F.* Simultaneous thrombosis of superior mesenteric artery and superior mesenteric vein following chemotherapy: MDCT findings. *Jpn J Radiol.* 2014 Feb;32(2):113–6. doi: 10.1007/s11604-013-0273-x.
2. *Серяков А.П., Иванов Ю.В., Феофанов С.В., Копычев Ю.Е.* Диагностика тромботических осложнений при проведении химиотерапии и оперативных вмешательств у онкологических больных. *Военно-медицинский журнал.* 2007; 32(6): 50–53.
3. *Khorana A.A., Kuderer N.M., Culakova E., Lyman G.H., Francis C.W.* Development and validation of a predictive model for chemotherapy-associated thrombosis. *Blood.* 2008; 111(10): 4902-4907.
4. *Сомонова О.В., Маджуга А.В., Елизарова А.Л.* Тромбозы и тромбоемболии в онкологии. Современный взгляд на проблему. *Злокачественные опухоли.* 2014; 3(10): 172-176.
5. *Khosla S., Kennedy L., Abdulaal Y.* Cisplatin induced acutemesenteric ischaemia: A case report and review of the literature. *Int J Surg Case Rep.* 2017; 41: 347–351. doi: 10.1016/j.ijscr.2017.11.007.
6. *Палагина И.А., Кудря М.Я.* Состояние тромбоцитарно-коагуляционного гемостаза у крыс при воздействии метаболитов производного янтарной кислоты. *Пробл. эндокрин. патологii.* 2013; 3: 82–87.
7. *Смьчек В.Б., Галиновская Н.В., Усова Н.Н., Zubovich E.G., Алексеева Л.П.* Некоторые показатели свертывающей системы крови при нарушениях мозгового кровообращения. *Здравоохранение;* 2013; 1: 4–8.
8. *Галстян Г.М., Суханова Г.А.* Введение в гемостаз, современные препараты крови и их влияние на коагуляцию. *Медицинский совет.* 2013; 56: 11–16.

ВЛИЯНИЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК И ИМИ ПРОДУЦИРУЕМЫХ МИКРОВЕЗИКУЛ НА СОДЕРЖАНИЕ Т-КЛЕТОК ПАМЯТИ И Т-РЕГУЛЯТОРНЫХ КЛЕТОК В МОДЕЛИ ХРОНИЧЕСКОЙ ПОЧЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ МЫШЕЙ

Т.С. Хабалова, Э.А. Кащенко

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунопатологии», г. Новосибирск, Россия

Аннотация

Исследовано содержание Т-клеток памяти и Т-регуляторных клеток в селезенке мышей линии СВА в модели хронической почечной недостаточности на 4-е и 11-е сут эксперимента после введения мезенхимальных стромальных клеток (МСК) и продуцируемых ими микровезикул (МВ). В качестве контроля были использованы клетки фибробластоподобной линии L929 и полученные из нее микровезикулы (L929-MV). Зарегистрирована тенденция к спонтанному снижению содержания CD4+CD44+CD62L+, CD8+CD44+CD62L+- Т-клеток памяти и регуляторных CD4+CD25+FoxP3+ клеток к 11-м сут постановки эксперимента. Эффекты применения клеток и микровезикул из них отличались по степени выраженности воздействия на клетки иммунной системы. Более выраженным действием обладали микровезикулы, причем при введении MV из L929, регистрировалось снижение содержания клеток памяти, более выраженное на 11-е сут эксперимента. В процессе постановки эксперимента обнаружена тенденция прироста регуляторных CD4+CD25+FoxP3+ Т-клеток при использовании как MSC и L929, так и полученных из них микровезикул. Природа используемых клеток и полученных из них микровезикул не оказывала существенного влияния на конечный результат экспериментов.

Ключевые слова: мезенхимальные стволовые клетки (МСК), микровезикулы (МВ), хроническая почечная недостаточность (ХПН) у мышей.

THE EFFECT OF TRANSPLANTATION OF MESENCHYMAL STROMAL CELLS AND THE MICROVESICLES PRODUCED BY THEM ON THE CONTENT OF MEMORY T-CELLS AND T-REGULATORY CELLS IN A MODEL OF CHRONIC RENAL FAILURE IN MICE

T.S. Khabalova, E. A. Kaschenko

Federal State Budgetary Scientific Institution «Scientific Research Institute of fundamental and clinical immunology», Novosibirsk, Russia

Abstract

The levels of memory T-cells and T-regulatory cells in the spleen of CBA mice were studied on the model of chronic renal failure on the 4th and 11th day after injecting mesenchymal stromal cells (MSCs) and microvesicles produced by them. As a control, cells of the fibroblast-like line L929 and microvesicles obtained from it (L929-MV) were used. A tendency to a spontaneous decrease in the content of CD4 + CD44 + CD62L +, CD8 + CD44 + CD62L + - memory T-cells and regulatory CD4 + CD25 + FoxP3 + cells was observed on day 11. The effects of transplantation of cells and microvesicles produced by them differed in the severity of the impact on the cells of the immune system. Microvesicles had a more pronounced effect, and when MV was administered from L929, a decrease in the content of memory cells was recorded on the 11th day of the experiment. In the course of the experiment, a tendency to the growth of regulatory CD4 + CD25 + FoxP3 + T cells when using MSC and L929 as well as microvesicles derived from them was observed. The nature of the cells used and the microvesicles obtained from them did not have a significant effect on the final result of the experiments.

Key words: mesenchymal stem cells (MSC), microvesicles (MV), chronic renal failure in mice.

Актуальность. Исследования последних лет показали, что цитопротективное действие мезенхимальных стромальных клеток (МСК) обусловлено не процессами их хоминга и дифференцировки, а стимуляцией эндогенной регенерации резидентных клеток [1–3]. Одним из механизмов подобного действия, кроме секреции цитокинов и факторов роста, могут быть микровезикулярные частицы (экзосомы и микровезикулы), которые осуществляют транспорт мРНК, микроРНК и сигнальных белков [4, 5].

В ряде экспериментальных исследований было показано, что применение микровезикулярных частиц (MV) мышам с ОПН во многом повторяет терапевтический эффект МСК в различных экспериментальных моделях тканевого повреждения [1, 2], в том числе при остром повреждении тубулярного эпителия почечных канальцев индуцированным внутримышечным введением глицерола [3] или острой ишемией-реперфузией [4]. Так, в модели с глицерол-индуцированной почечной недостаточностью было показано, что MV несут на своей поверхности CD29, CD44, CD73 – специфические маркеры МСК, которые приводят к направленному транспорту MV в очаг повреждения и их инкорпорации в тубулярные эпителиоциты. Также было показано, что МСК, продуцируемые MV, осуществляют горизонтальный транспорт мРНК, характерной для МСК и вовлеченной в контроль транскрипции, пролиферации и иммунорегуляции (POLR2E, SENP2/SUMO1, RBL1, CXCR7, LTA4H и др.). Обработка MV РНКазой нивелировала их нефропротективный эффект. Попав в очаг повреждения, MV подавляют апоптоз и стимулируют пролиферацию тубулярных эпителиоцитов, значительно уменьшая, таким образом, проявления почечной недостаточности у лабораторных животных [5]. Аналогичные результаты были получены в экспериментальной модели ишемии-реперфузии почки [6], где также было показано, что MV уменьшают проявления постишемического нефросклероза и развивающейся хронической почечной недостаточности.

При остром повреждении почки, независимо от генеза, наблюдается локальная повышенная активность многих компонентов иммунной системы [5, 6]. Эксперименты с адоптивным переносом активированных макрофагов, Т- и В-лимфоцитов [5] показали их отрицательную роль в патогенезе ОПН. В то же время состояние иммунной системы при трансплантации микровезикул в модели хронической почечной недостаточности изучено слабо. Также остаётся плохо освещённым вопрос иммунорегуляторных свойств микровезикул, продуцируемых мезенхимальными стволовыми клетками [6].

Таким образом, **Целью работы** было исследование воздействия МСК и MV, ими продуцируемыми, на параметры клеточного иммунитета у мышей с индуцированной хронической почечной недостаточностью (ХПН).

Материал и методы. Модель острой почечной недостаточности. Эксперимент проведён на мышах линии СВА возрастом 4–5 мес. Хроническую почечную недостаточность индуцировали трёхкратным внутримышечным введением 50 % глицерола в дозе 5 мг/кг с интервалом в неделю.

Получение мезенхимальных стромальных клеток (МСК) костного мозга и фибробластов линии L929. Мезенхимальные стромальные клетки получали из костного мозга сингенных мышей СВА методом адгезии к культуральному пластику. В качестве неспецифического контроля использовали клеточную линию фибробластов L929 (кариотип Н-2b), которую культивировали в стандартных условиях. При введении количество клеток фибробластов, а также полученных MV сопоставляли с таковыми от МСК.

Получение микровезикулярных частиц. После достижения монослоя, часть МСК или клеток линии L929 подвергали апоптозу путем культивирования в условиях депривации кислорода и в бессывороточной среде в течение 1 сут. Через 24 ч супернатант центрифугировали при 2000 g в течение 15 мин для удаления клеточного дебриса. Надосадок дополнительно центрифугировали при 10000 g в течение 60 мин. Полученный в итоге осадок ресуспендировали в 100 мкл физиологического раствора. Для стандартизации суспензии MV определяли содержание белка по методу Брэдфорда.

Результаты. На 4-е и 11-е сут эксперимента проведено исследование содержания Т-клеток памяти, регуляторных клеток в плазме крови мышей с ОПН, подвергшихся воздействию МСК и полученным из них MV. В качестве адекватного контроля были использованы клетки фибробластной линии L929 и полученные из нее микровезикулы (L929-MV) (рис. 1–3). Использование клеток линии L929 в качестве контроля было оправдано не только тем, что это фибробластоподобная прилипающая к пластику культура, но и тем, что клетки линии L929 были того же генотипа, что и МСК, полученные от мышей СВА. Зарегистрирована тенденция к спонтанному снижению содержания CD4+CD44+CD62L+, CD8+CD44+CD62L+ Т-клеток

памяти и регуляторных CD4+CD25+FoxP3+ клеток. Эффекты применения клеток и микро-везикул не существенно отличались по воздействию на клетки иммунной системы. Более выраженным действием обладали микровезикулы, причем MV из L929 снижали содержание клеток памяти более выраженно на 11-е сут эксперимента (рис.1, 2).

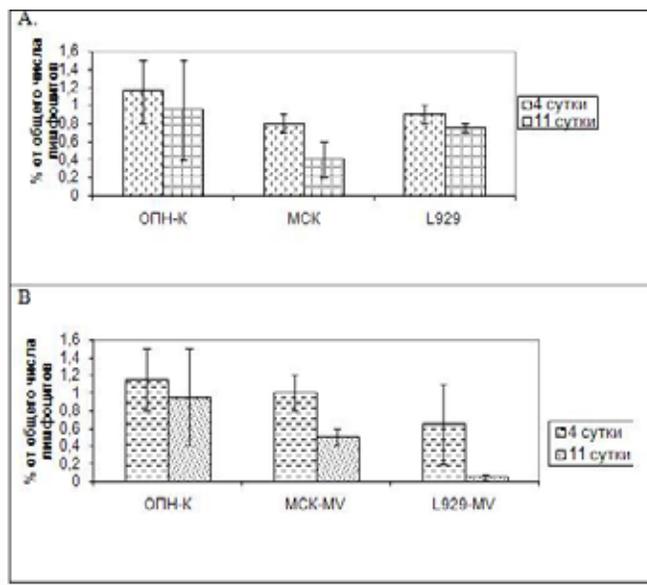


Рис. 1. Содержание CD4+CD44+CD62L+ в клетках селезенки мышей (n= 7) с ОПН на 4 и 11 сутки после трансплантации им MСК, фибробластов L929 (А.) или микровезикул (В), полученных из MСК (MСК- MV) или L929 (L929- MV). ОПН-К: контроль без воздействия.

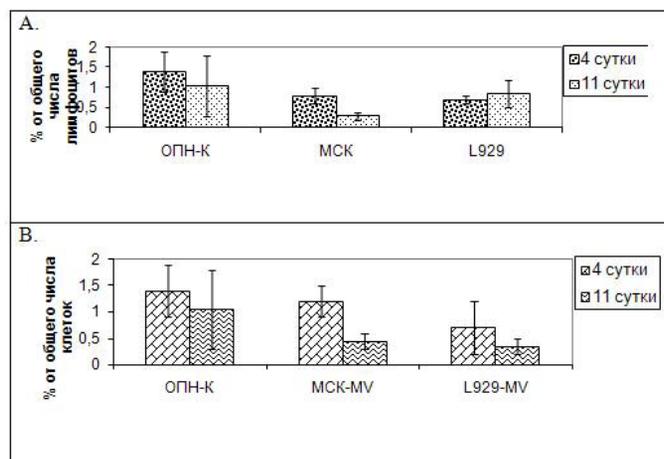


Рис. 2. Содержание CD8+CD44+CD62L+ в клетках селезенки мышей (n= 7) с ОПН на 4 и 11 сутки после трансплантации им MСК, фибробластов L929 (А.) или микровезикул (В), полученных из MСК (MСК- MV) или L929 (L929- MV). ОПН-К: контроль без воздействия.

В процессе постановки эксперимента обнаружена тенденция прироста регуляторных CD4+CD25+FoxP3+ Т-клеток как при использовании MСК и L929, так и полученных из них микровезикул. Природа используемых клеток и полученных из них микровезикул не оказывала существенного влияния на конечный результат экспериментов (рис.3).

Выводы. Про-регенераторное действие MСК в значительной степени, если не полностью, обусловлено продуцируемыми ими микровезикулярными частицами. Указанное действие клеток и продуцируемых ими MV не является специфичным. Клетки фибробластной линии L929 и продуцируемые ими MV обладали такими же воздействиями, как и MСК. MV из L929 были также более активны в рамках воздействия на Т-клетки памяти и регуляторные клетки. Показана тенденция прироста Т-рег клеток к 11-м сут эксперимента. Таким образом,

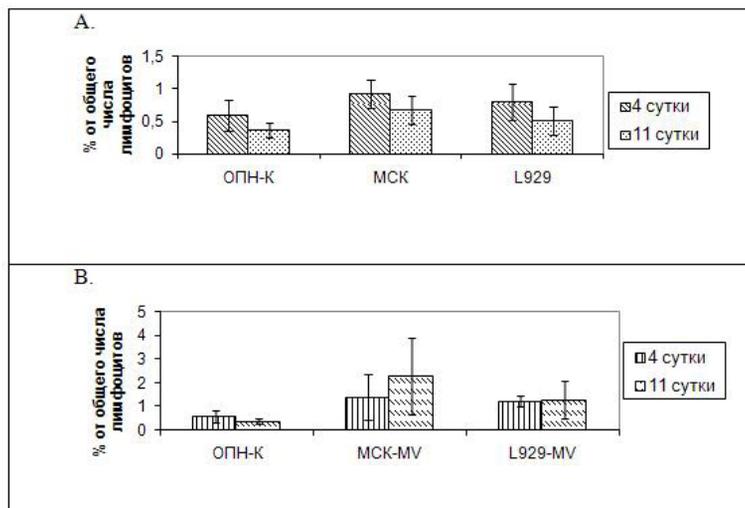


Рис. 3. Содержание CD4+CD25+FoxP3+ в клетках селезенки мышей (n= 7) с ОПН на 4 и 11 сутки после трансплантации им МСК, фибробластов L929 (А) или микровезикул (Б), полученных из МСК (МСК- MV) или L929 (L929- MV). ОПН-К: контроль без воздействия.

в процесс уменьшения воспаления после развития ОПН активно вовлечены регуляторные клетки. Эффекты применения клеток и микровезикул не существенно отличались по воздействию на клетки иммунной системы. Более выраженным действием обладали микровезикулы, причем MV из L929 снижали содержание клеток памяти более выраженно на 11-е сут эксперимента.

ЛИТЕРАТУРА

1. Rabb H. Immune modulation of acute kidney injury. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2006; 17: 604–6.
2. Zager R.A., Jonson A.C., Lund S. Hanson S. Acute renal failure: determinants and characteristics of injury-induced hyperinflammatory response. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 2006; 291: 546–556.
3. Bonventre J.V., Zuk A. Ischemic acute renal failure: an inflammatory disease? *Kidney Int.* 2004; 66: 480–485.
4. de Vries B., Köhl J., Leclercq W.K., Wolfs T.G., van Bijnen A.A., Heeringa P., Buurman W.A. Complement factor C5a mediates renal ischemia-reperfusion injury independent from neutrophils. *J Immunol.* 2003 Apr 1; 170(7): 3883–9.
5. Gatti S., Bruno S., Deregibus M.C., Sordi A., Cantaluppi V., Tetta C., Camussi G. Microvesicles derived from human adult mesenchymal stem cells protect against ischaemia–reperfusion-induced acute and chronic kidney injury. *Nephrol Dial Transplant.* 2011 May; 26(5): 1474–83. doi: 10.1093/ndt/gfr015.
6. Burne M.J., Daniels F., El Ghandour A., Mauyyedi S., Colvin R.B., O'Donnell M.P., Rabb H. Identification of the CD4(b) T cell as a major pathogenic factor in ischemic acute renal failure. *J Clin Invest* 2001; 108: 1283–1290. doi: 10.1172/JCI12080.
7. Togel F., Hu Z., Weis K., Isaac J., Lange C., Westenfelder C. Administered mesenchymal stem cells protect against ischemic acute renal failure through differentiation-independent mechanisms. *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* 2005; 289: 31–42.

ЗНАЧЕНИЕ СТАТУСА ВИРУСА ПАПИЛЛОМЫ ЧЕЛОВЕКА И ЕГО ГЕНОМНОЙ ИНТЕГРАЦИИ В ПРОГРЕССИРОВАНИИ РАКА ШЕЙКИ МАТКИ

**М.М. Цыганов^{1,2}, М.К. Ибрагимова^{1,2}, И.В. Дерюшева¹,
О.Н. Чуруксаева¹, Л.А. Коломиец^{1,3}, Н.В. Литвяков^{1,2}**

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия¹
Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск, Россия²
Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Томск, Россия³

Аннотация

В исследование были включены 140 пациенток с первичным раком шейки матки (РШМ) I–IV стадий. Комплексное обследование включало кольпоскопию, цитологический и гистологический анализ, выявление, генотипирование и определение вирусной нагрузки вируса папилломы человека (ВПЧ) высокого канцерогенного риска, а также определение физического статуса ВПЧ 16 генотипа. Общая инфици-

рованность среди пациенток с РШМ составила 77,1 %. В результате исследования была определена прогностическая значимость определения физического статуса ВПЧ 16 типа для безрецидивной и общей выживаемости пациентов с РШМ.

Ключевые слова: рак шейки матки, вирус папилломы человека, прогноз.

SIGNIFICANCE OF THE STATUS OF HUMAN PAPILLOMAVIRUS AND ITS GENOMIC INTEGRATION IN THE PROGRESSION OF CERVICAL CANCER

**M.M. Tsyganov^{1,2}, M.K. Ibragimova^{1,2}, I.V. Deryusheva¹,
O.N. Churuksaeva¹, L.A. Kolomiets^{1,3}, N.V. Litviakov^{1,2}**

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center,
Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia¹
National Research Tomsk State University, Russia, Tomsk²
Siberian State Medical University, Russia, Tomsk³

Abstract

The study included 140 patients with stage IIV cervical cancer. The comprehensive survey included colposcopy, cytological and histological analysis, detection and genotyping of high-risk human papillomavirus. Viral load and physical status of HPV-16 DNA were evaluated. The incidence of HPV-positive cervical cancers was 77.1 %. The predictive value of the physical status of type 16 HPV was determined for relapse-free and overall survivals of patients with cervical cancer.

Key words: cervical cancer, human papillomavirus, prognosis.

Введение. В инфицированной клетке вирус папилломы человека может существовать в эписомальной форме (вне хромосом клетки) – считается доброкачественной, интегрированной (встроенной в геном клетки) – расценивается как злокачественная форма персистенции вируса и смешанной форме (наличие свободного и встроенного в ДНК клетки-хозяина вируса) [1]. Прогрессирование от клеточных изменений, связанных с ВПЧ-инфекцией, до развития рака шейки матки занимает около 10–40 лет, но редко может развиваться и за 1–2 года, что, несомненно, доказывает важность своевременного мониторинга больных папилломавирусной инфекцией и проведения вирусологических исследований для выявления групп риска развития онкологической патологии [2]. При этом в настоящее время известно, что в 90 % случаев ВПЧ-инфекция у здоровых женщин в течение нескольких месяцев может быть спонтанно элиминирована из организма [3]. Возможность элиминации вируса из клетки-хозяина определяется совокупностью многих факторов, в том числе и физическим статусом ДНК ВПЧ. При эписомальной форме ВПЧ у большей части пациенток происходит элиминация ВПЧ и не развивается дисплазия и РШМ. Интегрированная форма вируса дольше сохраняется, благодаря чему обнаруживается в эпителиальных дисплазиях высокой степени и РШМ, вызывает пролиферативные процессы в клетках, геномную нестабильность и формирование мутаций [4].

Целью работы явилась оценка безрецидивной и общей выживаемости ВПЧ-положительных с учетом физического статуса ВПЧ 16 типа и ВПЧ-негативных больных первичным РШМ.

Материал и методы. В исследование было включено 140 пациенток в возрасте от 21 до 79 лет с первичным РШМ I–IVa стадий, проходивших обследование и лечение в Томском НИМЦ. Диагноз верифицирован гистологически, опухоли были охарактеризованы в соответствии с классификацией FIGO. Материалом для исследования служили соскобы эпителия цервикального канала и наружной части шейки матки. Всем пациенткам было проведено выявление и генотипирование ДНК ВПЧ. Из всех обследованных была выделена группа пациенток с носительством ВПЧ (n=108), далее для пациенток с ВПЧ 16 типа было также проведено определение физического статуса ДНК ВПЧ. Выявление, генотипирование ДНК ВПЧ и определение физического статуса ДНК ВПЧ 16 проводили методом ПЦР в режиме реального времени на приборе RotorGene 6000 («Corbett Research», Австралия) с использованием комплектов реагентов фирмы «Amplisens®» (Москва, Россия). Значение вирусной нагрузки рассчитывалось в геномных эквивалентах ДНК ВПЧ/10⁵ клеток, порог релевантного

количества вируса принимался равным $3 \lg$ ДНК ВПЧ/10⁵ клеток в соскобе. Определение физического статуса ВПЧ 16 генотипа проводили согласно инструкции к набору <http://www.interlabservice.ru/catalog/reagents/?sid=1418&id=11182>. Оценку выживаемости проводили по методу Каплана – Майера.

Результаты и обсуждение. Из 108 ВПЧ-положительных больных РШМ ВПЧ 16 типа (моно-тип или в комбинации с другими типами) имели 87 больных (80,6 %), у которых был изучен физический статус вирусной ДНК. Остальные пациентки имели другие типы вируса: 31 тип ВПЧ – 8 (7,4 %) пациенток, 33 тип ВПЧ – 6 (5,6 %) пациенток, 56 тип ВПЧ – 4 (3,7 %) пациентки, 45/52 типы ВПЧ – 3 (2,8 %) пациентки, 39/51/58/59 типы ВПЧ – по 2 (1,9 %) пациентки. Известно, что интеграция ВПЧ в клеточный геном признана одним из основных факторов развития тяжелых дисплазий и опухолевой трансформации эпителия шейки матки [5]. По результатам немногочисленных исследований интегрированная форма ДНК ВПЧ встречается в пределах 35 % в зависимости от тяжести дисплазии, а эписомальная форма встречается реже – до 15 % случаев [6, 7]. В ходе нашего исследования было показано, что частоты форм ВПЧ 16 типа распределились следующим образом: эписомальная форма встречалась в 8,9 % случаев, смешанная и интегрированная – в 64,6 % и 26,5 % случаев соответственно, что не противоречит литературным данным. Следующим шагом было изучение исхода заболевания в зависимости от физического статуса вируса. На рис. 1 представлена безрецидивная и общая выживаемость больных РШМ в зависимости от физического статуса вируса для ВПЧ16-положительных больных, а также для сравнения представлена группа ВПЧ-отрицательных пациенток.

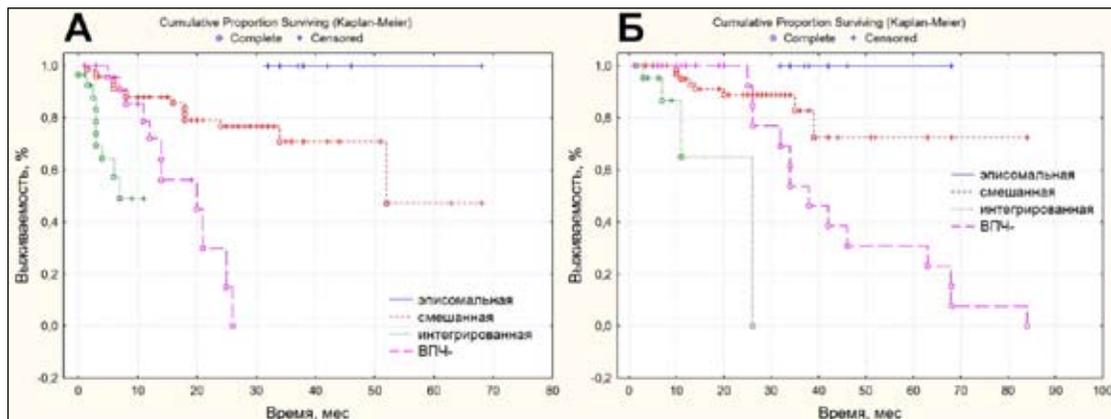


Рис.1. Безрецидивная выживаемость больных РШМ ($p=0,0001$) (А) и общая выживаемость больных РШМ ($p=0,0004$) (Б)

Установлено, что распределение безрецидивной и общей выживаемости для всех четырех групп больных статистически значимо. У больных с эписомальной формой ВПЧ16 наблюдается 100 % безрецидивная и общая выживаемость. Самый неблагоприятный исход отмечается у больных с интегрированной формой ВПЧ 16 типа. Таким образом, в результате исследования установлена прогностическая значимость физического статуса ВПЧ 16 типа в отношении безрецидивной и общей выживаемости больных РШМ. Наличие эписомальной формы вируса является благоприятным прогностическим фактором. Интегрированная форма вируса является крайне неблагоприятным фактором прогноза, и выживаемость таких больных значительно ниже, чем ВПЧ- пациенток и больных со смешанной формой вируса.

Заключение. В результате проведенного исследования были получены данные о выживаемости больных РШМ в зависимости от физического статуса вируса (для ВПЧ-положительных больных) и больных ВПЧ-негативным раком. Было показано, что наилучший прогноз имеют ВПЧ-положительные пациентки с эписомальной формой вируса, наихудший – ВПЧ-положительные пациентки с интегрированной формой. Таким образом, проведение подобного анализа позволит в дальнейшем формировать группы повышенного риска для больных РШМ и обеспечивать персонализированный подход к лечению данной группы пациенток.

ЛИТЕРАТУРА

- Jiang M., Baseman J.G., Koutsky L.A., Feng Q., Mao C., Kiviat N.B., Xi L.F. Sequence variation of human papillomavirus type 16 and measurement of viral integration by quantitative PCR. *J Clin Microbiol.* 2009 Mar; 47(3): 521–6. doi: 10.1128/JCM.02115-08.
- Bruni L., Diaz M., Castellsagué X., Ferrer E., Bosch F.X., de Sanjosé S. Cervical human papillomavirus prevalence in 5 continents: meta-analysis of 1 million women with normal cytological findings. *J Infect Dis.* 2010 Dec 15; 202(12):1789–99. doi: 10.1086/657321.

3. Stanley M. Pathology and epidemiology of HPV infection in females. *Gynecol Oncol.* 2010 May; 117(2 Suppl): S5–10. doi: 10.1016/j.ygyno.2010.01.024.

4. Hu Z., Zhu D., Wang W., Li W., Jia W., Zeng X., Ding W., Yu L., Wang X., Wang L., Shen H., Zhang C., Liu H., Liu X., Zhao Y., Fang X., Li S., Chen W., Tang T., Fu A., Wang Z., Chen G., Gao Q., Li S., Xi L., Wang C., Liao S., Ma X., Wu P., Li K., Wang S., Zhou J., Wang J., Xu X., Wang H., Ma D. Genome-wide profiling of HPV integration in cervical cancer identifies clustered genomic hot spots and a potential microhomology-mediated integration mechanism. *Nat Genet.* 2015 Feb; 47(2): 158–63. doi: 10.1038/ng.3178.

5. Fakhry C., Westra W.H., Li S., Cmelak A., Ridge J.A., Pinto H., Forastiere A., Gillison M.L. Gillison. Improved survival of patients with human papillomavirus–positive head and neck squamous cell carcinoma in a prospective clinical trial. *J Natl Cancer Inst.* 2008 Feb 20; 100(4): 261–9. doi: 10.1093/jnci/djn011.

6. Saunier M., Monnier-Benoit S., Mauny F., Dalstein V., Briolat J., Riethmuller D., Kantelip B., Schwarz E., Mouglin C., Prétet J.-L. Analysis of human papillomavirus type 16 (HPV16) DNA load and physical state for identification of ВПЧ16-infected women with high-grade lesions or cervical carcinoma. *Journal of clinical microbiology.* 2009; 46: 3678–3685.

7. Ибрагимова М.К., Цыганов М.М., Карабут И.В., Чуруксаева О.Н., Штилева О.Н., Бычков В.А., Коломиец Л.А., Лутвяков Н.В. Интегративная и эписомальная формы генотипа 16 вируса папилломы человека при цервикальных интраэпителиальных неоплазиях и раке шейки матки. *Вопросы вирусологии.* 2016; 61: 270274.

МЫШИНАЯ МОДЕЛЬ ЛИМФОМЫ БЁРКИТТА С ПЕРЕНОСОМ ЧЕЛОВЕЧЕСКИХ НАТУРАЛЬНЫХ КИЛЛЕРОВ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ АНТИТЕЛ

В.С. Цымпилов, Е.В. Виноградова, А.А. Александров, Я.Ю. Устюгов, А.В. Кононов, Ю.В. Евдокимовская, В.В. Соловьев

ЗАО «Биокад», г. Санкт-Петербург, Россия

Аннотация

Одним из центральных эффекторных звеньев иммунитета, определяющих противоопухолевое действие антител, являются натуральные киллеры (НК). Генетические полиморфизмы рецепторов, экспрессируемых НК, могут модулировать клинический ответ на терапевтические антитела. Для исследования влияния фенотипа НК-клеток на противоопухолевую активность антител *in vivo* необходима разработка специализированной модели. В работе представлена опухолевая модель с переносом человеческих натуральных киллеров трансгенным мышам NOG-IL-15, конститутивно экспрессирующим человеческий ИЛ-15. Была разработана методика культивирования натуральных киллеров *in vitro*, выделенных из РВМС доноров с известным фенотипом НК, которая позволяет за короткий срок добиться значительного увеличения числа клеток для дальнейшего переноса мышам-реципиентам. Показана продолжительная персистенция трансплантированных НК-клеток в периферической крови мышей. В условиях этой модели препараты на основе моноклональных антител к CD20 ингибировали рост подкожных ксенографтов лимфомы Бёркитта; таким образом, разработанные методики позволяют получить мышиную модель, в которой представлены НК-клетки фенотипированных доноров и которая является пригодной для исследований противоопухолевой активности моноклональных антител *in vivo*.

Ключевые слова: мышинная модель, терапевтические антитела, CD20, натуральные киллеры, ADCC, FcγRIIIa.

MOUSE MODEL OF BURKITT'S LYMPHOMA WITH ADOPTIVE TRANSFER OF HUMAN NATURAL KILLER CELLS FOR ASSESSMENT OF ANTITUMOR ACTIVITY OF THERAPEUTIC ANTIBODIES

V.S. Tsypilov, E.V. Vinogradova, A.A. Aleksandrov, U.U. Ustyugov, F.V. Kononov, Yu.V. Evdokimovskaya, V.V. Solovyov

Biocad, Saint-Petersburg, Russia

Abstract

Natural killers (NK) are one of the central effector immune agents which determine the antitumor effect of antibodies. Genetic polymorphisms of receptors expressed by NK might modulate the clinical response to

therapeutic antibodies. To study the impact of an NK cells phenotype on the antitumor activity of antibodies *in vivo*, we needed to develop an appropriate experimental model. The paper describes a tumor model employing the transfer of human natural killer cells into transgenic NOG-IL-15 mice, constitutively expressing human IL-15. A technique for *in vitro* cultivating natural killer cells isolated from PBMC of donors with known NK phenotype, was developed. This approach allowed a quick and significant improvement in cell number to be achieved for further transfer in recipient mice. The long-term persistence of transplanted NK cells in the murine peripheral blood was shown. In this model, monoclonal antibodies against CD20 inhibited the growth of subcutaneous Burkitt's lymphoma xenografts. Thus, the developed methods represent a mouse model where NK cells from phenotyped donors are persisting and which is suitable to study antitumor activity of monoclonal antibodies *in vivo*.

Key words: mouse model, therapeutic antibodies, CD20, natural killers, ADCC, FcγRIIIa.

Актуальность. Моноклональные антитела – стремительно развивающийся класс препаратов, применяемых в терапии опухолей, в том числе гематологических злокачественных заболеваний. Ритуксимаб – моноклональное антитело к CD20, применяемое в терапии индолентных (вялотекущих) и агрессивных В-клеточных неходжкинских лимфом и В-клеточных хронических лимфоцитарных лейкозий [1]. Одним из центральных механизмов действия терапевтических антител является антителозависимая клеточная цитотоксичность (ADCC, antibody-dependent cellular cytotoxicity). Данный механизм заключается в следующем: антитело связывается с эпитопом, после чего с Fc-фрагментом антитела взаимодействует рецептор к IgG на эффекторных клетках иммунитета, запускающих цитолиз клетки-мишени. Основным рецептором, опосредующим механизм ADCC в организме человека, является FcγRIIIa (CD16a), представленный на натуральных киллерах [2, 3]. Качественные или количественные изменения этого рецептора могут отражаться на ADCC-активности. Так, известен генетический полиморфизм FcγRIIIa, имеющий два аллоти́па: FcγRIIIa-158V (валин в 158 положении) и FcγRIIIa-158F (фенилаланин в 158 положении); при этом фенилаланин в гомозиготе приводит к снижению сродства рецептора к ритуксимабу и в связи с этим к снижению ответа у пациентов [4]. Модификации схемы гликозилирования Fc-фрагмента позволяют получить рекомбинантные антитела с повышенным сродством к Fcγ-рецепторам; применение данных антител позволяет устранить клинические проявления низкоаффинного аллоти́па FcγRIIIa [5].

Для подтверждения эффективности терапевтических моноклональных антител требуются исследования *in vivo* на адекватной модели. Широко распространен метод подкожных опухолевых ксенографтов, позволяющий оценить противоопухолевую активность антител, специфичных к человеческим эпитопам. Однако система Fcγ-рецепторов мыши отличается от человеческой и не имеет аналога, который отражал бы полиморфизм FcγRIIIa-V158F [6]. Одним из решений является перенос человеческих НК, полученных из периферической крови доноров с необходимым аллоти́пом FcγRIIIa. Иммунодефицитные мыши NOD-SCID $\gamma^{-/-}$ (линии NOG и NSG) широко применяются в экспериментах по приживлению ксеногенных тканей, в том числе различных популяций клеток крови человека; недостатком такой модели является короткое время жизни человеческих НК в мышинной среде (до 2 нед) без поддерживающих сигналов от человеческих цитокинов. Данное ограничение возможно преодолеть, трансплантируя НК-клетки трансгенным иммунодефицитным мышам NOG-IL-15, конститутивно экспрессирующим человеческий ИЛ-15. Было показано, что после переноса НК персистируют в данной модели на протяжении 3 мес без признаков реакции «трансплантат-против-хозяина» и проявляют ADCC-активность в присутствии терапевтических антител, подавляя рост опухолевых ксенографтов. При этом следует обратить внимание на то, что натуральные киллеры, выделенные из РВМС, в мышинной модели не проявляют цитотоксических свойств, в отличие от НК, размноженных *in vitro* [7]. Таким образом, **Цель работы** – получение мышинной опухолевой модели с переносом размноженных *in vitro* человеческих НК-клеток с фенотипом FcγRIIIa-158 F/F;

Оценка на полученной модели противоопухолевой активности препаратов на основе моноклональных антител к CD20.

Материал и методы. Мыши и клеточная линия. В работе использовали мышей линии NOG-IL-15 Tg (полное наименование NOD.Cg-Prkdc^{scid} Il2rg^{tm1Sug} Tg (CMV-IL2/IL15)1-1-Jic/JicTac). Животных получили из питомника Taconic Biosciences. Клетки линии Raji (Российская коллекция клеточных культур) культивировали в среде RPMI, содержащей 10 % эмбриональной телячьей сыворотки, 0,05 мг/мл гентамицина и 4мМ L-глутамин при 37 °C и 5 % CO₂.

Выделение и экспансия натуральных киллеров. Периферические мононуклеарные клетки выделяли из крови здоровых доноров с фенотипом FcγRIIIa-158 F/F методом центрифугирования в градиенте плотности раствора фиколла. Из полученной фракции PBMC изолировали натуральные киллеры с помощью набора для позитивной селекции NK Cell Isolation Kit (MACS). Отсутствие примеси других клеток в выделенной фракции натуральных киллеров контролировали с помощью антител aCD56 и aCD3 методом проточной цитометрии. НК-клетки определяли как клетки, положительные по CD56, CD45, CD16. После выделения клетки наращивали во флаконах, покрытых разработанным набором активирующих антител, в среде культивирования CellGenix GMP SCGM с добавлением IL-2 и аутологичной плазмы в течение 14 дней.

Опухолевая модель. Для получения подкожных ксенографтов в правый бок мышам подкожно инокулировали $2,5 \times 10^6$ опухолевых клеток линии Raji в смеси с экстрактом базальной мембраны (Matrigel, Corning). На 7-й день после инокуляции опухолевых клеток животным в боковую хвостовую вену вводили размноженные *in vitro* НК-клетки в количестве 6×10^6 клеток/мышь. Введение терапевтических антител (aCD20 №1, aCD20 №2, aCD20 №3) проводили внутрибрюшинно дважды в неделю в течение 4 нед. Расчет объема опухоли проводили по формуле $V = \pi/6 * L * W * H$, где L, W, H – линейные размеры опухоли. Для того чтобы нормировать объемы относительно значения в момент начала лечения, использовали индекс прироста опухоли: $I = V_i / V_0$, где V_0 – объем опухоли в день начала лечения, V_i – объем в i-тый день.

Индекс торможения роста опухоли вычисляли по формуле $TPO (\%) = \frac{V_k - V_n}{V_k} * 100$,

где V_k и V_n – средний объем опухоли в контрольной группе и группе препарата соответственно.

Статистическая достоверность результатов оценивалась по U-критерию Манна – Уитни.

Определение человеческих натуральных киллеров в крови мышей. В нескольких временных точках в течение эксперимента у мышей проводили отбор крови из ретроорбитального синуса. Методом проточной цитометрии подсчитывали количество CD56⁺ CD45⁺ CD16⁺ клеток.

Результаты. Экспансия выделенных натуральных киллеров *in vitro*. Разработанная методика позволяет эффективно наращивать НК, приводя к 160-кратному увеличению количества клеток в течение 3 нед (рис.1).

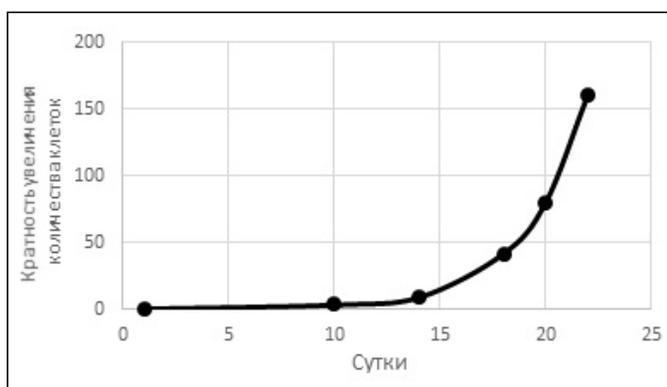


Рис. 1. Экспансия выделенных НК *in vitro*. По оси абсцисс отложено время в сутках, по оси ординат – кратность увеличения НК-клеток относительно стартового количества

Приживаемость натуральных киллеров в модели NOG-IL-15. На рис.2 изображен график, отражающий относительное число человеческих НК в периферической крови мышей на 15-й и 29-й день в зависимости от донора, определенное с помощью проточной цитометрии.

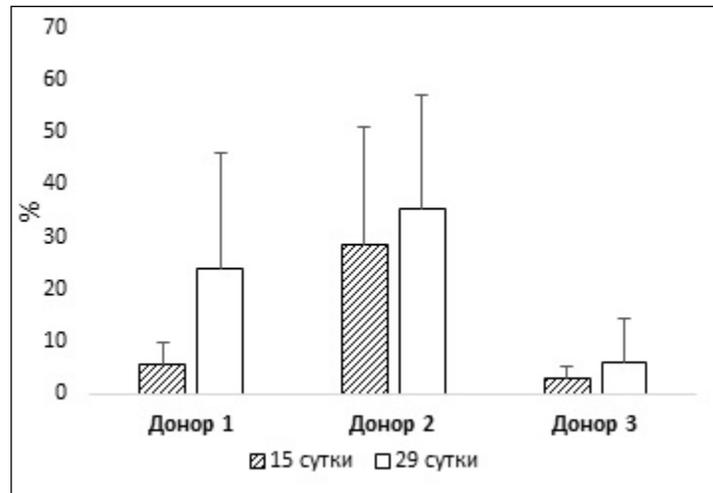


Рис. 2. Содержание человеческих НК в периферической крови мыши. По оси ординат обозначены разные доноры РВМС, для каждого донора левый столбец обозначает 15-е сут, правый – 29-е сут. По оси ординат – процентное содержание НК человека в крови мыши. Высота столбца равна среднему значению по группе, усы выражают положительное значение стандартных отклонений

Определение противоопухолевой активности антител к CD20. На рис. 3 изображена динамика роста ксенографтов опухолевой линии Raji, выраженная через индекс прироста опухоли. Начиная с 11-х сут после первого введения препаратов объемы ксенографтов в группах аCD20 достоверно отличались от показателей контрольной группы ($p < 0,05$). Показатель торможения роста опухоли на 29-е сут составил 67, 71 и 78 % для групп аCD20 №1, аCD20 №2 и аCD20 №3 соответственно.

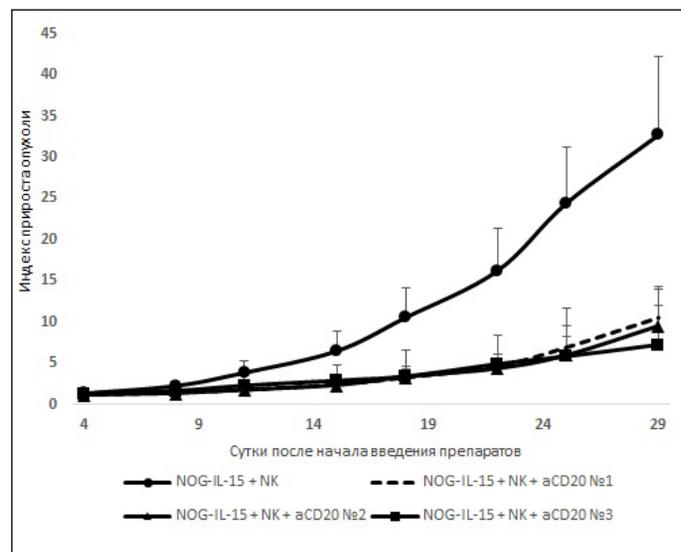


Рис. 3. Динамика роста подкожных ксенографтов опухолевой линии Raji. По оси абсцисс – время в сут, по оси ординат — безразмерная величина индекса прироста опухоли (ИПО). Для примера, ИПО 20 обозначает, что объем опухоли увеличился в 20 раз по сравнению с объемом этой опухоли при первом измерении. Кривые проходят через средние значения ИПО для каждой группы, усами обозначены положительные значения стандартных отклонений. 4 группы: NOG-IL-15+NK – трансгенные мыши, несущие опухоль и человеческие НК-клетки; NOG-IL-15+NK+aCD20 №i – мыши, которым дополнительно вводили моноклональные антитела к CD20

Выводы. Получена методика *in vitro* экспансии НК клеток типированных доноров. Показано, что после однократной трансплантации данные НК-клетки человека персистируют в периферической крови в специализированной мышинной модели на протяжении времени, достаточного для проведения исследования противоопухолевой активности препаратов. При этом, очевидно, существует зависимость приживления клеток от их донора. По результатам исследования на подкожных ксенографтах клеточной линии лимфомы Бёркитта можно заключить, что модель применима для определения противоопухолевой активности терапевтических антител.

ЛИТЕРАТУРА

1. Wang S.Y., Weiner G. Rituximab: a review of its use in non-Hodgkin's lymphoma and chronic lymphocytic leukemia. *Expert Opin Biol Ther.* 2008; 8: 759–768.
2. Iannello A., Ahmad A. Role of antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity in the efficacy of therapeutic anti-cancer monoclonal antibodies. *Cancer and Metastasis Reviews.* 2005; 24(4): 487–499.
3. Bowles J.A., Weiner G.J. CD16 polymorphisms and NK activation induced by monoclonal antibody-coated target cells. *Journal of immunological methods.* 2005; 304(12): 88–99.
4. Dall'Ozzo S., Tartas S., Paintaud G., Cartron G., Colombat P., Bardos P., Watier H., Thibault G. Rituximab-dependent cytotoxicity by natural killer cells: influence of FCGR3A polymorphism on the concentration-effect relationship. *Cancer Res.* 2004 Jul 1; 64(13): 4664–9. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-03-2862.
5. Bowles J.A., Wang S.Y., Link B.K., Allan B., Beuerlein G., Campbell M.A., Marquis D., Ondek B., Wooldridge J.E., Smith B.J., Breitmeyer J.B., Weiner G.J. Anti-CD20 monoclonal antibody with enhanced affinity for CD16 activates NK cells at lower concentrations and more effectively than rituximab. *Blood.* 2006 Oct 15; 108(8): 2648–54. doi: 10.1182/blood-2006-04-020057.
6. Nimmerjahn F., Gordan S., Lux A. FcγR dependent mechanisms of cytotoxic, agonistic, and neutralizing antibody activities. *Trends Immunol.* 2015 Jun; 36(6): 325–36. doi: 10.1016/j.it.2015.04.005.
7. Katano I., Nishime C., Ito R., Kamisako T., Mizusawa T., Ka Y., Ogura T., Suemizu H., Kawakami Y., Ito M., Takahashi T. Long-term maintenance of peripheral blood derived human NK cells in a novel human IL-15-transgenic NOG mouse. *Sci Rep.* 2017 Dec 8; 7(1): 17230. doi: 10.1038/s41598-017-17442-7.

ИЗУЧЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ АКТИВНОСТИ НАД(Ф)-ЗАВИСИМЫХ ДЕГИДРОГЕНАЗ В ЛИМФОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У БОЛЬНЫХ ПОЧЕЧНО-КЛЕТОЧНЫМ РАКОМ

Д.В. Черняев^{1,2}, П.В. Белькевич², Д.О. Дашанов²

ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет имени проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения РФ, г. Красноярск, Россия¹
 КГБУЗ «Красноярский краевой клинический онкологический диспансер имени А.И. Крыжановского», г. Коасноярск, Россия²

Аннотация

Целью исследования являлось изучение показателей активности НАД и НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов периферической крови у больных почечно-клеточным раком. Обследованы 119 пациентов с почечно-клеточным раком (Т3N0M0) в возрасте 45–55 лет. Контрольную группу составили 35 здоровых доноров крови. Активность НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов периферической крови изучали биолюминесцентным методом А.А. Савченко и Л.Н. Сунцовой (1989). Результаты исследования выявили пониженный отток субстратов через глюкозо-6-фосфатдегидрогеназу на пластические процессы в лимфоцитах периферической крови у больных почечно-клеточным раком. Обнаружили пониженную интенсивность анаэробного окисления глюкозы в лимфоцитах крови, что отражает снижение возможности окисления цитоплазматической НАДН. Установили у больных почечно-клеточным раком в лимфоцитах крови снижение уровня субстратного взаимодействия между циклом Кребса и реакциями аминокислотного обмена. Определили уменьшение активности глутатионредуктазы в лимфоцитах периферической крови у больных почечно-клеточным раком, что может способствовать, во-первых, понижению интенсивности внутриклеточных перекисных процессов, а, во-вторых, снижению пролиферативной способности лимфоцитов.

Ключевые слова: почечно-клеточный рак, лимфоциты, ферменты, дегидрогеназы.

STUDY OF THE ACTIVITY OF NAD (P) -DEPENDENT DEHYDROGENASES IN PERIPHERAL BLOOD LYMPHOCYTES IN PATIENTS WITH RENAL CELL CARCINOMA

D.V. Chernyaev^{1,2}, P.V. Belkevich², D.O. Dashanov²

Prof. V.F. Voyno-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University, Krasnoyarsk, Russia¹
 Krasnoyarsk Regional Clinical Oncology Center named after A.I. Kryzhanovskiy. Russian Federation, Krasnoyarsk, Russia²

Abstract

The **Aim** of the study was to study the activity of NAD and NAD (P) -dependent peripheral blood lymphocyte dehydrogenases in patients with renal cell carcinoma. 119 patients with renal cell carcinoma ($T_3N_0M_0$) aged 45-55 years were examined. The control group consisted of 35 healthy blood donors. The activity of NAD (P) -dependent peripheral blood lymphocyte dehydrogenases was studied by the A.A. Savchenko's and L.N. Suntsova's bioluminescent methods (1989). The results of the study revealed a reduced outflow of substrates through glucose-6-phosphatdehydrogenase on plastic processes in peripheral blood lymphocytes in patients with renal cell carcinoma. A reduced intensity of anaerobic oxidation of glucose in blood lymphocytes that reflected a decrease in the possibility of oxidation of cytoplasmic NADH was found. In patients with renal cell carcinoma, a decrease in the level of substrate interaction between the Krebs cycle and amino acid metabolism reactions was established. A decrease in the activity of glutathione reductase in peripheral blood lymphocytes in patients with renal cell carcinoma was determined. It may contribute to decreased intensity of intracellular peroxidation processes as well as to decreased proliferative capacity of lymphocytes.

Key words: Renal cell carcinoma, lymphocytes, enzymes, dehydrogenases.

Актуальность. В настоящее время доказана ведущая роль иммунной системы в противоопухолевой защите организма. Не вызывает сомнений, что в основе функциональных проявлений лимфоцитов, главного структурно-функционального элемента иммунной системы, лежат их метаболические реакции. Особенно важной информативностью для исследования метаболизма лимфоцитов обладают окислительно-восстановительные ферменты – дегидрогеназы. Это связано с тем, что, являясь основными переносчиками электронов в клетке, они осуществляют ключевые реакции клеточного метаболизма и участвуют в направленной координации сопряженных метаболических потоков [1, 2].

Цель исследования – изучение показателей активности НАД- и НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах периферической крови у больных почечно-клеточным раком (ПКР).

Материал и методы. На базе Красноярского краевого клинического онкологического диспансера имени А.И. Крыжановского обследовано 119 пациентов с гистологически верифицированным почечно-клеточным раком ($T_3N_0M_0$) до хирургического лечения в возрасте 45–55 лет. Контрольную группу составили 35 здоровых доноров крови. Определение активности НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах периферической крови проводилось билюминесцентным методом [3]. Исследовали активность следующих ферментов: глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г6ФДГ), глицерол-3-фосфатдегидрогеназы (Г3ФДГ), малак-фермента (НАДФМДГ), НАД- и НАДН-зависимых глутаматдегидрогеназ (НАДГДГ и НАДНГДГ), НАДФ- и НАДФН-зависимых глутаматдегидрогеназ (НАДФГДГ и НАДФНГДГ), НАД- и НАДФ-зависимых изоцитратдегидрогеназ (НАДИЦДГ и НАДФИЦДГ) и глутатионредуктазы (ГР). Активность исследуемых ферментов выражали в ферментативных единицах на 10^4 клеток, где $1E = 1$ мкмоль/мин. Статистическую обработку полученных данных выполняли с использованием пакета прикладных программ STATISTICA v 7.0 (StatSoft Inc., США). Оценку статистической значимости межгрупповых различий проводили с использованием U-критерия Манна – Уитни. Результаты исследования количественных параметров в группах сравнения представлены в виде медианы (Me) и интерквартильного интервала ($C_{25}-C_{75}$). За критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимали $p < 0,05$.

Результаты. Анализ полученных данных выявил в группе больных ПКР статистически значимое снижение показателей активности Г6ФДГ в лимфоцитах периферической крови по сравнению с параметрами контрольной группы (табл. 1). В то же время известно, что Г6ФДГ является ключевым ферментом пентозофосфатного цикла, продукты которого используются в реакциях макромолекулярного синтеза [2, 3]. Изучение активности НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах крови у больных ПКР обнаружило снижение в 9,96 раза ($p < 0,01$) уровня анаэробной реакции лактатдегидрогеназы, что отражает понижение субстратного потока на терминальных стадиях гликолиза. Повышение активности НАДНГДГ в лимфоцитах крови в группе больных ПКР относительно величин контроля свидетельствует об увеличении оттока субстратов с цикла трикарбонных кислот на реакции аминокислотного обмена. В группе больных ПКР наблюдается снижение в 6,17 раза ($p < 0,001$) уровня активности глутатионредуктазы – фермента глутатион-зависимой антиоксидантной системы и в определенной степени модулирующего пролиферативную активность лимфоцитов [4, 5]. Помимо этого, в ходе деятельности ГР восстановленный глутатион принимает непосред-

ственное участие в транспорте аминокислот внутрь клеток [6]. Следовательно, снижение активности ГР может отражать не только уменьшение антиоксидантной функции данной системы, но и понижение потока аминокислот из внеклеточного пространства.

Таблица

Показатели активности НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов крови у больных ПКР (Me; C₂₅-C₇₅)

Показатель	Контрольная группа (n=35)	Больные ПКР (n=119)
Г6ФДГ	3,11 0,53–6,24	1,14 0,15–3,87 p<0,05
Г3ФДГ	0,00 0,00–1,01	0,15 0,00–4,19
НАДФГДГ	0,53 0,00–4,52	0,25 0,01–2,69
НАДЛДГ	11,53 2,37–20,34	15,50 1,45–66,04
НАДФНДГ	0,33 0,00–1,14	0,11 0,00–0,64
НАДФНЦДГ	2,99 1,87–6,32	1,74 0,04–20,63
НАДМДГ	4,58 0,00–11,61	69,39 0,00–200,33
НАДГДГ	4,24 0,00–15,48	7,85 0,00–8,99
НАДНЛДГ	30,57 0,00–52,46	3,07 0,00–28,35 p<0,01
НАДНЦДГ	0,56 0,00–13,79	0,51 0,00–8,99
НАДНМДГ	58,13 24,98–114,15	74,76 27,10–106,34
ГР	13,82 7,24–36,74	2,24 0,04–7,74 p<0,001
НАДНГДГ	5,19 0,00–22,70	16,49 6,33–47,68 p<0,05
НАДФНГДГ	25,20 11,20–46,79	15,34 3,99–41,81

Выводы

1. У больных ПКР в лимфоцитах периферической крови отмечается снижение рибозо-5-фосфат и НАДН-зависимых пластических процессов.
2. В лимфоцитах крови у больных ПКР наблюдается снижение интенсивности реакций гликолиза на терминальных стадиях и увеличение оттока субстратов с цикла Кребса на реакции аминокислотного обмена.
3. У больных ПКР в лимфоцитах периферической крови определяется снижение активности глутатионредуктазы, что может способствовать понижению антиоксидантной защиты клетки.
4. Учитывая высокую значимость метаболических реакций для функциональной активности лимфоцитов, вероятно, полученные нами данные необходимо учитывать при разработке иммунокорректирующих программ у пациентов с ПКР.

ЛИТЕРАТУРА

1. Зуков Р.А., Дыхно Ю.А., Модестов А.А., Шкапова Е.А. Почечно-клеточный рак. Новосибирск: Наука, 2015. 244.
2. Куртасова Л.М., Зуков Р.А. Влияние рекомбинантного интерферона $\alpha 2b$ на метаболические показатели лимфоцитов и нейтрофилов периферической крови у больных диссеминированным раком почки. Экспериментальная и клиническая фармакология. 2017; 80(10): 8–12.
3. Савченко А.А., Сунцова Л.Н. Высокочувствительное определение активности дегидрогеназ в лимфоцитах периферической крови биолюминесцентным методом. Лабораторное дело. 1989; 11: 23–25.
4. Инжеваткин Е.В., Савченко А.А., Слепов Е.В., Хлебоборс Р.Г. Активность НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов мышей после введения 1×10^4 клеток асцитной карциномы Эрлиха. Сибирское медицинское обозрение. 2014; 1: 25–30.
5. Куртасова Л.М., Хват Н.С., Савченко А.А. Изменение ферментативного профиля лимфоцитов крови у больных раком почки до лечения и после интерферонотерапии. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2010; 150(11): 571–574.
6. Куртасова Л.М., Зуков Р.А. Влияние интерферонотерапии на иммунофенотипический спектр и энзиматическую активность лимфоцитов периферической крови у больных раком почки. Медицинская иммунология. 2014; 16(3): 281–288.

ЭКСПРЕССИОННЫЙ ПРОФИЛЬ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ БРОНХИАЛЬНОГО ЭПИТЕЛИЯ, ПРЕДШЕСТВУЮЩИХ ПЛОСКОКЛЕТОЧНОМУ РАКУ ЛЁГКОГО

А.А. Щеголева¹, Е.В. Денисов^{1,2}, Т.С. Геращенко^{1,2}, Л.С. Ляпунова¹,
Н.А. Скрябин³, О.В. Панкова¹, В.М. Перельмутер¹

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный
исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия¹
Томский государственный университет, г. Томск, Россия²

Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский
национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия³

Аннотация

Предопухолевый процесс, предшествующий плоскоклеточному раку лёгкого, не фатален, он может прерваться на любом из предопухолевых изменений бронхиального эпителия: базальноклеточная гиперплазия, плоскоклеточная метаплазия и дисплазия, и оставаться неопределённое время в стабильном состоянии и далее прогрессировать или подвергаться регрессии. В настоящее время причины и механизмы прогрессирования предопухолевых изменений эпителия бронхов остаются не до конца понятными. В этом исследовании мы провели анализ экспрессионных профилей базальноклеточной гиперплазии, плоскоклеточной метаплазии и дисплазии в зависимости от их сочетания друг с другом в бронхах пациентов с раком лёгкого. Показано, что предопухолевые изменения, главным образом их изолированные и сочетанные варианты, различаются в экспрессионном профиле и выраженности биологических процессов. Кроме того, найдены специфические гены для вариантов предопухолевых изменений и подтверждена их экспрессия на белковом уровне. Результаты данного исследования проливают свет на механизмы предопухолевого процесса, предшествующего плоскоклеточному раку лёгкого.

Ключевые слова: рак лёгкого, базальноклеточная гиперплазия, плоскоклеточная метаплазия, дисплазия, экспрессия генов.

EXPRESSION PROFILES OF BRONCHIAL LESIONS PRECEDING SQUAMOUS CELL LUNG CANCER

А.А. Schegoleva¹, E.V. Denisov^{1,2}, T.S. Gerashchenko^{1,2}, N.A. Skryabin¹,
L.S. Lyapunova³, O.V. Pankova¹, V.M. Perelmuter¹

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

Tomsk State University, Tomsk, Russia²

Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center,
Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia³

Abstract

The premalignant process preceding squamous cell lung cancer is not inevitable; it can stop at any of the bronchial lesions: basal cell hyperplasia, squamous metaplasia, and dysplasia and then progress or regress.

At present, the mechanisms underlying the progression of the bronchial lesions remain undefined. In this study, we analyzed gene expression profiles of basal cell hyperplasia, squamous metaplasia, and dysplasia depending on their co-occurrence in the bronchi of lung cancer patients. It was found that precancerous bronchial lesions, particularly their isolated and combined forms, differ in gene expression profile and the enrichment of biological processes. In addition, bronchial lesions showed expression of the specific genes that were validated using immunohistochemical staining. This study sheds light on the mechanisms of the precancerous process preceding squamous cell lung cancer.

Key words: lung cancer, basal cell hyperplasia, squamous metaplasia, dysplasia, gene expression.

Плоскоклеточный рак лёгкого (ПРЛ), один из часто встречающихся гистотипов рака лёгкого, развивается на фоне генетических нарушений в клетках эпителия бронхов и характеризуется агрессивным течением. Выявление ПРЛ на ранней стадии, в том числе предсказание риска развития данного заболевания, является актуальной задачей.

Предопухольный процесс ПРЛ представляет собой сложный многоступенчатый процесс, сопровождающийся предопухольными изменениями эпителия бронхов от базальноклеточной гиперплазии (БКГ) через плоскоклеточную метаплазию (ПМ) к дисплазии и карциноме *in situ* [1]. Интересно, что этот процесс не однонаправлен, он может прерваться на любой стадии и затем либо прогрессировать, либо подвергнуться регрессии. Причины и механизмы разных «сценариев» эволюции предопухольных изменений респираторного эпителия не до конца понятны.

Ранее было показано, что у больных немелкоклеточным раком лёгкого (НМРЛ) в ткани лёгкого, отдаленной от опухолевого очага, наблюдаются различные сочетания морфологических изменений эпителия бронхов: изолированная БКГ (иБКГ), БКГ сочетающаяся с ПМ (пмБКГ), ПМ, сочетающаяся с БКГ (бкгПМ) и с дисплазией (дПМ) [2]. Вероятно, что разные варианты БКГ и ПМ отражают специфические «сценарии» предопухольного процесса: иБКГ – остановка на стадии гиперплазии, пмБКГ – прогрессирование гиперплазии до метаплазии, бкгПМ – остановка на стадии метаплазии, дПМ – прогрессирование метаплазии до дисплазии (онкогенная фаза).

Целью исследования был анализ экспрессионного профиля разных вариантов БКГ и ПМ, а также дисплазии и выявление механизмов, лежащих в основе различных сценариев предопухольного процесса в эпителии бронхов.

Материал и методы. В исследовании были использованы образцы нормальной ткани лёгкого, полученные от больных НМРЛ (n=15) в ходе операции. Критерием включения больных было наличие в ткани легкого, отдаленной от опухолевого очага, различных сочетаний морфологических изменений эпителия бронхов. С помощью лазерной микродиссекции (PALM, Carl Zeiss, Германия) из свежезамороженных образцов ткани лёгкого получали иБКГ (n=2), пмБКГ (n=2), бкгПМ (n=2) и дПМ (n=1), а также дисплазию (n=1). Микродиссектированные образцы использовались для выделения РНК с помощью набора RNeasy Plus Micro (Qiagen, США) и последующего проведения полнотранскриптомной амплификации (Ovation PicoSL WTA System V2 kit, Nugen, США). Образцы кДНК метились флюоресцентным красителем Cy3 (SureTag DNA labeling kit, Agilent, США) и гибридизовались на микроматрицы SurePrint G3 Human GE v2, 8x60K (Agilent, США). Микроматрицы сканировали с помощью сканера SureScan (Agilent, США), сигналы считывали и экстрагировали с помощью программного обеспечения Feature Extraction v. 10.7.3.1 (Agilent, США). Полученные данные подвергали обработке в среде R (R Development Core Team, 2008) с помощью программного пакета limma [3]. Функциональное аннотирование проводили с помощью онлайн инструмента GO Enrichment Analysis [4]. Формалин-фиксированные образцы (n=9) ткани лёгкого с фокусами различных вариантов БКГ и ПМ, а также дисплазии, использовали для валидации экспрессии генов, отобранных в ходе микроматричного экспрессионного анализа.

Результаты. Различные варианты БКГ и ПМ отличались как от нормального эпителия, так и друг от друга в экспрессионном профиле. Изолированная БКГ и пмБКГ были более схожи друг с другом, чем с ПМ. ПМ, сочетающаяся с БКГ, по экспрессионному профилю была ближе к вариантам БКГ, чем к дПМ.

Функциональное аннотирование генов, гипер- и гипохэкспрессирующихся в каждом варианте БКГ и ПМ, показало выраженность различных биологических процессов. Изолированная БКГ и пмБКГ отличались друг от друга экспрессией генов, связанных с регуляцией воспаления. В частности, только в иБКГ была отмечена гипохэкспрессия генов воспаления. Вероятно, что снижение воспаления может являться причиной невозможности прогрес-

сирования БКГ в ПМ. Основные различия между бкгПМ и дПМ проявлялись на уровне процессов, вовлеченных в формирование реснитчатого эпителия. В частности, только дПМ характеризовалась гипоекспрессией генов, участвующих в процессе сборки ресничек и аксонемы, что может указывать на неспособность этого варианта ПМ регрессировать до БКГ. В экспрессионном плане дПМ была более схожей с дисплазией, чем с бкгПМ. Эти данные могут указывать на то, что дПМ более склонна к прогрессированию в дисплазию, чем бкгПМ.

На основании данных микроматричного экспрессионного анализа выделено несколько генов, экспрессия которых значительно различалась между вариантами БКГ и ПМ. Специфическая экспрессия части генов была валидирована с помощью иммуногистохимического окрашивания.

Таким образом, проведенное исследование указывает на наличие двух экспрессионно обособленных вариантов БКГ и ПМ и демонстрирует основные механизмы, вовлеченные в прогрессирование предопухолевого процесса в респираторном эпителии.

Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ (№ 17-29-06002)

ЛИТЕРАТУРА

1. Kadara H., Wistuba I.I. Molecular biology of lung preneoplasia. Lung cancer. Fourth ed. Hoboken: Wiley; 2014. 110–28.
2. Панкова О.В. Морфофункциональные особенности респираторного эпителия при мелкоклоточном раке легкого и хроническом воспалении и их связь с прогрессией опухолевого и предопухолевых процессов: [автореф. докт. дис.]. СПб., 2018. 130.
3. Ritchie M.E., Phipson B., Wu D., Hu Y., Law C.W., Shi W., Smyth G.K. limma powers differential expression analyses for RNA-sequencing and microarray studies. Nucleic Acids Res. 2015; 43(7): 47.
4. Gene Ontology Consortium. Gene Ontology Consortium: going forward. Nucleic Acids Res. 2015 Jan; 43(Database issue): D104956. doi: 10.1093/nar/gku1179.

ИЗГОТОВЛЕНИЕ ИЗДЕЛИЙ С ЗАДАНЫМИ КТ-ИНДЕКСАМИ

**М.С. Шкурупий¹, А.А. Исмаилова¹, А.А. Красных¹,
И.А. Милойчикова^{1,2}, Ю.М. Черепенников¹, С.Г. Стучебров¹**

Национальный исследовательский Томский политехнический университет, г. Томск, Россия¹
Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, Томск, Россия²

Аннотация

В докладе представлены результаты по выбору параметров печати тестовых образцов, которые имитируют различные ткани человека с точки зрения их взаимодействия с ионизирующим излучением. На первом этапе были получены значения КТ-индексов путем обработки томограмм реального пациента. Далее с помощью ранее полученных зависимостей КТ-индексов от коэффициента заполнения были определены материал и параметры печати. На основе полученных данных были изготовлены тестовые образцы на 3D-принтере методом послойного наплавления. В качестве материала были использованы филаменты из ПЛА-пластика с разной концентрацией примеси меди. В результате работы были изготовлены тестовые образцы с разными параметрами печати, значения КТ-индексов которых соответствовали различным тканям нижней конечности человека.

Ключевые слова: дозиметрические фантомы, трехмерная печать, метод послойного наплавления, томография, КТ-индексы.

MANUFACTURING OF SAMPLES WITH PREDETERMINED CT-INDEXES

**M.S. Shkurupii¹, A.A. Ismailova¹, A.A. Krasnykh¹, I.A. Miloichikova^{1,2},
Yu.M. Cherepennikov¹, S.G. Stuchebrov¹**

National Research Tomsk Polytechnic University, Tomsk, Russia¹
Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center,
Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia²

Abstract

The paper presents the results of choosing parameters for printing test samples that mimic various human tissues in terms of interaction with ionizing radiation. Firstly, the CT-indexes values were obtained by processing tomograms of the real patient. The material and printing parameters were then determined using the previously obtained dependencies of the CT-indexes on the fill factor. Bases on the data obtained, test samples were made by 3D-printing using fused deposition modeling. PLA-plastic filaments with different concentrations of copper admixture were used as a material. As a final result, test samples, CT indexes of which corresponded to different tissues of the human extremities, were manufactured using different printing parameters.

Key words: dosimetry phantoms, 3D-printing, fused deposition methods, tomography, CT-indexes.

Введение. Современные технологии все прочнее входят в разные сферы человеческой деятельности. Одним из наглядных примеров являются аддитивные технологии, применяемые в том числе и врачами для лечения и диагностики онкологических заболеваний [1–5]. В работе [6] был представлен новый метод создания индивидуальных фантомов, учитывающий особенности пациентов, предназначенный для проведения планирования лучевой терапии. В рамках исследования [7] авторами были получены зависимости КТ-индексов от коэффициента заполнения изделия при печати для модифицированных медью пластиков. Таким образом, для доказательства работоспособности предложенного метода необходимо решить обратную задачу: по КТ-индексам тканей пациента выбрать параметры печати для создания тестовых образцов.

Цель исследования – изготовление методом послойного наплавления тестовых образцов, имитирующих ткани человека с точки зрения их взаимодействия с ионизирующим излучением.

Материал и методы. На первом этапе были получены данные исследования нижней конечности пациента на медицинском томографе Siemens Somatom Emotion [8]. КТ-индексы тканей были измерены при помощи двух программных пакетов: RadiAnt DICOM Viewer [9] и eFilm [10]. На основе предварительно полученных данных [7] были определены необходимые параметры печати изделий. После чего были изготовлены тестовые образцы на 3D-принтере Ur!Plus2 [11] и проведено их томографическое исследование.

Результаты и обсуждения. В работе [7] были измерены КТ-индексы тестовых образцов из ПЛА-пластика с примесью меди в концентрации 0, 10, 20 и 30 %, полученные методом послойного наплавления. В результате проведенных исследований была получена зависимость КТ-индексов от коэффициента заполнения образцов (k), которая показана на рис. 1.

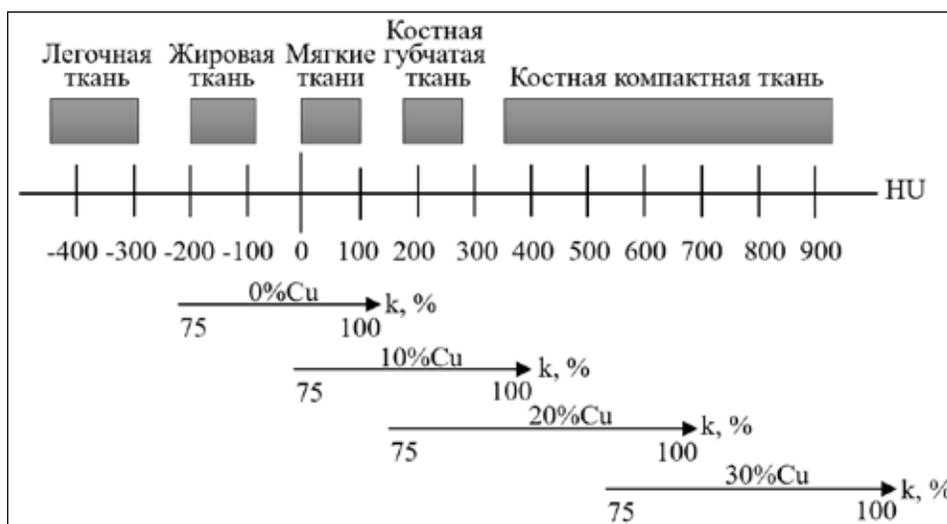


Рис.1. Зависимость КТ-индексов от коэффициента заполнения образцов

На первом этапе данной работы по результатам томографического исследования нижней конечности пациента (рис. 2) были получены КТ-индексы, соответствующие различным тканям.

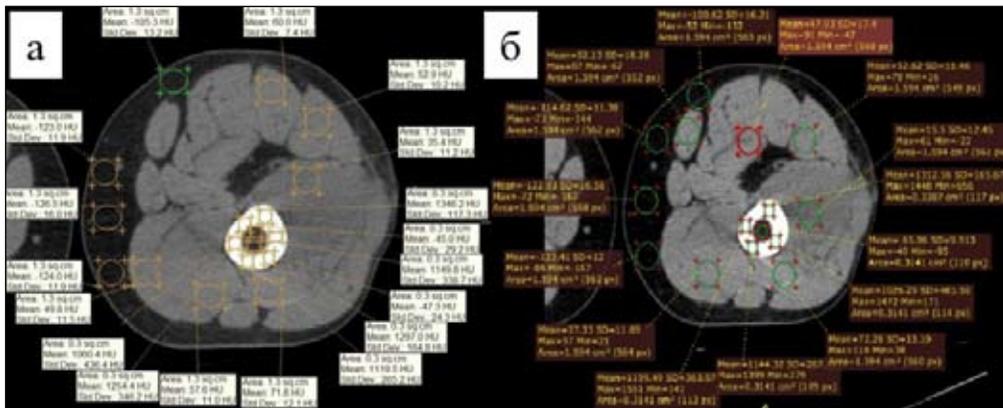


Рис.2. Томограмма бедра человека: а – в программе RadiAnt DICOM Viewer; б – в программе eFilm (б)

В табл. 1 представлены КТ-индексы, полученные с помощью программ RadiAnt DICOM Viewer и eFilm. Выбор КТ-индексов для печати изделий осуществлялся путем нахождения среднего между значениями, полученными с помощью разных программ.

Таблица 1

Полученные значения КТ-индексов

Ткань	КТ-индексы, HU		Выбранные КТ-индексы, HU
	RadiAnt DICOM Viewer	eFilm	
Костный мозг	40,5	33,5	37
Жировая ткань	-107,5	-107,5	-107,5
Мышечная ткань	51,4	53,2	52,3
Костная ткань	951,5	963,3	957,4

По данным, представленным на рис.1 и в табл.1, были определены соответствующие параметры печати изделий (табл. 2), имитирующих определенные ткани пациента с точки зрения их взаимодействия с ионизирующим излучением.

Таблица 2

Данные для изготовления тестовых образцов

Ткань	КТ-индексы, HU	Параметры печати	
		Примесь меди, %	к, %
Костный мозг	37	0	94,25
Жировая ткань	-107,5	0	81,36
Мышечная ткань	52,3	0	95,61
Костная ткань	957,385	30	93,7

После определения параметров печати были изготовлены изделия, имитирующие ткани нижней конечности пациента, после чего были определены их КТ-индексы.

В результате работы было показано, что значения КТ-индексов изготовленных изделий равны значениям КТ-индексов тканей пациента в рамках допустимой погрешности.

Выводы. Результаты данной работы показывают работоспособность метода создания индивидуальных дозиметрических фантомов методом послыонного наплавления. Продемонстрирована возможность изготовления изделий с заданными КТ-индексами, имитирующих ткани человека с точки зрения их взаимодействия с ионизирующим излучением.

ЛИТЕРАТУРА

1. McGurk M., Amis A.A., Potamianos P., Goodger N.M. Rapid prototyping techniques for anatomical modelling in medicine. Ann R Coll Surg Engl. 1997 May; 79(3): 169–74.
2. Vaezi M., Kai Chua C., Meng Chou S. Improving the process of making rapid prototyping models from medical ultrasound images. Rapid Prototyping Journal. 2012; 18(4): 287–298.
3. Imanishi J., Choong P.F.M. Three-dimensional printed calcaneal prosthesis following total calcanectomy. International journal of surgery case reports. 2015; 10: 83–87.
4. Bache S. WE-F-16A-04: Micro-Irradiator Treatment Verification with High-Resolution 3D-Printed Rodent-Morphic Dosimeters. Medical Physics. 2014; 41(6): 514–515.

5. Ehler E., Higgins P., Dusenbery K. SU-F-BRE-04: Construction of 3D Printed Patient Specific Phantoms for Dosimetric Verification Measurements. *Medical Physics*. 2014; 41(6): 391392.

6. Данилова И.Б., Красных А.А., Милойчикова И.А., Стучебров С.Г. Моделирование взаимодействия гамма-излучения и АБС-пластика с различными металлическими примесями. *Вестник Национального исследовательского ядерного университета МИФИ*. 2017; 6(1): 78–82.

7. Шкурупий М.С., Красных А.А., Милойчикова И.А., Черепенников Ю.М., Стучебров С.Г. Изготовление тестовых образцов с заданными индексами Хаунсфилда. IX Школа-конференция молодых атомщиков Сибири: сборник тезисов докладов. Томск, 17–19 Октября 2018. Томск: Дельтаплан, 2018. 102.

8. SOMATOM Emotion 6/16 [Интернет]. URL: https://w5.siemens.com/web/ua/ru/medecine/detection_diagnosis/computed_tomography/multislice_ct/somatom_emotion/pages/emotion.aspx (дата обращения: 12.01.2019).

9. RadiAnt DICOM Viewer [Интернет]. URL: <https://www.radiantviewer.com/ru> (дата обращения: 12.01.2019).

10. eFilm [Интернет]. URL: <https://estore.merge.com/na/index.aspx> (дата обращения: 12.01.2019).

11. Up!Plus2 [Интернет]. URL: <http://3dtoday.ru/3d-printers/tiertime/up-plus-2> (дата обращения: 12.01.2019).

КОМБИНИРОВАННОЕ ЛЕЧЕНИЕ МЕСТНОРАСПРОСТРАНЕННОГО РАКА ШЕЙКИ МАТКИ В УСЛОВИЯХ ЛОКАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕРМИИ

О.В. Шpileва, А.И. Коновалов

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

Аннотация

Целью работы явилось изучение эффективности химиолучевого лечения местнораспространенного рака шейки матки в условиях локальной гипертермии. Исследование продемонстрировало повышение эффективности лечения за счет увеличения удельного веса полных ответов на лечение в результате более быстрого регресса первичного очага и улучшения качества жизни больных за счет купирования болевого синдрома и прекращения кровянистых выделений из половых путей без увеличения удельного веса лучевых реакций.

Ключевые слова: рак шейки матки, местнораспространенный рак шейки матки, лучевая терапия, локальная гипертермия.

COMBINATION THERAPY FOR LOCALLY ADVANCED CERVICAL CARCINOMA UNDER CONDITION OF LOCAL HYPERTHERMIA.

O.V. Shpileva, A.I. Konovalov

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Science,
Tomsk, Russia

Abstract

The purpose of the study was to investigate the effectiveness of chemoradiation treatment for locally advanced cervical cancer under conditions of local hyperthermia. The study demonstrated the increase in the proportion of complete responses to treatment, more rapid regression of the primary tumor and improved patient's quality of life due to pain relief and cessation of bleeding from the genital tract, without increasing radiation-induced reactions.

Key words: cervical carcinoma, locally advanced cancer, radiation therapy, hyperthermia.

Актуальность. Рак шейки матки (РШМ) – одно из наиболее распространенных злокачественных новообразований среди женского населения. Данная патология занимает 4-е место в структуре онкологических заболеваний (7,9 %) и 1-е место среди новообразований половых органов [1]. Местнораспространенные формы заболевания выявляют в 37,7 % случаев [2]. Единственным стандартизованным методом лечения местнораспространенного рака шейки матки (МРРШМ) в течение многих десятилетий является сочетанная лучевая терапия, отдаленные результаты которой в целом невысоки. У женщин с местнораспро-

страненным раком шейки матки лучевая терапия является краеугольным камнем лечения и обычно сочетается с радиосенсибилизацией цисплатином. Но отдаленные результаты в целом невысоки и не превышают 65 % для II и 47 % для III стадии заболевания [3–5]. В связи с этим в последние годы для повышения эффективности терапии широко используются модификаторы биологических реакций. Общеизвестным и самым мощным радиомодификатором является локальная гипертермия [6]. Показано, что локальная гипертермия (НТ), нагревая опухоль до 39–43 °С, усиливает эффект как лучевой, так и химиотерапии, повышая цитотоксичность злокачественных клеток [7]. Гипертермия является мощным сенсебилизатором при совместном применении с лучевой терапией. Умеренное нагревание приводит к повышенной сосудистой проницаемости и увеличению уровня давления кислорода в опухоли. Это приводит к повышению радиочувствительности опухоли. Также повышение радиочувствительности опухоли может быть обусловлено ингибированием репарации ДНК, изменением ядерной агрегации белков и порядковой организации хроматина [8]. Гипертермия повышает перфузию и оксигенацию опухолевых гипоксических клеток, которые в 3 раза более устойчивы к ионизирующему облучению, чем обычные клетки. Следовательно, действие лучевой терапии на фоне гипертермии становится более эффективным [9]. Гипертермия оказывает прямое цитотоксическое действие на опухолевые клетки. В связи с патологией кровеносных сосудов в опухоли сохраняется повышенная температура, в то время как соседние обычные ткани с соответствующей перфузией даже охлаждаются: при 43 °С обычные клетки не повреждаются, в то время как опухолевые клетки повреждаются – вплоть до апоптоза в ядре, плазматической мембране и цитоскелете [10]. Гипертермия действует главным образом при кислотном водородном показателе и в фазе S-клеточного цикла, когда клетки радиорезистентны. Это означает, что лучевая терапия и гипертермия в своем действии дополняют друг друга: в результате проведения лучевой терапии образуются свободные радикалы, повреждающие ДНК опухолевых клеток, а гипертермия ингибирует ее репарацию [11]. Нельзя не упомянуть о роли белков теплового шока. Белки теплового шока представляют собой группу высококонсервативных белков, которые участвуют как в биохимических (сворачивание и транслокация белковых молекул), так и в физиологических (клеточный цикл, пролиферация, дифференцировка) внутриклеточных процессах. Синтез белков теплового шока индуцируется практически на любой стресс, в том числе и на тепловое воздействие, каковым является локальная гипертермия. Обнаружено, что белки теплового шока могут действовать в качестве своеобразных «сигналов опасности» для инициации естественных иммунных реакций. В настоящее время становятся понятными механизмы иммуномодулирующего действия гипертермии, которое известно сравнительно давно. Установлено, что при нагреве опухоли до температуры около 42 °С и выше индуцируется экспрессия белка теплового шока HSP70, сопровождаемая возникновением локальных некрозов, приводящих к выходу белка теплового шока во внеклеточную среду, созреванием дендритных клеток и появлением ассоциативных пептидов [12]. Всё вышеперечисленное может привести к повреждению клеток нагреваемых тканей и к изменению их устойчивости к другим повреждающим факторам, в частности к воздействию ионизирующей радиации и химиотерапевтических агентов. Неудовлетворительные результаты лечения МРРШМ определяют продолжение совершенствования способов комбинированного лечения, поиска новых радиомодификаторов и дополнительных факторов воздействия на опухоль.

Целью работы явилось изучение эффективности и переносимости химиолучевого лечения в условиях локальной гипертермии местнораспространенного РШМ.

Материал и методы. В исследование включены 80 больных с морфологически верифицированным МРРШМ IIb–IIIb (T2b–3b Nx M0) стадией. Пациенты распределены на две группы. В основную группу включены 40 больных МРРШМ, получающих химиолучевое лечение в условиях локальной гипертермии. Химиолучевое лечение больным МРРШМ включает СЛТ с еженедельным введением цисплатина. Дистанционная гамма-терапия проводится на линейном ускорителе 6,0 МэВ, в стандартном режиме фракционирования дозы – РОД 2 Гр, 5 фракций в неделю, 20–23 сеанса с СОД 46 Гр. Внутриполостная лучевая терапия проводится на аппарате MultiSource UDR с энергией 1,25 МэВ в режиме крупного фракционирования дозы – РОД 5 Гр, 2 фракции в неделю, 10 сеансов с СОД 50 Гр. Введение цисплатина проводится в дозе 40 мг/м², 1 раз в неделю, с достижением суммарной дозы не менее 300 мг. Всем больным исследуемой группы проводилась процедура гипертермии опухоли на аппарате Celsius TCS: кратность 2 раза в неделю, 10 сеансов за курс, температура ≥42 °С, время сеанса 40–60 мин, сеанс внутриполостной лучевой терапии проводился не позднее 2 ч после проведения локальной гипертермии 2 раза в неделю. Контрольную группу

составили 40 больных МРРШМ, которым было проведено химиолучевое лечение с радиомодификацией цисплатином, без включения сеансов гипертермии.

Результаты. Анализ клинической эффективности проведенного комбинированного лечения больных МРРШМ выявил положительное влияние на клиническую симптоматику заболевания

После проведения 3 сеансов гипертермии у больных местнораспространенным раком шейки матки отмечалось статистически значимое уменьшение болевого синдрома, в 2 раза уменьшилась частота межменструальных и контактных кровянистых выделений.

Оценка непосредственного эффекта показала, что уровень объективного ответа в исследуемой группе составил 95 %, полная регрессия отмечалась у 17,5 % пациенток, частичная – у 67,5 %, стабилизация процесса – у 10 % больных, прогрессирование заболевания было отмечено у 5 % больных. В контрольной группе у 7 % больных отмечалось прогрессирование заболевания, а в 5 % случаев – стабилизация процесса. Полный ответ в основном наблюдался у больных, имеющих высокий риск прогрессирования: размер опухоли более 4 см, инфильтрация параметральной клетчатки, наличие метастатического поражения л/у, низкая степень дифференцировки опухоли (G3), лимфоваскулярная инвазия, глубина инвазии опухоли в строму шейки матки. Удельный вес лучевых реакций в основной группе достоверно не отличался от группы контроля, тяжесть осложнений не превышала 1–2 степень, кроме того, в основной группе в 13,1 % случаев было отмечено появление новой реакции на термическое воздействие в виде фиброза и инфильтрации подкожножировой клетчатки в месте стояния коллиматоров.

Таким образом, предлагаемый способ позволяет повысить эффективность лечения за счет увеличения удельного веса полных ответов на лечение в результате более быстрого регресса первичного очага и улучшения качества жизни больных за счет купирования болевого синдрома и прекращения кровянистых выделений из половых путей без значимого увеличения удельного веса лучевых реакций.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Globocan* 2018: Estimated cancer incidence, mortality and prevalence worldwide in November 2018 [Интернет]. URL: <http://globocan.iarc.fr> (дата обращения 05.02.2018).
2. *World Health Organization. Cervical Cancer Early Diagnosis and Screening.* World Health Organization; Geneva, Switzerland: 2018.
3. *Rose P.G., Bundy B.N., Watkins E.B., Thigpen J.T., Deppe G., Maiman M.A., Clarke-Pearson D.L., Insalaco S.* Concurrent cisplatin-based radiotherapy and chemotherapy for locally advanced cervical cancer. *N. Engl. J. Med.* 1999; 340: 1144–1153.
4. *Morris M., Eifel P.J., Lu J., Grigsby P.W., Levenback C., Stevens R.E., Rotman M., Gershenson D.M., Mutch D.G.* Pelvic radiation with concurrent chemotherapy compared with pelvic and para-aortic radiation for high-risk cervical cancer. *N. Engl. J. Med.* 1999; 340: 1137–1143.
5. *Li H., Wu X., Cheng X.* Advances in diagnosis and treatment of metastatic cervical cancer. *J. Gynecol. Oncol.* 2016; 27: e43.
6. *Shi T.Y., Yang L., Yang G., Tu X.Y., Wu X., Cheng X., Wei Q.* DNA polymerase zeta as a potential biomarker of chemoradiation resistance and poor prognosis for cervical cancer. *Med. Oncol.* 2013; 30: 500.
7. *Van der Zee J., van Rhoon G.C.* Cervical cancer: Radiotherapy and hyperthermia. *Int. J. Hypertherm.* 2006; 22: 229–234. doi: 10.1080/02656730600722578.
8. *Issels R.D.* Regional hyperthermia in high-risk soft tissue sarcomas. *Curr Opin Oncol.* 2008 Jul; 20(4): 438–443.
9. *Sugahara T.* Kadota Fund International Forum 2004. Application of thermal stress for the improvement of health, 1518 June 2004, Awaji Yumebutai International Conference Center, Awaji Island, Hyogo, Japan. Final report. *Int J Hyperthermia*, 2008. 24(2): 123–40.
10. *Oei A.L., Vriend L.E., Crezee J., Franken N.A., Krawczyk P.M.* Effects of hyperthermia on DNA repair pathways: One treatment to inhibit them all. *Radiat. Oncol.* 2015; 10: 165.
11. *Ihara M., Takeshita S., Okaichi K., Okumura Y., Ohnishi T.* Heat exposure enhances radiosensitivity by depressing DNA-PK kinase activity during double strand break repair. *Int. J. Hypertherm.* 2014; 30: 102–109.
12. *Gao S., Zheng M., Ren X., Tang Y., Liang X.* Local hyperthermia in head and neck cancer: mechanism, application and advance. *Oncotarget.* 2016 Aug 30; 7(35): 5736757378. doi: 10.18632/oncotarget.10350.

БИЛИАРНАЯ ДЕКОМПРЕССИЯ ПРИ РАКЕ ГЕПАТОПАНКРЕАТОБИЛИАРНОЙ ЗОНЫ, ОСЛОЖНЕННОМ МЕХАНИЧЕСКОЙ ЖЕЛТУХОЙ

И.У. Эргашев, О.И. Урунов, Р.А. Абдусатторов, Д.Х. Хаитов, Н.И. Турсунова

Ташкентская медицинская академия, г. Ташкент, Узбекистан

Аннотация

В работе дана информация о лечении билиарной декомпрессии при раке периампулярной зоны, осложненной механической желтухой. Хирургия периампулярной зоны довольно хорошо изучена,

но в то же время является одним из труднейших разделов медицины. Среди методов лечения билиарной декомпрессии гепатопанкреатобилиарной зоны при раке в настоящее время доминирующее положение занимают чрескожным чреспеченочным дренированием желчных протоков. По данным канцер-регистра Республиканского специализированного научно-практического медицинского центра онкологии и радиологии Узбекистана, показатель заболеваемости в 2018 г. составил 9 человека на 100 000 населения и занимает шестое место среди злокачественных опухолей.

Ключевые слова: периампулярная зона, чрескожное чреспеченочное дренирование желчных протоков, билиарная декомпрессия, механическая желтуха.

BILIARY DECOMPRESSION IN HEPATO-PANCREATO-BILIARY CANCER COMPLICATED BY OBSTRUCTIVE JAUNDICE

I.U. Ergashev, O.I. Urunov, R.A. Abdusattorov, D.H. Khaitov, N.I. Tursunova

Tashkent Medical Academy, Tashkent, Uzbekistan

Abstract

This paper provides information on the treatment of biliary decompression in periampular cancer with mechanical (obstructive) jaundice. Surgery for periampular cancer represents a considerable challenge. Currently, percutaneous transhepatic biliary drainage is the most effective method for the treatment of biliary decompression in periampular cancer with obstructive jaundice. According to the cancer register of the Republican Specialized Scientific and Practical Medical Center of Oncology and Radiology of Uzbekistan, the incidence rate in 2018 was 9 people per 100 thousand of the population and ranks sixth among malignant tumors

Key words: periampular zone, percutaneous transhepatic bile duct drainage, biliary decompression, mechanical jaundice.

Введение. Увеличение числа злокачественных новообразований гепатопанкреатобилиарной зоны приводит к росту больных с механической желтухой, когда хирургическое лечение приходится разделять на два этапа. Сначала проводят билиарную декомпрессию, после которой решается вопрос о возможности выполнения радикального или паллиативного лечения. В настоящее время применяют несколько способов чрескожного дренирования.

Двухмоментное дренирование. Метод первоначально был предложен S.I. Seldinger для катетеризации сосудов [1]. Сначала выполняют пункцию полости иглой, через иглу вводят гибкий проводник, иглу удаляют. По проводнику вводят бужи возрастающего диаметра, а затем катетер нужного диаметра. Преимущество – относительная простота выполнения. Недостатки – высокий риск подтекания содержимого полости вдоль пункционного канала (особенно при применении бужирования); требует наличия множества различных инструментов.

Одномоментное дренирование стилет-катетером впервые было применено K.L. Wiechel [2]. Полость пунктируют специальной иглой-стиллетом с помещённым на ней катетером-оболочкой. При этом остаётся свободным лишь рабочий конец иглы. После попадания в полость иглу удаляют, через катетер-оболочку вводят жёсткий проводник, по которому проводят более глубокую установку катетера оболочки. Проводник удаляют. Преимущество – простота выполнения. Недостаток – высокая травматичность при применении катетеров большого диаметра и необходимость повторных пункций. В связи с этим применяется в основном для дренирования крупных, поверхностно расположенных полостей.

Дренирование с помощью УДПО (устройство дренирования полостных образований). Метод разработан В.Г. Ившиным и соавт. [3–5]. Является наиболее популярным в России при дренировании желчного пузыря [6]. Метод вобрал в себя достоинства вышеперечисленных методик и не имеет их недостатков [7].

Под контролем ультразвукового сканирования на коже выбирают место оптимальной пункции полостного образования. Через разрез кожи проводят пункцию свободным участком иглы, при этом наружная канюля и дренаж остаются снаружи от кожных покровов больного. Удаляют мандрен и аспирируют небольшое количество содержимого. В полость вводят контрастное вещество и гибкий металлический проводник. С помощью упорной пластины фиксируют положение иглы, с помощью второй упорной пластины осуществляют

поступательное движение наружной канюли и дренажа по игле на расстояние, равное длине ограничительного тросика. При этом происходит соскальзывание дистального конца дренажа с иглы на металлический проводник. Затем проводят более глубокое введение дренажа в полость и удаление комплекса устройство–проводник. После рентгеноскопического контроля дренаж фиксируют к коже.

Цель исследования – улучшить результаты хирургического лечения больных с периапулярными опухолями, осложненными механической желтухой.

Материал и методы. С 2012 по 2018 г. во II клинике Ташкентской медицинской академии, а также в Республиканском научном центре экстренной медицинской помощи выполнено 283 дренирования желчевыводящих путей под УЗ-контролем по поводу механической желтухи, вызванной раком головки поджелудочной железы. Наружная чрескожно-чреспеченочная холангиостомия произведена у 145 (51,2 %) больных, чрескожно-чреспеченочная холангиостомия – у 45 (15,9 %), наружно-внутренняя чрескожно-чреспеченочная холангиостомия – у 93 (32,9 %). Больные разделены на 2 группы. В первую вошли 190 (67,1 %) пациентов, которые перенесли наружное дренирование желчного дерева (наружная чрескожно-чреспеченочная холангиостомия), во вторую – 93 (32,9 %) пациента, которым выполнена наружно-внутренняя холангиостомия, при этом у 58 (20,5 %) из них дренирование выполнялось этапно: сначала формировалась наружная холангиостома, которая через 2 нед менялась на наружно-внутреннюю.

Результаты. Всем пациентам планировалось вторым этапом выполнение радикальной операции – панкреатодуоденальной резекции, которая произведена у 77 (27,2 %) больных. Остальным пациентам выполнены паллиативные вмешательства в связи с распространенностью опухолевого процесса у 113 (39,9 %) или тяжелой сопутствующей патологией у 93 (32,9 %). В послеоперационном периоде дренирующих операций выявлен ряд осложнений. Среди пациентов, которые перенесли наружное дренирование ЖВП и желчного пузыря в послеоперационном периоде у 2 (1,1 %) пациентов развилось кровотечение по дренажу в связи со случайной его тракцией. Миграция дренажа наблюдалась у 5 (2,6 %) больных. Среди пациентов, которым сразу выполнена наружно-внутренняя холангиостомия, у 17 (18,3 %) развились явления холангита, при этом у 3 (3,2 %) гнойный холангит выявлен при выполнении ПДР. У 8 (8,6 %) выявлена миграция дренажа, у 3 (3,2 %) – кровотечение по дренажу в связи с его тракцией. У пациентов, перенесших дренирование желчных протоков в два этапа, выявлены следующие осложнения: холангит наблюдался у 3 (3,2 %) больных, миграция дренажа – у 5 (5,4 %), кровотечение по дренажу у 4 (%). Таким образом, общее число осложнений у больных первой и второй группы составило 7 (3,7 %) против 36 (38,7 %) соответственно ($p < 0.05$). Со всеми выявленными осложнениями удалось справиться консервативно, без повторного дренирования желчных путей. Во всех случаях выполнено адекватное дренирование желчных протоков с достижением нормобилирубинемии.

Выводы. Наиболее эффективным методом билиарной декомпрессии ЖВП при механической желтухе опухолевого генеза является наружная чрескожно-чреспеченочная холангиостомия. При невозможности выполнения панкреатодуоденальной резекции или при ее отсрочке рекомендовано проводить смену дренажа на наружно-внутренний.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Seldinger S.I.* A simple method of catheterization of the spleen and liver. *Acta radiol.* 1957; 48–93.
2. *Wiechel K.L.* Percutaneous transhepatic cholangiography. *Acta Chir. Scand. Suppl.*, 1964; 330: 1–99.
3. *Ившин В.Г.* Устройство для чрескожного дренирования полостных образований. *Хирургия.* 1998; 8: 49–50.
4. *Ившин В.Г., Лукичев О.Д., Андреев Ю.Г.* Устройство для чрескожного дренирования полостных образований. Патент на изобретение RU 2221505.
5. *Ившин В.Г., Андреев Ю.Г., Ившин М.В., Ларин С.А., Куртанасов Я.П.* Устройство для чрескожной пункции и дренирования полостных образований. Патент на полезную модель RU 98111.
6. *Гальперин Э.И., Ветшев П.С.* Руководство по хирургии желчных путей. М.: Видар, 2006. 560.
7. *Белокуров С.Ю., Могутов М.С., Потапов М.П., Якубова Р.Р.* Постнекротические кисты поджелудочной железы и их осложнения. Ярославль: ТПУ, 2003. 224.

СОДЕРЖАНИЕ

Аверьянов А.В. Антитела к бензо[а]пирену, эстрадиолу, прогестерону и риск развития колоректального рака.....	6
Адлейба С.Т., Козония Л.М., Сидоров А.В. Оптимизация фармакотерапии больных гастроинтестинальными стромальными опухолями	9
Аксенов С.А., Рябов А.Б., Колобаев И.В., Хомяков В.М., Черемисов В.В. Малоинвазивная хирургия неэпителиальных опухолей пищевода	12
Алифанов В.В., Таширева Л.А., Геращенко Т.С. Анализ экспрессии генов, сопряженных с LIMCH1, в различных морфологических структурах инвазивной карциномы неспецифического типа молочной железы	13
Аубакиров М.И., Добрыгина М.А., Красных А.А., Милойчикова И.А., Стахова О.М., Старцева Ж.А., Тургунова Н.Д. Оценка дозовых нагрузок послеоперационного сочетанного курса лучевой терапии рака эндометрия	16
Ахтемзянов А.Р., Корытова Л.И., Корытов О.В., Мешечкин А.В., Олтаржевская Н.Д., Гусев И.В., Мешечкина В.Г. Ректальное введение химиотерапевтических средств при проведении неоадьювантной химиолучевой терапии местнораспространенного рака прямой кишки	20
Базлов В.А., Павлов В.В., Мамуладзе Т.З., Ефименко М.В., Пронских А.А., Панченко А.А. Замещение дефектов костной ткани индивидуальными имплантатами. Первые результаты	23
Белевич Ю.В., Дудникова Е.А., Гончарова Н.М. Неоадьювантная химиотерапия в комбинированном лечении больных раком гортани и гортаноглотки	25
Белозерова А.В., Болтрушевич М.О. Связь уровня экспрессии генов белков, ассоциированных с клеточной подвижностью, с развитием рака гортани и гортаноглотки ...	28
Бельская Л.В. Активность метаболических ферментов слюны при опухолях головы и шеи	30
Болтрушевич М.О., Белозерова А.В. Оценка прогностической значимости экспрессии генов белков клеточной подвижности у больных раком гортани и гортаноглотки после комбинированной терапии	34
Брагина О.Д., Зельчан Р.В., Ларькина М.С., Шелихова Е.А. Использование альтернативных каркасных белков в направленной радионуклидной диагностике злокачественных образований с гиперэкспрессией Her2/neu	36
Бузенкова А.В., Таширева Л.А., Савельева О.Е., Завьялова М.В. Состав опухолевой ниши, способствующей гематогенному метастазированию инвазивной карциномы молочной железы неспецифического типа	39
Важенина И.И., Терешин О.С., Афанасьева Н.Г., Булынский Д.Н., Мигранова Н.В., Удовиченко И.В., Самылов В.В. Применение методики биопсии сигнальных лимфатических узлов при раннем раке молочной железы. Собственный опыт ГБУЗ ЧОКЦОиЯМ	42
Вернадский Р.Ю. Сцинтимаммография в томографическом режиме с 99mTc-МИБИ	44
Вертинский А.В., Сухих Е.С., Сухих Л.Г. Трёхмерная оценка влияния технических параметров VMAT планов на эффективность гипофракционированной стереотаксической лучевой терапии рака предстательной железы	46
Виндиза Ф.Р., Рябов А.Б., Черемисов В.В., Хомяков В.М., Вашакмадзе Л.А., Колобаев И.В., Чайка А.В., Соболев Д.Д., Кострыгин А.К., Стецюк А.Н., Аксенов С.А. Ангиопластические операции у пациентов с местнораспространенными неорганными забрюшинными опухолями	48
Виноградова Е.В., Александров А.А., Евдокимовская Ю.В., Кононов А.В., Соловьев В.В., Устюгов Я.Ю. Исследование противоопухолевой активности анти-CD19 CAR-T на модели диссеминированной неходжкинской лимфомы с помощью неинвазивной биOLUMИнесцентной визуализации	50
Гавриш К., Нургулиева А., Минигулова Л., Саевенкова Д., Скрипова В., Киямова Р. Нокаун гена RAD50 сенсibiliзирует раковые клетки молочной железы трижды-негативного подтипа к карбоплатину	53

Гелетина Н.С., Кобелев В.С., Бабаянц Е.В., Красильников С.Э., Фэн Л., Пустыльняк В.О., Гуляева Л.Ф. Экспрессия микроРНК, регулирующих онкосупрессор PTEN, в опухолевых тканях эндометрия	57
Гелиашвили Т.М., Важенин А.В., Березовская Т.П., Афанасьева Н.Г., Васильева Е.Б. Сравнение эффективности совмещенной 18F-ФДГ-позитронно-эмиссионной компьютерной томографии и 131I-сцинтиграфии всего тела в выявлении прогрессирования дифференцированного рака щитовидной железы	60
Гольдберг А.В., Васильев Р.В., Белевич Ю.В. Визуализация сторожевых лимфатических узлов при злокачественных опухолях головы и шеи с новым радиофармпрепаратом 99mTc-Алотех	64
Горбунова Е.А., Гасанова Д.М., Караханян А.Р., Янкина Я.А. Оценка влияния предоперационной нутритивной поддержки на течение послеоперационного периода у больных раком желудка	66
Гордеева О.О. Кластерная амплификация гена HER2 как маркер «особой» чувствительности к неоадьювантной анти-HER2 терапии при раке молочной железы II–III стадии	69
Григорьева В.А., Камалова С.И., Коллантай О.В. Фармакологическая стимуляции репаративной регенерации тестикулярной ткани с помощью антиоксидантного воздействия	72
Григорьева А.А., Красных А.А., Милойчикова И.А., Черепенников Ю.М., Стучебров С.Г. Создание трехмерных моделей индивидуальных коллиматоров для гамма-терапевтических аппаратов	76
Далгатова П.О., Магомедов О.М., Магомедова П.О., Гитинамагомедова Р.А., Магомедов Г.М. Дисгормональные гиперплазии узловатого типа в Дагестане – заболеваемость	79
Дайнеко Я.А., Березовская Т.П., Невольских А.А., Шаевладзе З.Н. Оценка эффективности неоадьювантной химиолучевой терапии рака прямой кишки на основе текстурного анализа T2-взвешенных МРТ изображений	83
Дерюшева И.В., Цыганов М.М., Ибрагимова М.К., Казанцева П.В. Феномен генетического «замирания» в опухоли молочной железы в процессе проведения неоадьювантной химиотерапии	86
Димча А.А., Юнусова Н.В., Афанасьев С.Г. Колоректальный рак на фоне метаболического синдрома. Клинико-морфологические особенности опухолевого процесса	88
Дронова Т.А., Паталаяк С.В. Основные компоненты EGFR/PI3K/Akt – сигнального пути как потенциальные маркеры прогноза и эффективности тамоксифена у больных раком молочной железы	91
Дудникова Е.А., Данилова А.В., Гончарова Н.М. Однофотонная эмиссионная компьютерная томография с 99mTc-1-тио-D-глюкозой в диагностике и стадировании лимфом	94
Ермоленко Р.В., Фролова И.Г., Тузиков С.А., Величко С.А., Миллер С.В., Ефтеев Л.А. Оценка эффективности химиотерапии у больных с метастатическим поражением печени при колоректальном раке на основании данных компьютерной томографии	96
Замбалова Е.А., Димча А.А., Патышева М.Р. Субпопуляционный состав экзосом при метастатическом и неметастатическом колоректальном раке	100
Зельчан Р.В., Брагина О.Д., Шелихова Е.А. Изучение возможности применения нового радиофармацевтического препарата «Глюкосцинт» в диагностике опухолей головного мозга методом однофотонной эмиссионной компьютерной томографии	103
Зикирходжаев А.Д., Пикин О.В., Волченко Н.Н., Колбанов К.И., Ефанов В.В., Бармин В.В., Суркова В.С., Босиева А.Р. Редкое клиническое наблюдение хирургического лечения гигантского метатипического рака кожи передней грудной стенки с закрытием дефекта множественными перемещёнными кожно-мышечными лоскутами	105
Ибрагимова М.К., Цыганов М.М., Дерюшева И.В., Казанцева П.В., Слонимская Е.М., Литвяков Н.В. Значение экспрессии генов стволовости в прогрессировании рака молочной железы	109

Казанцева П.В., Слонимская Е.М., Литвяков Н.В., Цыганов М.М., Ибрагимова М.К. Оптимизация хирургического лечения больных раком молочной железы с учетом генетического ландшафта опухоли	112
Карапетян А.М., Черняев Д.В. Особенности хемилюминесцентного ответа нейтрофилов периферической крови у больных с аденокарциномой желудка	114
Карпов А.А., Ерыгин Д.В. Место лапароскопических хирургических вмешательств у больных местнораспространенным раком прямой кишки после неоадьювантной термомиолучевой терапии	117
Касатова А.И., Кичигин А.И., Сибирцев Р.В., Филлин Н.С. Биологические исследования бор-нейтронозахватной терапии на моделях <i>in vitro</i> и <i>in vivo</i>	119
Кельн А.А., Знобищев В.Г. Трансперинеальная сатурационная биопсия предстательной железы под ультразвуковым контролем	122
Кишкина А.Ю., Очиров М.О. Взаимосвязь рака эндометрия со структурными особенностями метаболического синдрома	124
Ковалев О.И., Богоутдинова А.В., Табакаев С.А., Анисеня И.И., Ситников П.К. Деносумаб в комбинированном лечении Гигантоклеточной опухоли костей	127
Колегова Е.С., Костромицкий Д.Н. Актин-связывающие белки и экспрессия их мРНК при метастазировании немелкоклеточного рака легкого	129
Колесникова М.А., Иванова А.А., Воропаева Е.Н. «Темная материя» гена TP53 при диффузной В-крупноклеточной лимфоме	132
Косовец М.С., Дронова Т.А. Роль рецептора сосудисто-эндотелиального фактора роста II типа (VEGFR2) в прогрессировании эстроген-зависимого рака молочной железы	135
Костромицкий Д.Н. Активность и экспрессия мРНК кальпаинов при немелкоклеточном раке легкого	137
Кострыгин А.К., Рябов А.Б., Хомяков В.М., Черемисов В.В., Новикова О.В., Аксенов С.А., Стецюк А.Н. Хирургические возможности реконструктивно-пластических операций при абдоминальных десмоидных опухолях	139
Ларионова И.В. Цисплатин подавляет скавенджинг-функцию модельных опухолеассоциированных макрофагов <i>in vitro</i>	143
Лопатина К.А., Сафонова Е.А., Рыбалкин О.Ю. Разработка анальгетика нового поколения для онкологической практики	145
Лушникова Н.А., Юрмазов З.А., Слонимская Е.М., Усынин Е.А., Спирина Л.В. Возможности предоперационной таргетной терапии в лечении костных метастазов рака почки	147
Ляпунова Л.С., Таширева Л.А., Завьялова М.В. Прогностическая роль Th2-лимфоцитов при инвазивной карциноме молочной железы неспецифического типа	151
Мальсагова К.А., Изотов А.А., Кайшева А.Л. Иммуноферментный анализ в обнаружении белков, ассоциированных с онкологическими заболеваниями	154
Менькова Е.Н. Разработка новой методики реконструктивно-восстановительного метода хирургического лечения для одномоментного замещения объемных дефектов после радикальных операций по поводу тотального опухолевого поражения наружного носа	157
Мурашев Б.Ю., Аверчук А.С., Сергеева Е.Ю., Рукша Т.Г. Субпопуляции мононуклеарных лейкоцитов крови у пациентов с меланомой кожи	161
Мухамеджанов Р.Х., Тарабановская Н.А., Завьялова М.В., Савельева О.Е. Признаки эпителиально-мезенхимального перехода в атипичной/гибридной популяции опухолевых клеток при раке молочной железы	164
Небова Ю.А., Певзнер А.М., Бычков В.А., Литвяков Н.В. Оценка экологических взаимодействий клеточных линий рака молочной железы <i>in vitro</i>	168
Орехов И.А., Невольских А.А., Ерыгин Д.В., Петров Л.О., Березовская Т.П., Михалева Ю.Ю., Рухадзе Г.О., Почуев Т.П. Комбинированное лечение больных местнораспространенным раком прямой кишки с использованием пролонгированной химиолучевой терапии и консолидирующей химиотерапии	171
Очиров М.О., Кишкина А.Ю. Дооперационное прогнозирование риска лимфогенного метастазирования у больных раком эндометрия I клинической стадии	173

Письменный Д.С., Таширева Л.А., Родионов Е.О., Завьялова М.В., Савельева О.Е. Связь параметров провоспалительного статуса с лимфогенным метастазированием у больных немелкоклеточным раком легкого	176
Поднебеснова Д.В., Лушникова Н.А. Роль белка VHL в развитии светлоклеточного рака почки, связь с метастазированием заболевания	180
Прокопьев А.Э., Красных А.А., Милойчикова И.А., Черепенников Ю.М., Стучебров С.Г. Создание трёхмерной STL модели верхней конечности человека на основе томографических данных	183
Прудникова Я.И., Кручинина М.В., Громов А.А., Генералов В.М., Генералов К.В., Кручинин В.Н., Кручинина Э.В., Шувалов Г.В., Яковина И.Н., Баннова Н.А., Рязузов М.Е. Диагностика колоректального рака: возможности пилотных панелей на основе электрических и вязкоупругих характеристик эритроцитов	186
Родионов Е.О., Цыганов М.М., Дерюшева И.В., Миллер С.В., Ефтеев Л.А., Литвяков Н.В., Тузиков С.А., Силантьева А.А., Маркович В.А. Выживаемость больных немелкоклеточным раком легкого после комбинированного лечения с предоперационной химиотерапией и персонализированным назначением адьювантной химиотерапии	190
Рустамов У.Х., Атабеков С.Н. Особенность клинического течения меланомы кожи конечностей	194
Сальников М.А., Пономарев А.В., Кельн А.А. Хирургическое лечение уротелиального рака верхних мочевых путей	196
Сафонова Е.А., Лопатина К.А., Садрикина Л.А. Возможность снижения повреждающего действия цисплатинсодержащей полихимиотерапии на эпителий тонкого кишечника с помощью полисахаридов <i>Tussilago farfara</i> L	199
Семенов А.В., Гоголин Д.В., Медведева К.Е., Голованова О.Ю. Непосредственные результаты протонной терапии активным сканирующим пучком хордом основания черепа	202
Сердюкова А.А., Кайгородова Е.В. Частота встречаемости полисомии хромосомы 17 при HER2-положительном и HER2-отрицательном раке молочной железы	205
Сиденко Е.А., Какурина Г.В., Коршунов Д.А. Компоненты протеолитической системы при плоскоклеточном раке гортани	207
Ситников П.К., Анисеня И.И., Табакаев С.А., Фролова И.Г., Богоутдинова А.В., Сапунова Л.С., Федоров А.А., Ковалев О.И. Реконструкции пострезекционных дефектов у больных с опухолевым поражением костей	210
Стецюк А.Н., Рябов А.Б., Хомяков В.М., Черемисов В.В., Кузьминов А.М., Кострыгин А.К. Место хирургического лечения больных с десмоидными фибромами интраабдоминальной локализации	212
Табакаев С.А., Фролова И.Г., Слонимская Е.М., Величко С.А., Ситников П.К., Богоутдинова А.В., Анисеня И.И., Сапунова Л.С. Компьютерная томография в оценке эффективности таргетной терапии деносумабом у пациентов с гигантоклеточной опухолью кости	215
Таскаева Ю.С., Бгатова Н.П., Соловьева А.О. Влияние карбоната лития и рапамицина на развитие аутофагии в клетках гепатоцеллюлярной карциномы-29 <i>in vitro</i>	217
Трищенко С.Ю., Невольских А.А., Петров Л.О., Ерыгин Д.В., Рухадзе Г.О., Михалева Ю.Ю., Почуев Т.П. Несостоятельность анастомоза после передней резекции: частота, факторы риска, отдаленные результаты	220
Трофимчук Л.Ю., Афанасьева Н.Г., Субботин А.С. Сравнение методик оценки динамики лечения неходжкинских лимфом высокой степени злокачественности по данным позитронной эмиссионной томографии	222
Тургунова Н.Д., Алейник А.Н., Великая В.В., Старцева Ж.А. Применение холодной плазмы на основе барьерного разряда для инактивации микроорганизмов	225
Урмонов У.Б., Добродеев А.Ю., Афанасьев С.Г. Современные подходы к лечению местнораспространенного рака пищевода	227
Филонова М.В., Федорова Е.П., Чурин А.А. Изучение показателей гемостаза аутбредных мышей на фоне действия цисплатина	231

Хабалова Т.С., Кащенко Э.А. Влияние трансплантации мезенхимальных стромальных клеток и ими продуцируемых микровезикул на содержание Т-клеток памяти и Т-регуляторных клеток в модели хронической почечной недостаточности мышей	234
Цыганов М.М., Ибрагимова М.К., Дерюшева И.В., Чуруксаева О.Н., Коломиец Л.А., Литвяков Н.В. Значение статуса вируса папилломы человека и его геномной интеграции в прогрессировании рака шейки матки	237
Цымпилов В.С., Виноградова Е.В., Александров А.А., Устюгов Я.Ю., Кононов А.В., Евдокимовская Ю.В., Соловьев В.В. Мышиная модель лимфомы бёркитта с переносом человеческих натуральных киллеров для исследования противоопухолевой активности терапевтических антител	240
Черняев Д.В., Белькевич П.В., Дашано Д.О. Изучение показателей активности НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах периферической крови у больных почечно-клеточным раком	244
Щеголева А.А., Денисов Е.В., Геращенко Т.С., Ляпунова Л.С., Скрябин Н.А., Панкова О.В., Перельмутер В.М. Экспрессионный профиль морфологических изменений бронхиального эпителия, предшествующих плоскоклеточному раку лёгкого	247
Шкурупий М.С., Исмаилова А.А., Красных А.А., Милойчикова И.А., Черепенников Ю.М., Стучебров С.Г. Изготовление изделий с заданными КТ-индексами	249
Шпилева О.В., Коновалов А.И. Комбинированное лечение местнораспространенного рака шейки матки в условиях локальной гипертермии	252
Эргашев И.У., Урунов О.И., Абдусатторов Р.А., Хаитов Д.Х., Турсунова Н.И. Билиарная декомпрессия при раке гепатопанкреатобилиарной зоны, осложненном механической желтухой	254

Автоматизированная система клеточного имиджинга Lionheart™, Cytation™



Получение и анализ изображений происходит в автоматическом режиме с моментальным формированием результатов.

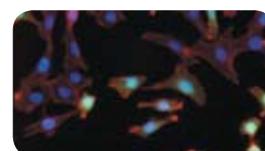
Компактные системы, включающие в себя полностью автоматизированный инвертированный микроскоп, инкубатор и камеру влажности.

Характеристики:

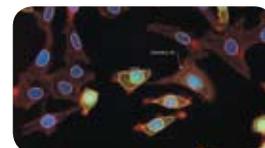
- увеличение до 100x
- до 6 объективов одновременно
- 4 канала флуоресценции (более 15 цветов)
- светлое поле (цветное и ч/б), фазовый контраст
- лазерный автофокус
- внесение реагентов для быстротекающих процессов
- контроль содержания CO₂/O₂ и камера влажности
- программное обеспечение для получения и анализа данных Gen5™

Область применения:

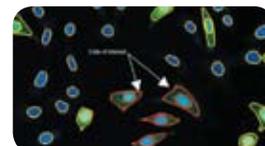
- исследование цитотоксичности
- исследование кальциевого ответа
- изучение пролиферации клеток, апоптоза
- исследование клеточных фенотипов
- изучение клеточной миграции и инвазии
- изучение дифференцировки стволовых клеток
- исследования трехмерных моделей и 3D сфероидов



Захват изображения



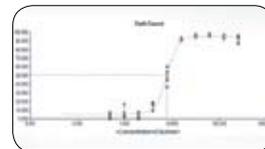
Обработка изображения



Создание примечаний



Запись видео



Анализ

Официальный дистрибьютер BioTek Instruments (США) в России — компания «БиоЛайн»



группа компаний

ООО «БиоЛайн»

Россия, 197101,
Санкт-Петербург
Пинский пер., д. 3, Лит. А
тел.: +7 (812) 320 49 49
факс: +7 (812) 320 49 40
e-mail: main@bioline.ru
www.bioline.ru

Москва, тел.: +7 (800) 555 49 40
Новосибирск, тел.: +7 (383) 227 09 63
Екатеринбург, тел.: +7 (343) 287 32 49
Владивосток, тел.: +7 (423) 201 18 08
Н. Новгород, тел.: +7 (831) 278 61 47
Ростов-на-Дону, тел.: +7 (863) 268 99 32
Казань, тел.: +7 (843) 570 66 88

Единый бесплатный номер сервисной службы для всех регионов России: 8 800 333 00 49

Биохимические реактивы, оборудование и расходные материалы Life Sciences



Исследования в онкологии:

- клеточные культуры
- секвенирование генома
- профилирование экспрессии РНК
- кПЦР
- многопараметрический скрининг
- проточная цитометрия
- вестерн-/иммуноблоттинг
- профилирование киназ



ThermoFisher SCIENTIFIC



Мы можем предоставить демоверсии приборов в вашу лабораторию!

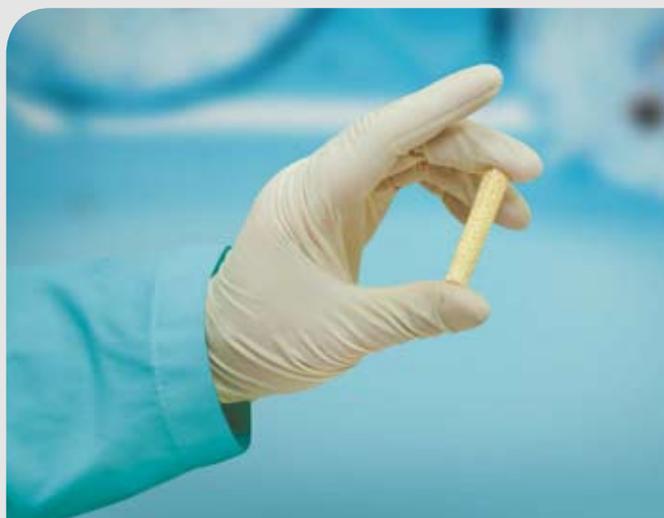
Москва, 115230, Каширское шоссе, д. 9, корп. 3. Тел.: +7 (495) 728 4192, e-mail: bio@chimmed.ru
 Санкт-Петербург, 195248, просп. Энергетиков, д. 19, оф. 314. Тел.: +7 (812) 605 0061, e-mail: spb@chimmed.ru
 Казань, 420081, ул. Седова, д. 22. Тел.: +7 (843) 273 6761, 272 9786, e-mail: kazan@chimmed.ru
 Новосибирск, 630090, просп. Академика Лаврентьева, 6/1. Тел.: +7 (383) 335 6108, e-mail: sibir@chimmed.ru

Тахокомб[®]

Оригинальное гемостатическое средство на основе фибриногена, тромбина и коллагена

Показания к применению:

- Улучшение гемостаза, обеспечение соединения тканей¹
- Укрепление швов в сосудистой хирургии¹
- Герметизация твёрдой мозговой оболочки с целью профилактики ликвореи¹
- Создание герметичности при хирургических вмешательствах на лёгких¹



1. Инструкция по применению лекарственного препарата для медицинского применения Тахокомб[®].

Сокращённая информация по применению. **Торговое наименование:** Тахокомб[®].

Активные вещества: фибриноген 5,5 мг, тромбин 2 МЕ. **Лекарственная форма:** Губка. **Показания к применению:** Тахокомб[®] показан для вспомогательного применения у взрослых при хирургических вмешательствах с целью улучшения гемостаза, обеспечения соединения тканей, а также для укрепления швов в сосудистой хирургии тогда, когда результаты стандартных методов недостаточны, и для улучшения герметизации твёрдой мозговой оболочки с целью профилактики ликвореи после нейрохирургических вмешательств. Тахокомб[®] может использоваться для создания герметичности при хирургических вмешательствах на лёгких. **Способ применения и дозы:** Только для местного применения. Тахокомб[®] следует наносить на хирургические раневые поверхности в стерильных условиях. Перед наложением губки раневая поверхность должна быть очищена от крови, дезинфицирующих и других жидкостей. После извлечения плоской губки Тахокомб[®] из внутренней стерильной упаковки губку следует смочить 0,9% раствором натрия хлорида и применить немедленно. После извлечения скрученной губки Тахокомб[®] из внутренней стерильной упаковки её следует наложить немедленно, проведя через троакар без предварительного увлажнения. При раскручивании губку накладывают стороной жёлтого цвета, покрытой активными веществами, на раневую поверхность с помощью пинцета, при необходимости дополнительно смачивают 0,9% раствором натрия хлорида и слегка прижимают влажной салфеткой в течение 3–5 минут. Скрученная форма может применяться и при открытых, и при минимально инвазивных вмешательствах, её можно провести через порт или троакар диаметром 10 мм или больше. При нейрохирургических операциях Тахокомб[®] следует наносить поверх первичного закрытия твёрдой мозговой оболочки. **Противопоказания:** Тахокомб[®] нельзя применять интраваскулярно; повышенная чувствительность к любому из компонентов препарата; дети младше 18 лет. **Побочные реакции:** в редких случаях – реакции гиперчувствительности или аллергические реакции. Частота неизвестна – анафилактический шок, гиперчувствительность, тромбоз, обтурационная кишечная непроходимость, илеус, спайки. Полный перечень побочных эффектов содержится в инструкции по медицинскому применению. **Особые указания:** Не использовать интраваскулярно. При интраваскулярном применении могут возникнуть тромбоземболические осложнения. Для профилактики образования спаек в нежелательных местах перед нанесением препарата Тахокомб[®] необходимо убедиться, что ткани за пределами места нанесения достаточно очищены. В случае развития шока должна проводиться неотложная терапия по стандартным алгоритмам.

Полная информация по препарату содержится в инструкции по медицинскому применению.

ООО «Тakeda Фармасьютикалс»: ул. Усачёва, 2, стр. 1, 119048, Москва, т.: +7 (495) 933 5511, 502 1626, ф.: (495) 502 1625. www.takeda.com.ru.

Информация для специалистов здравоохранения. Рег. уд. МЗ РФ: П № 012888/01 от 19.12.2007.

Перед применением ознакомьтесь с инструкцией. Имеются противопоказания.

Дата выхода рекламы: апрель 2019 г.

RU/ACFT/0818/0015

3,000+
сотрудников
2001
70+ год основания
филиалов



Р-ФАРМ
Инновационные
технологии
здоровья

Исследования
и разработки

Производство

Маркетинг

Дистрибуция

на правах рекламы

Группа компаний «Р-Фарм» – один из лидеров российского фармацевтического рынка. Штат – более 3000 высококвалифицированных специалистов.

Группа компаний работает на всей территории Российской Федерации, в странах СНГ, США, Германии, Японии и других.

«Р-Фарм» специализируется на исследованиях и разработке, производстве высокотехнологичных лекарственных средств, а также поставках лабораторного оборудования и медицинской техники.

www.r-pharm.com

КАЖДЫЙ ДЕНЬ –
НОВЫЙ ШАГ
К ПОБЕДЕ



Вектибикс СИЛА
(панитумумаб) ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОЙ
ТЕРАПИИ

✓ **ОБЩАЯ
ВЫЖИВАЕМОСТЬ**

Медиана общей выживаемости составила 26 месяцев в исследовании 3 фазы PRIME (по сравнению с 20,2 месяца в группе только FOLFOX), медиана **41,3 месяца** в исследовании 2 фазы PEAK* (по сравнению с 28,9 мес. в группе бевацизумаб+FOLFOX) (ретроспективный анализ), медиана 45,8 месяца в исследовании 2 фазы PLANET^{1,2,4}

✓ **РАННЕЕ УМЕНЬШЕНИЕ
ОБЪЕМА ОПУХОЛИ**

Значимое уменьшение объема опухоли на $\geq 30\%$ по сравнению с режимом FOLFOX к 8 неделе терапии в исследовании PRIME²¹

✓ **ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНАЯ
ЭФФЕКТИВНОСТЬ**

Преимущества по конечным точкам для пациентов с мКРР с диким типом генов RAS, получающих в первой линии Вектибикс с режимами FOLFOX и FOLFIRI^{1,2,41}

Рассмотрите возможность применения Вектибикса у Ваших пациентов с мКРР с генами RAS дикого типа в качестве терапии 1 линии, когда эффективность действительно имеет значение

*PEAK – исследование 2 фазы, формального тестирования гипотез не планировалось. ²¹Данные представлены из проспективно-ретроспективного анализа исследований PRIME и PEAK, который включал только пациентов с мКРР с диким типом генов RAS. ^{1,2}FOLFOX – химиотерапевтический режим, включающий 5-фторурацил, лейковорин и оксалиплатин. FOLFIRI – химиотерапевтический режим, включающий 5-фторурацил, лейковорин, иринотекан; ОБ – общая выживаемость; мКРР – метастатический колоректальный рак.

Литература: 1. Douillard J-Y et al. N Engl J Med 2013;369:1023–1034. 2. Schwartzberg L et al. J Clin Oncol 2014;32:2240–2247. 3. Douillard J-Y et al. Ann Oncol 2013;24(Suppl 4):iv32–iv33. (poster discussion PD – 0024). 4. Abad A et al. Ann Oncol 2014;25(suppl 4):iv189 (poster 551P).

Номер материала: RU-P-954-1217-058981

Дата подготовки материала: Декабрь 2017

ПОЖАЛУЙСТА, ОЗНАКОМЬТЕСЬ С ПОЛНОЙ ИНСТРУКЦИЕЙ ПО ПРИМЕНЕНИЮ ПЕРЕД НАЗНАЧЕНИЕМ ПРЕПАРАТА.

ООО «Амджен»
123317, Москва, Пресненская набережная, д.8,
строение 1, 7-й этаж
Тел: +7 (495) 745 04 78
Факс: +7 (499) 995 19 65

AMGEN®

На основании распоряжения Правительства Российской Федерации от 23 октября 2017 года № 2323-р препарат панитумумаб вошел в перечень ЖНВЛП и ОНЛП. Документ вступает в силу с 01 января 2018 года.

ПАРТНЕРЫ КОНФЕРЕНЦИИ



Некоммерческая организация
«Ассоциация
онкологических организаций
Сибири и Дальнего Востока»



СИБИНТЕРФАРМ



Bristol-Myers Squibb



astellas



MSD



Boehringer
Ingelheim

AMGEN®

B | BRAUN

SHARING EXPERTISE

BIOSCAD

Biotechnology Company

АстраЗенека



ХИММЕД

SANOFI



vegorpharm



Takeda

MERCK



P-ФАРМ

Инновационные
технологии
здоровья

MERTMEDICAL | EMEA

NUTRICIA
Advanced Medical Nutrition

BioLine

группа компаний

HARTMANN

Luminex®

complexity simplified.