

ISSN 0507-3758

ЖУРНАЛ ВХОДИТ В ПЕРЕЧЕНЬ
РЕЦЕНЗИРУЕМЫХ НАУЧНЫХ ИЗДАНИЙ ВАК

ВОПРОСЫ ОНКОЛОГИИ

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

3-2021

TOM 67 VOL. 67

PROBLEMS
IN ONCOLOGY

VOPROSY ONKOLOGII

ВОПРОСЫ ОНКОЛОГИИ

ТОМ 67 – 2021

3

*Журнал входит в перечень рецензируемых научных изданий ВАК,
в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание
ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук*

ВОПРОСЫ ОНКОЛОГИИ

3

ТОМ 67
2021

Problems in oncology / Voprosy onkologii

ОСНОВАН В ЯНВАРЕ 1955 ГОДА



УЧРЕДИТЕЛЬ

**Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации**

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Главный редактор С.В. КАНАЕВ

Заместитель главного редактора В.Г. ЛЕМЕХОВ

Ответственные секретари Л.М. БЕРШТЕЙН, И.И. СЕМЕНОВ

А.М. Беляев (д-р мед. наук, проф.) (Санкт-Петербург), Г.И. Гафтон (д-р мед. наук, проф.) (Санкт-Петербург), М.И. Давыдов (д-р мед. наук, проф., академик РАН) (Москва), Е.В. Демин (д-р мед. наук) (Санкт-Петербург), М.А. Забежинский (д-р мед. наук) (Санкт-Петербург), А.Д. Каприн (д-р мед. наук, проф., академик РАН) (Москва), О.И. Кит (д-р мед. наук, проф., чл.-корр. РАН) (Ростов-на-Дону), Г.М. Манихас (д-р мед. наук, проф.) (Санкт-Петербург), Ю.А. Пунанов (д-р мед. наук, проф.) (Санкт-Петербург), В.В. Семиглазов (д-р мед. наук, проф.) (Санкт-Петербург), В.Ф. Семиглазов (д-р мед. наук, проф., чл.-корр. РАН) (Санкт-Петербург), В.А. Солодкий (д-р мед. наук, проф., академик РАН) (Москва), Ю.С. Сидоренко (д-р мед. наук, проф., академик РАН) (Ростов-на-Дону), Э.Г. Топузов (д-р мед. наук, проф.) (Санкт-Петербург), А.Ф. Урманчеева (д-р мед. наук, проф.) (Санкт-Петербург), В.П. Харченко (д-р мед. наук, проф., академик РАН) (Москва), В.И. Чиссов (д-р мед. наук, проф., академик РАН) (Москва), Е.Л. Чойнзонов (д-р мед. наук, проф., академик РАН) (Томск), А.М. Щербаков (д-р мед. наук, проф.) (Санкт-Петербург)

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Р.А. Абдылдаев (Бишкек), Д.А. Алиев (Баку), Ж.А. Арзыкулов (Алматы), Р.О. Гагуа (Тбилиси), А.М. Галстян (Ереван), И.В. Залуцкий (Минск), Д.З. Зикирходжаев (Душанбе), Д.А. Коваленко (Мурманск), В.А. Косов (Сыктывкар), А.Ф. Лазарев (Барнаул), С.Н. Наврузов (Ташкент), В.М. Репин (Киров), Л.Д. Роман (Санкт-Петербург), Н.В. Румянцев (Омск), М.Ф. Софрони (Кишинев), В.Г. Черенков (Великий Новгород), В.Ф. Чехун (Киев), Р.Ш. Хасанов (Казань), И. Б. Щепотин (Киев)

Журнал входит в рекомендованный ВАК РФ перечень рецензируемых научных журналов и изданий для опубликования основных научных результатов диссертаций

Журнал зарегистрирован Федеральной службой по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций (Роскомнадзор)

Свидетельство о регистрации СМИ—ПИ № ФС77 47156 от 3 ноября 2011 г.

Порядковый номер журнала: 611. Подписано в печать: 20.06.2021 г. Дата выхода в свет: 30.06.2021 г.

Тираж 160 экз. Цена свободная. Рассылается по подписке. Подписной индекс по каталогу агентства «Роспечать» - 70152 (полугодичная подписка для физ. лиц), 70277 (полугодичная подписка для юр. лиц), 47487 (годовая подписка для всех).

Рукописи принимаются по адресу: **197758, г. Санкт-Петербург, а/я 8**

Адрес редакции: 197758, Россия, г. Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, дом 68

Электронный адрес журнала: journal@voprosyonkologii.ru. Сайт журнала: <http://voprosyonkologii.ru>

Издатель—АННМО «Вопросы онкологии»

Тел./факс (812) 596-89-47, e-mail: annmo@rion.spb.ru, www.niioncologii.ru

Адрес издателя: 197758, Россия, г. Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, дом 68

Все права защищены. Полное или частичное воспроизведение материалов, опубликованных в журнале, допускается только с письменного разрешения редакции.

Редакция не несет ответственности за содержание рекламных материалов.

Отпечатано в ООО ИПП «Издательство Ладога», СПб., ул. Пестеля, д. 13/15, литера Б, пом 6Н

FOUNDER

The Federal State Budget Institution "N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology" of the Ministry of Public Health of Russian Federation

EDITORIAL BOARD

Editor-in-Chief S.V. KANAIEV (Dr. Med. Sc., Prof.)

Deputy Editor-in-Chief V.G. LEMEKHOV (Dr. Med. Sc., Prof.)

Executive Secretaries L.M. BERSTEIN (Dr. Med. Sc., Prof.), I.I. SEMENOV (Dr. Med. Sc., Prof.)

A.M. Belyaev (Dr. Med. Sc., Prof.) (*Saint Petersburg*), G.I. Gafton (Dr. Med. Sc., Prof.) (*Saint Petersburg*), M.I. Davydov (Dr. Med. Sc., Prof., Acad RAS) (*Moscow*), E.V. Demin (Dr. Med. Sc., Prof.) (*Saint Petersburg*), M.A. Zabezhinsky (Dr. Med. Sc.) (*Saint Petersburg*), A.D. Kaprin (Dr. Med. Sc., Prof., Acad. RAS) (*Moscow*), O.I. Kit (Dr. Med. Sc., Prof., Ass. Member RAS) (*Rostov-on-Don*), G.M. Manikhas (Dr. Med. Sc., Prof.) (*Saint Petersburg*), Yu.A. Punanov (Dr. Med. Sc., Prof.) (*Saint Petersburg*), V.V. Semiglazov (Dr. Med. Sc., Prof.) (*Saint Petersburg*), V.F. Semiglazov (Dr. Med. Sc., Prof., Ass. Member RAS) (*Saint Petersburg*), Yu.S. Sidorenko (Dr. Med. Sc., Prof., Acad RAS) (*Rostov-on-Don*), V.A. Solodky (Dr. Med. Sc., Prof., Acad. RAS) (*Moscow*), E.G. Topuzov (Dr. Med. Sc., Prof.) (*Saint Petersburg*), A.F. Urmancheeva (Dr. Med. Sc., Prof.) (*Saint Petersburg*), V.P. Kharchenko (Dr. Med. Sc., Prof., Acad. RAS) (*Moscow*), V.I. Chissov (Dr. Med. Sc., Prof., Acad. RAS) (*Moscow*), E.L. Choinzonov (Dr. Med. Sc., Prof., Acad. RAS) (*Tomsk*), A.M. Shcherbakov (Dr. Med. Sc., Prof.) (*Saint Petersburg*)

EDITORIAL COUNCIL

R.A. Abdyldaev (Bishkek), D.A. Aliev (Baku), Zh.A. Arzykulov (Almaty), R.O. Gagaa (Tbilisi), A.M. Galstyan (Yerevan), I.V. Zalutsky (Minsk), D.Z. Zikiryakhodzhaev (Dushanbe), D.A. Kovalenko (Murmansk), V.A. Kosov (Syktyvkar), A.F. Lazarev (Barnaul), S.N. Navruzov (Tashkent), V.M. Repin (Kirov), L.D. Roman (Saint Petersburg), N.V. Rumyantsev (Omsk), M.F. Sofrony (Kishinev), V.G. Cherenkov (Veliky Novgorod), N.F. Chekhun (Kiev), R.Sh. Khasanov (Kazan), I.B. Shchepotin (Kiev)

The journal is included in the recommended by the Highest Attestation Commission's list of peer-reviewed scientific journals and editions for the publication of major scientific results of dissertations

The journal is registered by the Federal Service for Supervision of Communications, information technologies and mass communications

The Certificate of registration № ФС77 47156 of November 3, 2011

Serial number: 611. Signed to print: 20.06.2021. Published by: 30.06.2021.

The circulation is 160 copies. Free price. Distribution by subscription. The Catalog Agency «Rospechat»'s index is 70152 (semiannual subscription for physical persons), 70277 (semiannual subscription for juridical persons) and 47487 (annual subscription for all)

Manuscripts are accepted at mail address **197758, St. Petersburg, box 8** and email address of the journal: **journal@voprosyonkologii.ru**

Editorial office address: 197758, Russia, St.Petersburg, Pesochny village, 68 Leningradskaya street.

e-mail: journal@voprosyonkologii.ru. website: <http://voprosyonkologii.ru>

Publisher — «Problems in Oncology»

Tel./Fax (812) 596-89-47, e-mail: annmo@rion.spb.ru www.niioncologii.ru

All rights reserved. Total or partial reproduction of the materials published in the journal is allowed only with the written permission of the publisher.

We take no responsibility for the contents of advertising materials.

Printed in «Publisher Ladoga», St. Petersburg, 13/15, Pestel Street., B, rm. 6H

СОДЕРЖАНИЕ

CONTENTS

Обзоры

Слугин Е.Н., Левченко Е.В., Имянитов Е.Н., Лопушанская О.О.
Оценка роли мутации EGFR при определении тактики хирургического лечения немелкоклеточного рака легкого

Арсеньев А.И., Новиков С.Н., Канаев С.В., Барчук А.А., Антипов Ф.Е., Зозуля А.Ю., Мельник Ю.С., Гагуа К.Э., Неведов А.О., Тарков С.А., Аристидов Н.Ю.
Перспективы использования стереотаксической лучевой терапии при первичных и олигометастатических опухолевых поражениях лёгких

Куликов Е.П., Мерцалов С.А., Григоренко В.А.
Генетический статус пациентов при колоректальном раке

Эберт М.А., Гафтон Г.И., Новиков С.Н., Федосова Е.А., Зиновьев Г.В.
Комбинированное лечение сарком мягких тканей

Нехаева Т.Л., Карпов А.Е., Пипиа Н.П.
Поиск иммунотерапевтических мишеней в онкологии при формировании иммунного синапса

Грибкова И.В., Завьялов А.А.
Терапия Т-лимфоцитами с химерным антигенным рецептором (CAR) В-клеточной неходжкинской лимфомы: возможности и проблемы

Статистика

Мерабишвили В.М., Юркова Ю.П., Щербаков А.М., Левченко Е.В., Барчук А.А., Кротов Н.Ф., Мерабишвили Э.Н.
Рак легкого (С33, 34). Заболеваемость, смертность, достоверность учета, локализационная и гистологическая структура (популяционное исследование)

Оригинальные статьи

А. Клинические исследования

Брагина О.Д., Чернов В.И., Таширева Л.А., Зельчан Р.В., Медведева А.А., Лукина Н.М., Гольдберг В.Е., Толмачев В.М.
Определение наиболее информативных прогностических параметров для оценки статуса рецептора эпидермального фактора роста Her2/neu в основном опухолевом узле у больных раком молочной железы при использовании таргетного радионуклидного препарата «99mTc-ADAPT6»

Ортабаева Д.Р., Зикиряходжаев А.Д., Рассказова Е.А., Сарибекян Э.К., Хакимова Ш.Г., Бересток Т.С.
Использование ксеноперикарда в реконструктивной хирургии у больных раком молочной железы

Reviews

315 Slugin E.N., Levchenko E.V., Imyanitov E.N., Lopushanskaya O.O.
The role of EGFR mutation testing in the choice for surgical tactics in NSCLC treatment

323 Arseniev A.I., Novikov S.N., Kanaev S.V., Barchuk A.A., Antipov F.E., Zozulya A.Yu., Melnik Yu.S., Gagua K.E., Nefedov A.O., Tarkov S.A., Aristidov N.Y.
Perspectives of stereotactic radiotherapy in primary and oligo-metastatic pulmonary tumors

332 Kulikov E.P., Mertsalov S.A., Grigorenko V.A.
Genetic status of patients with colorectal cancer

338 Ebert M.A., Gafton G.I., Novikov S.N., Fedosova E.A., Zinovev G.V., Kanaev S.V., Gafton I.G., Sinyachkin M.S.
Combined treatment of soft tissue sarcomas

344 Nekhaeva T.L., Prosekina E.A., Pipia N.P.
Searching for immunotherapeutic targets in oncology during immune synapse formation

350 Gribkova I.V., Zavyalov A.A.
Chimeric antigen receptor T-cell therapy for B-cell non-Hodgkin lymphoma: opportunities and challenges

Statistics

361 Merabishvili V.M., Yurkova Yu.P., Shcherbakov A.M., Levchenko E.V., Barchuk A.A., Krotov N.F., Merabishvili E.N.
Lung cancer (C33, 34). Morbidity, mortality, accuracy of registration, localization and histological structure (population study)

Original research

A. Clinical research

368 Bragina O.D., Chernov V.I., Tashireva L.A., Zelchan R.V., Medvedeva A.A., Lukina N.M., Goldberg V.E., Tolmachev V.M.
Determination of the most informative prognostic parameters for assessing the status of the epidermal growth factor receptor Her2/neu in the primary tumor in breast cancer patients using the targeted radiopharmaceutical «99mTc-ADAPT6»

374 Ortabaeva D.R., Zikiryakhodzhayev A.D., Rasskazova E.A., Saribekyan E.K., Khakimova Sh.G., Berestok T.S.
The use of xenopericardium in reconstructive surgery in patients with breast cancer

<p>Ткачев С.И., Алиева С.Б., Медведев С.В., Назаренко А.В., Романов Д.С., Абдухалларов А.С., Ротобельская Л.Е., Борисова Т.Н., Трофимова О.П., Глебовская В.В., Иванов С.М., Федосеенко Д.И., Гришина И.И.</p> <p>Стереотаксическая радиотерапия метастазов рака молочной железы в печени</p>	382	<p>Tkachev S.I., Alieva S.B., Medvedev S.V., Nazarenko A.V., Romanov D.S., Abduzhapparov A.S., Rotobelskaya L.E., Borisova T.N., Trofimova O.P., Glebovskaya V.V., Ivanov S.M., Fedoseenko D.I., Grishina I.I.</p> <p>Stereotactic radiotherapy of breast cancer liver metastases</p>	
<p>Зозуля А.Ю., Балдуева И.А., Новиков С.Н., Гирдюк Д.В., Емельянова Н.В., Тюряева Е.И., Федосова Е.А., Антипов Ф.Е., Арсеньев А.И., Коробова И.А., Гиршович М.М., Канаев С.В., Беляев А.М.</p> <p>Характер изменения иммунного статуса у пациентов с метастатическими формами солидных опухолей, подвергшимся стереотаксической лучевой терапии: зависимость от дозы и количества облученных очагов</p>	391	<p>Zozulya A.Yu., Baldueva I.A., Novikov S.N., Girdyuk D.V., Emelyanova N.V., Tyuryaeva E.I., Fedosova E.A., Antipov F.E., Arseniev A.I., Korobova I.A., M.M. Girshovich, Kanaev S.V., Belyaev A.M.</p> <p>Changes in the immune status of patients with metastatic solid tumors during stereotactic radiation therapy: dependence on dose and amount of irradiated metastasis</p>	
<p>Михетько А.А., Артемьева А.С., Ивко О.В., Ткаченко О.Б., Гринкевич М.В., Сидорова А.Н., Петрик Ю.В.</p> <p>Эндоскопическая эндосонография с тонкоигольной аспирационной биопсией в диагностике опухолей поджелудочной железы</p>	397	<p>Mikhetko A.A., Artemieva A.S., Ivko O.V., Tkachenko O.B., Grinkevich M.V., Sidorova A.N., Petrik U.V.</p> <p>Endoscopic endosonography with fine-needle aspiration biopsy in the diagnosis of pancreatic tumors</p>	
<p>Берштейн Л.М., Иванцов А.О., Иевлева А.Г., Васильев Д.А., Берлев И.В.</p> <p>Лимфоцитарно-макрофагальное заселение при различных молекулярно-биологических типах рака эндометрия: сопоставление с рецепторным статусом и пролиферативной активностью опухолевой ткани</p>	405	<p>Berstein L.M., Ivantsov A.O., Iyevleva A.G., Vasilyev D.A., Berlev I.V.</p> <p>Lymphocyte-macrophage colonization in various molecular biological types of endometrial cancer: comparison with the receptor status and proliferative activity of tumor tissue</p>	
<p>Петросян Г.С., Школьник М.И., Кельн А.А., Лыков А.В., Купчин А.В., Иванов Д.А.</p> <p>Динамика изменения почечной функции у пациентов, перенесших радикальную цистростатэктомию с различными вариантами гетеротопического резервуара</p>	411	<p>Petrosyan G.S., Shkolnik M.I., Keln A.A., Lykov A.V., Kupchin A.V., Ivanov D.A.</p> <p>Dynamics of changes in renal function in patients undergoing radical cystoprostatectomy with various variants of heterotopic reservoir</p>	
<p>Масевнин С.В., Пташников Д.А., Левченко Е.В., Заборовский Н.С., Купарадзе И.</p> <p>Соматическая патология как фактор риска задержки оперативного лечения у пациентов с метастатическим поражением позвоночника</p>	416	<p>Masevnin S.V., Ptashnikov D.A., Levchenko E.V., Zaborovskii N.S., Kuparadze I.</p> <p>Somatic pathology as a risk factor for delayed surgical treatment in patients with spinal metastases</p>	
<p>Михайлова С.Н., Козлова В.М., Казубская Т.П., Шарапова Е.В., Юрченко М.Ю., Хестанов Д.Б., Трофимов Е.И., Мехеда Л.В.</p> <p>Злокачественные опухоли у детей с нейрофиброматозом тип 1</p>	421	<p>Mikhaylova S.N., Kozlova V.M., Kazubskay T.P., Sharapova E.V., Yurchenko M.Yu., Khestanov D.B., Trofimov Yu.I., Mekheda L.V.</p> <p>Malignant tumors in children with neurofibromatosis Type 1.</p>	
<p>Оригинальные статьи</p> <p>Б. Экспериментальные исследования</p>		<p>Original research</p> <p>B. Experimental research</p>	
<p>Губарева Е.А., Юрова М.Н., Тындык М.Л., Майдин М.А., Янус Г.А., Егормин П.А., Панченко А.В., Анисимов В.Н.</p> <p>Влияние постоянного освещения и мелатонина на канцерогенез легких, индуцированный уретаном у мышей, и экспрессию часовых генов и белков</p>	430	<p>Gubareva E.A., Yurova M.N., Tyndyk M.L., Maydin M.A., Yanus G.A., Egormin P.A., Panchenko A.V., Anisimov V.N.</p> <p>The effect of constant light and melatonin on urethane-induced lung carcinogenesis in mice and expression of clock genes and proteins</p>	
<p>Зеленский Е.А., Рутто К.В., Соколов А.В., Киселева Е.П.</p> <p>Прием цинка тормозит развитие инволюции тимуса при опухолевом росте у мышей</p>	436	<p>Zelenskiy E.A., Rutto K.V., Sokolov A.V., Kisseleva E.P.</p> <p>Zinc supplementation prevents the development of thymic involution induced by tumor growth in mice</p>	

Е.Н. Слугин, Е.В. Левченко, Е.Н. Имянитов, О.О. Лопушанская

Оценка роли мутации EGFR при определении тактики хирургического лечения немелкоклеточного рака легкого

ФГБУ «НМИЦ онкологии имени Н.Н. Петрова» Минздрава России, Санкт-Петербург

Рак легкого — наиболее часто диагностируемое злокачественное новообразование во всем мире, и в настоящее время уровень смертности от него остается одним из самых высоких. Обнаружение и активное использование EGFR мутации в клиническую практику позволило рассматривать ее в качестве одного из перспективных прогностических факторов. Как уже известно, на протяжении последнего десятилетия мутации гена EGFR являются предиктивным фактором при назначении ингибиторов тирозинкиназы (ИТК EGFR) у пациентов с распространенным немелкоклеточным раком легкого (НМРЛ). Одним из малоизученных вопросов является оценка роли данной мутации в качестве прогностического фактора для пациентов, перенесших хирургическое лечение, в ответ на развитие резистентности, которая развивается при приеме ИТК EGFR. В данном обзоре литературы затронуты ключевые аспекты роли мутации EGFR в качестве фактора, который может влиять на тактику лечения и использования хирургического метода.

Ключевые слова: рак легкого, НМРЛ, ИТК EGFR, EGFR мутация, цДНК, хирургическое лечение, таргетная терапия, резистентность

Рак легкого наиболее часто диагностируется из всех видов онкологических заболеваний и является причиной около 1,8 млн. смертей в год во всем мире [1]. На территории Российской Федерации ежегодно выявляется более 50 000 новых случаев возникновения рака легкого. В течении последнего десятилетия отмечается неуклонный рост показателей заболеваемости раком легкого: в 2008 г. распространенность раком легкого составляла 81,5 человек на 100 тыс. жителей, в 2018 г. этот же показатель составлял 98,0 человек. Ежегодно в России умирает от рака легкого 60 000 человек [2].

В настоящее время, хирургический метод является наиболее радикальным методом терапии НМРЛ. К сожалению, удельный вес радикально оперированных больных составляет не более 13–18% от впервые выявленных случаев РЛ. У 70–85% пациентов с НМРЛ на момент установ-

ления диагноза выявляется III–IV стадия заболевания, когда единственным методом лечения является системная цитостатическая терапия. Химиотерапевтические режимы на основе платины являются стандартным методом лечения распространенных форм НМРЛ при частоте терапевтических ответов на используемые в настоящее время схемы от 30% до 40%. Однако, у пациентов с течением времени отмечается развитие резистентности к проводимому химиотерапевтическому лечению, в результате чего медиана общей выживаемости составляет всего 8–10 мес [3].

В течение последних лет, приоритетной задачей системной химиотерапии является поиск биологических маркеров, изучаемых в качестве прогностических факторов, которые могут влиять на принятие решений о тактике лечения. При этом одним из наиболее перспективных направлений являются изучение «драйверных» мутаций. Наиболее значимыми в выборе тактики лечения больных НМРЛ являются мутация рецептора эпидермального фактора роста (EGFR), транслокация гена анапластической лимфомы (ALK) и реаранжировка ROS1-гена рецепторной тирозинкиназы, изучение которых привело к целенаправленной разработке новых лекарственных препаратов [4, 5].

Самую продолжительную историю изучения на сегодняшний момент имеет мутация EGFR, которая впервые была описана в 2003–2004 гг., после наблюдения положительного ответа на терапию gefitinибом в подгруппе пациентов с НМРЛ в 2 больших клинических испытаниях II фазы (IDEAL1 и -2) [6, 7, 8, 9]. Было обнаружено, что в этой подгруппе пациентов с выраженным ответом на ИТК в опухолевой ткани содержится мутация гена соматического EGFR в киназном домене. Наиболее распространенные мутации EGFR у пациентов с НМРЛ включают короткие делеции в экзоне 19 и специфическую точечную мутацию экзона 21 в кодоне 858, на долю которых приходится примерно 80–90% из всех обнаруженных мутаций EGFR [10]. Частота встречаемости активирующей мутации EGFR гораздо выше у больных с аденокарциномой легкого, у женщин, некурящих пациентов,

и у людей азиатской национальности. Данные факторы являются известными клиническими предикторами наличия активирующих мутаций EGFR и, как следствие, более выраженного ответа на терапию ИТК [6].

Учитывая высокую значимость наличия EGFR мутации для определенной подгруппы пациентов, ее выявление стало стандартизированной диагностической процедурой, которая помогает осуществлять более точную идентификацию пациентов, которые могли бы извлечь выгоду из терапии EGFR ингибиторами. Стандартный метод выявления мутаций заключается в прямом секвенировании геномной ДНК, усиленной полимеразной цепной реакцией (ПЦР), которая соответствует экзонам 18–22 гена EGFR [11]. Ключевым моментом для данного метода является зависимость от количества содержащихся опухолевых клеток в исследуемом образце. Чувствительность прямого секвенирования напрямую зависит от, так называемого, «загрязнения» опухолевых тканей неопухолевыми клетками. Образцы с низким содержанием исследуемого клеточного материала должны быть обогащены при помощи микро- или макродиссекции областей, богатых опухолевыми клетками. Кроме стандартных имеется ряд других методов выявления, используемых для повышения их чувствительности и для обнаружения мутаций с низкой частотой встречаемости [12]. Эти методы включают в себя: метод анализа плавления с высоким разрешением (HRM), анализ одноцепочечного конформационного полиморфизма (SSCP) и высокоэффективная жидкостная хроматография, метод фиксации пептидной нуклеиновой кислотой и коампликации при более низкой температуре денатурации в сочетании с ПЦР [13, 14, 15, 16, 17, 18]. Хотя такие методы могут обнаруживать мутированную ДНК, составляющую всего от 0,1 до 5% в образце, они могут идентифицировать только специфические известные мутации и могут потребовать большего количества матричной ДНК, чем прямое секвенирование. Тем не менее, некоторые из этих методов полезны для быстрого скрининга большого количества образцов, после чего прямое секвенирование может использоваться для определения и/или подтверждения положительных результатов.

Вне зависимости от метода выявления EGFR мутации для каждого из них необходимо наличие ткани опухоли. В клинической практике не всегда имеется возможность для выполнения полноценной биопсии. Кроме того, учитывая гетерогенность НМРЛ и возможность изменения структуры опухолевой ткани под воздействием цитостатической терапии, необходимо использование метода, позволяющего оценить молеку-

лярно-генетические характеристики опухоли и эффективность проводимого лечения. Одним из возможных методов, является поиск и количественная оценка свободно-циркулирующих нуклеиновых кислот в плазме крови. В роли биомаркеров могут служить «драйверные» мутации, в частности EGFR мутация.

Свободно-циркулирующие опухолевые ДНК (сцДНК) — это двухцепочечные низкомолекулярные молекулы геномной ДНК, фрагментированные на короткие (70–200 пар оснований) и длинные (до 21 тыс. пар оснований) отрезки, устойчивые к РНКазам и проназам, но расщепляемые с помощью ДНКазы I [19]. Свободно-циркулирующие нуклеиновые кислоты впервые были описаны в 1948 г. Mandel P. и Metais P., но длительное время оставались без внимания со стороны исследователей. Только к концу XX столетия стали появляться работы, которые выявляли повышенную концентрацию сцДНК у пациентов со злокачественными опухолями, в которых отмечалась корреляция со степенью тяжести заболевания и стадией. У больных раком легкого более высокий уровень сцДНК в плазме крови выявлялся на более поздних стадиях заболевания (среднее значение: 38 нг/мл, доверительный интервал 95% (ДИ): 26–56 нг/мл), чем у пациентов на ранней стадии (среднее значение: 23 нг/мл). (95% ДИ: 18–30 нг/мл). Уровень сцДНК в плазме более 100 нг/мл с большей вероятностью обнаруживается у пациентов с мелкоклеточным раком легкого по сравнению с НМРЛ [20]. Существует несколько гипотез о появлении сцДНК опухоли в плазме крови. Данный процесс может быть обусловлен результатом апоптоза и некроза опухолевых клеток или путем активного высвобождения ДНК опухолевыми клетками [21, 22]. Согласно данной гипотезе циркулирующие-опухолевые ДНК (цодНК) высвобождаются во время апоптоза или некроза, а нити ДНК, которые не фагоцитированы, попадают в кровоток в виде цодНК [21]. Кроме того, в поддержку этой гипотезы, нити цодНК в длину составляют 180 пар оснований ДНК, которые являются характерными для апоптоза [21, 22, 23]. Более поздние данные указывают, что причиной появления цодНК служат не апоптоз и некроз, а активная «секреция» опухолевых клеток, при которой цодНК выступают в качестве сигнальной молекулы [24].

Геномный анализ цодНК может быть использован для выявления известных опухолевых мутаций («драйверных»). В подтверждение гипотезы, может ли цодНК быть использована для анализа мутаций, Lebofsky и соавт. в своем исследовании сравнивали мутационный статус образцов цодНК в плазме с образцами тканевой биопсии у 34 пациентов с ЗНО IV стадии. У

27 из этих пациентов 28 из 29 общих мутаций, обнаруженных в образцах, полученных из ткани опухоли, были также обнаружены в плазме в виде цоДНК [25].

Принимая во внимание, что некоторые воспалительные заболевания легких могут повышать уровни цоДНК в плазме, Szpечcinski и соавт. обнаружили, что уровень цоДНК в плазме у пациентов с НМРЛ был значительно выше, чем у пациентов с воспалительными заболеваниями легких (астма, хроническая обструктивная болезнь легких и саркоидоз) или у здоровых контрольных пациентов [26]. Так же в данном исследовании были определены уровни цоДНК у пациентов, перенесших хирургическое вмешательство по поводу НМРЛ. У 50 пациентов, которым было выполнено радикальное хирургическое вмешательство (лобэктомия, пневмонэктомия), определялся уровень цоДНК до и после операции в течении 3 и 6-месячного наблюдения. У пациентов с признаками рецидива уровень цоДНК был значительно выше. Подобный метод раннего выявления прогрессирования продемонстрировал свою перспективность, но низкая специфичность метода не позволяет его применять на практике.

Уровень цоДНК может использоваться в роли диагностического критерия, хотя его роль, как показателя эффективности терапии, остается неясной. Исследование Tissot и соавт. опубликованное в 2015 г. показало, что нет никакой корреляции между уровнями цоДНК в плазме и ответом на химиотерапию на основе препаратов платины у пациентов с НМРЛ, хотя пациенты с высокими концентрациями цоДНК (самый высокий уровень) на исходном этапе лечения имели значительно более низкие показатели общей выживаемости, чем пациенты с более низкими концентрациями: средняя выживаемость 10 мес (95% ДИ 10,7–13,9) против 14,2 мес (95% ДИ 12,6–15,8) соответственно, $p=0,001$ [27]. Более того, в отчете Li В.Т. и соавт. (2016 г.), в котором изучалось влияние нескольких типов лечения (химиотерапия и ИТК) на уровни цоДНК в плазме, не выявлено корреляции между уровнями цоДНК в плазме и прогнозом опухоли у пациентов на поздних стадиях НМРЛ [28]. Данные этих исследований указывают, что уровни цоДНК могут быть неэффективными для мониторинга ответа на проводимое лечение, но они не исключают полезности анализа опухолеспецифических мутаций в цоДНК.

Учитывая низкую специфичность данной методики, одним из основных направлений было выявление опухолеспецифических соматических мутаций, характеризующих терапевтическую резистентность, используя цоДНК. В исследовании Del Re и соавт. (2016 г.) у пациентов с наличи-

ем EGFR мутации, которые ранее принимали ИТК, используя цифровую капельную ПЦР для анализа образцов цоДНК, в 27 из 33 образцов были обнаружены мутации, характеризующие резистентность к проводимой терапии — 11 образцов с мутацией EGFR T790M, 3 образца с мутацией в KRAS и 13 образцов, где выявлены обе мутации [29]. Следовательно, анализ мутаций в цоДНК, а не их уровней, может дать представление об эффективности лечения.

В 2016 г. Wenwei Hu и соавт. опубликовали исследование, в котором у 36 пациентов с НМРЛ определялась мутационная (EGFR) цоДНК до и после радикального оперативного вмешательства. Уровень мутационной цоДНК перестал определяться практически у всех пациентов через 30 дней после операции. Мутация EGFR в плазме продолжала выявляться у 2 пациентов, у которых был выявлен рецидив в течении 4 мес. Учитывая исследование мутационной цоДНК, была достигнута высокая специфичность метода, которая позволяет с большей точностью оценивать результаты хирургического лечения [30]. Подобные результаты подтвердили в своей работе Kezhong Chen и соавт. (2017 г.), исследовав мутационную цоДНК в группе 10 человек, которые подвергались хирургическому лечению [31].

Значимость мутации EGFR при использовании ИТК у пациентов с распространенным НМРЛ широко изучена и внедрена в клиническую практику. Ряд исследователей, выявили преимущество назначения ИТК в сравнении с химиотерапией у больных при опухолях с мутацией в гене EGFR [32, 33]. Значимыми оказались результаты нескольких крупных рандомизированных исследований (LUX-Lung, LUX-Lung 2, LUX-Lung 3, LUX-Lung 4, LUX-Lung 5, LUX-Lung 6, LUX-Lung 7), которые повлияли на формирование показаний к назначению ИТК [35]. Учитывая, что мутация в гене EGFR представляет собой спектр разнообразных типов мутаций, одним из направлений данной работы, была оценка влияния использования ИТК (Афатиниба) на редкие типы мутаций в гене EGFR. В 3 из 7 исследований, таких как LUX-Lung 2, LUX-Lung 3 и LUX-Lung 6, пациенты с редкими типами мутаций в гене EGFR были разделены на 3 группы — точечные мутации и/или дупликации в 18-21 экзонах, мутация de novo T790M в 20 экзоне и другие типы мутаций в 20 экзоне. В ходе исследований было отмечено, что в первой группе большее количество пациентов достигли объективного ответа (71,1%), в сравнении с двумя другими группами (14,3 и 8,7% соответственно). Кроме того, в первой группе были отмечены более высокие цифры безрецидивной и общей выживаемости. Ранее опубликованное исследование M.E.Arcila и соавт. в 2013 г. выявило,

что больные с НМРЛ с мутацией 20 экзона составляют около 9% от всего объема пациентов с мутациями в гене EGFR, и представляют собой весьма гетерогенную группу, в которой ответ на проводимую терапию ИТК может быть весьма переменчивым [34]. В исследовании Yusoо Lee и соавт. (2019 г.) выявлена эффективность ИТК третьего поколения (осимертиниб) у пациентов, имеющих мутацию EGFR в 20 экзоне, в сравнении с терапией ИТК первого и второго поколений [36].

На настоящий момент, согласно последним рекомендациям NCCN Guidelines Version 2.2021, выявленная EGFR мутация в 20 экзоне является показанием для дополнительного исследования, так как ряд точечных мутаций в данном экзоне (p.A763_Y764insFQEA, p.A763_Y764insLQEA) могут ассоциироваться с объективным ответом на проводимую терапию ИТК.

Но, несмотря на полученные результаты, прогностическая роль EGFR мутации остается предметом дискуссий. Особый интерес вызывает ее возможное влияние на различные клинические исходы и течение заболевания, а также ее роль в качестве прогностического фактора у пациентов, перенесших радикальное хирургическое вмешательство.

Первым исследованием, где были затронуты данные вопросы является работа Sasaki и соавт. (2006 г.), в которой авторы описали влияние EGFR мутации на более длительное время выживания, хотя при многомерном статистическом анализе различий выявлено не было [37]. В 2008 и 2009 г. были опубликованы ряд работ, в которых исследователи приводили противоречивые данные. Так, Kobayashi и соавт. (2008 г.) у пациентов с аденокарциномой легкого IA стадии, содержащие EGFR мутацию, не отметили наличие корреляции с безрецидивной выживаемостью или общей выживаемостью [38]. Схожие результаты сообщили Nose и соавт. (2009 г.), не обнаружив влияния мутации EGFR на безрецидивную выживаемость у 393 пациентов с аденокарциномой легкого I–IV стадии, которым был выполнен радикальный объем хирургического вмешательства [39]. Противоположные данные представили Kosaka и соавт. в 2009 г. В своей работе авторы указали, что при однофакторном анализе был отмечен более длительный период общей выживаемости у пациентов с наличием мутации EGFR ($p=0,0046$), хотя при многофакторном анализе роль EGFR мутации в качестве независимого прогностического фактора доказаны не была [40]. Схожие результаты указали и другие авторы в своих исследованиях [41, 42]. В исследовании 2012 г. на большой когорте пациентов Sandra P.D'Angelo и соавт. сообщили о том, что пациенты с наличием EGFR мутации

имели более высокий уровень общей выживаемости (медиана общей выживаемости 6,9 года) по сравнению с пациентами без EGFR мутации (медиана общей выживаемости 6,3 года) ($p<0,001$) и в ходе дополнительного статистического анализа выявлено наличие влияния EGFR мутации на безрецидивную и общую выживаемость [43]. В исследовании 2017 г., опубликованном Masaya Yotsukura и соавт., несмотря на более высокий показатель безрецидивной выживаемости в группе пациентов с наличием мутации EGFR, не было выявлено различий в общей выживаемости в группах пациентов [44]. В недавнем исследовании 2018 г., Kevin Jao и соавт. сообщили о наличии статистически значимого влияния наличия EGFR мутации на безрецидивную выживаемость ($HR=4,37$, $p=0,001$), и отсутствие влияния на общую выживаемость [45]. В этом же году Masaoki Ito и соавт. сообщили об отсутствии статистически значимого влияния на безрецидивную и общую выживаемость [46].

Немаловажным и малоизученным остается вопрос о целесообразности оперативного вмешательства у EGFR позитивных пациентов с распространенной формой НМРЛ, с наличием мутации EGFR, после получения системного ответа на терапию ИТК. Эффект от подобного лечения может быть весьма значительным и с учетом регресса опухолевой массы и появления возможности выполнения хирургического лечения, данный вопрос остается предметом дискуссий. Основная масса работ, описывающих данную проблему, представлена описанием ряда клинических случаев [47–60, 70]. Показанием к назначению ИТК EGFR не всегда являлось наличие отдаленного метастазирования. В некоторых случаях, пограничная резектабельность, сочетающаяся со снижением функциональных резервов определяли противопоказания к выполнению радикального хирургического вмешательства и являлись причиной назначений системной терапии ИТК. Описанный значимый частичный регресс у пациентов в ходе приема таргетных препаратов, который был выявлен при контрольных диагностических исследованиях, являлся основным фактором, позволяющим пересмотреть тактику лечения в пользу выполнения оперативного вмешательства.

Использование только ИТК EGFR, согласно данным исследования Hishida и соавт., опубликованным в 2010 г., в большинстве случаев не способно привести к полному излечению, так как механизм EGFR-ингибиторов является цитостатическим, а не цитотоксическим, и ИТК не могут уничтожать микрометастазы даже после выраженного клинического ответа [52]. Исследования 2013 и 2016 гг., отметили, что применение локальных методов лечения, таких как

лучевая терапия и хирургическое лечение, после назначения ИТК приводит к лучшему местному контролю и позволяет значительно увеличить безрецидивную выживаемость по сравнению с методами, где применялась только поддерживающая терапия [61, 62].

Другим возможным механизмом оптимальной хирургической циторедукции на фоне терапии ИТК EGFR является удаление остаточной опухоли, приобретающей, с течением времени, способность к последующим мутациям, определяющим нечувствительность к таргетной терапии. К данным мутациям, в частности, можно отнести T790M, выявление которой свидетельствует о развитии вторичной резистентности опухоли к проводимой терапии ИТК EGFR. В работе Westover и соавт., опубликованной в 2018 г., описываются три вида прогрессирования, ключевым фактором которых является выявленная мутация T790M: системное или множественное, олигопрогрессирование (3 и менее выявленных очагов, но без поражения органов ЦНС) и изолированное метастатическое поражение органов ЦНС [63]. Используя данную классификацию, для преодоления резистентности при множественном прогрессировании единственным методом является использование системной терапии второй линии. В настоящее время стандартной терапией является осимертиниб, мутант-селективный ИТК EGFR, который был разработан для преодоления устойчивости к мутации T790M [66–68]. Большой интерес вызывает 2 тип прогрессирования, а именно, олигометастатический. Данная тематика широко не исследовалась, но в 2013 г. опубликовано исследование Helena и соавт., в котором 18 пациентам, у которых была подтверждена резистентность к проводимой терапии ИТК EGFR и отсутствие метастатического поражения органов ЦНС, выполнялись различные методы локального лечения [69]. 11 пациентам были выполнены различные объемы хирургических вмешательств (лобэктомия, клиновидная резекция, пневмонэктомия). Медиана общей выживаемости составила 41 мес, среднее время до прогрессирования после применения локальной терапии — 10 мес (95% ДИ: от 2 до 27 мес). Данное исследование указывало, что ряд пациентов, с приобретенной резистентностью на фоне приема ИТК EGFR, могут иметь преимущества после проведенного локального лечения и, в частности, хирургического вмешательства перед пациентами, которым применялась только системная терапия. С учетом все более широкого использования осимертиниба в клинической практике, вопрос о необходимости применения хирургического метода в подходах преодоления резистентности опухоли к ИТК EGFR, остается открытым и требует дальнейшего изучения.

Роль хирургического лечения, в обсуждении данного вопроса, остается неясной. Судя по количеству опубликованных работ, доля подобных пациентов невелика и для объективной оценки необходимо исследование данного вопроса на большей когорте пациентов в проспективных исследованиях.

Таким образом, роль EGFR мутации у пациентов с НМРЛ в настоящее время является предметом дискуссий, а намеченные исследования, направлены на изучение выбора тактики и путей преодоления резистентности. Роль мутации EGFR в рутинной хирургической практике оценена достаточно мало и подходы к оперативному лечению пациентов с положительным EGFR статусом в настоящее время не отличаются от других типов НМРЛ. Не выясненными остаются такие ключевые аспекты как влияние мутации EGFR на исходы хирургического лечения и ее использование в качестве прогностического маркера раннего рецидивирования, роль неоадьювантной таргетной терапии, и циторедуктивных вмешательств после терапии ИТК EGFR. Изучение данных аспектов позволит уточнить полный спектр возможностей использования мутации EGFR в персонализации подходов в лечении НМРЛ на всех стадиях.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии в статье конфликта интересов.

Финансирование

Данная работа поддержана Российским научным фондом (грант 17-75-30027).

ЛИТЕРАТУРА

1. World Health Organization. International agency for research on cancer. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(18\)30455-8](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(18)30455-8)
2. Kaprin AD, Starinskiy VV, Petrova GV. The status of cancer care for the population of Russia in 2018. Moscow: MNIIOI them. P.A. Herzen — branch of the FSBI «NMITs of Radiology» of the Ministry of Health of Russia, 2019.
3. Blackhall F, Frese KK, Simpson K et al. Will liquid biopsies improve outcomes for patients with small-cell lung cancer? // *Lancet Oncol.* 2018;19(9):470–481. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(18\)30455-8](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(18)30455-8)
4. Mok TS, Wu YL, Thongprasert S et al. Gefitinib or carboplatin-paclitaxel in pulmonary adenocarcinoma // *N Engl J Med.* 2009;361(10):947–57. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0810699>
5. Kwak EL, Bang YJ, Camidge DR et al. Anaplastic lymphoma kinase inhibition in non-small-cell lung cancer // *N Engl J Med.* 2010;363(18):1693–703. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1006448>
6. Fukuoka M, Yano S, Giaccone G et al. Multi-institutional randomized phase II trial of gefitinib for previously treated patients with advanced non-small-cell lung cancer (The

- IDEAL 1 Trial // *J Clin Oncol*. 2003;21(12):2237–2246. <https://doi.org/10.1200/JCO.2003.10.038>
7. Kris MG, Natale RB, Herbst RS et al. Efficacy of gefitinib, an inhibitor of the epidermal growth factor receptor tyrosine kinase, in symptomatic patients with non-small cell lung cancer: a randomized trial // *JAMA*. 2003;290(16):2149–2158. <https://doi.org/10.1001/jama.290.16.2149>
 8. Lynch TJ, Bell DW, Sordella R et al. Activating mutations in the epidermal growth factor receptor underlying responsiveness of non-small-cell lung cancer to gefitinib // *N Engl J Med*. 2004;350(21):2129–2139. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa040938>
 9. Paez JG, Janne PA, Lee JC et al. EGFR mutations in lung cancer: correlation with clinical response to gefitinib therapy // *Science*. 2004;304(5676):1497–1500. <https://doi.org/10.1126/science.1099314>
 10. Imyanitov EN, Demidova IA, Gordiev MG et al. Distribution of EGFR Mutations in 10,607 Russian Patients with Lung Cancer // *Mol Diagn Ther*. 2016;20(4):401–406. <https://doi.org/10.1007/s40291-016-0213-4>
 11. Eberhard DA, Giaccone G, Johnson BE et al. Biomarkers of response to epidermal growth factor receptor inhibitors in Non-Small-Cell Lung Cancer Working Group: standardization for use in the clinical trial setting // *J Clin Oncol*. 2008;26(6):983–994. <https://doi.org/10.1200/JCO.2007.12.9858>
 12. Pao W, Ladanyi M. Epidermal growth factor receptor mutation testing in lung cancer: searching for the ideal method // *Clin Cancer Res*. 2007;13(17):4954–4955. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-07-1387>
 13. Willmore-Payne C, Holden JA, Layfield LJ. Detection of epidermal growth factor receptor and human epidermal growth factor receptor 2 activating mutations in lung adenocarcinoma by high-resolution melting amplicon analysis: correlation with gene copy number, protein expression, and hormone receptor expression // *Hum Pathol*. 2006;37(6):755–763. <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2006.02.004>
 14. Nomoto K, Tsuta K, Takano T et al. Detection of EGFR mutations in archived cytologic specimens of nonsmall cell lung cancer using high-resolution melting analysis // *Am J Clin Pathol*. 2006;126(4):608–615. <https://doi.org/10.1309/N5PQNGW2QKMX09X7>
 15. Fukui T, Ohe Y, Tsuta K et al. Prospective study of the accuracy of EGFR mutational analysis by high-resolution melting analysis in small samples obtained from patients with nonsmall cell lung cancer // *Clin Cancer Res*. 2008;14(15):4751–4757. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-07-5207>
 16. Janne PA, Borrás AM, Kuang Y et al. A rapid and sensitive enzymatic method for epidermal growth factor receptor mutation screening // *Clin Cancer Res*. 2006;12(3 Pt 1):751–758. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-05-2047>
 17. Nagai Y, Miyazawa H, Tanaka T et al. Genetic heterogeneity of the epidermal growth factor receptor in nonsmall cell lung cancer cell lines revealed by a rapid and sensitive detection system, the peptide nucleic acid–locked nucleic acid PCR clamp // *Cancer Res*. 2005;65(16):7276–7282. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-05-0331>
 18. Li J, Wang L, Mamon H et al. Replacing PCR with COLD-PCR enriches variant DNA sequences and redefines the sensitivity of genetic testing // *Nat Med*. 2008;14(5):579–584. <https://doi.org/10.1038/nm1708>
 19. Yoshimasu T, Maebeya S, Suzuma T et al. Disappearance curves for tumor markers after resection of intrathoracic malignancies // *Biol Markers*. 1999 Apr-Jun;14(2):99–105.
 20. Fournie GJ, Courtin JP, Laval F et al. Plasma DNA as a marker of cancerous cell death. Investigations in patients suffering from lung cancer and in nude mice bearing human tumours // *Cancer Lett*. 1995;91(2):221–227. [https://doi.org/10.1016/0304-3835\(95\)03742-f](https://doi.org/10.1016/0304-3835(95)03742-f)
 21. Jahr S, Hentze H, Englisch S et al. DNA fragments in the blood plasma of cancer patients: quantitations and evidence for their origin from apoptotic and necrotic cells // *Cancer Res*. 2001;61(4):1659–1665.
 22. Stroun M, Lyautey J, Lederrey C et al. About the possible origin and mechanism of circulating DNA apoptosis and active DNA release // *Clin Chim Acta*. 2001;313(1–2):139–142. [https://doi.org/10.1016/s0009-8981\(01\)00665-9](https://doi.org/10.1016/s0009-8981(01)00665-9)
 23. Fan HC, Blumenfeld YJ, Chitkara U et al. Analysis of the size distributions of fetal and maternal cell-free DNA by paired-end sequencing // *Clin Chem*. 2010;56(8):1279–1286. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2010.144188>
 24. Bronkhorst AJ, Wentzel JF, Aucamp J et al. Characterization of the cell-free DNA released by cultured cancer cells // *Biochim Biophys Acta*. 2016;1863(1):157–165. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2015.10.022>
 25. Lebofsky R, Decraene C, Bernard V et al. Circulating tumor DNA as a non-invasive substitute to metastasis biopsy for tumor genotyping and personalized medicine in a prospective trial across all tumor types // *Mol Oncol*. 2015;9(4):783–790. <https://doi.org/10.1016/j.molonc.2014.12.003>
 26. Szepehinski A, Chorostowska-Wynimko J, Struniawski R et al. Cell-free DNA levels in plasma of patients with non-small-cell lung cancer and inflammatory lung disease // *Br J Cancer*. 2015;113(3):476–483. <https://doi.org/10.1038/bjc.2015.225>
 27. Tissot C, Toffart AC, Villar S et al. Circulating free DNA concentration is an independent prognostic biomarker in lung cancer // *Eur Respir J*. 2015;46(6):1773–1780. <https://doi.org/10.1183/13993003.00676-2015>
 28. Li BT, Drilon A, Johnson ML et al. A prospective study of total plasma cell-free DNA as a predictive biomarker for response to systemic therapy in patients with advanced non-small-cell lung cancers // *Ann Oncol*. 2016;27(1):154–159. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdv498>
 29. Del Re M, Tiseo M, Bordi P et al. Contribution of KRAS mutations and c. 2369C>T (p.T790M) EGFR to acquired resistance to EGFR-TKIs in EGFR mutant NSCLC: a study on circulating tumor DNA // *Oncotarget*. 2017;8(8):13611–13619. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.6957>
 30. Hu W, Yang Y, Zhang L et al. Post surgery circulating free tumor DNA is a predictive biomarker for relapse of lung cancer // *Cancer Med*. 2017;6(5):962–974. <https://doi.org/10.1002/cam4.980>
 31. Chen K, Zhang J, Guan T et al. Comparison of plasma to tissue DNA mutations in surgical patients with non-small cell lung cancer // *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2017;154(3):1123–1131. <https://doi.org/10.1016/j.jtcvs.2017.04.073>
 32. Tsao MS, Sakurada A, Cutz J et al. Erlotinib in lung cancer—molecular and clinical predictors of outcome // *N Engl J Med*. 2005;353(2):133–44. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa050736>
 33. Eberhard DA, Johnson BE, Amler LC et al. Mutations in the epidermal growth factor receptor and in KRAS are predictive and prognostic indicators in patients with non-small-cell

- lung cancer treated with chemotherapy alone and in combination with erlotinib // *J Clin Oncol.* 2005;23(25):5900–5909. <https://doi.org/10.1200/JCO.2005.02.857>
34. Arcila ME, Nafa K, Chaff JE et al. EGFR Exon 20 Insertion Mutations in Lung Adenocarcinomas: Prevalence, Molecular Heterogeneity, and Clinicopathologic Characteristics // *Mol Cancer Ther.* 2013;12(2):220–229. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-12-0620>
 35. Sharma N, Graziano S. Overview of the LUX-Lung clinical trial program of afatinib for non-small cell lung cancer // *Cancer Treat Rev.* 2018;69:143–151. <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2018.06.018>
 36. Lee Y, Kim TM, Kim DW et al. Preclinical modeling of osimertinib for NSCLC with EGFR Exon 20 insertion mutations // *J Thorac Oncol.* 2019;14(9):1556–1566. <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2019.05.006>
 37. Sasaki H, Shimizu S, Endo K et al. EGFR and erbB2 mutation status in Japanese lung cancer patients // *Int J Cancer.* 2006;118(1):180–184. <https://doi.org/10.1002/ijc.21301>
 38. Kobayashi N, Toyooka S, Ichimura K et al. Non-BAC component but not epidermal growth factor receptor gene mutation is associated with poor outcomes in small adenocarcinoma of the lung // *J Thorac Oncol.* 2008;3(7):704–710. <https://doi.org/10.1097/JTO.0b013e31817c6080>
 39. Nose N, Sugio K, Oyama T et al. Association between estrogen receptor-beta expression and epidermal growth factor receptor mutation in the postoperative prognosis of adenocarcinoma of the lung // *J Clin Oncol.* 2009;27(3):411–417. <https://doi.org/10.1200/JCO.2008.18.3251>
 40. Kosaka T, Yatabe Y, Onozato R et al. Prognostic implication of EGFR, KRAS, and TP53 gene mutations in a large cohort of Japanese patients with surgically treated lung adenocarcinoma // *J Thorac Oncol.* 2009;4(1):22–29. <https://doi.org/10.1097/JTO.0b013e3181914111>
 41. Lee YJ, Park I.K, Park MS et al. Activating mutations within the EGFR kinase domain: a molecular predictor of disease-free survival in resected pulmonary adenocarcinoma // *J Cancer Res Clin Oncol.* 2009;135(12):1647–1654. <https://doi.org/10.1007/s00432-009-0611-7>
 42. Matsumura Y, Owada Y, Yamaura T et al. Epidermal growth factor receptor gene mutation as risk factor for recurrence in patients with surgically resected lung adenocarcinoma: a matched-pair analysis // *Interact Cardiovasc Thorac Surg.* 2016;23(2):216–222. <https://doi.org/10.1093/icvts/iww116>
 43. D'Angelo SP, Janjigian YY, Ahye N et al. Distinct Clinical Course of EGFR-Mutant Resected Lung Cancers: Results of Testing of 1118 Surgical Specimens and Effects of Adjuvant Gefitinib and Erlotinib // *J Thorac Oncol.* 2012;7(12):1815–1822. <https://doi.org/10.1097/JTO.0b013e31826bb7b2>
 44. Yotsukura M, Yasuda H, Shigenobu T et al. Clinical and pathological characteristics of EGFR mutation in operable early stage lung adenocarcinoma // *Lung Cancer.* 2017;109:45–51. <https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2017.04.014>
 45. Jao K, Tomasini P, Kamel-Reid S et al. The prognostic effect of single and multiple cancer-related somatic mutations in resected non-small-cell lung cancer // *Lung Cancer.* 2018;123:22–29. <https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2018.06.023>
 46. Ito M, Miyata Y, Kushitani K et al. Increased risk of recurrence in resected EGFR-positive pN0M0 invasive lung adenocarcinoma // *Thorac Cancer.* 2018;9(12):1594–1602. <https://doi.org/10.1111/1759-7714.12866>
 47. Sakanoue I, Hamakawa H, Kaji R et al. Sleeve lobectomy for lung adenocarcinoma treated with neoadjuvant afatinib // *J Thorac Dis.* 2018;10(3):170–174. <https://doi.org/10.21037/jtd.2018.02.03>
 48. Hishida T, Yoshida J, Aokage K et al. Long-term outcome of surgical resection for residual or regrown advanced non-small cell lung carcinomas following EGFR-TKI treatment: report of four cases // *Gen Thorac Cardiovasc Surg.* 2016;64(7):429–433. <https://doi.org/10.1007/s11748-014-0508-5>
 49. Takamochi K, Suzuki K, Sugimura H et al. Surgical resection after gefitinib treatment in patients with lung adenocarcinoma harboring epidermal growth factor receptor gene mutation // *Lung Cancer.* 2007;58(1):149–155. <https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2007.04.016>
 50. Kappers I, Klomp HM, Burgers JA et al. Neoadjuvant (induction) erlotinib response in stage IIIA non-small-cell lung cancer // *J Clin Oncol.* 2008;26(25):4205–4207. <https://doi.org/10.1200/JCO.2008.16.3709>
 51. Levchenko EV, Moiseyenko VM, Matsko DE et al. Downstaging of EGFR mutation-positive advanced lung carcinoma with gefitinib followed by surgical intervention: follow-up of two cases // *Onkologie.* 2009;32(11):674–677. <https://doi.org/10.1159/000242220>
 52. Hishida T, Nagai K, Mitsudomi T et al. Salvage surgery for advanced non-small cell lung cancer after response to gefitinib // *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2010;140(5):69–71. <https://doi.org/10.1016/j.jtcvs.2010.06.035>
 53. Shen H, Zhong X, Ge X.Q et al. Surgical resection of lung adenocarcinoma without EGFR mutation after neoadjuvant gefitinib treatment // *Clin Respir J.* 2010;4(3):192–193. <https://doi.org/10.1111/j.1752-699X.2009.00167.x>
 54. Liu M, Jiang G, He W et al. Surgical resection of locally advanced pulmonary adenocarcinoma after gefitinib therapy // *Ann Thorac Surg.* 2011;92(1):11–12. <https://doi.org/10.1016/j.athoracsur.2011.02.021>
 55. Ong M, Kwan K, Kamel-Reid S et al. Neoadjuvant erlotinib and surgical resection of a stage IIIA papillary adenocarcinoma of the lung with an L861Q activating EGFR mutation // *Curr Oncol.* 2012;19(3):222–226. <https://doi.org/10.3747/co.19.908>
 56. Hashimoto K, Horinouchi H, Ohtsuka T et al. Salvage surgery for a super-responder by gefitinib therapy for advanced lung cancer // *Gen Thorac Cardiovasc Surg.* 2012;60(12):851–854. <https://doi.org/10.1007/s11748-012-0087-2>
 57. Marech I, Vacca A, Gnoni A et al. Surgical resection of locally advanced epidermal growth factor receptor (EGFR) mutated lung adenocarcinoma after gefitinib and review of the literature // *Tumori.* 2013;99(5):241–244. <https://doi.org/10.1700/1377.15324>
 58. Funakoshi Y, Takeuchi Y, Maeda H. Pneumonectomy after response to gefitinib treatment for lung adenocarcinoma // *Asian Cardiovasc Thorac Ann.* 2013;21(4):482–484. <https://doi.org/10.1177/0218492312462834>
 59. López-González A, Almagro E, Salas C et al. Use of a tyrosine kinase inhibitor as neoadjuvant therapy for non-small cell lung cancer: a case report // *Respir Med Case Rep.* 2013;9:8–10. <https://doi.org/10.1016/j.rmcr.2013.02.002>
 60. Yamamoto Y, Kodama K, Maniwa T et al. Surgical resection of advanced non-small cell lung cancer after a response to EGFR TKI: presentation of two cases and a literature review // *J Cardiothorac Surg.* 2017 Nov 23;12(1):98. <https://doi.org/10.1186/s13019-017-0668-3>

61. Yu HA, Sima CS, Huang J et al. Local therapy as a treatment strategy in EGFR-mutant advanced lung cancers that have developed acquired resistance to EGFR tyrosine kinase inhibitors // *J Thorac Oncol.* 2013;8(3):346–351. <https://doi.org/10.1097/JTO.0b013e31827e1f83>
62. Gomez DR, Blumenschein GR Jr, Lee JJ et al. Local consolidative therapy versus maintenance therapy or observation for patients with oligometastatic non-small-cell lung cancer without progression after first-line systemic therapy: a multicentre, randomised, controlled, phase 2 study // *Lancet Oncol.* 2016;17(12):1672–1682. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(16\)30532-0](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(16)30532-0)
63. Westover D, Zugazagoitia J, Cho BC et al. Mechanisms of acquired resistance to first- and second-generation EGFR tyrosine kinase inhibitors // *Ann Oncol.* 2018;29(suppl_1):10–19. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdx703>
64. Imyanitov EN. Molecular targets in lung cancer: current status // *Practical oncology.* 2018;19(2):93–104. <https://doi.org/https://www.doi.org/10.31917/1902093>
65. Imyanitov EN. General concepts of targeted therapy // *Practical oncology.* 2010;11(3):123–130.
66. Cross DA, Ashton SE, Ghiorghiu S et al. AZD9291, an irreversible EGFR TKI, overcomes T790M-mediated resistance to EGFR inhibitors in lung cancer // *Cancer Discov.* 2014;4(9):1046–1061. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-14-0337>
67. J nne PA, Yang JC-H, Kim D-W et al. AZD9291 in EGFR inhibitor-resistant non-small-cell lung cancer // *N Engl J Med.* 2015;372(18):1689–1699. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1411817>
68. Mok TS, Wu Y-L, Ahn M-J et al. Osimertinib or platinum-pemetrexed in EGFR T790M-positive lung cancer // *N Engl J Med.* 2017;376(7):629–640. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1612674>
69. Yu HA, Sima CS, Huang J et al. Local therapy with continued EGFR tyrosine kinase inhibitor therapy as a treatment strategy in EGFR-mutant advanced lung cancers that have developed acquired resistance to EGFR tyrosine kinase inhibitors // *J Thorac Oncol.* 2013;8(3):346–351. <https://doi.org/10.1097/JTO.0b013e31827e1f83>
70. Ragulin UA, Smolenov EI, Usachev VS, Aphonin GV. Targeted therapy of locally advanced non-small cell lung cancer with EGFR mutation // *Oncology. Journal PA. Hergen,* 2016;2, 48–53.

Поступила в редакцию 15.05.2020 г.

*E.N. Slugin, E.V. Levchenko, E.N. Imyanitov,
O.O. Lopushanskaya*

The role of EGFR mutation testing in the choice for surgical tactics in NSCLC treatment

FSBI «N.N. Petrov National Medical Research Center for Oncology» of the Ministry of Health of the Russian Federation, Saint Petersburg

Lung cancer is the most commonly diagnosed cancer in the world, and currently the mortality rate from this disease is one of the highest. The detection of EGFR mutation plays an important role in the choice of treatment in clinical practice. As already known, over the past decade, EGFR mutations have been a predictive factor for the prescription of tyrosine kinase inhibitors (EGFR TKIs) in patients with advanced non-small cell lung cancer (NSCLC). The role of EGFR mutation as a prognostic factor for patients undergoing surgery and the possibility of using surgery to overcome the resistance mechanisms that develop in response to EGFR TKIs remain unexplored. This literature review examines key aspects of the EGFR mutation as a factor that can influence the treatment and using the surgical method.

Key words: lung cancer, NSCLC, EGFR TKI, EGFR mutation, ctDNA, surgical treatment, targeted therapy, resistance

*А.И. Арсеньев, С.Н. Новиков, С.В. Канаев, А.А. Барчук, Ф.Е. Антипов, А.Ю. Зозуля,
Ю.С. Мельник, К.Э. Гагуа, А.О. Нефедов, С.А. Тарков, Н.Ю. Аристидов*

Перспективы использования стереотаксической лучевой терапии при первичных и олигометастатических опухолевых поражениях лёгких

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

Рак легкого (РЛ) — распространенное злокачественное новообразование (ЗН) с высоким уровнем смертности, часто выявляемое на III–IV стадиях опухолевого процесса. Считается, что внедрение скрининга может изменить это соотношение в пользу ранних форм и позволит выявлять заболевание на I–II стадиях у 60% больных. Метастатический первичный РЛ возникает у 4–10% пациентов в течение 5 лет после лечения. Наличие олигометастазов только в легких (1–5 очагов) — встречается у 6–40% больных ЗН, а полная метастазэктомия позволяет добиться увеличения 5-летней выживаемости до 20–40%. Хирургическое лечение, в связи с функциональными ограничениями, может быть выполнено только у 65–70% больных. Стереотаксическая лучевая терапия (ЛТ) позволяет в короткие сроки производить точную доставку к опухоли высокой дозы излучения с минимальным повреждением окружающих здоровых тканей и демонстрирует локальный контроль до 85–95% и 3-летнюю общую выживаемость 60–80%. Улучшение результатов лечения ранних стадий РЛ и олигометастатического поражения легких с использованием стереотаксической ЛТ лежит на пути оптимизации режимов фракционирования и дозы ($BED_{10} \geq 100$ Гр). В данном обзоре, на основе анализа большого числа публикаций и собственного опыта, анализируются эффективность и безопасность проведения стереотаксической ЛТ, показания, методологические аспекты планирования, фракционирования, рассматриваются дозовые ограничения на критические органы, лучевые реакции и осложнения. Показано, что с учётом предполагаемого высокого потенциала метода необходимо продолжение рандомизированных контролируемых исследований у пациентов этих групп.

Ключевые слова: немелкоклеточный рак лёгкого; олигометастазы, конформная лучевая терапия, стереотаксическая лучевая терапия, функциональная операбельность

Введение. Заболеваемость РЛ в мире достигает 1,2 млн случаев, что приводит к ежегодной гибели 183 000 человек в Европе и 160 000 в США. В Российской Федерации РЛ находится на втором месте в общей структуре онкологических заболеваний (11,6%) и на первом (20,4%) среди злокачественных опухолей у мужчин. Количество заболевших РЛ ежегодно превышает 50 тыс. человек, причём умирают от него 90–96% заболевших, а свыше 50% из них — уже в год постановки диагноза. 5-летняя выживаемость при РЛ во всех странах за последние полвека не меняется, не превышая 15–20%. Эффективность лечения РЛ находится в прямой зависимости от распространённости опухоли на момент начала реализации клинических мероприятий. Так, если для I стадии 5-летняя выживаемость может достигать 70–80%, то для IV не превышает 5%. Ранняя диагностика РЛ до настоящего времени остаётся не решённой проблемой, и более 2/3 заболевших начинают специализированное лечение, имея местнораспространённые, либо генерализованные формы опухоли. Предполагается, что внедрение скрининговых программ для РЛ на основе, прежде всего, низкодозной компьютерной томографии (КТ) позволит выявлять заболевание на I–II стадиях у 60% пациентов. Восемьдесят процентов всех случаев — немелкоклеточный рак лёгкого (НМРЛ). Метастатический первичный РЛ возникает у 4–10% пациентов в течение 5 лет после лечения НМРЛ. Проблема РЛ перестала быть только медицинской и приобрела социальный характер, что обусловлено как уровнем заболеваемости, так и неудовлетворительными отдалёнными результатами лечения. Хирургическое лечение, являющееся стандартом лечения локализованного НМРЛ, в связи с функциональными ограничениями может быть выполнено только у 65–70% больных, а у пациентов старше 75 лет их доля не превышает 50%. Стандартная дистанционная лучевая терапия (ДЛТ) с классическим фракционированием дозы при ранних стадиях РЛ недостаточно эффективна и обеспечивает локальный контроль (ЛК) в 20–70%, при 3-летней общей

выживаемости (ОВ) 20–60%. У 25% пациентов с НМРЛ, получавших стандартную химиолучевую терапию возникают местные рецидивы. Легкие занимают лидирующие позиции по частоте метастатического поражения (6–30%), причем у 60–70% больных в течении длительного времени они остаются единственным местом реализации отдаленных метастазов [2, 10, 20, 28].

Поиск литературы был проведен в октябре – декабре 2020 г. с использованием медицинских баз данных: Medline/PUBMED (Национальная медицинская библиотека, США)/EMBASE (Elsevier, Нидерланды), Cochrane Library (Великобритания), Scopus, Web of Science, Global Health, Cyber Leninka, РИНЦ. Публикации были включены на основе предварительно определенных критериев приемлемости для каждого клинического аспекта — когортные и рандомизированные клинические исследования, мета-анализы и систематические обзоры, официальные клинические североамериканские и европейские рекомендации. При проведении анализа использован подход GRADE (Grading of Recommendations, Assessment, Development, and Evaluation) для формулирования вопросов в принятом формате PICO (Patient, Intervention, Comparator, and Outcome — пациент, вмешательство, компаратор и результат) и обобщения соответствующих фактических данных.

Одним из наиболее перспективных методов радикального лечения раннего РЛ (I–II стадии: T1–2N0M0, реже T3N0M0) и олигометастазов ЗН в легких является стереотаксическая лучевая терапия (СТЛТ) — вид дистанционной лучевой терапии, позволяющий в короткие сроки производить точное подведение к опухоли высокой дозы излучения с минимальным повреждением окружающих здоровых тканей. Метод был внедрен в практику в 1967 г. и долгое время применялся при лечении интракраниальных опухолевых поражений. Лишь в 90-е годы XX в. было начато использование СТЛТ для лечения экстракраниальных ЗН, а в 2001 г. метод одобрен FDA (Food and Drug Administration) в США, и в настоящее время включен в мировые стандарты лечения онкологических больных [1, 28, 32].

При планировании СТЛТ на этапе диагностики проводится полное клиническое обследование. Изучается комплекс лабораторных данных и функциональный статус, в том числе эхокардиография и спирометрия. К обязательным методам инструментального обследования относятся компьютерная томография (КТ) органов грудной и брюшной полости и малого таза с контрастированием для исключения генерализации опухолевого процесса и фибробронхоско-

пия. В ряде случаев используются эмиссионные и гибридные методы — позитронно-эмиссионная и однофотонная КТ (ПЭТ/ОФЭКТ) в сочетании с рентгеновской КТ. Неотъемлемым диагностическим этапом является морфологическое подтверждение опухолевого процесса. Для этого используются различные методы — трансторакальная чрескожная трепан-биопсия/тонкоиговая аспирационная биопсия периферических узлов в паренхиме легкого с различной навигацией (КТ, флюороскопия, реже УЗИ); бронхоскопическая щипцевая биопсия; эндобронхиальная/эндоэзофагеальная ультрасонография с чресbronхиальной биопсией; видеоторакоскопия/медиастиноскопия/медиастинотомия; в том числе для исключения метастатического поражения сомнительных внутригрудных лимфатических узлов. При возможности выполняется молекулярное тестирование на активацию K-ras, мутацию EGFR, MET, RET перестройки генов ROS и ALK, экспрессию PDL. В отдельных исключительных случаях (высокий риск биопсии, очень низкие функциональные резервы) возможно проведение СТЛТ решением мультидисциплинарного консилиума без верификации [2, 9, 28, 32].

Показаниями к проведению СТЛТ при лечении ранних форм НМРЛ являются: 1) наличие морфологически верифицированной первичной периферической опухоли легкого <5 см; 2) отсутствие клинико-инструментальных признаков поражения регионарных лимфоузлов (T1–2/N0); 3) отсутствие генерализации; 4) функциональная неоперабельность и отказ от хирургического лечения; 5) олигометастатическое поражение легких при различных ЗН; 6) по индивидуальным показаниям возможно использование СТЛТ при большем диаметре первичной опухоли (до 7 см), при центральном раке, при множественных синхронных поражениях и при инвазии в грудную стенку [1, 2, 10, 28].

Специфическими *противопоказаниями* к СТЛТ являются: 1) неспособность пациента находиться на столе более 30 мин; 2) наличие активных воспалительных процессов в легких; 3) интерстициальные заболевания легких. К общим противопоказаниям относятся: 1) острый инфаркт миокарда; 2) острое нарушение мозгового кровообращения; 3) некорректируемая коагулопатия; 4) декомпенсированная моно- и полиорганная недостаточность; 5) ожидаемая время жизни менее 2 мес.; 7) кахексия; 8) психические заболевания с неадекватным поведением; 9) активный туберкулез лёгких.

Моделирование и планирование СТЛТ. Внедрение технологий, обеспечивающих достижение высокого градиента дозы, в том числе, лучевой терапии с модуляцией интенсивности

(ИМРТ), включая ротационные режимы ИМРТ, ЛТ контролируемой по изображениям, позволило более безопасно подводить высокие дозы к мишеням сложной геометрии с минимальной дозой нагрузкой на окружающие ткани. Разработка систем интрафракционного слежения за опухолью, четырехмерного КТ-планирования (4DCT), активного контроля дыхания с отслеживанием доставки дозы к смещаемым целям, в том числе, обеспечение облучения мишени в отдельные фазы дыхательного цикла, являются важнейшими стратегиями управления при проведении СТЛТ и позволяют расширить сферу применения метода. Особенностью опухолевых очагов в лёгких является возможность смещения мишени в процессе дыхания, которое зависит от расположения опухоли. В верхних и парамедиастинальных отделах смещение очага, как правило, не превышает 1–5 мм, а в нижних долях и в наддиафрагмальных областях оно может достигать 2–3 см. Для уменьшения влияния смещения опухоли используют разные маневры контроля (синхронизации) дыхания. Наиболее часто используют подходы, позволяющие учитывать движение опухоли в акте дыхания: формирования отступов с учетом смещения опухоли при дыхании (ITV), тренировка с аудиовизуальной обратной связью, задержка дыхания, абдоминальная компрессия и интрафракционная методика отслеживания опухоли в реальном времени с динамической коррекцией траектории пучка и/или стола, облучение в отдельные фазы дыхательного цикла. Иногда используется система динамического отслеживания с чрескожной установкой в легкое маркеров, основными недостатками которой являются длительность облучения и риск возникновения пневмоторакса. В настоящее время осуществляются попытки внедрить эндоскопическую установку маркеров или внутрибронхиальных спиралей в условиях навигационной бронхоскопии [2, 9, 28, 32].

При планировании проведения СТЛТ рекомендуемая величина среза КТ $\leq 1,5$ мм. Предпочтительно использовать 4D-КТ или усредненные изображения с учетом максимального вдоха и выдоха. Часто используется технология планирования СТЛТ с формированием внутреннего клинического объёма (ITV). При этом контур включает в себя контур мишени (GTV) с допуском на смещение опухоли на высоте вдоха и выдоха и меняется в зависимости от интенсивности экскурсии лёгких. iGTV формируется как проекция максимального смещения мишени в дыхательном цикле на основе 4DCT. GTV/iGTV определяется как опухоль, видимая на КТ в окне легочного режима (уровень — 600, Hounsfield units — HU; ширина окна ± 1600 HU). Оптимальным для

определения медиастинальных мишеней является средостенное окно (уровень 20 HU; ширина окна ± 400 HU). Согласно текущим рекомендациям RTOG: 1) при невозможности планирования с 4D-СТ: PTV=GTV+10 мм в краниокаудальном и 5 мм в остальных направлениях; 2) при использовании 4D-СТ: PTV=ITV+3–5 мм по всем осям; 3) V_{Rx} доза $\geq 95\%$ PTV; $V90 \geq 99\%$ PTV; 4) превышение дозы ($\geq 105\%$ Rx дозы) должно попадать в PTV; 5) индекс комфортности $\leq 1,2$; 6) возможно проведение облучения без использования выравнивающих фильтров, что позволяет повышать мощность дозы до 2000–2400 мониторных единиц/мин, и сокращать время сеанса лучевой терапии; 7) обязательным является дозиметрический контроль планов облучения [1, 10, 20, 28].

Рекомендуемые дозы. При расчете дозы для контроля опухоли при НМРЛ целесообразно использовать соотношение α/β [alpha/beta]=10, а биологически эквивалентная доза (EQD_2) должна превышать 100 Гр. Доза и режим фракционирования определяются ограничениями по токсичности облучения для облучаемых нормальных тканей. Целесообразность изменения дозы в зависимости от гистологического типа опухолевых очагов, объема, локализации и первичного, либо метастатического их характера находится в стадии изучения. В настоящее время, наиболее часто, используются следующие режимы СТЛТ: 25–34 Гр \times 1 фракция; 18 Гр \times 3 фракции; 20 Гр \times 3 фракции; 13,5 Гр \times 4 фракции; 12 Гр \times 4 фракции; 10 Гр \times 5–6 фракций. Крупные фракции (более 20 Гр) обычно применяются при расположении опухоли на периферии — в плащевой и промежуточной зонах легкого. При срединной (прикорневой и парамедиастинальной) локализации обычно используют разовую очаговую дозу менее 13,5 Гр, поскольку EQD_2 ограничена возможной токсичностью для центральных бронхов и трахеи, сердца, пищевода и спинного мозга. Доза, как правило, предписывается по 60–90% изодозе с $\geq 95\%$ охватом PTV [2, 9, 28, 32]. В случае повторного проведения лучевой терапии целесообразно суммирование первичного и повторного планов СТЛТ. При планировании СТЛТ важно соблюдать существующие ограничения на критические органы (таблица).

Подведение дозы осуществляется в соответствии с текущими протоколами ежедневно или через день. Возможно использование одного или нескольких изоцентров, в зависимости от имеющейся аппаратуры. Верификация положения мишени должна осуществляться преимущественно проведением КТ в конусном пучке, либо с помощью киловольтных рентгеновских снимков (при использовании маркеров) на столе ускорителя.

Ограничения доз на критические органы при планировании СТЛТ легких

Структура	Число фракций	Ограничения доз (ранее регионарная лучевая терапия не проводилась)
Лёгкое	1	$V7 < 1500 \text{ см}^3$, $V20 < 30\%$; $\leq 13 \text{ Гр}$
	3	$V11.6 < 1500 \text{ см}^3$, $V20 < 10\%$; $\leq 18 \text{ Гр}$
	5	$V12.5 < 1500 \text{ см}^3$, $\leq 25 \text{ Гр}$
Центральные бронхи и трахея	1	$V10.5 < 4 \text{ см}^3$, $D_{\max} 20,2 \text{ Гр}$
	3	$V15 < 4 \text{ см}^3$, $D_{\max} 30 \text{ Гр}$, $1 \text{ см}^3 < 30 \text{ Гр}$
	5	$V16.5 < 4 \text{ см}^3$, $D_{\max} 40 \text{ Гр}$, $1 \text{ см}^3 < 32 \text{ Гр}$
Грудная стенка	1	$V22 < 1 \text{ см}^3$, $D_{\max} 30 \text{ Гр}$
	3	$V28.8 < \text{см}^3$, $D_{\max} 36.9 \text{ Гр}$, $V30 < 30 \text{ см}^3$
	5	$V35 < 1 \text{ см}^3$, $D_{\max} 43 \text{ Гр}$, $V30 < 30 \text{ см}^3$
Сердце	1	$V16 < 15 \text{ см}^3$, $D_{\max} 18-22 \text{ Гр}$
	3	$V24 < 15 \text{ см}^3$, $D_{\max} 24-30 \text{ Гр}$, $1 \text{ см}^3 < 24 \text{ Гр}$
	5	$V32 < 15 \text{ см}^3$, $D_{\max} 27-38 \text{ Гр}$, $1 \text{ см}^3 < 27 \text{ Гр}$
Пищевод	1	$V11.9 < 5 \text{ см}^3$, $D_{\max} 14-15,4 \text{ Гр}$
	3	$V17.7 < 5 \text{ см}^3$, $D_{\max} 24-26 \text{ Гр}$
	5	$V19.5 < 5 \text{ см}^3$, $D_{\max} 27-35 \text{ Гр}$
Плечевое сплетение	1	$V14 < 3 \text{ см}^3$, $D_{\max} 16-17,5 \text{ Гр}$
	3	$V20.4 < 3 \text{ см}^3$, $D_{\max} 24 \text{ Гр}$, $1 \text{ см}^3 \leq 24 \text{ Гр}$
	5	$V 27 < 3 \text{ см}^3$, $D_{\max} 30-32 \text{ Гр}$, $1 \text{ см}^3 \leq 27 \text{ Гр}$
Спиной мозг	1	$V10 < 0.35 \text{ см}^3$, $D_{\max} 12-14 \text{ Гр}$, $\leq 13 \text{ Гр}$
	3	$V18 < 0.35 \text{ см}^3$, $D_{\max} 18-21,9 \text{ Гр}$, $\leq 18 \text{ Гр}$
	5	$V23 < 0.35 \text{ см}^3$, $D_{\max} 25-30 \text{ Гр}$, $\leq 25 \text{ Гр}$
Кожа	1	$V23 < 10 \text{ см}^3$, $D_{\max} 26 \text{ Гр}$
	3	$V30 < 10 \text{ см}^3$, $D_{\max} 33 \text{ Гр}$, $\leq 24 \text{ Гр}$
	5	$V36.5 < 10 \text{ см}^3$, $D_{\max} 39,5 \text{ Гр}$
Перикард	5	$D_{\max} < 22 \text{ Гр}$, $V_{32} < 15 \text{ см}^3$
Аорта	3	$D_{\max} < 45 \text{ Гр}$
	5	$D_{\max} < 52,5 \text{ Гр}$

При смещении мишени во время дыхательного цикла на 10 мм и более предпочтительно облучение, синхронизированное с дыханием [2, 10, 20, 28].

Клиническая эффективность СТЛТ существенно превосходит ожидания, построенные на классической линейно-квадратичной модели и традиционных радиобиологических принципах 4R, определяющих фракционирование (repair — redistribution — reoxygenation — repopulation). При СТЛТ большинство клеточных повреждений летальны и репарация не происходит. Перераспределение в клеточном цикле и реоксигенация не имеют существенного значения, поскольку за короткое время уничтожаются практически все опухолевые клетки, включая малочувствительные к облучению и гипоксические. Репопуляция реализуется через 2–3 нед после ДЛТ, а СТЛТ осуществляется в более короткие сроки (1–5 фракций в течение 1 нед). Предпринимаются попытки создания модифицированных универсальных линейно-квадратичных моделей [15, 22, 24,

34]. Однако, взаимосвязь между биологическими эффектами высоких доз облучения за фракцию и фактической клинической эффективностью этими моделями пока до конца не объясняется, что связано, в том числе, и с косвенными радиационно-индуцированными эффектами. К ним относятся повреждения эндотелия сосудов, приводящие к агрегации тромбоцитов, нарушению кровотока, ишемии и некрозу опухоли и активация иммунных процессов. Важнейшим иммунным феноменом является абскопальный эффект, связанный с повреждением опухолевых клеток и массивным высвобождением антигенного материала, и проявляющийся уменьшением необлученных опухолевых очагов после облучения других очагов [4, 13, 24].

Токсичность, лучевые реакции и осложнения могут быть острыми (менее 6 нед) и поздними (после этого срока). К острой токсичности относятся: 1) слабость, утомляемость; 2) кашель, одышка; 3) боль в грудной полости; 4) пневмонит (пневмонит); 5) эзофагит; 6) дерматит.

Поздняя токсичность, развивающаяся после 6 нед, проявляется как 1) постоянные кашель и одышка; 2) лучевой пульмонит; 3) плевсит; 4) боль в грудной клетке и переломы ребер; 5) постлучевые изъязвления на коже; 6) стриктура пищевода и трахеопищеводные свищи; 7) повреждение сосудов, которое может приводить к ограниченному кровохарканию или фатальному массивному кровоизлиянию. Риск возникновения пульмонитов возрастает с увеличением числа полей, интенсивным курением, возрастом, предшествующим применением стероидов и сопутствующей патологией. При возникновении осложнений может проводиться местная или системная фармакотерапия [2, 9, 28].

Результаты проведения СТЛТ при раннем НМРЛ (T1–2N0) демонстрируют 3–5-летние ЛК 85–95% при ОВ 50–95%. Так, в I фазе исследования CALGB 39904 [7] показатели ЛК составили 92,3%, а выживаемость без отдаленного метастазирования — 82,1%. Случаев поздней токсичности 3–4 степени не было [7]. Nordic Study Group [6] во II фазе исследования эффективности СТЛТ (45–66 Гр за 3 фракции) продемонстрировали 3-летние ЛК и ОВ 88,4% и 59,5% соответственно. Частота отдаленного метастазирования составила 16%. Риск местного рецидивирования и генерализации при опухолях T2 против опухолей T1 был существенно выше — 41% против 18% ($p=0,027$) [6]. Представлены результаты II фазы исследования RTOG 0236 [32] — 3-летний ЛК составил 98%, а ОВ достигала 56%. Токсичность 3 и 4 степени были 12,7% и 3,5% соответственно. Исходно низкие дыхательные резервы не влияли на количество осложнений [31, 32]. Farikis A.J. и соавт. [11] показали во II фазе исследования эффективности СТЛТ (60–66 Гр за 3 фракции), что 3-летние ЛК и ОВ составили 88,1% и 42,7% соответственно. Токсичность ≥ 3 степени достигала 10,4% при удаленном и 27,3% при срединном расположении опухоли ($p=0,088$) [11,31]. Во II фазе исследования JCOG 0403 [20] при проведении СТЛТ (СОД 48 Гр в 4 фракциях) 3-летние ЛК и ОВ составили 88% и 59,9% соответственно, а у радикально прооперированных пациентов — 86,0% и 76,0%, соответственно. Пневмонит 3 степени развился у 7% участников, а общая токсичность 4 степени — у 2% [20]. Crabtree T.D. и соавт. [9] выполнили ретроспективное сравнение результатов лечения больных с НМРЛ I стадии, которым проведено хирургическое вмешательство ($n=462$), либо СТЛТ ($n=76$). При сравнительном анализе статистически значимых различий в 3-летних показателях ЛК (88% против 90%) и ОВ (54% против 38%) между группами хирургического лечения и СТЛТ не выявлено [81]. В анализе SEER-Medicare [29] проведено сравнение ре-

зультатов лечения пациентов старше 60 лет с I стадией НМРЛ, которым проведены: лобэктомия/сублобарная резекция/СТЛТ/конформная лучевая терапия. Различий в ОВ между СТЛТ и хирургическими методами не обнаружено, эффективность ДЛТ оказалась ниже СТЛТ [29]. Неоднократно было показано, что пациенты, получившие радикальное хирургическое лечение по поводу РЛ, подвержены риску метакронного развития первичного РЛ. Если операция была выполнена в объеме пневмонэктомии, хирургические методы, как правило, считаются исчерпанными. В публикации Senthil S. и соавт. [28] показано, что у пациентов, ранее перенесших пневмонэктомию с метакронным первичным РЛ, которым была проведена СТЛТ 54–60 Гр за 3–8 фракций, 3-летний ЛК составил 80%, медиана выживаемости (МВ) — 39 мес, а пневмонит 3 степени зафиксирован у 15% пациентов [28]. В обзоре A.J. Arifin и соавт. [5] была произведена выборка из 215 статей, включающих данные о 53 пациентах, получивших SBRT после ранее произведенной пневмонэктомии. Среднее время после операции составило 6,5 лет. Средняя биологически эффективная доза достигала 115Гр: СОД=54 Гр за 3 фракции, СОД=48 Гр за 4 фракции и СОД=50 Гр за 5 фракций. Срок наблюдения составил 25,4 мес: 1-летняя ОВ и 2-летний ЛК составили 80,6% и 89,4%. Токсичность 3 степени и выше отмечена у 13,2% пациентов. Авторы делают обоснованный вывод о безопасности и эффективности SBRT у больных с предшествующим удалением лёгкого [5].

Срединные (парамедиастинальные) опухоли. В англоязычной литературе, посвященной различным вопросам стереотаксического облучения, часто встречается формулировка «centrally lung tumors — центральный рак лёгкого», подразумевающая близкое расположение новообразования к органам средостения. Однако, подобная трактовка не соответствует существующей общепринятой клинко-анатомической классификации, в которой под центральным РЛ подразумевается опухоль, исходящая из крупных бронхов (главных, промежуточных, долевых, сегментарных и субсегментарных) и доступная визуальному обзору при бронхоскопии. В отличие от них, периферический РЛ локализуется в дистальных отделах паренхимы лёгкого, но при этом, может располагаться как вдали от средостения, так и быть интимно связанным с ним, независимо от первичных размеров (критерия «Т»). Соответственно, чтобы не породить двусмысленную интерпретацию этих определений, вероятно, более целесообразно использовать для близко расположенных к корню лёгкого и органам средостения опухолей термин «парамедиастинальные» или «срединные», а

для прочих — «промежуточные» и «удаленные» [30]. Опухоли легкого, расположенные парамедиастинально, можно разделить на две категории: 1) «умеренно срединные», когда целевой объем планирования (PTV) находится за пределами 2 см от проксимального бронхиального дерева (трахеи и главных бронхов), 2) «ультрасрединные», когда PTV накладывается на трахею и главные бронхи. Чтобы минимизировать токсичность стереотаксического облучения на основе критериев RTOG 0813 рекомендуется при срединных (парамедиастинальных) опухолях выполнять СТЛТ за 5 фракций, при максимальной дозе в точке 105% от предписанной дозы. По данным Н. Tekatli и соавт. (2018), максимальный объем трахеи и проксимального бронхиального дерева, получающий свыше 18 Гр должен быть менее 4 см³, сердца (свыше 32 Гр) — менее 15 см³, магистральных сосудов (свыше 47 Гр) — менее 10 см³ и пищевода (свыше 27,5 Гр) — менее 4 см³ [30]. В систематический обзор, выполненный Н. Chen и соавт. [8], включено 250 больных с ультрасрединным расположением опухоли (СТЛТ в СОД=30–60 Гр за 3–12 фракций; BED₁₀=48–138Гр). По данным авторов [8] токсичность 3 степени и выше составила 10%, связанная с лечением летальность — 5%. Медиана 1-летнего ЛК достигала 96%, 2-летнего — 92%. Индикаторами высокого риска летальности были: эндобронхиальный рост опухоли; максимальная доза на проксимальное бронхиальное дерево более 180 Гр BED₃ (соответствует 45 Гр за 5 фракций или 55 Гр за 8 фракций); применение одновременно с облучением бевацизумаба и антикоагулянтов [8]. В систематический обзор, проведенный М.С. Tjong и соавт. [33] были включены 4 ретроспективных исследования (n=196; медиана наблюдения 12–32 мес), в которых метастазы в лимфоузлы средостения облучались в дозе 21–60 Гр за 3–11 фракций, при средней BED₁₀=46–106 Гр. 1-летний ЛК составил 97%, 2-летний 88%, 5-летний — 77%. Токсичность выше 3 степени составила 6%, а летальность, связанная с лечением — 2% [33].

Интерстициальные заболевания легких (ИЗЛ) — гетерогенная группа хронических неопухолевых заболеваний, характеризующихся диффузными воспалительными и/или фиброзными изменениями и проявляющихся рестриктивными нарушениями бронхиальной проводимости, легочной недостаточностью и снижением газообмена. Отдельно выделяют фиброзные подтипы ИЗЛ, включающие идиопатический легочный фиброз [103]. ИЗЛ являются одним из общепризнанных противопоказаний к проведению СТЛТ, причем хирургическое лечение у этой группы больных,

нередко также невозможно, в связи с низкими дыхательными резервами. Недавно проведенный мета-анализ показал, что проведение СТЛТ у таких больных сопряжено с 25% риском лучевого пневмонита 3 степени и выше и 15% риском смерти, связанной с лечением. Наиболее высок риск осложнений в подгруппе пациентов с фиброзными подтипами: летальность после СТЛТ составляет 33% против 14% при других ИЗЛ (p=0,092). В настоящее время начато многоцентровое исследование, посвященное возможности проведения СТЛТ (50Гр за 5 фракций через день), при раннем НМРЛ на фоне ИЗЛ [21].

СТЛТ может использоваться для дополнительной эскалации дозы («boost») в первичной опухоли при проведении стандартной лучевой/химиолучевой терапии при местнораспространенном НМРЛ, что позволяет снизить лучевую нагрузку на нормальную легочную паренхиму. По данным Karam S.D. и соавт. [16] ДЛТ (45–60 Гр) с последующей СТЛТ на резидуальную опухоль (20–30 Гр за 5 фракций) обеспечивает 1-летний ЛК и ОВ 76% и 78% соответственно [16]. Пневмониты ≥2 степени развились у 25% пациентов [16]. В проспективном исследовании Feddock J. и соавт. [12] (ДЛТ 60 Гр+СТЛТ-boost 20 Гр за 2 фракции или 19,5 Гр за 3 фракции для срединных) 1-летний ЛК достигал 82,9%. Частота острых и поздних пневмонитов 2–3 степени составила 17% и 9% соответственно [12].

Результаты проведения СТЛТ при метастатическом поражении легких. Под олигометастатической болезнью (термин предложен Hellman S. и Weichselbaum R.R. в 1995 г.) понимают выявление ограниченного числа отдаленных метастазов (1–5) в процессе обследования по поводу первичного опухолевого процесса (синхронное выявление) или при динамическом наблюдении после завершения лечения (метахронное выявление). В 2020 г. в консенсусных рекомендациях ESRO и EORTC, представленных в публикации Guckenberger M. и соавт. [14], предложено определять олигометастазы как промежуточное состояние между локализованным и системно метастатическим опухолевым процессом. Существует достаточно сложная классификация олигометастатических процессов: индуцированные и истинные; de-novo и повторные; синхронные и метахронные. Так же имеется подклассификация с понятиями олигорекуррентности, олигопрогрессии и олигоперсистенции, учитывающая обнаружение олигометастазов во время активной системной терапии/интервала, а также наличие/отсутствие прогрессирования при текущей визуализации [14]. В последнее время появились предложения разделить все вторичные поражения легких на 1) солитарные, 2) олигометаста-

тические (до 5 очагов), 3) лимитированные (до 25 очагов) и 4) множественные (более 25 очагов) [3, 35].

Данные многочисленных исследований свидетельствуют о безопасности и эффективности использования СТЛТ при лечении олигометастатических поражений легких, особенно у пациентов с низкими функциональными резервами, многие из которых ранее получали мультимодальную терапию. Rusthoven К.Е. и соавт. [27] в I/II фазах многоцентрового исследования (48–60 Гр за 3 фракции) зафиксировали ЛК в 1 и 2 годы 100% и 96% соответственно, 2-летнюю ОВ — 39% [27]. Le Q.T. и соавт. [18] представили данные I фазы исследования радиохирургического лечения (15–30 Гр): 1-летний ЛК составил 91% для доз > 20 Гр и 54% — для доз <20 Гр ($p=0,03$) [18]. В I/II фазах исследования, опубликованного Ernst-Stecken A. и соавт. [10] (35–40 Гр за 5 фракций) достигнут ЛК 81% в течение 13 мес [10].

Повторное облучение. Reingold M. и соавт. [26] проанализировали ретроспективные данные о проведении СТЛТ (средняя ВЕД₁₀ 70,4 Гр) после предшествующей стандартной ДЛТ (СОД 61 Гр). Медиана безрецидивной выживаемости (БРВ) составила 13,8 мес, а средняя выживаемость — 22 мес. Легочная токсичность 2 и 3 степени составила 18% и 5%, соответственно [26]. В ретроспективный анализ Reulen H. и соавт. [23] вошли данные о повторной СТЛТ (30–40 Гр за 2–5 фракций), у 32 пациентов, ранее получавших аналогичное лечение с 50% перекрытием РТВ. Токсичность 3–4 степени составила 25%, 5-месячный ЛК — 52%, а 1-летняя ОВ — 59% [23]. Kelly P. и соавт. [17] провели ретроспективное исследование эффективности СТЛТ (50 Гр за 4 фракции) при рецидиве НМРЛ после предшествующей ДЛТ (СОД 62 Гр). У 33% больных развилась токсичность 3 степени, а 2-летние ЛК и ОВ составили 92% и 59% соответственно [17]. В исследовании Liu H. и соавт. [19] в аналогичной группе больных 2-летние ЛК и ОВ были 42% и 74% соответственно. Пневмонит 3 и более степени наблюдался у 21% пациента. Предикторами пневмонита были статус по ECOG 2–3, FEV1 до СТЛТ $\leq 65\%$, V20 $\geq 30\%$ и предшествующий РТВ, включавший лимфоузлы средостения с 2-х сторон (все $p<0,03$) [19].

Рекомендации по наблюдению. КТ органов грудной полости (в ряде случаев, ПЭТ-КТ) выполняют в течение первых трех лет каждые 3–4 мес; в последующие 2 года каждые 6 мес; затем каждые 12 мес пожизненно.

В исследовании Ronden M.I. и соавт. [25] показано, что после проведения SBRT в лег-

ких развиваются острые и поздние изменения в рентгенологической картине. Острые изменения наблюдаются в течение первых 6 мес после облучения и визуализируются при КТ как 1) диффузная консолидация ~24% больных, 2) пятнистая консолидация ~21%, 3) диффузная затемнение типа матового стекла ~8% и 4) пятнистое затемнение типа матового стекла ~8%. В свою очередь, поздние рентгенологические изменения проявляются через 6 мес или позже, чаще после использования технологии ИМРТ и подразделяются на 1) обычную картину фиброза ~62%, 2) рубцовый фиброз ~15% и 3) фиброз с масс-эффектом ~14%, причем последний бывает трудно отличить от местного рецидива. Существует ряд рентгенологических признаков высокого риска, позволяющих дифференцировать фиброз и рецидив опухоли — нарастающее и последовательное снижение прозрачности, краиникаудальный рост, выпуклые края, исчезновение линейных границ и потеря воздуха на бронхограммах [25].

Заключение. Таким образом, накопленные данные позволяют рассматривать стереотаксическую лучевую терапию в качестве стандартного метода лечения функционально неоперабельных больных РЛ (I–II стадии — T1–2N0) и пациентов с олигометастатическим поражением лёгких. СТЛТ может использоваться для дополнительной эскалации дозы («boost») в первичной опухоли при проведении стандартной лучевой/химиолучевой терапии при местнораспространенном НМРЛ. Получены данные о возможности проведения СТЛТ при лечении рецидивных и метакронных опухолевых поражений, в том числе, после ранее проведенного хирургического лечения, включая пневмонэктомии, и предшествующей лучевой/химиолучевой терапии. Метод характеризуется высокой эффективностью, достаточной безопасностью и воспроизводимостью. Следует признать, что методика требует высокой квалификации и достаточного опыта от медицинского и технического персонала, а также полноценной оснащённости клиники диагностической и лучевой аппаратурой. В целом, оптимизация методов лечения локализованного первичного и метастатического опухолевого поражения легких является одним из приоритетных направлений современной онкологии, а многие аспекты рационального подхода к разрешению этой актуальной проблемы остаются нерешёнными и требуют дальнейшего изучения.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии в статье конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

- Антипов Ф.Е., Канаев С.В., Новиков С.Н. и соавт. Моделирование синхронизации дыхания при проведении стереотаксической лучевой терапии опухолевых очагов в легких // В книге: Сборник научных работ V Петербургского Международного онкологического форума «Белые ночи 2019» 20–23.06.2019 г. СПб. АННО «Вопросы онкологии». 2019:98–100.
- Арсеньев А.И., Новиков С.Н., Канаев С.В. и соавт. Стереотаксическая лучевая терапия в лечении ранних форм немелкоклеточного рака лёгкого // Вопросы онкологии. 2018;64(5):638–644.
- Смоленов Е.И., Рагулин Ю.А., Пикин О.В. Классификация легочных метастазов: возможности применения в клинической // Сибирский онкологический журнал. 2018;17(2):34–40. <https://doi.org/10.21294/1814-4861-2018-17-2-34-40>.
- Зозуля А.Ю., Новиков С.Н., Балдуева И.А. и др. Изменение иммунного статуса у пациентов солидными опухолями на фоне стереотаксической лучевой терапии // Вопр. онкологии. 2020;66(3):277–282.
- Arifin A.J., Al-Shafa F., Chen H. et al. Is lung stereotactic ablative radiotherapy safe after pneumonectomy? — a systematic review // *Transl. Lung Cancer Res.* 2020;9(2):348–353. <https://doi:10.21037/tlcr.2020.01.18>.
- Baumann P., Nyman J., Hoyer M., Weinberg B. Outcome in a prospective phase II trial of medically inoperable stage I nonsmall-cell lung cancer patients treated with stereotactic body radiotherapy // *J. Clin. Oncol.* 2009;27(20):3290–3296.
- Bogart J.A., Hodgson L., Seagren S.L., Blackstock A.W. Phase I study of accelerated conformal radiotherapy for stage I nonsmall-cell lung cancer in patients with pulmonary dysfunction: CALGB 39904 // *J. Clin. Oncol.* 2010;28(2):202–206.
- Chen H., Laba J.M., Zayed S. et al. Safety and Effectiveness of Stereotactic Ablative Radiotherapy for Ultra-Central Lung Lesions: A Systematic Review // *J. Thorac. Oncol.* 2019;14(8):1332–1342. <https://doi:10.1016/j.jtho.2019.04.018>.
- Crabtree T.D., Denlinger C.E., Meyers B.F., El Naga I. Stereotactic body radiotherapy versus surgical resection for stage I non-small cell lung cancer // *J. Thorac. Cardiovasc Surg.* 2010;140(2):377–386.
- Ernst-Stecken A., Lambrecht U., Mueller R. et al. Hypofractionated stereotactic radiotherapy for primary and secondary intrapulmonary tumors: first results of a phase I/II study // *Strahlenther. Onkol.* 2006;182:696–702.
- Farikis A.J., McGarry R.C., Yiannoutsos C.T., Papiez L. Stereotactic body radiation therapy for early-stage non-small-cell lung carcinoma: four-year results of a prospective phase II study // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2009;75(3):677–682.
- Feddock J., Arnold S.M., Shelton B.J., Sinha P. Stereotactic body radiation therapy can be used safely to boost residual disease in locally advanced non-small cell lung cancer: a prospective study // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2013;85(5):1325–1331.
- Formenti S.C., Demaria S. Systemic effects of local radiotherapy // *Lancet Oncol.* 2009;10(7):718–726.
- Guckenberger M., Lievens Y., Bouma A.B. et al. Characterisation and classification of oligometastatic disease: a European Society for Radiotherapy and Oncology and European Organisation for Research and Treatment of Cancer consensus recommendation // *Lancet Oncol.* 2020;21(1):18–28. [https://doi:10.1016/S1470-2045\(19\)30718-1](https://doi:10.1016/S1470-2045(19)30718-1).
- Guerrero M., Li X.A. Extending the linear-quadratic model for large fraction doses pertinent to stereotactic radiotherapy // *Phys. Med. Biol.* 2004;49:4825–4835. <https://doi:10.1088/0031-9155/49/20/012>.
- Karam S.D., Horne Z.D., Hong R.L., McRae D. Dose escalation with stereotactic body radiation therapy boost for locally advanced non small cell lung cancer // *Radiat. Oncol.* 2013;8:179.
- Kelly P., Balter P.A., Rebuena N., Sharp H.J. Stereotactic body radiation therapy for patients with lung cancer previously treated with thoracic radiation // *University of California.* 2010;78(5):1387–1393.
- Le Q.T., Loo B.W., Ho A., Cotrutz C. Results of a phase I dose-escalation study using single-fraction stereotactic radiotherapy for lung tumors // *J. Thorac. Oncol.* 2006;1:802–809.
- Liu H., Zhang X., Vinogradskiy Y.Y., Swisher S.G. Predicting radiation pneumonitis after stereotactic ablative radiation therapy in patients previously treated with conventional thoracic radiation therapy // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2012;84:1017–1023.
- Nagata Y., Hiroka M., Shibata T. et al. Stereotactic body radiation therapy for T1N0M0 non-small cell lung cancer: first report for inoperable population of a phase II trial by Japan Clinical Oncology Group (JCOG 0403) // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2012;84(3):46.
- Palma D.A., Chen H., Bahig H. et al. Assessment of precision irradiation in early non-small cell lung cancer and interstitial lung disease (ASPIRE-ИЗЛ): study protocol for a phase II trial // *BMC Cancer.* 2019;19(1):1206. <https://doi:10.1186/s12885-019-6392-8>.
- Park C., Papiez L., Zhang S. et al. Universal survival curve and single fraction equivalent dose: useful tools in understanding potency of ablative radiotherapy // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2008;70:847–852. <https://doi:10.1016/j.ijrobp.2007.10.059>.
- Peulen H., Mantel F., Guckenberger M. et al. Validation of high-risk computed tomography features for detection of local recurrence after stereotactic body radiation therapy for early-stage non-small cell lung cancer // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2016;96(1):134–141.
- Qiu B., Aili A., Xue L. et al. Advances in Radiobiology of Stereotactic Ablative Radiotherapy // *Front Oncol.* 2020;10:1165. <https://doi:10.3389/fonc.2020.01165>.
- Ronden M.I., Palma D., Slotman B.J., Senan S. Report on Radiological Changes following Stereotactic Ablative Radiotherapy (SABR) for Early-Stage Lung Tumors: A Pictorial Essay // *Journal of Thoracic Oncology.* 2018;13(6):855–862.
- Reyngold M., Wu A., McLane A. et al. Toxicity and outcomes of thoracic re-irradiation using stereotactic body radiotherapy (SBRT) // *Radiat. Oncol.* 2013;8:99.
- Rusthoven K.E., Kavanagh B.D., Burri S.H. et al. Multi-institutional phase I/II trial of stereotactic body radiation therapy for lung metastases // *J. Clin. Oncol.* 2009;27:1579–1584.
- Senthi R.A., Barani I.J., Larson D.A., Roach M. Handbook of Evidence-Based Stereotactic Radiosurgery and Stereotactic Body Radiotherapy. Springer. 2016.

29. Shirvani S.M., Jiang J., Chang J.Y. et al. Sublobar Resection, and Stereotactic Radiation for Early-Stage Non-Small Cell Lung Cancers in the Elderly // *JAMA Surg.* 2014;149(12):1244–1253.
30. Tekati H., Spoelstra F.O.B., Palacios M. et al. Stereotactic ablative radiotherapy (SABR) for early-stage central lung tumors: New insights and approaches // *Lung Cancer.* 2018;23:142–148. <https://www.ogc.nl/flipbook/h.tekatli>.
31. Timmerman R., McGarry R., Yiannoutsos C. et al. Excessive toxicity when treating central tumors in a phase II study of stereotactic body radiation therapy for medically inoperable early stage lung cancer // *J. Clin. Oncol.* 2006;24(30):4833–4839.
32. Timmerman R., Paulus R., Galvin J. et al. Stereotactic body radiation therapy for inoperable early stage lung cancer // *JAMA.* 2010;303(11):1070–1076.
33. Tjong M.C., Malik N.H., Chen H. et al. Stereotactic ablative radiotherapy for malignant mediastinal and hilar lymphadenopathy: a systematic review // *J. Thorac. Dis.* 2020;12(5):2280–2287. <https://doi:10.21037/jtd.2020.03.112>.
34. Wang J.Z., Huang Z., Lo S.S. et al. A generalized linear-quadratic model for radiosurgery, stereotactic body radiation therapy, and high-dose rate brachytherapy // *Sci. Transl. Med.* 2010;2:39–48. <https://doi:10.1126/scitranslmed.3000864>.
35. Weichselbaum R.R., Hellman S. Oligometastases revisited // *Nat. Rev. Clin. Oncol.* 2011;8 (6):378–382. <https://doi:10.1038/nrclinonc.2011.44>

Поступила в редакцию 03.02.2021

A.I. Arseniev, S.N. Novikov, S.V. Kanaev, A.A. Barchuk, F.E. Antipov, A.Yu. Zozulya, Yu.S. Melnik, K.E. Gagaa, A.O. Nefedov, S.A. Tarkov, N.Y. Aristidov

Perspectives of stereotactic radiotherapy in primary and oligo-metastatic pulmonary tumors

FSBI «N.N. Petrov NMRC of Oncology» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Saint Petersburg

Lung cancer (LC) is a common malignant neoplasm (MN) with high lethality, often detected at late stages. The implementation of lung cancer screening can change the ratio in favor of the early stages. Screening could help diagnose early-stage LC in 60% of patients. Multiple primary LCs occur in 4–10% of patients within five years after treatment. The presence of oligo-metastatic disease only in the lungs (up to 5 nodules) occurs in 6–40% of patients with malignant tumors, and complete resection can increase 5-year survival to 20–40%. Due to functional limitations, surgical treatment can be performed only in 65–70% of patients. Stereotactic radiation therapy gives an opportunity to accurately deliver a high dose of radiation to the tumor with minimal damage to the surrounding healthy tissues. Local control is possible in 85–95% of cases, and 3-year overall survival is about 60–80%. Delivery of optimal doses (BED₁₀≥100 Gy) can improve the treatment results for early-stage lung cancer and oligometastatic lesions. In this non-systematic review, we analyze a recent publication and our own experience. We consider the effectiveness and safety of stereotactic radiotherapy and some methodologic questions: fractionation, dose restrictions on critical organs, acute and late adverse events. We conclude that randomized controlled trials can reveal the stereotactic radiation therapy's potential in patients with primary and oligo-metastatic pulmonary tumors.

Key words: non-small cell lung cancer; oligometastasis; conformal radiation therapy, stereotactic radiation therapy, medically inoperable

Е.П. Куликов, С.А. Мерцалов, В.А. Григоренко

Генетический статус пациентов при колоректальном раке

ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова»
Минздрава России

Колоректальный рак остается одной из самых распространенных опухолей. В структуре онкологической смертности в России опухоли данной локализации занимают 2-е место среди лиц обоих полов, уступая у мужчин раку трахеи и бронхов, а у женщин — раку молочной железы. Несмотря на современные методы диагностики и подходы к лечению, проблема колоректального рака остается актуальной ввиду роста заболеваемости во всем мире, причем, в последнее время, отмечается тенденция к уменьшению среднего возраста заболевших, что увеличивает социальную значимость данной проблемы. Согласно современной концепции канцерогенеза, весьма перспективным выглядит оценка влияния генетических факторов на развитие опухолей данной локализации. Исследования, направленные на поиск связи генетических маркеров, однонуклеотидных полиморфизмов генов и их вклад в проблему колоректального рака являются одним из наиболее изучаемых направлений в современной онкологии. В настоящем обзоре литературы была произведена оценка результатов проделанных работ, связанных с ролью полиморфизмов генов в развитии и терапии колоректального рака. Поиск работ производился по базам данных PubMed и CyberLeninka. Приведены известные к настоящему времени данные о генах *PPARG*, *COX-2*, *XPD*. Представлены сведения об ассоциации полиморфных вариантов этих генов с развитием колоректального рака, эффектом от проводимой терапии. Обсуждается необходимость продолжения работ в данном направлении для персонализации лечения пациентов с колоректальным раком.

Ключевые слова: полиморфизм генов, колоректальный рак, КРР, обзор

Введение

Колоректальный рак (КРР) — одна из самых распространенных злокачественных опухолей человека. По данным Российского общества клинической онкологии и American cancer society принято считать, что в понятие колоректального рака включены злокачественные ново-

образования, происходящие из структур ободочной и прямой кишки [1, 2]. Ежегодно в России регистрируется свыше 75 000 новых случаев рака прямой и ободочной кишки. В структуре заболеваемости злокачественными новообразованиями населения Российской Федерации рак прямой и ободочной кишки занимают пятое и шестое место среди лиц мужского пола и четвертое и шестое место среди лиц женского пола соответственно. В течение последних десяти лет, согласно данным А.Д. Каприна, В.В. Старинского, Г.В. Петровой, наблюдается тенденция к постепенному увеличению заболеваемости раком данных локализаций, что в первую очередь происходит вследствие модификации факторов риска, изменению образа жизни современного человека. Рак прямой и ободочной кишки чаще диагностируется у пациентов старшей возрастной группы (пик заболеваемости приходится на возраст 65–69 лет), но, в последнее время, отмечается тенденция к уменьшению среднего возраста заболевших, что увеличивает социальную значимость данной проблемы [3].

В структуре онкологической смертности в России КРР занимает 2-е место среди лиц обоих полов, уступая у мужчин раку трахеи и бронхов, а у женщин раку молочной железы. Продолжительность жизни пациентов напрямую связана со степенью распространенности процесса, так пятилетняя выживаемость при I стадии составляет 93%, при II стадии — 72%, при III стадии — 45%, а при IV стадии — не превышает 8%.

В настоящее время проблема колоректального рака становится более актуальной не только в России, но и во всем мире. В связи с данным фактом, большие усилия медицинского сообщества направлены на разработку программ скрининга, ранней диагностики и прогнозирования эффекта терапии опухолей данной локализации.

Генетические аспекты канцерогенеза

Согласно современной концепции канцерогенеза, переход клетки в злокачественную происходит за счет активации онкогенов на фоне соматических мутаций или инактивации физиологически активных генов — протоонкогенов [4].

Под действием регуляторных сигналов на клетку, происходит активация протоонкогенов. Функции, выполняемые этими генами, весьма многообразны. В норме их активация наблюдается при репаративных процессах, эмбриональном развитии. Таким образом, протоонкогены обеспечивают нормальное функционирование клетки, чем создаются условия для ее полноценного существования в окружающей среде и взаимодействия с другими клетками. В нормальных клетках протоонкогены с позиции их канцерогенности неактивны. В случае структурных нарушений, они изменяют уровень своей физиологической активности. Такие активированные протоонкогены называют онкогенами, продуцирующими соответствующие онкобелки. Последние напоминают нормальные белки протоонкогенов, но их выработка не зависит от естественных регуляторов. Онкобелки активируют ряд процессов в клетке, в том числе и клеточную пролиферацию, что приводит к трансформации клетки в злокачественную.

Под генами-онкосупрессорами понимается класс генов, утрата или подавление активности которых также приводит к развитию опухолей. В неизмененных клетках гены-супрессоры подавляют деление клеток и стимулируют их дифференцировку. Мутации в таких генах ведут к подавлению их активности, утрате контроля над процессами пролиферации и, как следствие, развитию рака. Типичный представитель — ген P53, который обеспечивает исправление генетических повреждений или способствует апоптозу, если исправить не удастся. Также выделяют третий класс онкоассоциированных генов, к которым относят мутаторные гены. Мутаторные гены — ряд генов, специализированных на распознавании и восстановлении (репарации) повреждений ДНК, которые могут вызывать генетическую нестабильность и развитие рака. Их физиологическая функция заключается в выявлении повреждения ДНК и поддержании целостности генома путем активации репарационных систем с целью восстановления исходной структуры ДНК [5].

В свою очередь все три группы генов, участвующих в канцерогенезе, имеют полиморфные варианты, которые, так или иначе, влияют на восприимчивость к онкологическим заболеваниям.

В генетике под полиморфизмом генов понимается такое состояние, при котором в пределах одной популяции один и тот же ген представлен несколькими аллелями, что в свою очередь обуславливает разнообразие признаков внутри вида и является обязательным условием разнообразия живой природы [6]. К настоящему времени известны некоторые типы полиморфизмов. Так, например, наиболее распространенным счита-

ется однонуклеотидный полиморфизм (Single nucleotide polymorphism, SNP). Под SNP принято считать однонуклеотидные позиции в геномной ДНК, для которых в некоторой популяции имеются различные варианты последовательностей (аллели), причём редкий аллель встречается с частотой не менее 1% [7]. Помимо замены отдельных нуклеотидов в основе полиморфизма ДНК лежат вставки, делеции и изменение числа микросателлитных и минисателлитных tandemных повторов.

Бурное развитие генетики в течение последних 30 лет привело к революционным открытиям в области фундаментальной онкологии. Открытие онкогенов и антионкогенов позволило кардинально изменить взгляды на механизмы канцерогенеза. Исследования и работы последних лет говорят нам о необходимости активного внедрения молекулярно-генетической диагностики на всех этапах онкологической помощи, в особенности на профилактическом и диагностическом этапах.

Ассоциации полиморфизма генов с развитием КРР

В настоящее время активно исследуется роль полиморфных вариантов генов при различных локализациях опухолей [8], в том числе и при колоректальном раке [9–14].

Так, Jiang J. и соавт. в своей работе обнаружили, что полиморфный вариант гена PPARC C>G способен снижать риск развития колоректального рака у азиатов [15]. PPARC является ядерным рецептором гормонов и в основном продуцируется в толстой кишке, жировой ткани и иммунной системе [16]. PPARC играет очень важную роль в воспалительной реакции, дифференциации жировых клеток, модуляции метаболизма и клеточного апоптоза [17, 18]. Многие исследования были посвящены ассоциации полиморфизма PPARC rs1801282 C>G с риском КРР. Несколько мета-анализов показали, что G аллель PPARC ассоциировалась со сниженным риском образования опухолей толстой кишки у европеоидов [19, 20]. Однако работы в отношении полиморфизма PPARC rs1801282 C>G при колоректальном раке у азиатов были представлены 3 исследованиями с малой выборкой [21, 22, 23]. В связи с этим, Jiang J. и соавторы выполнили собственное исследование, включавшее 387 пациентов с колоректальным раком и 1536 человек из группы контроля, проанализировали еще 219 работ, суммарно оценивающих 12761 случай колоректального рака с 21113 здоровыми добровольцами группы контроля. В целом, была выявлена существенная связь между носительством G варианта PPARC

и сниженным риском развития колоректального рака (G vs. C: ОШ=0,94, 95% ДИ=0,89–1,00, P=0,040; GG+CG vs. CC: ОШ=0,92, 95% ДИ=0,84–0,99, P=0,032). Данные об ассоциации между PPARG rs1801282 C>G и снижением риска колоректального рака также были обнаружены среди азиатов (GG+CG vs. CC: ОШ=0,76, 95% ДИ=0,60–0,95, P=0,018), но не среди европеоидов. Затем был проведен дополнительный анализ подгрупп в отношении локализации. G вариант был ассоциирован с уменьшением риска как рака толстой кишки (G vs. C: ОШ=0,66, 95% ДИ=0,48–0,90, P=0,009, GG+CG vs. CC: ОШ=0,82, 95% ДИ=0,71–0,94, P=0,004, CG vs. CC+GG: ОШ=0,70, 95% ДИ=0,50–0,98, P=0,035 и CG vs. CC: ОШ=0,69, 95% ДИ=0,49–0,96, P=0,029), так и рака прямой кишки (G vs. C: ОШ=0,77, 95% ДИ=0,59–0,99, P=0,042, CG vs. CC+GG: ОШ=0,73, 95% ДИ=0,55–0,97, P=0,032 и CG vs. CC: ОШ=0,73, 95% ДИ=0,55–0,97, P=0,032). На основании вышеизложенных данных, коллектив авторов делает вывод о том, что G аллель гена PPARG связана с низким риском развития колоректального рака.

Некоторые варианты генов также способны предрасполагать к развитию рака. Так, Zhang Y.C. и соавт. выявили взаимосвязь полиморфного варианта гена COX-2 с повышенным риском развития колоректального рака среди европейцев [24]. Ген COX-2 (ЦОГ-2) кодирует одноименный фермент циклооксигеназу 2 — один из ключевых ферментов, участвующих в образовании простагландинов. Гиперэкспрессия гена COX-2 была ассоциирована с худшим прогнозом колоректального рака [25]. Ряд работ показал, что воздействие на COX-2 влияет на клетки опухолей [26, 27]. Сообщалось, что G аллель гена COX-2 транскрипционно активирует ЦОГ-2 в раковых клетках толстой кишки [28]. Описано множество работ, направленных на поиск ассоциации вариантов гена COX-2 с риском развития КРР, однако их результаты неоднозначны [29, 30, 31]. В мета-анализе авторы решили выявить зависимость риска развития колоректального рака с полиморфизмом COX-2 rs689466 в разных этнических группах. В анализе были объединены 16 исследований с 8998 случаями колоректального рака и 11917 представителей группы контроля. 12 исследований включали представителей европеоидной расы, 4 исследования — представителей азиатской расы. Статистический анализ показал, что высокая экспрессия ЦОГ-2 связана с лучшим показателем общей выживаемости у пациентов с колоректальным раком (HR, 0,66; 95% ДИ, 0,45–0,98; p=0,0357). При дальнейшем анализе было обнаружено, что данный полиморфный вариант связан с риском колоректального рака

у представителей европеоидной расы (G vs. A ОШ=1,15, 95% ДИ 1,02–1,29, p<0,05). При объединении всех обследуемых вне зависимости от их этнической принадлежности данной связи выявлено не было (G vs. A: ОШ=1,06 (95% ДИ 0,94–1,19)), p=0,363; GG+AG vs. AA 1,08 (0,95–1,24), p=0,237; GG vs. AG+AA 1,06 (0,84–1,32), p=0,627; GG vs. AA 1,10 (0,84–1,44), p=0,478; GA vs. AA 1,07 (0,95–1,21), p=0,453). Таким образом, авторы данного мета-анализа делают выводы о целесообразности определения полиморфных вариантов данного гена для стратификации риска развития колоректального рака у представителей европеоидной расы.

Влияние полиморфных вариантов генов на риск развития и терапию КРР

Исследование ассоциации полиморфных вариантов генов с риском развития колоректального рака не единственное направление работ последних лет. Весьма интересны работы в отношении их взаимосвязи с ответом на проводимую терапию [32, 33, 34, 35].

Работа Lu X. и соавт. показала, что эффект химиотерапии зависит от полиморфизма гена XPD. Предполагается, что эксцизионная репарация нуклеотидов — важный механизм восстановления ДНК после воздействия оксалиплатина [36]. Ген XPD является одним из ключевых факторов эксцизионной репарации ДНК [37]. Белковый продукт данного гена распознает и восстанавливает повреждения в структуре ДНК [38]. Однонуклеотидные полиморфизмы в гене XPD изменяют эффективность репарации ДНК, следовательно, могут быть использованы в качестве ценных прогностических факторов при химиотерапии. Авторы, в своем мета-анализе, отобрали работы, оценивающие полиморфизм Lys751Gln гена XPD у пациентов с колоректальным раком, получавшим терапию на основе оксалиплатина. Ответ на химиотерапию авторы классифицировали на полный (отсутствие заболевания по данным обследования), частичный (уменьшение опухоли не менее чем на 50%), стабилизация (уменьшение опухоли менее чем на 50% и увеличение не более чем на 25%) и прогрессирование (увеличение опухоли более чем на 25%). Полиморфизм был оценен у 379 пациентов на основании трех исследований [39, 40, 41]. При сравнении генотипов A/A с генотипами A/C и C/C не было выявлено статистически достоверной значимости (ОШ 1,15, 95% ДИ (1,01–1,30), P=0,03). Однако анализ подгрупп показал, что наличие генотипа A/A влияет на результат терапии оксалиплатином у пациентов из Америки и Европы (ОШ 1,25,

95% ДИ (1,02–1,53), $P=0,03$), следовательно, данный полиморфный вариант гена XPD может быть использован как предикторный маркер. Поэтому необходимо проводить большие исследования с использованием стандартизованных непредвзятых методов и обучать индивидуальной противоопухолевой химиотерапии в клинической практике.

Обсуждение

Генетический аспект стал неотъемлемой частью современной практической онкологии. В настоящее время активно исследуются ассоциации генетических полиморфизмов при различных локализациях опухолевого процесса с риском развития опухолей, выживаемостью пациентов, ответом на терапию. Ряд работ показал, что существует взаимосвязь развития опухолей с определенными полиморфными вариантами отдельных генов [8-14]. Эта проблема весьма актуальна при изучении КРР, ввиду распространенности данной локализации не только в России, но и во всем мире. Однако, большинство авторов указывает на неоднозначность результатов для одних и тех же генов. Эти различия связаны с этническими особенностями обследуемых пациентов. Например, работа Zhang Y.C. показала, что G аллель гена SOX-2 влияет на риск развития КРР у представителей европеоидной расы, но не у представителей азиатской расы, что в свою очередь ограничивает определение данного полиморфного варианта у пациентов в качестве предикторного фактора. Данная особенность говорит о необходимости проверки взаимосвязи полиморфизма генов с развитием КРР у различных этнических групп, с целью отбора потенциальных генов для каждого этноса.

Так же один из основных векторов работ — это поиск параллелей между полиморфизмом генов и эффективностью лечебных мероприятий при КРР [34-41]. Исследования в данном направлении показывают, что эффект от проводимой терапии обусловлен генетическими особенностями пациента. Знание о влиянии полиморфных вариантов генов на ответ опухоли на лечение позволит оптимизировать и персонализировать подход к каждому пациенту, однако, исследования в этом направлении также неоднозначны, что требует дальнейшего изучения данной проблемы.

Заключение

Таким образом, генетические факторы являются важным и неотъемлемым аспектом современной практической онкологии. Дальнейшие исследования по поиску ассоциации полиморфных

вариантов генов с ответом на терапию позволят персонализировать подход к лечению колоректального рака и опухолей других локализаций у каждого конкретного пациента.

Данный анализ литературы был выполнен в рамках проводимой нами работы в отношении предикторного влияния полиморфных вариантов генов на результат терапии.

Вклад авторов:

Куликов Е.П. — постановка целей и задач, анализ литературы, формулировка выводов;

Мерцалов С.А. — анализ литературы, оформление работы, формулировка выводов;

Григоренко В.А. — анализ литературы, оформление работы, перевод текста, формулировка выводов.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии в статье конфликта интересов.

Финансирование

Исследование не имело спонсорской поддержки.

ЛИТЕРАТУРА

- Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2018 году (заболеваемость и смертность). М., 2019 [Kaprin A.D., Starinskii V.V., Petrova G.V. Malignant tumors of Russia in 2018 (morbidity and mortality). Moscow, 2019. (in Russ)].
- American Cancer Society. Colorectal Cancer Facts & Figures 2017–2019. Atlanta, Ga: American Cancer Society; 2017.
- Федоров В.Э., Поделякин К.А. Эпидемиологические аспекты колоректального рака // Медицинский альманах. 2017;49(4):145–148 [Fedorov V.E., Podelyakin K.A. Epidemiological aspects of colorectal cancer // Medical almanac. 2017;4(49):145–148. (in Russ).]
- Imyanitov EN, Togo AV, Hanson KP. Searching for cancer-associated gene polymorphisms: promises and obstacles // Cancer Lett. 2004;204:3–14.
- Заридзе Д.Г. Канцерогенез. М.: Медицина, 2004 [Zaridze D.G. Kancerogenez. Moscow: Meditsina; 2004 (in Russ)].
- Иллариошкин С.Н., Скоблов М.Ю., Исламов Р.Р. и др. Медицинская генетика. Часть 3. Полиморфизм генов. Прямая ДНК-диагностика. Частота мутантных генов в популяции. Учебно-методическое пособие. Казань: КГМУ, 2014 [Illarioshkin S.N., Skoblov M.Yu., Islamov R.R. et al. Medicinskayagenetika. CHast' 3. Polimorfizmgenov. Pryamaya DNK-diagnostika. Chastotamutantnyhgenov v populyacii. Uchebno-metodicheskoeposobie. Kazan': KGMU; 2014. (in Russ)].
- Brookes AJ. The essence of SNP // Gene. 1999;234:177–186. [https://doi.org/10.1016/S0378-1119\(99\)00219-X](https://doi.org/10.1016/S0378-1119(99)00219-X)
- Дмитриева А.И., Серебрякова В.А., Кузнецова И.А. и др. Исследование полиморфизмов гена XPD A751C у больных раком легкого с разными клинико-мор-

- фологическими характеристиками опухоли // Вопросы онкологии. 2016;62(3):470–472 [Dmitrieva A.I., Serebryakova V.A., Kuznetsova I.A. et al. The study of polymorphisms of XPD gene A751C in lung cancer patients with different clinical and morphological characteristics of tumor // Problems in oncology. 2016;62(3):470–473. (in Russ)].
9. Jin D, Zhang M, Hua H. Impact of polymorphisms in DNA repair genes XPD, hOGG1 and XRCC4 on colorectal cancer risk in a Chinese Han Population // Biosci Rep. 2019 Jan 15;39(1):BSR20181074. <https://doi.org/10.1042/BSR20181074>
 10. Mucha B, Pytel D, Markiewicz L et al. Nucleotide Excision Repair Capacity and XPC and XPD Gene Polymorphism Modulate Colorectal Cancer Risk // Clin Colorectal Cancer. 2018 Jun;17(2):e435-e441. <https://doi.org/10.1016/j.clcc.2016.10.001>
 11. Ramireddy L, Chen WT, Peng CT et al. Association Between Genetic Polymorphism of the MIF Gene and Colorectal Cancer in Taiwan // J Clin Lab Anal. 2015;29(4):268–274. <https://doi.org/10.1002/jcla.21763>
 12. Gunathilake MN, Lee J, Cho YA et al. Interaction between physical activity, PITX1 rs647161 genetic polymorphism and colorectal cancer risk in a Korean population: a case-control study [published correction appears in Oncotarget. 2018 Oct 9;9(79):35027] // Oncotarget. 2018;9(7):7590–7603. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.24136>
 13. Liu J, Zheng B, Li Y et al. Genetic Polymorphisms of DNA Repair Pathways in Sporadic Colorectal Carcinogenesis // J Cancer. 2019;10(6):1417–1433. <https://doi.org/10.7150/jca.28406>
 14. Куликов Е.П., Мерцалов С.А., Никифоров А.А. и др. Полиморфизм гена XPD при колоректальном раке // Наука молодых (Eruditio Juvenium). 2019;7(3):340–348. <https://doi.org/10.23888/HMJ201973340-348> [Kulikov E.P., Mertsalov S.A., Nikiforov A.A. et al. Polymorphism of XPD gene in colorectal cancer // Science of the young (Eruditio Juvenium). 2019;7(3):340–8. <https://doi.org/10.23888/HMJ201973340-348> (in Russ)].
 15. Jiang J, Xie Z, Guo J et al. Association of PPARG rs 1801282 C>G polymorphism with risk of colorectal cancer: from a case-control study to a meta-analysis // Oncotarget. 2017;8(59):100558-100569. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.20138>
 16. Tontonoz P, Hu E, Spiegelman BM. Stimulation of adipogenesis in fibroblasts by PPAR gamma 2, a lipid-activated transcription factor // Cell. 1994;79:1147–1156.
 17. Elrod HA, Sun SY. PPARgamma and Apoptosis in Cancer // PPAR Res. 2008;2008:704165.
 18. Girnun GD, Smith WM, Drori S et al. APC-dependent suppression of colon carcinogenesis by PPARgamma // Proc Natl Acad Sci USA. 2002;99:13771–13776.
 19. Wang W, Shao Y, Tang S et al. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma (PPARGamma) Pro12Ala polymorphism and colorectal cancer (CRC) risk // Int J ClinExp Med. 2015;8:4066–4072.
 20. Wei Z, Han G, Bai X. Effect of Proliferator-Activated Receptor-gamma Pro12Ala Polymorphism on Colorectal Cancer Risk: A Meta-Analysis // Med Sci Monit. 2015;21:1611–1616.
 21. Jiang J, Gajalakshmi V, Wang J et al. Influence of the C161T but not Pro12Ala polymorphism in the peroxisome proliferator-activated receptor-gamma on colorectal cancer in an Indian population // Cancer Sci. 2005;96:507–512.
 22. Kuriki K, Hirose K, Matsuo K et al. Meat, milk, saturated fatty acids, the Pro12Ala and C161T polymorphisms of the PPARgamma gene and colorectal cancer risk in Japanese // Cancer Sci. 2006;97:1226–1235.
 23. Koh WP, Yuan JM, Van Den Berg D et al. Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) gamma gene polymorphisms and colorectal cancer risk among Chinese in Singapore // Carcinogenesis. 2006;27:1797–1802.
 24. Zhang YC, Zhao H, Chen C et al. COX-2 gene rs689466 polymorphism is associated with increased risk of colorectal cancer among Caucasians: a meta-analysis // World J Surg Oncol. 2020;18(1):192. <https://doi.org/10.1186/s12957-020-01957-x>
 25. Peng L, Zhou Y, Wang Y et al. Prognostic significance of COX-2 immunohistochemical expression in colorectal cancer: a meta-analysis of the literature // PLoS One. 2013;8(3):e58891.
 26. Li M, Tan SY, Wang XF. Paeonol exerts an anticancer effect on human colorectal cancer cells through inhibition of PGE (2) synthesis and COX-2 expression // Oncol Rep. 2014;32(6):2845–53.
 27. Che XH, Chen CL, Ye XL et al. Dual inhibition of COX-2/5-LOX blocks colon cancer proliferation, migration and invasion in vitro // Oncol Rep. 2016;35(3):1680–8.
 28. Pereira C, Sousa H, Silva J et al. The -1195G allele increases the transcriptional activity of cyclooxygenase-2 gene (COX-2) in colon cancer cell lines // Mol Carcinog. 2014;53(Suppl 1):E92–5.
 29. Ruan Y, Sun J, Wu F et al. Relationship between COX-2 gene polymorphism and the risk of colorectal cancer // Int J Digest Dis. 2013;11(04):260–372.
 30. Pereira C, Queiros S, Galaghar A et al. Genetic variability in key genes in prostaglandin E2 pathway (COX-2, HPGD, ABCC4 and SLCO2A1) and their involvement in colorectal cancer development // PLoS One. 2014;9(4):e92000.
 31. Shomaf M, Yousef AL, Ababna N et al. Cyclooxygenase-2 (COX2) gene polymorphisms and the risk of sporadic colorectal cancer and polyps among Jordanian population // Turk J Gastroenterol. 2015;26(2):154–8.
 32. Lu X, Xiao S, Jin C et al. ERCC1 and XPD/ERCC2 polymorphisms' predictive value of oxaliplatin-based chemotherapies in advanced colorectal cancer has an ethnic discrepancy: a meta-analysis // Journal of clinical laboratory analysis. 26(1), 10–15. <https://doi.org/10.1002/jcla.20494>
 33. Kap EJ, Seibold P, Scherer D et al. SNPs in transporter and metabolizing genes as predictive markers for oxaliplatin treatment in colorectal cancer patients // Int J Cancer. 2016;138(12):2993–3001. <https://doi.org/10.1002/ijc.30026>
 34. Etienne-Grimaldi MC, Milano G, Mairault-Goebel F et al. Methylenetetrahydrofolatereductase (MTHFR) gene polymorphisms and FOLFOX response in colorectal cancer patients // British journal of clinical pharmacology. 69(1):58–66. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2125.2009.03556.x>
 35. Куликов Е.П., Судаков А.И., Никифоров А.А. и др. Значение полиморфизма генов в развитии колоректального рака // Российский медико-биологический вестник им. академика И.П. Павлова. 2020;28(2):127–134. <https://doi.org/10.23888/PAVLOVJ2020282127-134> [Kulikov E.P., Sudakov A.I., Nikiforov A.A. et al. Significance of gene polymorphism in development of colorectal cancer // I.P. Pavlov Russian Medical Biologi-

- cal Herald. 2020;28(2):127–134. <https://doi.org/10.23888/PAVLOVJ2020282127-134> (in Russ)].
36. Ura K, Hayes JJ. Nucleotide excision repair and chromatin remodeling // *Eur J Biochem*. 2002 May;269(9):2288–93. <https://doi.org/10.1046/j.1432-1033.2002.02888.x>
 37. Petit C, Sancar A. Nucleotide excision repair: from E. coli to man // *Biochimie*. 1999 Jan-Feb;81(1–2):15–25. [https://doi.org/10.1016/s0300-9084\(99\)80034-0](https://doi.org/10.1016/s0300-9084(99)80034-0)
 38. Yulan J, Xueyun F. Research progress about correlation of XPD/ ERCC2 polymorphism with sensitivity to diseases // *Ind Health Occup Dis*. 2007;33:109–112 (inChinese).
 39. Paré L, Marcuello E, Altés A et al. Pharmacogenetic prediction of clinical outcome in advanced colorectal cancer patients receiving oxaliplatin/5-fluorouracil as first-line chemotherapy // *Br J Cancer*. 2008 Oct 7;99(7):1050–5. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6604671>
 40. Park DJ, Stoehlmacher J, Zhang W et al. A Xerodermapigmentosum group D gene polymorphism predicts clinical outcome to platinum-based chemotherapy in patients with advanced colorectal cancer // *Cancer Res*. 2001 Dec 15;61(24):8654–8.
 41. Lai JI, Tzeng CH, Chen PM et al. Very low prevalence of XPD K751Q polymorphism and its association with XPD expression and outcomes of FOLFOX-4 treatment in Asian patients with colorectal carcinoma // *Cancer Sci*. 2009 Jul;100(7):1261–6. <https://doi.org/10.1111/j.1349-7006.2009.01186.x>

Поступила в редакцию 16.12.2020 г.

E.P. Kulikov, S.A. Mertsalov, V.A. Grigorenko

Genetic status of patients with colorectal cancer

Ryazan State Medical University

Colorectal cancer remains one of the most common tumors. In the structure of cancer mortality in Russia tumors of this localization take the second place among both sexes, after tracheal and bronchial cancer for men and breast cancer for women respectively. In spite of modern methods of diagnostics and treatment approaches the problem of colorectal cancer remains actual due to the growth of morbidity all over the world, and recently the decrease of the average age of patients has been observed, that increases the social significance of this problem. According to the modern concept of carcinogenesis it looks very promising to estimate the influence of genetic factors on the development of tumors of this localization. The studies aimed at the search of relationship between genetic markers, single nucleotide polymorphisms of genes and their contribution to the problem of colorectal cancer are one of the most researched areas in modern oncology. In this review, we evaluated the work done related to the role of gene polymorphisms in the development and therapy of colorectal cancer. The works were searched through the PubMed and CyberLeninka databases. Data on the PPARG COX-2, XPD genes known to date are presented. Data on the association of polymorphic variants of these genes with the development of colorectal cancer and the effect of the ongoing therapy are presented. The necessity of further works in this direction is discussed in order to personalize the treatment of patients with colorectal cancer.

Key words: gene polymorphism, colorectal cancer, CRC, overview

*М.А. Эберт, Г.И. Гафтон, С.Н. Новиков, Е.А. Федосова, Г.В. Зиновьев, С.В. Канаев,
И.Г. Гафтон, М.С. Синячкин*

Комбинированное лечение сарком мягких тканей

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н.Петрова» Минздрава России, Санкт-Петербург

Саркомы мягких тканей (СМТ) — редкая и гетерогенная группа опухолей мезенхимально-клеточного происхождения, составляющая всего 1% среди всех злокачественных новообразований. В России ежегодно регистрируется около 3700 новых случаев СМТ, при этом ежегодный темп прироста заболеваемости составил 6,45% за 2019 г. Рандомизированные исследования подтверждают целесообразность комбинированной терапии СМТ. Обзор содержит разностороннее описание предложенных методов комбинированного лечения СМТ. На примерах научных исследований последних лет рассмотрены преимущества, недостатки, направления и особенности применения различных методик лучевой терапии СМТ.

Ключевые слова: обзор, саркомы мягких тканей, лучевая терапия, комбинированное лечение

Саркомы мягких тканей (СМТ) — редкая и гетерогенная группа опухолей мезенхимально-клеточного происхождения, составляющая всего 1% среди всех злокачественных новообразований [1, 2]. В России ежегодно регистрируется около 3700 новых случаев СМТ, при этом ежегодный темп прироста заболеваемости составил 6,45% за 2019 г. [3].

Несмотря на редкость данной патологии, в настоящее время идентифицировано более 150 гистологических подтипов СМТ, отраженных в рубриках и подрубриках классификации ВОЗ 2020 г. [4]. Наиболее часто встречающимися СМТ являются: липосаркома, лейомиосаркома, недифференцированная плеоморфная, синовиальная саркома, а также злокачественные опухоли из оболочек периферических нервов [5]. Распределение СМТ относительно анатомической локализации следующее: 46% от общего числа возникают на нижних конечностях, 13% — на верхних конечностях, 18% — туловище, 13% — забрюшинное пространство, а саркомы головы и шеи составляют всего 9% [6]. Локализация первичной СМТ конечностей не влияет на показатель общей выживаемости и безрецидивной выживаемости [7].

В клиническом отношении важно подчеркнуть способность СМТ к многократному и упорному рецидивированию. Частота локальных рецидивов варьирует в широких пределах и может достигать 65% [8, 9].

Уместно подчеркнуть, что частота локальных рецидивов выше, если лечение проводится в неспециализированных лечебных учреждениях. Исследователи из Seoul National University Hospital (Южная Корея) проанализировали историю болезни 121 пациента и пришли к выводу, что количество локальных рецидивов при первичном иссечении СМТ в неспециализированном учреждении достоверно выше [10].

В исследовании Sugiura Н.И и соавт. (2002) 45 больных СМТ конечностей подверглись повторной операции в объеме широкого иссечения, после местного иссечения хирургом первичного контакта. Общая пятилетняя выживаемость тогда составила 93%, пятилетняя безрецидивная выживаемость 84%, что позволило предположить авторам, что повторная операция при положительных краях первичной резекции оправдана [11].

К схожим выводам пришли Карапетян Р.М. и соавт. (2005). Дополнительная операция, выполненная в течение 3–6 нед после нерадикального удаления опухоли, позволяет добиться аналогичных результатов первичного широкого иссечения СМТ [12]. Однако, по данным Н.М. Умер и соавт. (2013), даже при реиссечении рубца в кратчайшие сроки, риск локального рецидива у данной группы пациентов повышается в 1,5 раза [13].

С.Е. Нанасило и соавт. в 2014 г. сообщили о 91,3% остаточных опухолей после реиссечения по поводу первичных экономных удалений, что, по мнению авторов, является ведущим фактором рецидива СМТ [14].

На сегодняшний день не утихают споры о клинико-морфологических факторах рецидивирования СМТ, таких как степень злокачественности, размеры, локализация, пролиферативная активность, глубина расположения опухоли, возраст больного, наличие предшествовавших рецидивов в анамнезе и наличие определенных молекулярно-генетических маркеров [15].

Алиев М.Д. (2013 г.) подчеркивает решающую роль радикальности хирургического вмешательства в дальнейшей прогрессии опухолевого процесса. Соблюдение отрицательного микроскопического края резекции позволяет выполнять вмешательства согласно основным принципам хирургии СМТ — абластичности и футлярности [16]. Обязательным является включение в блок удаляемых тканей места предоперационной трепан-биопсии опухоли (биопсийного канала и лоскута кожи с пост-биопсийным рубцом) [17].

Stojadinovic A., Leung D.R. и соавт. в исследовании 2123 больных, перенесших оперативное лечение по поводу СМТ конечностей, показал, что наличие микроскопически положительного края резекции значительно увеличивает риск не только локального рецидива, но и отдаленных метастазов, а также снижает общую выживаемость [18].

В то же время, исследование Trovik C.S. на примере 559 больных, перенесших только оперативное лечение, показало, что неадекватный хирургический край резекции являлся фактором риска локального рецидива, а не метастатического поражения [19].

Группа Kandel R. и соавт. при составлении практического руководства по ведению СМТ конечностей провели оценку 33 публикаций, посвященных вопросу краев резекции СМТ с 1975 по 2011 г. Так как возникновение рецидивов возможно и при негативном крае резекции, предполагается, что значительное влияние на это событие оказывают характеристики опухоли, а не только отрицательный край резекции [20].

Основным методом лечения как первичных, так и рецидивных СМТ является хирургический [21, 22]. В соответствии с рекомендациями Европейского Общества Онкологов (ESMO), стандартом оперативного лечения СМТ конечностей является широкое иссечение с отрицательными краями резекции (R0), что подразумевает собой удаление опухоли со слоем неизмененных окружающих опухоль тканей. Адекватность минимального края резекции при этом должна быть оценена в зависимости от нескольких факторов, включающих гистологический подтип, предоперационную терапию и наличие выраженных анатомических барьеров, таких как мышечная фасция, надкостница и эпинервий [23].

Конечность сохраняющие операции являются более распространенным видом хирургического вмешательства, чем ампутации [21, 24]. Если раньше ампутации у больных СМТ выполнялись практически каждому третьему больному, то за последнее десятилетие в специализированных клиниках они производятся всего лишь в 5–15% случаев [25]. Благодаря внедрению различных

методов пластической и реконструктивной хирургии, показания к конечность-сохраняющим операциям возрастают [26].

Каждый последующий рецидив требует проведения более сложных и калечащих операций. В связи с этим важным направлением на пути улучшения результатов лечения СМТ является разработка комбинированных методов лечения.

Основными задачами предоперационного облучения являются: уменьшение размеров новообразования за счет разрушения наиболее радиочувствительных клеток и понижение жизнеспособности оставшихся опухолевых элементов; снятие перифокального сопутствующего воспаления; облитерации мелких кровеносных и лимфатических сосудов, что прямо или косвенно уменьшает возможность как рецидивирования, так и метастазирования новообразований [21]. При этом следует учитывать, прежде всего, биологические особенности самой опухоли (радиочувствительность отдельных гистологических типов, степень морфологической дифференцировки, локализацию, размеры, темп роста, особенности метастазирования) [27].

Как правило, предоперационная лучевая терапия проводится в дозе 40–60 Гр в течение 4–6 нед при суточной дозе 1,8–2,2 Гр, а хирургическое лечение выполняется спустя 2–6 нед после облучения [28, 29].

Группа канадских авторов, D. Roberge и соавт., приводят данные исследования, направленного на изучение эффективности предоперационного курса лучевой терапии путем проведения магнитно-резонансной томографии до и после облучения, подтверждают это результатами патоморфологического исследования послеоперационного материала, демонстрируют высокие показатели непосредственной эффективности (увеличение частоты частичной и полной регрессии опухоли) и повышения процента терапевтического патоморфоза III–IV степени у пациентов, прошедших предоперационный курс дистанционной лучевой терапии [30].

Морфологические исследования, проведенные после применения дозы 60–70 Гр, показали полное прекращение митотического деления саркоматозных клеток, а в паренхиме всех слоев опухоли отмечалось усиление явлений некробиоза, дистрофических и репаративных изменений. Эти изменения наблюдаются также спустя 1,5–2 мес после облучения [31]. Несмотря на выраженную картину лучевого патоморфоза, применение таких больших очаговых доз может сопровождаться развитием поздних осложнений, в том числе, длительно незаживающих лучевых язв, повреждения периферических нервов, переломов костей [1, 21, 32, 33]. Также, существенным недостатком метода является длительность

метода, что заставляет отложить вопрос о выполнении оперативного лечения на значительные сроки.

Н.Н. Трапезников, Б.М. Алиев, Т.В. Юрьева [34] опубликовали данные о варианте предоперационной лучевой терапии, при котором с помощью решетчатых диафрагм удается добиться неравномерного распределения дозы. Неравномерное облучение, по мнению авторов, позволяет в значительной мере увеличить очаговые суммарные дозы без каких-либо трудностей, связанных с выполнением оперативного вмешательства, а также течением послеоперационного периода. При этом в режиме радикального облучения были использованы дозы 70 Гр.

В настоящее время стандартным режимом проведения предоперационной лучевой терапии является облучение до суммарной дозы (СОД) в 50 Гр, которая подводится к очагу поражения в течение 25–27 фракций при 1,8–2,2 Гр за фракцию [32]. Лучевая терапия в обозначенном режиме приводит к значительным дистрофическим изменениям в опухоли вплоть до некроза и распада её паренхимы. Однако, как подчеркивают авторы, это значительно увеличивает время до начала хирургического лечения.

За последнее время стал широко применяться метод гипофракционированного предоперационного облучения, в том числе и при СМТ [8, 31, 35, 36]. Метод кратковременного интенсивного облучения лишен многих недостатков. Уменьшается время предоперационного облучения, сокращается общая продолжительность лечения и, в то же время, на что указывает большинство авторов, сохраняется достаточно высокая эффективность лучевого воздействия на опухоль.

Предоперационное облучение в концентрированном режиме осуществляется преимущественно в разовой дозе 5–6,5 Гр, суммарная доза находится в пределах 20–30 Гр.

Широкое применение набирает методика лучевой терапии с модуляцией по интенсивности [37, 38]. Возможности данной методики позволяют подводить высокие дозы облучения в область опухоли, исключая возможность «переоблучения» окружающих нормальных тканей [38].

Так, североамериканская группа по изучению СМТ активно изучает вопросы проведения неoadьювантной стереотаксической лучевой терапии в режиме гипофракционирования. В исследование было включено 13 пациентов, которым было выполнено облучение в режиме 5 фракций с разовой очаговой дозой (РОД) = 7 Гр до СОД=35 Гр с последующим оперативным лечением. Авторы показали, что количество послеоперационных осложнений было сравнимо с результатами, получаемыми при стандартном

фракционировании дозы, но при этом, увеличение дозы, подводимой за фракцию, позволило не увеличивать время до начала хирургического лечения. Однако, учитывая малый объем выборки, такой режим лучевой терапии требует дальнейшего изучения [39].

В то же время, Deï Tos показал, что с точки зрения локального контроля, проведение лучевой терапии в режиме гипофракционирования позволяет добиться такой же эффективности, как и при использовании стандартных режимов облучения [40].

До настоящего времени нет общепринятой точки зрения на то, в каких случаях целесообразна неoadьювантная радиационное воздействие, а когда адьювантное [35]. В. О'Sullivan и соавт. представили результаты рандомизированного исследования, в рамках которого сравнивалась эффективность пред- и послеоперационной лучевой терапии. Более высокие показатели общей выживаемости были отмечены у пациентов, проходивших курс дистанционной лучевой терапии на первом этапе комбинированного лечения. Вместе с тем, более высокий процент ранних лучевых реакций наблюдался после проведения неoadьювантного курса ДЛТ (35% против 17%, $p=0,01$), однако, более грозные поздние лучевые осложнения в виде постлучевого фиброза и контрактуры суставов значительно преобладали в группе пациентов, получивших адьювантный курс лучевой терапии [32, 41].

Как показывает клиническая практика, послеоперационное облучение применяется значительно чаще [28, 32]. К преимуществам послеоперационного облучения относят: отсутствие в задержке оперативного пособия; наличие точной морфологической характеристики опухоли и степени её местного распространения, а также меньшее число осложнений со стороны послеоперационной раны [32, 41].

Целью адьювантного лучевого воздействия является девитализация возможных микрометастазов опухоли или комплексов ее клеток, оставленных во время операции [21, 42]. Лучевая терапия проводится в режиме классического фракционирования дозы через 2–4 нед после оперативного вмешательства. Большинство авторов рекомендует суммарные очаговые дозы в пределах 50–65 Гр [29, 35].

Следует рассмотреть вопрос о послеоперационном облучении у больных, имеющих размер опухоли 15 см и более, так как в этих случаях опасность возникновения местных рецидивов велика. Послеоперационная лучевая терапия в таких ситуациях позволяет практически в два раза уменьшить число местных рецидивов и на 15–20% увеличить общую 5-летнюю выживаемость [23, 43].

Активно изучаются вопросы применения брахитерапии в лечении СМТ конечностей [44]. К плюсам данной методики относят низкую лучевую нагрузку на окружающие нормальные ткани, ограниченный объём облучаемых тканей, короткое время радиационного воздействия [45]. Однако, эффективность брахитерапии всё ещё является предметом обсуждения [46]. Кроме того, есть данные о повышенных рисках костных переломов и постлучевых фиброзов после использования брахитерапии [47]. Поэтому некоторые авторы говорят об ограничении показаний к проведению данного метода лучевого лечения СМТ конечностей [48].

Ещё одним видом локального лучевого лечения СМТ следует считать интраоперационную лучевую терапию. Она, как и брахитерапия, позволяет подвести более высокие дозы облучения непосредственно к очагу [49]. Это даёт возможность избежать лишней лучевой нагрузки на здоровые ткани [50]. В то же время, по сравнению с брахитерапией, интраоперационное облучение требует большего количества обученного персонала и наличие специализированной техники [51].

В последние годы большое внимание уделяется более глубокому изучению биологических эффектов локальной гипертермии, механизмов воздействия и определению ее роли в комбинированном лечении СМТ. Результаты исследования японских авторов Н. Аiba и соавт., проведенного на базе японского университета г. Нагоя, свидетельствуют о повышении процента органосохраняющих операций у пациентов с местно-распространенными СМТ, при использовании локальной гипертермии совместно с лучевой терапией, вероятно, за счет существенного улучшения показателей непосредственной эффективности лечения. Результаты проведенного исследования доказывают вклад локальной гипертермии в улучшение показателей безрецидивной и общей выживаемости [52].

На базе МРНЦ (г. Обнинск) инициирован ряд научных исследований, направленных на изучение эффективности термолучевой, а также термохимиолучевой терапии больных с СМТ [53, 54]. Результаты одного из крупных исследований были опубликованы в 2015 г. В них отслежены исходы заболеваний у 117 больных с местно-распространенными формами СМТ. Результаты данного исследования демонстрируют важную роль локальной гипертермии в реализации лечебных эффектов. Отмечено преобладание лечебного патоморфоза III–IV степени у пациентов, прошедших курс термохимиолучевой терапии, по сравнению с пациентами, прошедшими только химиолучевой этап (86% против 40%). У па-

циентов группы исследования по сравнению с группой контроля отмечается значимое превышение показателей пятилетней безрецидивной (93% против 72,5%), безметастатической (74% против 59%) и общей (88,5% против 63%) выживаемости [53].

На базе РОНЦ им. Н.Н. Блохина также было проведено крупное исследование, посвященное изучению эффективности терморрадиотерапии и терморрадиохимиотерапии в предоперационном режиме у пациентов с неоперабельными СМТ. В исследование включено 175 пациентов, из них предоперационный курс радиотерапии проводился 57 больным, 102 пациента в качестве предоперационного этапа получили курс терморрадиотерапии и 16 пациентам проводился курс терморрадиохимиотерапии. Результаты проведенного исследования демонстрируют достоверное увеличение частоты полных и частичных регрессий у пациентов, прошедших курс локальной гипертермии в сочетании с лучевой или химиолучевой терапией. Также у пациентов данной группы отмечается более высокий процент органосохраняющих операций и достоверное увеличение показателей двухлетней общей выживаемости [55].

Подводя итоги данного литературного обзора, можно сделать вывод, что комбинированное лечение СМТ (сочетание хирургического и лучевого методов лечения) не только улучшает показатели общей и безрецидивной выживаемости, но и может влиять на функциональные исходы при лечении местно-распространенных форм СМТ. В настоящее время активно ведётся поиск и разработка новых методик эффективного лечения СМТ. Широко изучаются возможности инновационных пред- и интраоперационных воздействий. Кроме общих задач сохранения и продления жизни пациента, решается проблема повышения количества органосохраняющих вмешательств. Ряд авторов стремятся воздействовать на опухоль на предоперационном этапе и, как следствие, минимизировать объём оперативного вмешательства. Появление новых методик лучевой терапии позволяет задуматься о возможностях комбинированного лучевого лечения, которое, с одной стороны, позволило бы агрессивно воздействовать на опухоль, а также позволило бы сократить сроки до начала хирургического лечения, не повышая общую токсичность лечения. В свою очередь, послеоперационная лучевая терапия, воздействуя на зоны субклинического распространения опухоли, позволяет проводить эрадикацию микрометастазов в области компартмента. Это обуславливает необходимость дальнейшего изучения и поиск новых возможностей комбинированного лечения СМТ.

Вклад авторов:

Авторы в равной степени участвовали в написании статьи.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии в статье конфликта интересов.

Финансирование

Исследование не имело спонсорской поддержки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Тришкин В.А. Оценка эффективности комбинированного лечения больных первичными саркомами мягких тканей конечностей, подвергшихся сберегательным операциям. / В.А. Тришкин [и др.] // Вопросы онкологии. 2009;55(6):722–726.
2. Siegel R.L., Cancer Statistics, 2019
3. Каприн А.Д. Злокачественные новообразования в России в 2018 году (заболеваемость и смертность). М.: МНИОИ им. П.А. Герцена — филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России. 2019. илл. 250 с. ISBN 978-5-85502-251-3
4. Fletcher C. WHO Classification of Tumours of Soft Tissue and Bone. Fifth edition ISBN: 9283245024.
5. Zagars GK, Ballo MT, Pisters PW et al. Prognostic factors for patients with localized soft-tissue sarcoma treated with conservation surgery and radiation therapy: an analysis of 1225 patients // Cancer. 2003;97(10):2530.
6. Lawrence W Jr, Donegan WL, Natarajan N et al. Adult soft tissue sarcomas. A pattern of care survey of the American College of Surgeons // D Ann Surg. 1987;205(4):349.
7. Chang C.K., Jacobs I.A., Salti G.I. Anatomic location does not impact survival in soft tissue sarcoma of the extremities // SCO Annual Meeting Proceedings (Post-Meeting Edison) // Journal of Clinical Oncology. 2004:14S.
8. Васильев С.Н. Хирургическое и комбинированное лечение первичных и рецидивных сарком мягких тканей. Автореф. канд. дисс. Челябинск 2001.
9. Abeloff MD, Armitage JO, Niderburger JE et al. Sarcomas of the soft tissue // N.Y. Clinical Oncology. 2003; 3 ed.:1686.
10. Kang S, Han I, Lee SA, Cho HS, Kim HS Unplanned excision of soft tissue sarcoma: the impact of the referring hospital // Surg. Oncol. 2013;6:17–22.
11. Sugiura H, Takahashi M, Katagiri H et al. Additional wide resection of malignant soft tissue tumors // Clinical orthopaedics and related research. 2002;394:201–10.
12. Карапетян Р.М., Бохан Б.Ю., Иванов С.М., Мехтиева Н.И. Результаты повторного широкого иссечения после нерадикального удаления сарком мягких тканей // Вопросы онкологии. 2005.№ 3:372–376.
13. Umer HM, Umer M, Qadir I et al. Impact of unplanned excision on prognosis of patients with extremity soft tissue sarcoma // Sarcoma. 2013;3:49.
14. Hanasilo CE, Casadei MS, Auletta L, Amstalden EM, Matte SR, Etchebehere M. Comparative study of planned and unplanned excisions for the treatment of soft tissue sarcoma of the extremities // Clinics (Sao Paulo). 2014;9:579–584.
15. Алиев М.Д. Факторы прогноза сарком мягких тканей // Вопросы онкологии. 2005;51(3):37–39.
16. Алиев М.Д. Заболеваемость саркомами мягких тканей в России // Саркомы костей, мягких тканей и опухоли кожи. 2013.№ 3:3–9.
17. Poston J. Textbook of surgical oncology / Edited by Graeme J. Poston, R. Daniel Beauchamp, Theo J.M. Ruers. London: Informa UK Ltd. 2007.
18. Stojadinovic A, Leung DR, Allen P et al. Primary adult soft tissue sarcoma: time — dependent influence of prognostic variables // J. Clin. Oncol. 2002;20(21):4344–4352.
19. Trovik CS, Bauer HC, Alvegard TA et al. Surgical margins, local recurrence and metastasis in soft tissue sarcomas: 559 surgically treated patients from the Scandinavian Sarcoma Group Register // Europ. J. Cancer. 2000;36(6):688–690.
20. Kandel R, Coakley N, Werier J et al. Surgical margins and handling of soft-tissue sarcoma in extremities: a clinical practice guideline // Curr Oncol. 2013;20(3):247–254.
21. Алиев М.Д. Современные подходы к лечению сарком мягких тканей // Практическая онкология. 2004. № 4:112–116.
22. Решетов И.В, Махсон А.Н, Дрошнева И.В, Рахманин Ю.А. Реконструктивные и пластические операции при саркомах мягких тканей конечностей // Практическая онкология. 2004;5(4):268–275.
23. European Sarcoma Network Working Group, The ESMO Soft tissue and visceral sarcomas: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up // Ann. of Oncol. 2012;23 (suppl 7):92–99.
24. Залуцкий И.В., Фрадкин З.С., Курилович Н.Н., Шаполвал Е.В., Оценка результативности лечения больных саркомами мягких тканей конечностей при органосохраняющих операциях и ампутациях // Здравоохран. Беларуси. 2001;№7:7–9.
25. Kulaylat MN, King B, Karakousis CP. Posterior compartment resection of the thigh for soft-tissue sarcomas // J. Surg. Oncol. 1999;71(4):243–245.
26. Гафтон Г.И., Тришкина Е.В. Сравнительная клиническая оценка факторов, определяющих объем оперативного вмешательства при саркомах мягких тканей конечностей // Вестн. хирургии. 2006; № 4:593–596.
27. Jabbour JN, Akhtar SS, Kerg GR. et al. Prognostic factors for survival in soft tissue sarcoma // Brit. J. Cancer. 1990;62(5):857–861.
28. Fein DA, Lee WR, Lanciano RM. et al. Management of extremity soft tissue sarcomas with limb-sparing surgery and postoperative irradiation: do total dose, overall treatment time, and the surgery-radiotherapy interval impact on local control? // Int. J. Radiat. Biol. Phys. 1995;32:969–976.
29. Mundt Aj, Awan A, Sibley GS et al. Conservative surgery and adjuvant radiation therapy in the management of adult soft tissue sarcomas of extremities: clinical and radiobiological results // Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 1995;32:977–985.
30. Roberge D, Skamene T, Nahal A. et al. Radiological and pathological response following preoperative radiotherapy for soft tissue sarcoma // Radiother. Oncol. 2010;97:404–407.
31. Волченко Н.Н., Лавникова Г.А., Дарьялова С.Л. Морфологический анализ лучевых повреждений злокачественных опухолей мягких тканей при дистанционной гамма-терапии // Мед радиология. №4:31–35.

32. O'Sullivan B, Davis AM, Turcotte R et al. Preoperative versus postoperative radiotherapy in soft-tissue sarcoma of the limbs: a randomized trial // *Lancet*. 2002;359:2235–2241.
33. Spiro I.J, Suit HD, Rosier RN, Sabarabudbe DM. Soft tissue Sarcoma // *Clinical Oncology* (8 th. ed.) / Ed. by Rubin Ph. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 2001:615–631.
34. Трапезников Н.Н., Алиев Б.М., Юрьева Т.В. Отдаленные результаты лечения сарком мягких тканей // *Вопр. онкологии*. 1982;6:20–24.
35. Канаев С.В. Возможности лучевой терапии сарком мягких тканей // *Практическая онкология*. 2004;5(4): 256–263.
36. Карапетян Я.Р. Оценка эффективности и факторы прогноза радиохирургического лечения больших саркомами мягких тканей с использованием аппаратов «микроселектрон»: Автореф. канд. дисс. Москва, 2000.
37. O'Sullivan, Griffin AM, Dickie CI et al. Phase 2 study of preoperative image-guided intensity-modulated radiation therapy to reduce wound and combined modality morbidities in lower extremity soft tissue sarcoma // *Cancer*. 2013;119(10):1878–1884.
38. Wang D, Zhang Q, Eisenberg BL. et al. Significant reduction of late toxicities in patients with extremity sarcoma treated with image-guided radiation therapy to a reduced target volume: results of Radiation Therapy Oncology Group RTOG-0630 trial // *J. Clin. Oncol*. 2015;33(20):2231–2238.
39. Kubicek GJ, LaCouture T et al. Preoperative Radiosurgery for Soft Tissue Sarcoma // *American Journal of Clinical Oncology*. 2018 January;41(Issue 1):86–89.
40. Dei Tos AP, Bonvalot S, Haas R. The key role of pathology, surgery and radiotherapy in the initial management of soft tissue sarcoma // *Future Oncol*. 2018 May;14(10s):15–23.
41. O'Sullivan B, Davis A. A randomized phase III trial of preoperative compared to postoperative radiotherapy in extremity soft tissue sarcoma // *Proc. ASTRO*. 2001;51:151.
42. Ballo MT, Zagars G.K. The soft tissue // *Radiation Oncology*, 8 th. ed. / Ed. Cox J.D. and Ang K.K. St. Louis: Mosby, 2003:884–911.
43. Yang JC, Cbhang AE, Baker AR et al. A randomized prospective study of the benefit of adjuvant radiation therapy in the treatment of soft tissue sarcomas of the extremity // *J. Clin. Oncol*. 1998;16:197–203.
44. Bonvalot S, Rimareix F, Paumier A et al. What is new in the local approach of limb sarcomas and desmoid tumours? // *Cancer Radiother*. 2010;10:455–459.
45. Holloway CL, Delaney TF, Alektiar KM et al. American Brachytherapy Society (ABS) consensus statement for sarcoma brachytherapy // *Brachytherapy*. 2013;5:179–190.
46. Agoston P, Kliton J, Matrai Z, Polgar C. Radiotherapy of soft tissue sarcomas of the extremities and superficial trunk // *Magy. Onkol*. 2014;3:65–76.
47. Pellizzon AC. Evidence and clinical outcomes of adult soft tissue sarcomas of the extremities treated with adjuvant high-dose-rate brachytherapy — a literature review // *J. Contemp. Brachytherapy*. 2014;10:318–322.
48. Delannes M, Thomas L, Brun T, David I, Ducassou A. Brachytherapy for extremity soft tissue sarcomas // *Cancer Radiother*. 2013;4:151–154.
49. Call JA, Stafford SL, Petersen IA, Haddock MG. Use of intraoperative radiotherapy for upper-extremity soft-tissue sarcomas: analysis of disease outcomes and toxicity // *Am. J. Clin. Oncol*. 2014;2:81–85.
50. Schwartz A, Rebecca A, Sith A, Casey W, Ashman J, Gunderson L, Curtis K, Chang YH, Beauchamp C. Risk factors for significant wound complications following wide resection of extremity soft tissue sarcomas // *Clin. Orthop. Relat. Res*. 2013;11:3612–3617.
51. DeLaney TF, Trofimov AV, Engelsman M, Suit HD. Advanced-technology radiation therapy in the management of bone and soft tissue sarcomas // *Cancer Control*. 2005;1:27–35.
52. Aiba H, Yamada S, Mizutani J et al. Clinical outcomes of radio-hyperthermo-chemotherapy for soft tissue sarcoma compared to a soft tissue sarcoma registry in Japan: a retrospective matched-pair cohort study // *Cancer Medicine*. 2018;7(4):1560–1571.
53. Зубарев А.Л., Курильчик А.А., Курпешев О.К. и др. Комбинированное лечение местно-распространенных сарком мягких тканей с применением локальной гипертермии // *Саркомы костей, мягких тканей и опухоли кожи*. 2015. № 2:7–11.
54. Курильчик А.А., Зубарев А.Л., Кудрявцева Г.Т., Стародубцев А.Л. Интраоперационная лучевая терапия (ИОЛТ) в комбинированном лечении сарком опорно-двигательного аппарата // *Саркомы костей, мягких тканей и опухоли кожи*. 2010. № 3:30–33.
55. Иванов С.М., Бохан Б.Ю., Петровичев Н.Н. и др. Термордио- и термохимиотерапия у больных с неоперабельными саркомами мягких тканей // *Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН*. 2003;14(2–1):60–64.

Поступила в редакцию 09.02.2021 г.

*M.A. Ebert, G.I. Gafton, S.N. Novikov, E.A. Fedosova,
G.V. Zinovev, S.V. Kanaev, I.G. Gafton,
M.S. Sinyachkin*

Combined treatment of soft tissue sarcomas

N.N. Petrov NMRC of oncology of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Saint Petersburg

Soft tissue sarcomas (STS) are rare and heterogeneous group of mesenchymal cell tumors, accounting for only 1% of all malignancies. Every year about 3700 new cases of STS are registered in Russia, while the annual increase rate was 6.45% in 2019. Randomized studies confirm the feasibility of combination therapy for STS. The review contains a comprehensive description of the proposed methods of combined treatment of STS. Advantages, disadvantages, directions and features of various methods of radiation therapy for STS are shown on the examples of scientific research of recent years.

Key words: review, soft tissue sarcomas, radiation therapy, combined treatment

Т.Л. Нехаева, А.Е. Карпов, Н.П. Пипиа

Поиск иммунотерапевтических мишеней в онкологии при формировании иммунного синапса

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

Иммунный синапс (ИС) — высоко-специализированное соединение между Т-лимфоцитом и антигенпрезентирующей клеткой (АПК), состоящее из центрального кластера рецепторов Т-клеток, окруженное кольцом молекул адгезии. В настоящее время показано, что образование иммунных синапсов является активным и динамичным механизмом, который позволяет Т-клеткам различать потенциальные антигенные лиганды. На первом этапе формирования иммунного синапса лиганды рецепторов Т-клеток задействованы во внешнем кольце формирующегося синапса. Перемещение этих комплексов в центральный кластер зависит от кинетики взаимодействия молекул Т-клеточный рецептор-лиганд. Таким образом, формирование стабильного центрального кластера в иммунном синапсе является определяющим событием для активации и пролиферации Т-лимфоцитов. Использование эффективных способов воздействия на ИС и внедрение в практику новых противоопухолевых препаратов, модуляторов иммунного синапса позволяет по-новому взглянуть на возможности иммунотерапии опухолей.

Ключевые слова: презентация антигена, дендритная клетка, иммунный синапс, Т-клетка, модуляторы иммунного синапса, иммунотерапия опухолей, обзор

Введение

Дендритные клетки (ДК) представляют собой профессиональные антигенпрезентирующие клетки (АПК), которые активируют наивные CD4⁺ Т-клетки и CD8⁺ цитотоксические Т-лимфоциты в результате формирования иммунного синапса [1, 2]. Иммунный синапс (ИС) — структурированная зона контакта между клетками, участвующими в реализации той или иной формы иммунологического распознавания и связанной с ним передачей сигнала [3]. В иммунном ответе ДК, макрофаги, Т- и В-лимфоциты взаимодействуют при межклеточном контакте мембран с помощью молекул межклеточной адгезии и цитокинов.

Презентацию антигенного пептида Т-хелперам осуществляют не только ДК, но и другие АПК. Макрофаги, ДК, В-клетки, натуральные киллеры образуют ИС для межклеточной коммуникации, а также для уничтожения (инфицированных и опухолевых) клеток-мишеней [4–7]. Таким образом, существует множество различных типов ИС, их молекулярная организация разнообразна и существенно зависит от типов взаимодействующих клеток, состояний клеточной активации, а также от специфичности антигена [6, 8, 9]. Кроме того, продолжительность клеточного взаимодействия широко варьируется для разных синапсов и может длиться от нескольких секунд до нескольких часов [10, 11].

Структура иммунного синапса

Функциональный ИС между ДК и наивными Т-клетками необходим для формирования Т-клеточных ответов, что способствует индукции врожденного и адаптивного иммунного ответа. Показано, что Т-клетки распознают иммуногенный комплекс (пептид-МНС) на поверхностной мембране ДК в результате формирования особой структуры — ИС или надмолекулярного активационного кластера — SMAC (от англ. *Supramolecular activation cluster*), а также перестройки рецепторов, сигнальных молекул и белков цитоскелета. Все межмолекулярные контакты в ИС можно разделить на 3 категории: 1) взаимодействие между комплексом молекул Т-клеточного рецептора TCR/CD3 и молекулами главного комплекса гистосовместимости — МНС (от англ. *Major Histocompatibility Complex*) I и II класса, где молекулы МНС I класса презентуют эндогенные антигены, образованные внутри клетки (антигены вирусов, опухолей, внутриклеточных бактерий и др.) CD8⁺ цитотоксическим Т-лимфоцитам, а молекулы МНС II класса презентуют антигенные пептиды экзогенной природы хелперным CD4⁺ Т-лимфоцитам; 2) реорганизация цитоскелета (полимеризация F-актина) этих клеток и взаимодействие молекул адгезии, например, LFA-1 (leukocyte

functional antigen-1, или CD11a/CD18) на поверхности Т-клетки и ICAM-1 (intracellular adhesion molecule-1) на поверхности АПК; 3) взаимодействие между молекулами CD28 или CD154 (CTLA-4) и CD40 с такими поверхностными молекулами АПК, как В7 (CD80 и CD86) и CD40L. Взаимодействие молекул CD28-В7 обеспечивает сигнал, необходимый для активации Т-хелпера, а связывание В7 с CTLA-4 подавляет активацию Т-лимфоцита (рисунок, А). Эти события являются критическими для формирования синапса и запуска специфического иммунного ответа [8, 12].

Механизмы формирования иммунного синапса

Формирование ИС происходит в несколько этапов: 1 этап — поляризация клеток, адгезия и образование зоны первичного контакта; 2 этап — начальная сигнализация и образование зрелого иммунного синапса, способного обеспечить передачу сигнала; 3 этап — активация Т-лимфоцита. Известно, что при поляризации клеток происходит их сближение в результате продукции СС-хемокинов CCL19 и CCL21 дендритными клетками и распознавание Т-хелперами при помощи рецептора CCR7. При этом происходит перераспределение мембранных молекул (в лидирующем участке Т-лимфоцита скапливаются молекулы LFA-1, по периферии распределяются наиболее крупные молекулы CD43, CD45 и др.) и направленное движение Т-хелперов к ДК, что служит условием установления контакта между ними. Учитывая большие размеры LFA-1 (20–21 нм), первое взаимодействие осуществляется на расстоянии 40–42 нм и происходит формирование первичного иммунного синапса. Для адгезии Т-хелперов на АПК происходит взаимодействие молекулы LFA-1 Т-лимфоцита с молекулой межклеточной адгезии CD54 (ICAM-1) на АПК и молекулы CD2 Т-лимфоцита с молекулой CD58 (LFA-3) на АПК, что обеспечивает второе взаимодействие и сближение клеток до 15 нм. По периферической части зоны адгезии расположены молекулы, которые играют основную роль в презентации антигена: на ДК — иммуногенный комплекс (пептид-МНС), а на Т-лимфоците — TCR/CD3 [13].

При формировании зрелого ИС молекулы центрального и периферического участков зоны контакта меняются местами: комплексы TCR/CD3 и взаимодействующие с ними молекулы пептид-МНС устремляются в центр ИС, а молекулы β 2-интегрин LFA-1 и ICAM-1, на Т-клетках и АПК [14-16] образуют снаружи центра ИС периферическое кольцо надмолекулярного кластера активации (pSMAC).

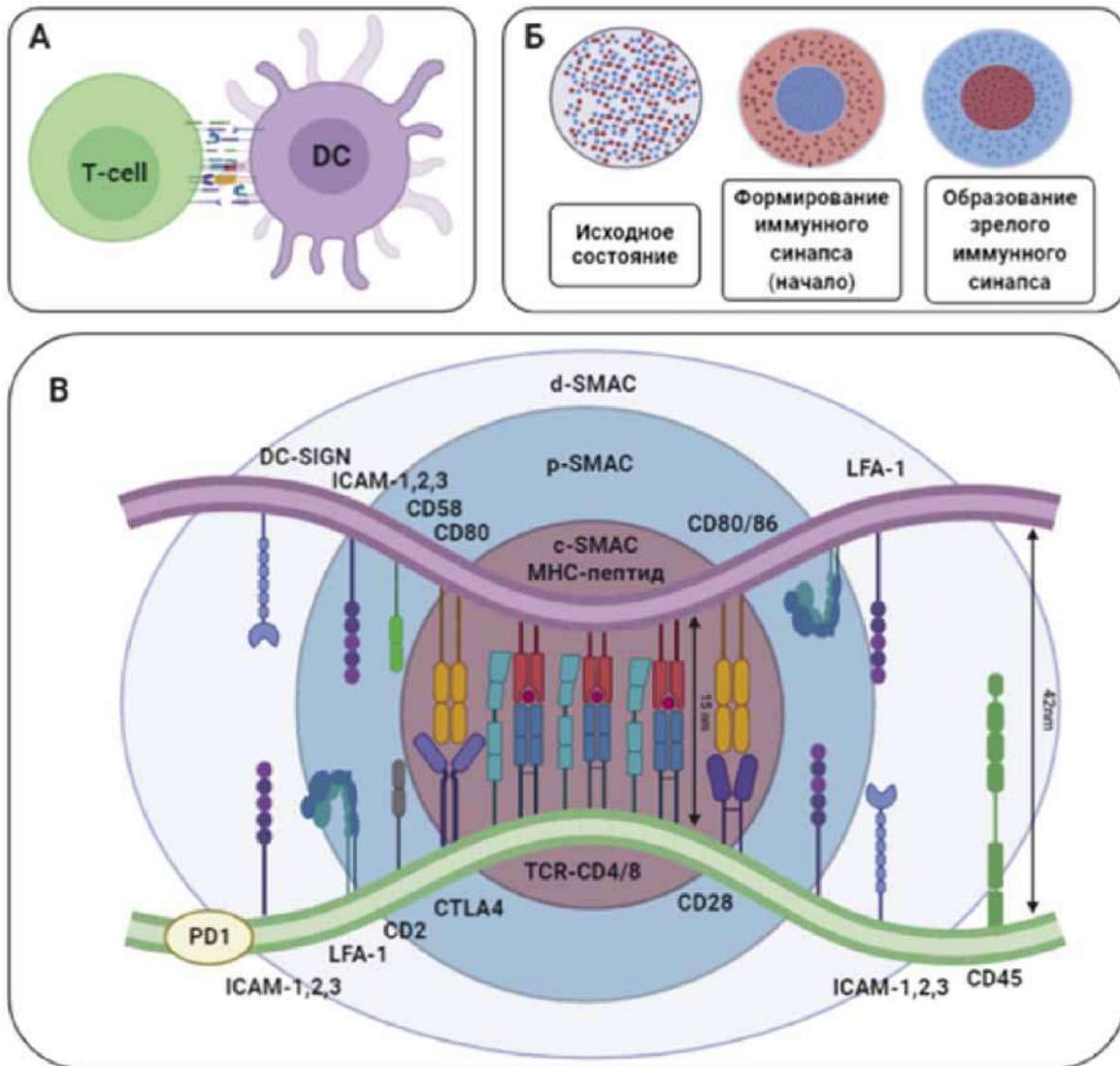
Эти молекулы адгезии обеспечивают механическую основу для формирования ИС и соединяют вместе плазматические мембраны и цитоскелеты АПК и Т-клеток [17]. Соответственно, комплекс TCR/CD3 и взаимодействующие с ними молекулы пептид-МНС, расположенные в центре ИС вместе с CD28/CD80, CD86 формируют центральную часть надмолекулярного кластера активации (cSMAC). Дистальный надмолекулярный кластер активации (dSMAC) содержит ингибирующие рецепторы, такие как CD43 и CD45 [18, 19], а также липидные «рафты» (от англ. *rafts*-плоты) трансмембранные микродомены или липидные «плотики», богатые сфингомиелином и холестерином, которые (в отличие от cSMAC) связаны с сигнальными белками, участвующими в активации TCR/CD3. К этим белкам на поверхности Т-хелперов принадлежат ко-рецепторы CD4 и CD8, тирозинкиназа Lck (ассоциирована с CD4 и CD8), ко-стимулирующие молекулы (включая CD28), адапторный белок LAT, тирозинкиназа ZAP-70, PLC γ , PI3K, а также тирозинфосфатаза CD45, возвращающаяся в зону контакта после предварительного удаления из нее. В ДК в состав рафтов входят молекулы МНС-II и ко-стимулирующие молекулы CD80/86. Это указывает на то, что передача сигналов рецептора, в основном, происходит в dSMAC [20–22].

Важную роль в формировании ИС играет актиновый цитоскелет. Центростремительное движение многих молекул к cSMAC, включая движение Т-клеточного рецептора, обеспечивает ретроградный транспорт актина [23, 24]. Однако, не все молекулы, присутствующие в ИС, движутся центростремительно, поскольку ингибирующий белок CD45 удаляется от cSMAC в течение нескольких минут после образования ИС (см. рисунок, В).

При визуализации структуры ИС флуоресцентными красителями, центральная и периферическая зоны окрашиваются разными красителями, что обозначают как формирование «бычьего глаза» (см. рисунок, Б) [14, 15, 25, 26].

Иммунный синапс между ДК и Т-клетками

Как описано выше, структура ИС зависит от вовлеченных типов клеток, возможности распознавания антигена и дополнительных ко-стимулирующих взаимодействий [5, 6, 9]. В отсутствие родственного антигена мигрирующие Т-лимфоциты лишь кратковременно взаимодействуют с ДК в лимфатических узлах (контакт <3 мин) [27, 28]. На этом этапе ДК сканируют тысячи Т-клеток в час [29]. Кроме того, для повышения эффективности презентации каждый



Взаимодействие Т-лимфоцита с дендритной клеткой (А). Схема формирования иммунного синапса (Б). Общий вид зрелого иммунного синапса с cSMAC, pSMAC, и dSMAC после контакта Т-клетка — ДК (В)

комплекс МНС-II–пептид может распознаваться молекулами TCR повторно. Показана возможность взаимодействия одного комплекса МНС-II–пептид с 200 молекулами TCR за 1 ч. При обнаружении родственного антигена продолжительность контакта между ДК и Т-клетками увеличивается, но все же составляет несколько минут (~11–12 мин) [11, 27, 28]. При условии, что доза антигена достаточно высока, за этой первой фазой праймирования Т-клеток следует вторая фаза, отмеченная образованием относительно стабильных кластеров ДК, контактирующих с несколькими Т-клетками одновременно [11, 27, 28, 30, 31]. Эта вторая фаза наблюдается в течение 3-5 часов [11, 27, 28] и зависит от дозы антигена и количества ДК, представляющих комплекс МНС-II–пептид [32, 33]. Активация Т-лимфоцитов сопровождается секрецией IL-2 [27, 28], что способствует образованию эф-

факторных клеток и Т-клеток памяти [32, 34]. В третью фазу Т-клетки восстанавливают свою подвижность и образуются клоны специфических Т-хелперов [11, 35].

Использование модуляторов работы ИС в противоопухолевой терапии

Ко-стимулирующие и ко-ингибирующие рецепторы Т-клеток играют ключевую роль и определяют функциональный результат передачи сигналов в ИС. Разработка методов противоопухолевого лечения на основе моноклональных антител, блокирующих молекулы CTLA-4 (антиген цитотоксических Т-лимфоцитов 4) и PD-1 (рецептор программируемой гибели клеток-1), является существенным прорывом в иммунотерапии злокачественных новообразований [36, 37]. Однако

общий уровень клинического ответа на терапевтические моноклональные антитела недостаточно высок [38, 39]. При использовании препарата ипилиумаб (ингибитор CTLA-4) для лечения злокачественной меланомы объективный ответ наблюдается приблизительно у 10% пациентов [37], эффективность препарата ниволумаб (ингибитор PD-1) оказалась выше, объективный ответ наблюдается у 30–35% пациентов при менее выраженных аутоиммунных эффектах [40].

В настоящее время, как перспективные мишени при разработке новых таргетных противоопухолевых препаратов, направленных на активацию эффекторных Т-лимфоцитов, рассматриваются несколько молекул. Например, CD137 или 4-1BB является активирующим рецептором, расположенным на Т-лимфоцитах и естественных киллерах (НК-клетках). Наличие данного рецептора является маркером реактивности опухоли — способности распознавать антигены опухоли, усиливать иммунный ответ, а также CD137 может стимулировать активность цитотоксических Т-лимфоцитов, НК-клеток и способствовать формированию Т-клеток памяти [41]. По данным доклинических исследований, активация сигнального пути CD27 может усиливать активность цитотоксических Т-лимфоцитов и способствовать поддержанию ответа долговременной иммунологической памяти [42]. Индуцируемый ко-стимулятор Т-лимфоцитов (ICOS) является активирующим рецептором, экспрессирующимся на поверхности Т- и НК-клеток. Лиганд ICOS-ICOSL (B7RP-1) представлен на мембране АПК (дендритные клетки, макрофаги). Сигнальный путь ICOS-ICOSL приводит к активации, пролиферации и повышению жизнеспособности цитотоксических Т-лимфоцитов в естественных условиях и при блокировании CTLA-4, а также может усиливать функцию НК-клеток. Кроме того, исследования на мышиных моделях показали, что экспрессия рецептора ICOS может индуцировать противоопухолевую активность НК-клеток [43]. Индуцируемый глюкокортикоидами белок GITR, родственной ФНО, активируется при воздействии опухолевого антигена, что усиливает пролиферацию и противоопухолевую активность Т-клеток. В доклинических исследованиях активация GITR сигнального пути способствует усилению противоопухолевого иммунитета за счет активации цитотоксических Т-лимфоцитов и ингибирования активности Т-регуляторных лимфоцитов [44]. Сигнальный путь OX40 увеличивает количество и активность цитотоксических Т-лимфоцитов и снижает иммуносупрессивное воздействие Т-регуляторных клеток [45].

Таким образом, изучение сигнальных путей в микроокружении опухоли, способных модулировать активность Т-лимфоцитов, продолжает развиваться посредством идентификации новых ко-стимулирующих и ко-ингибиторных молекул ИС и определения их иммунологических функций на экспериментальных моделях [46]. Использование эффективных способов воздействия на ИС и внедрение в практику новых иммуноонкологических препаратов, модуляторов иммунного синапса, позволяет по-новому взглянуть на возможности иммунотерапии злокачественных опухолей.

Финансирование

Обзор написан при финансовой поддержке РФФИ в рамках выполнения научного проекта № 20-75-00095 от 20 июля 2020 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Chaplin DD. Overview of the immune response // *J. Allergy Clin. Immunol.* 2010;125(2 Suppl. 2):3–23. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2009.12.980>
2. Guermonprez P, Valladeau J, Zitvogel L, Théry C, Amigorena S. Antigen presentation and T cell stimulation by dendritic cells // *Annu Rev. Immunol.* 2002;20:621–667. <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.20.100301.064828>
3. Ярилин А.А. Иммунология. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. ISBN 978-5-9704-1319-7
4. Angus KL, Griffiths GM. Cell polarisation and the immunological synapse // *Curr. Opin. Cell Biol.* 2013;25(1):85–91. <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2012.08.013>
5. Garcia E, Ismail S. Spatiotemporal Regulation of Signaling: Focus on T Cell Activation and the Immunological Synapse // *Int. J. Mol. Sci.* 2020;21(9):3283. <https://doi.org/10.3390/ijms21093283>
6. Thauland TJ, Parker DC. Diversity in immunological synapse structure // *Immunology.* 2010;131:466–472.
7. Xie J, Tato CM, Davis MM. How the immune system talks to itself: the varied role of synapses // *Immunol. Rev.* 2013;251(1):65–79. <https://doi.org/10.1111/imr.12017>
8. Verboogen DR, Dingjan I, Revelo NH et al. The dendritic cell side of the immunological synapse // *Biomol. Concepts.* 2016;7(1):17–28. <https://doi.org/10.1515/bmc-2015-0028>
9. Azar GA, Lemaître F, Robey EA et al. Subcellular dynamics of T cell immunological synapses and kinapses in lymph nodes // *PNAS.* 2010;107(8):3675–3680. <https://doi.org/10.1073/pnas.0905901107>
10. Gérard A, Beemiller P, Friedman RS et al. Evolving immune circuits are generated by flexible, motile, and sequential immunological synapses // *Immunol. Rev.* 2013;251(1):80–96. <https://doi.org/10.1111/imr.12021>
11. Mempel TR, Henrickson SE, Von Andrian UH. T-cell priming by dendritic cells in lymph nodes occurs in three distinct phases // *Nature.* 2004;427(6970):154–159. <https://doi.org/10.1038/nature02238>
12. Markey KA, Gartlan KH, Kuns R.D et al. Imaging the immunological synapse between dendritic cells and T cells

- // *J. Immunol. Methods*. 2015;423:40–44. <https://doi.org/10.1016/j.jim.2015.04.029>
13. Tai Y, Wang Q, Korner H et al. Molecular Mechanisms of T Cells Activation by Dendritic Cells in Autoimmune Diseases // *Front Pharmacol*. 2018;9:642. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00642>
 14. Kaizuka Y. Regulations of T Cell Activation by Membrane and Cytoskeleton // *Membranes (Basel)*. 2020;10(12):443. <https://doi.org/10.3390/membranes10120443>
 15. Lee M, Lee YH, Song J et al. Deep-learning-based three-dimensional label-free tracking and analysis of immunological synapses of CAR-T cells // *Elife*. 2020;9:e49023. <https://doi.org/10.7554/eLife.49023>
 16. Jo JH, Kwon MS, Choi HO et al. Recycling and LFA-1-dependent trafficking of ICAM-1 to the immunological synapse // *J. Cell. Biochem*. 2010;111(5):1125–1137. <https://doi.org/10.1002/jcb.22798>
 17. Fuente H, Mittelbrunn M, Sánchez-Martín L et al. Synaptic clusters of MHC class II molecules induced on DCs by adhesion molecule-mediated initial T-cell scanning // *Mol. Biol. Cell*. 2005;16(7):3314–3322. <https://doi.org/10.1091/mbc.e05-01-0005>
 18. Mastrogiovanni M, Juzans M, Alcover A, Di Bartolo V. Coordinating Cytoskeleton and Molecular Traffic in T Cell Migration, Activation, and Effector Functions // *Front. Cell. Dev. Biol*. 2020;8:1138. <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.591348>
 19. Muntjewerff EM, Meesters LD, van den Bogaart G, Revelo NH. Reverse Signaling by MHC-I Molecules in Immune and Non-Immune Cell Types // *Front. Immunol*. 2020;11:3264. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.605958>
 20. Yokosuka T, Sakata-Sogawa K, Kobayashi W et al. Newly generated T cell receptor microclusters initiate and sustain T cell activation by recruitment of Zap70 and SLP-76 // *Nat. Immunol*. 2005;6(12):1253–1262. <https://doi.org/10.1038/ni1272>
 21. Orbach R, Su X. Surfing on Membrane Waves: Microvilli, Curved Membranes, and Immune Signaling // *Front. Immunol*. 2020;11:2187. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.02187>
 22. Saito T, Yokosuka T, Hashimoto-Tane A. Dynamic regulation of T cell activation and co-stimulation through TCR-microclusters // *FEBS Lett*. 2010;584(24):4865–4871. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2010.11.036>
 23. Ritter AT, Angus KL, Griffiths GM. The role of the cytoskeleton at the immunological synapse // *Immunol. Rev*. 2013;256(1):107–117. <https://doi.org/10.1111/imr.12117>
 24. Fritzsche M, Fernandes RA, Chang VT et al. Cytoskeletal actin dynamics shape a ramifying actin network underpinning immunological synapse formation // *Sci. Adv*. 2017;3(6):e1603032. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1603032>
 25. Dustin ML. Supported bilayers at the vanguard of immune cell activation studies // *J. Struct. Biol*. 2009;168(1):152–160. <https://doi.org/10.1016/j.jsb.2009.05.007>
 26. Rossy J, Pigeon SV, Davis DM, Gaus K. Super-resolution microscopy of the immunological synapse // *Curr. Opin. Immunol*. 2013;25(3):307–312. <https://doi.org/10.1016/j.coi.2013.04.002>
 27. Miller MJ, Safrina O, Parker I, Cahalan MD. Imaging the single cell dynamics of CD4+ T cell activation by dendritic cells in lymph nodes // *J. Exp. Med*. 2004;200(7):847–856. <https://doi.org/10.1084/jem.20041236>
 28. Koh WH, Zayats R, Lopez P, Murooka TT. Visualizing Cellular Dynamics and Protein Localization in 3D Collagen // *STAR Protoc*. 2020;1(3):100203. <https://doi.org/10.1016/j.xpro.2020.100203>
 29. Miller MJ, Hejazi AS, Wei SH et al. T cell repertoire scanning is promoted by dynamic dendritic cell behavior and random T cell motility in the lymph node // *PNAS*. 2004;101(4):998–1003. <https://doi.org/10.1073/pnas.0306407101>
 30. Shakhar G, Lindquist RL, Skokos D et al. Stable T cell-dendritic cell interactions precede the development of both tolerance and immunity in vivo // *Nat. Immunol*. 2005;6(7):707–714. <https://doi.org/10.1038/ni1210>
 31. Lühr JJ, Alex N, Amon L et al. Maturation of Monocyte-Derived DCs Leads to Increased Cellular Stiffness, Higher Membrane Fluidity, and Changed Lipid Composition // *Front. Immunol*. 2020;11:590121. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.590121>
 32. Henrickson SE, Perro M, Loughhead SM et al. Antigen availability determines CD8+ T cell-dendritic cell interaction kinetics and memory fate decisions // *Immunity*. 2013;39(3):496–507. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2013.08.034>
 33. Beltman JB, Henrickson SE, von Andrian UH et al. Towards estimating the true duration of dendritic cell interactions with T cells // *J. Immunol. Methods*. 2009;347(1–2):54–69. <https://doi.org/10.1016/j.jim.2009.05.013>
 34. Katzman SD, O’Gorman WE, Villarino AV et al. Duration of antigen receptor signaling determines T-cell tolerance or activation // *PNAS*. 2010;107(42):18085–18090. <https://doi.org/10.1073/pnas.1010560107>
 35. Benson RA, MacLeod MK, Hale BG et al. Antigen presentation kinetics control T cell/dendritic cell interactions and follicular helper T cell generation in vivo // *Elife*. 2015;4:e06994. <https://doi.org/10.7554/eLife.06994>
 36. Mahoney KM, Freeman GJ, McDermott DF. The Next Immune-Checkpoint Inhibitors: PD-1/PD-L1 Blockade in Melanoma // *Clin. Ther*. 2015;37(4):764–82. <https://doi.org/10.1016/j.clinthera.2015.02.018>
 37. Niezgoda A, Niezgoda P, Czajkowski R. Novel Approaches to Treatment of Advanced Melanoma: A Review on Targeted Therapy and Immunotherapy // *BioMed. Res. Int*. 2015;2015. Article ID 851387. <https://doi.org/10.1155/2015/851387>
 38. Borghaei H, Paz-Ares L, Horn L et al. Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Nonsquamous Non-Small-Cell Lung Cancer // *N. Engl. J. Med*. 2015;373(17):1627–1639. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1507643>
 39. Ribas A, Wolchok JD. Cancer immunotherapy using checkpoint blockade // *Science*. 2018;359(6382):1350–1355. <https://doi.org/10.1126/science.aar4060>
 40. Larkin J, Lao CD, Urba WJ et al. Efficacy and Safety of Nivolumab in Patients With BRAF V600 Mutant and BRAF Wild-Type Advanced Melanoma: A Pooled Analysis of 4 Clinical Trials // *JAMA Oncol*. 2015;1(4):433–40. <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2015.1184>
 41. You G, Lee Y, Kang YW et al. B7-H3×4-1BB bispecific antibody augments antitumor immunity by enhancing terminally differentiated CD8+ tumor-infiltrating lymphocytes // *Sci. Adv*. 2021;7(3):eaax3160. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aax3160>
 42. He LZ, Probst N, Thomas LJ et al. Agonist anti-human CD27 monoclonal antibody induces T cell activation and

tumor immunity in human CD27-transgenic mice // *J. Immunol.* 2013;191(8):4174–4183. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1300409>

43. Soldevilla MM, Villanueva H, Meraviglia-Crivelli D et al. ICOS Costimulation at the Tumor Site in Combination with CTLA-4 Blockade Therapy Elicits Strong Tumor Immunity // *Mol. Ther.* 2019. Nov;27(11):1878–1891. <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2019.07.013>
44. Schaer DA, Cohen AD, Wolchok JD. Anti-GITR antibodies-potential clinical applications for tumor immunotherapy // *Curr. Opin. Investig. Drugs.* 2010;11(12):1378–86. PMID: 21154120
45. Gough MJ, Ruby CE, Redmond WL et al. OX40 agonist therapy enhances CD8 infiltration and decreases immune suppression in the tumor // *Cancer Res.* 2008;68(13):5206–15. <https://doi.org/10.1158/0008-5472>
46. He X, Xu C. Immune checkpoint signaling and cancer immunotherapy // *Cell. Res.* 2020;30:660–669. <https://doi.org/10.1038/s41422-020-0343-4>

Поступила в редакцию 04.02.2021 г.

T.L. Nekhaeva, A.E. Karpov, N.P. Pipia

Searching for immunotherapeutic targets in oncology during immune synapse formation

N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia, Saint Petersburg

Immunological synapse (IS) is a high-specialized connection between a T-lymphocyte and an antigen-presenting cell (APC), consisting of a cluster of T-cell receptors (TCR) surrounded by a ring of adhesion molecules. It has now been shown that formation of immune synapses is an active and dynamic mechanism that allows T cells to discriminate between potential antigenic ligands. At the first stage T-cell receptor ligands are involved in the external ring of the forming synapse. The movement of these complexes into the central cluster depends on the kinetics of T-cell receptor-ligand molecule interaction. Thus, the formation of a stable central cluster in the immunological synapse is a determining event for T-cell proliferation. The application of effective ways to influence on the IS by introduction into practice of new antitumor drugs and immunological synapse modulators allows to take a new look at the possibilities of tumor immunotherapy.

Key words: antigen presentation, antigen-presenting cell, dendritic cell, immunological synapse, T-cell, cancer immunology, immunotherapy, review

И.В. Грибкова, А.А. Завьялов

Терапия Т-лимфоцитами с химерным антигенным рецептором (CAR) В-клеточной неходжкинской лимфомы: возможности и проблемы

ГБУ «Научно-исследовательский институт организации здравоохранения и медицинского менеджмента Департамента здравоохранения города Москвы»

В-клеточная неходжкинская лимфома (НХЛ) является наиболее распространённым гематологическим злокачественным новообразованием. Несмотря на усовершенствование иммунохимиотерапии, значительное количество пациентов имеют рефрактерную форму заболевания. CAR Т-клеточная терапия (терапия Т-лимфоцитами с химерным антигенным рецептором (CAR)) считается наиболее перспективной и эффективной терапией для преодоления хеморефрактерной В-клеточной НХЛ. На основании многообещающих результатов, полученных в ходе основных исследований, Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA) и Европейское агентство по лекарственным средствам (EMA) одобрили анти-CD19 CAR Т-клеточную терапию при рецидивирующей/рефрактерной диффузной В-клеточной лимфоме. Тем не менее, остаются несколько спорных вопросов и проблем, ожидающих решения, включая оптимальное управление токсичностью, преодоление рецидивов заболевания, возникающих после CAR Т-клеточной терапии и улучшение производственной платформы CAR Т-клеток. В этом обзоре описаны результаты последних клинических исследований и разработок, а также перспективы развития CAR Т-клеточной терапии В-клеточной НХЛ.

Ключевые слова: В-клеточная неходжкинская лимфома, CAR Т-клеточная терапия, химерный антигенный рецептор, тисагенлеклейсел, аксикабтаген силoleyсел, лизокабтаген маралейсел

В-клеточная лимфома

Неходжкинская лимфома (НХЛ) является наиболее распространённым гематологическим злокачественным новообразованием. Это общее сборное наименование разнообразной группы лимфом, среди которых диффузная крупноклеточная В-клеточная лимфома (ДКВКЛ) является наиболее распространённым вариантом (30–50% от всех неходжкинских лимфом) и имеет агрессивное клиническое течение [1]. ДКВКЛ

является гетерогенной группой лимфатических опухолей с различными клиническими, морфологическими, иммунофенотипическими, цитогенетическими проявлениями и с разным ответом на терапию.

Во многих наиболее распространённых формах НХЛ опухолевые клетки происходят из линии В-клеток и, следовательно, часто экспрессируют антигены дифференцировки В-лимфоцитов, включая CD20 и CD19. Разработка ритуксимаба — моноклонального антитела, обладающего специфичностью к CD20 антигену, и добавление этого агента к стандартным программам цитотоксической химиотерапии позволили улучшить исходы у пациентов с различными подтипами В-клеточной НХЛ [1, 2]. В настоящее время программы иммунохимиотерапии первой линии на основе антрациклинов, как правило, это схема R-CHOP (ритуксимаб, циклофосфамид, доксорубин, винкристин и преднизолон), приводят к длительной безрецидивной выживаемости приблизительно 50–60% пациентов с ДКВКЛ. Но у значительного числа пациентов наблюдается рецидив заболевания или первично-рефрактерное течение лимфомы. Для таких пациентов прогнозы остаются плохими [3, 4].

Стандартный подход второй линии — химиотерапия «спасения», сопровождаемая аутологичной трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток (аутоТГСК) [2]. Но, хотя ТГСК и обладает потенциалом для лечения пациентов с различными подтипами лимфомы, смертность, связанная с трансплантатом, остается высокой, а хроническая реакция «трансплантат против хозяина» (РТПХ) может оказывать существенное негативное влияние на качество жизни [2].

Первично-рефрактерная ДКВКЛ, т. е. ДКВКЛ, при которой ответ на иммунохимиотерапию первой линии менее, чем частичная ремиссия, связана с особенно плохими результатами: только 23–29% пациентов с первично-резистентными ДКВКЛ отвечают на лечение второй линии [5] с медианой выживаемости без прогрессирования 3 мес. Пациенты с ДКВКЛ, невосприимчивой к терапии второй линии, имеют среднюю общую выживаемость всего 4 мес [5], при этом предполагаемая частота ответа на химиотерапию тре-

твей линии составляет всего 14% [6]. Прогноз у пациентов с ДКВКЛ, у которых возник рецидив после первоначального ответа на аутоТГСК, также является неутешительным с медианой общей выживаемости 10 мес [7].

Таким образом, эти данные указывают на то, что необходимы новые методы лечения пациентов с ДКВКЛ, обладающие большей эффективностью, особенно для пациентов с рецидивирующими и рефрактерными формами течения заболевания.

Одним из новейших методов, разрабатываемых в настоящее время, является терапия с использованием генетически-модифицированных Т-лимфоцитов больного, экспрессирующих химерные антигенные рецепторы (CAR) к специфическим опухолевым антигенам. Такие клетки получили в англоязычной литературе название CAR Т-клетки. Несмотря на высокую стоимость и наличие осложнений в применении данной терапии, многообещающие клинические испытания у больных даже на поздних стадиях злокачественных новообразований позволяют рассчитывать на успешное внедрение этого метода в практику.

Терапия Т-лимфоцитами с химерным антигенным рецептором (CAR)

Химерный антигенный рецептор (CAR)

Терапия CAR-лимфоцитами относится к адаптивной иммунотерапии. Адаптивная терапия основана на извлечении лейкоцитов периферической крови пациента, их модификации с целью приобретения ими противоопухолевых свойств, последующей экспансии модифицированных Т-клеток и реинфузии их пациенту.

Цитотоксические CD8⁺ Т-лимфоциты являются главным эффекторным звеном в адаптивном иммунном ответе на несущие чужеродные антигены клетки организма. Но выделение и работа нативных специфических Т-лимфоцитов представляется непростой задачей. Кроме того, для цитотоксического действия CD8⁺ Т-лимфоцитов необходимо наличие на поверхности лизируемых клеток молекул главного комплекса гистосовместимости, чья продукция снижена во многих злокачественных опухолях.

Этих недостатков лишена терапия цитотоксическими Т-лимфоцитами с химерными (состоящими из нескольких доменов) Т-клеточными рецепторами. Продукция химерных рецепторов достигается генно-инженерными методами и позволяет получить *in vitro* большой объём однородных Т-лимфоцитов с заданной специфичностью. Для распознавания клеток-мишеней полученные таким образом Т-лимфоциты не нуждаются в присутствии молекул главного

комплекса гистосовместимости (МНС-I). При этом входящие в состав CAR структуры нормального Т-клеточного рецептора позволяют запускать те же механизмы активации и цитотоксичности, что и при связывании с мишенью обычного рецептора. Введение дополнительных компонентов в структуру рецептора даёт возможность повысить стабильность получаемых лимфоцитов и увеличить синтез ими цитокинов, стимулирующих иммунный ответ [8].

Химерный антигенный рецептор — это рекомбинантный рецептор, дающий возможность Т-лимфоциту активироваться и взаимодействовать с опухолевыми клетками [9]. Молекула CAR имеет сложное строение и представлена следующими частями, каждая из которых выполняет определенную функцию:

- таргетный домен, полученный из одноцепочечного варибельного домена (scFv) моноклонального антитела, необходим для поиска и узнавания опухолевой клетки;

- гибкая шарнирная область обеспечивает подвижность рецептора и способствует более оперативной идентификации мишени;

- трансмембранный домен необходим для закрепления химерного рецептора на поверхности Т-лимфоцита;

- внутриклеточный домен, расположенный непосредственно на внутренней поверхности мембраны иммунной клетки, обеспечивает работу при контакте с опухолевой клеткой, а именно её уничтожение. Данный домен состоит из следующих частей: активирующего сигнального домена, CD3 ζ , полученного из Т-клеточного рецептора, отвечающего за синтез молекул перфорина и гранзимов, вызывающих апоптоз опухолевой клетки, а также один или несколько костимулирующих доменов, таких как CD28 или 4-1BB, способствующих пролиферации лимфоцитов и дополнительно активирующих их работу, продлевая срок их жизни в крови.

Схема CAR Т-клеточной терапии

Схема производства CAR Т-клеток состоит из нескольких этапов. На первом этапе из крови пациента выделяют лейкоциты, чтобы затем их активировать и размножить в лаборатории. После этого в них доставляют ген, кодирующий конструкцию CAR, с использованием ретровирусных или лентивирусных векторов, и генерируются CAR Т-клетки. На последнем этапе CAR Т-клетки размножают и возвращают в организм пациента. Этот производственный процесс обычно занимает не менее 2–3 нед. Поэтому в период производства CAR-Т-клеток часто проводится промежуточная химиотерапия, позволяющая избежать быстрого прогрессирования заболевания и поддержать общее состояние пациента.

Перед инфузией CAR T-клеток в организм пациента также проводят химиотерапию, сопровождающуюся лимфодеплецией (LD-химиотерапия) — устранением собственных клеток, способных снижать активность CAR T-лимфоцитов. Дело в том, что собственная иммунная система организма и, прежде всего, так называемые регуляторные T-клетки, подавляет функции T-хелперов, цитотоксических T-лимфоцитов и естественных киллеров. LD-химиотерапия уменьшает количество T-клеток *in vivo*, включая регуляторные T-клетки, и, следовательно, приводит к регуляции синтеза цитокинов, таких как IL-7 и IL-15 [10]. Эти цитокины способствуют размножению T-клеток, включая CAR T-клетки, и усиливают противоопухолевую активность CAR T-клеточной терапии. Наиболее эффективными схемами LD-химиотерапии считаются схемы на основе флударабина [11].

При попадании в организм CAR T-клетки при помощи внеклеточной части CAR распознают опухолевые клетки и уничтожают их. Преимущество заключается в том, что это может происходить многократно: уничтожив одну мишень, CAR T-клетка не выходит из строя и продолжает передвигаться по организму в поисках следующей.

CAR T-клетки исследовали в качестве терапии различных видов опухолей, но наибольшую эффективность они показали для лечения онкогематологических заболеваний [12].

Применение CAR T-клеточной терапии для лечения ДКВКЛ

Для рецидивирующих/рефрактерных ДКВКЛ наиболее перспективным направлением является CAR T-клеточная терапия препаратами анти-CD19 CAR [13]. CD19 представляет собой белок, экспрессируемый на поверхности В-клеток. Он считается оптимальной терапевтической мишенью, поскольку он равномерно экспрессируется на поверхности В-клеточных злокачественных новообразований, причём исключительно в линии В-клеток, а не в других линиях или тканях. Большинство разработанных в настоящее время CAR T-клеток для терапии В-клеточных НХЛ используют CD19 в качестве терапевтической мишени.

Высокая эффективность анти-CD19 CAR T-клеточной терапии была подтверждена несколькими исследованиями: начиная с 2010 г. работы проводились в течение 7 лет [14–16]. В 2017 г. на основании результатов данных исследований Управление по контролю за качеством пищевых продуктов и лекарственных средств США (FDA) одобрило первую терапию анти-CD19 CAR T-клетками для пациентов с реци-

дивирующей/рефрактерной ДКВКЛ после двух или более линий системной терапии [17].

В настоящее время несколько препаратов анти-CD19 CAR T-клеточной терапии тестируется при В-клеточных злокачественных новообразованиях. Среди них три препарата проверены в наиболее крупномасштабных клинических испытаниях: тисагенлеклейсел, аксикабтаген силолейсел, лизокабтаген маралейсел.

Эффективность анти-CD19 CAR T-клеточной терапии В-клеточной НХЛ

Тисагенлеклейсел

Тисагенлеклейсел — это CD19-направленная генетически модифицированная аутологичная T-клеточная иммунотерапия, использующая 4-1BB в качестве костимулирующего домена. Она разработана исследователями из Пенсильванского университета (UPenn) в сотрудничестве с Novartis.

Исследователи UPenn провели пилотное исследование тисагенлеклейсела у пациентов с В-клеточной лимфомой [18]. Первичной конечной точкой была частота объективных ответов (ЧОО) через 3 мес после начала терапии. Всего было зарегистрировано 38 пациентов с рецидивирующей/рефрактерной В-клеточной НХЛ. Только 28 из 38 пациентов (73%) получили инфузию CAR T-клеток. У этих 28 пациентов, ЧОО составила 64% (18 из 28), причем 57% пациентов (16 из 28) достигли полного ответа (ПО). Примечательно, что 4 пациента, у которых наблюдался частичный ответ (ЧО) через 3 мес, достигли ПО через 6 мес после инфузии. Эти данные свидетельствуют о том, что лучший ответ на тисагенлеклейсел у отдельных пациентов можно наблюдать позже, чем при обычной химиотерапии.

Впоследствии было проведено международное исследование II фазы тисагенлеклейсела для терапии, рецидивирующей/рефрактерной ДКВКЛ (JULIET) [14, 15, 19]. JULIET — это глобальное испытание CAR T-клеточной терапии ДКВКЛ, в котором приняли участие 27 центров из 10 стран. В исследование были включены взрослые пациенты (≥ 18 лет) после двух или более предшествующих линий терапии, критерием исключения было вовлечение центральной нервной системы. Первичной конечной точкой была ЧОО. В общей сложности 165 пациентов были включены в это исследование. Тем не менее, только 111 пациентов были инфузирваны CAR T-клетками. Среди этих 111 пациентов 54 пациента (49%) рецидивировали после трансплантации аутологичных стволовых клеток. Также были включены double-hit и triple-hit лимфомы (19 из 70 оцениваемых пациентов;

27%). Среди 93 оцениваемых пациентов ЧОО составила 52% (48/93), при этом ПО составил 40% (37/93). Анализ подгрупп показал, что ЧОО не зависит от предшествующего лечения или других факторов риска, например, от перестройки генов *MYC* и *BCL2*. Хотя медиана выживаемости без прогрессирования заболевания (ВБП) составила всего 2,9 мес у всех пациентов, она не была достигнута у пациентов с ПО. Данные о более продолжительном наблюдении были представлены на 60-м ежегодном собрании Американского общества гематологов (ASH) в 2018 г. [20]. Средняя продолжительность ответа и общая выживаемость у пациентов с ПО не были достигнуты в течение средней продолжительности наблюдения, равной 19,3 мес. Безрецидивная выживаемость среди всех респондентов составила 64% как через 12 мес, так и через 18 мес.

Основываясь на этих многообещающих результатах, FDA США одобрило тисагенлеклейсел для терапии рецидивирующей/рефрактерной ДКВКЛ в мае 2018 г. Этот препарат также был одобрен Европейским агентством по лекарственным средствам (EMA) в 2018 г.

Аксикабтаген силолейсел

Аксикабтаген силолейсел — это CD19-направленная генетически модифицированная аутологичная Т-клеточная иммунотерапия, использующая CD28 в качестве костимулирующего домена. Первоначально он был разработан исследователями Национального института рака (NCI). В настоящее время эта конструкция разрабатывается Kite Pharma, Gilead Sciences и Daiichi Sankyo. Основные данные о терапии аксикабтагеном силолейселем пациентов с рецидивирующей/рефрактерной ДКВКЛ получены из исследования I/II фазы ZUMA-1 [16, 21, 22]. В фазе I 7 пациентов с рефрактерной ДКВКЛ получали инфузию аксикабтагена силолейсела. Объективный ответ был зарегистрирован у 5 из 7 пациентов (71%) в течение месяца после инфузии, причем 4 из 7 пациентов (57%) достигли ПО.

Основываясь на этих результатах, было проведено исследование II фазы [16, 22]. В общей сложности 111 пациентов с рецидивирующей/рефрактерной ДКВКЛ были включены в исследование. Больше чем две трети пациентов были невосприимчивы к предыдущим трём линиям терапии, и у 21% был рецидив в течение 12 мес после аутоТГСК. Всего 101 пациент получил инфузию аксикабтагена силолейсела. Среднее время изготовления CAR Т-клеток от лейкофереза до доставки аксикабтагена силолейсела в лечебное учреждение составило 17 дней, что является отно-

сительно коротким периодом по сравнению с другими исследованиями. Отчасти это связано с тем, что группа NCI разработала новую процедуру производства.

В 2019 г. были опубликованы долгосрочные данные наблюдения [22]. ЧОО составляла 83%, при этом ПО наблюдали у 58% пациентов. При среднем периоде наблюдения 27,1 мес, средняя продолжительность ответа составила 11,1 мес, причём средняя продолжительность ответа для пациентов с ПО до сих пор не достигнута. Средняя ВБП составила 5,9 мес. Медиана ВБП пациентов, достигших ПО /ЧО через 3 мес не была достигнута, тогда как медиана ВБП пациентов со стабилизацией заболевания (СЗ) была только 7,3 мес [22]. Примечательно, что 11 из 33 пациентов с ЧО через 1 мес и 11 из 24 пациентов со СЗ через 1 мес, впоследствии достигли ПО. Большинство преобразований произошло через 6 мес после инфузии.

FDA США одобрило аксикабтаген силолейсел для лечения взрослых пациентов с рецидивирующей или рефрактерной В-крупноклеточной лимфомой после двух или более предшествующих линий системной терапии в октябре 2017 г., а EMA — в июне 2018 г.

С одобрением аксикабтагена силолейсела возрос интерес к сообщениям об эффективности этой терапии в реальной клинической практике. Такие данные были опубликованы в работах [23, 24]. Исследование [23] включало 294 пациента, 43% из которых не соответствовало критериям включения ZUMA-1. Показатели ЧОО (81%) и ПО (57%) были аналогичны показателям, указанным в ZUMA-1 (83% и 58% соответственно). Однако в исследовании [24], в которое было включено 76 пациентов, данные ЧОО и ПО были ниже, чем сообщённые в исследовании ZUMA-1: 64% и 41% соответственно. Это может быть связано с включением в исследование пациентов с более плохим соматическим статусом. Следовательно, пока не ясно, может ли эффективность аксикабтагена силолейсела быть воспроизведена вне строгих критериев приемлемости клинических испытаний.

Лизокабтаген маралейсел

Исследователи из Онкологического исследовательского центра им. Фреда Хатчинсона (FHCRC), онкологического центра им. Слоана Кеттеринга и Детского научно-исследовательского института в Сиэтле основали предприятие Juno Therapeutics и провели несколько клинических испытаний продуктов анти-CD19 CAR Т-клеточной терапии. Среди них в наиболее крупных клинических испытаниях поздних фаз у пациентов с В-клеточной НХЛ был исследован лизокабтаген маралейсел.

Лизокабтаген маралейсел — это CD19-направленная генетически модифицированная аутологичная Т-клеточная иммунотерапия, использующая костимулирующий домен 4-1BB и объединяющая в определенном фиксированном соотношении (1:1) Т-хелперы (CD4+) и Т-киллеры (CD8+).

С января 2016 г. Juno Therapeutics и Celgene проводят многоцентровое исследование лизокабтагена маралейсела в США под названием Transcend NHL001 (предположительная дата окончания исследования — декабрь 2022 г.). В исследование включены 344 пациента с различными подтипами В-клеточной НХЛ, при этом наиболее распространённым гистологическим подтипом является ДКВКЛ [25–27]. Для лимфодеплекции используют комбинацию циклофосфамида и флударабина. В общей сложности на данный момент были оценены результаты терапии 256 пациентов. Показатели ЧОО и ПО составили 73% и 53% соответственно [25].

Основные данные клинических испытаний тисагенлеклейсела, аксикабтагена силолейсела, лизокабтагена маралейсела представлены в таблице.

Токсичность анти-CD19 CAR Т-клеточной терапии В-клеточной НХЛ

К наиболее распространённым побочным эффектам CAR Т-клеточной терапии относятся В-лимфопения, синдром цитокинового шторма (СЦШ) и нейротоксичность [12, 28].

В-клеточная лимфопения является классическим примером *on target/off tumor* эффекта специфической иммунотерапии, обусловленной экспрессией таргетируемого антигена на поверхности здоровых тканей. Она сохраняется в течение всего срока персистенции анти-CD19 CAR Т-клеток и сопровождается гипогаммаглобулинемией, требующей заместительной терапии внутривенным иммуноглобулином. Данный

эффект не угрожает жизни пациентов и может быть скорректирован отработанными клиническими инструментами. Показано, что восстановление поликлональных В-клеточных популяций до исходного уровня может происходить без рецидива лимфомы [2].

СЦШ — наиболее тяжелый побочный эффект терапии CAR Т-клетками, описанный всеми крупными исследовательскими группами. СЦШ является потенциально жизнеугрожающим состоянием, сопровождающим терапевтическое введение Т-клеток, экспрессирующих CAR [29]. В основе СЦШ лежит системный воспалительный ответ, обусловленный гиперпродукцией провоспалительных цитокинов. Источником цитокинов являются как собственно CAR Т-клетки, так и вторичные эффекторы. Тяжесть течения СЦШ варьирует и может достигать полиорганной недостаточности и летального исхода. Клиника СЦШ включает лихорадку, нарушение дыхательной функции, тахикардию, гипотензию, генерализованные отёки, нарушение сознания, диффузную лимфаденопатию, гепатоспленомегалию и часто эритематозную или зудящую сыпь. Эта симптоматика появляется вскоре после введения модифицированных Т-клеток и нарастает в течение последующих дней: медиана времени появления СЦШ составляла 2–3 дня в ZUMA-1 [16, 22] и в JULIET [14], и 5 дней в TRANSCEND [25]. Недавние исследования предложили несколько возможных факторов риска развития СЦШ: высокий пиковый уровень экспансии CAR Т-клеток, опухолевая нагрузка и др. [30, 31].

В последние годы были опубликованы рекомендации по классификации СЦШ, из которых наиболее распространёнными стали рекомендации Американского общества трансплантации и клеточной терапии (ASTCT). Данное руководство выделяет 4 степени СЦШ: от 1 (легкая) до 4 (опасная для жизни) [32]. В ZUMA-1 (аксикабтаген силолейсел) [16, 22], JULIET (тисаген-

Данные по эффективности анти-CD19 CAR Т-клеточной терапии НХЛ

CAR Т-клеточный продукт	Тисагенлеклейсел	Аксикабтаген силолейсел	Лизокабтаген маралейсел
Клиническое исследование	JULIET	ZUMA-1	TRANSCEND
Количество включенных (инфузированных) пациентов	165 (111)	111 (101)	344 (269)
Количество оцениваемых ответов	93	101	256
ЧОО (ПО)	52% (40%)	83% (58%)	73% (53%)
Средняя продолжительность ответа	Не достигнута	11,1 мес	Не достигнута
Выживаемость без прогрессирования (ВБП)	12-месячная ВБП: 83% (для пациентов с ПО/ЧО через 3 мес)	24-месячная ВБП: 72% (для пациентов с ПО через 3 мес)	12-месячная ВБП: 65% (для пациентов с ПО)
Общая выживаемость (ОВ)	Расчетная 12-месячная ОВ: 49% (90% для пациентов с ПО)	Расчетная 24-месячная ОВ: 50,5%	Расчетная 12-месячная ОВ: 58% (86% для пациентов с ПО)
Источник	[14, 15]	[16, 22]	[25–27]

леклейсел) [14] и TRANSCEND (лизокабтаген маралейсел) [25] частота возникновения СЦШ любой степени составляла 92%, 58% и 42% соответственно. СЦШ 3 степени наблюдался у 11%, 22% и 2% пациентов, соответственно. В исследованиях, описывающих реальную клиническую практику, тяжелая форма СЦШ развивалась у 7% и 17% пациентов соответственно [23, 24].

Было показано, что СЦШ ассоциирован с повышенными уровнями цитокинов, в том числе интерлейкина 6 (IL-6) [33]. Это объясняет, почему тоцилизумаб, антагонист рецептора IL-6, стал препаратом выбора для лечения СЦШ от средней до тяжелой степени [32, 34]. Такая терапия вызывает почти немедленное изменение симптомов СЦШ у большинства пациентов. Важно отметить, что тоцилизумаб, по-видимому, не влияет на эффективность терапии CAR T-клетками с точки зрения ЧОО, частоты ПО или длительности ответов [34]. В ZUMA-1 (аксикабтаген силолейсел) [16, 22], JULIET (тисагенлеклейсел) [14] и TRANSCEND (лизокабтаген маралейсел) [25] тоцилизумаб использовался у 43%, 14% и 19% пациентов соответственно. В реальной клинической практике тоцилизумаб используется гораздо чаще (в 63% и 67% случаев в исследованиях аксикабтагена силолейсела) [23, 24]. Кроме того, иногда существует потребность в кортикостероидах, поскольку один только тоцилизумаб не всегда может купировать симптомы СЦШ. До недавнего времени кортикостероиды использовались только в тяжёлых случаях СЦШ из-за опасений относительно их подавляющего действия на функцию Т-клеток [34]. Однако становится всё более очевидным, что кортикостероиды можно безопасно использовать для лечения токсичности, связанной с CAR T-клетками, без ограничения эффективности [23].

Ещё одним серьезным побочным эффектом анти-CD19 CAR T-клеток является нейротоксичность, проявляющаяся спутанностью сознания, делирием, афазией, миоклонусом, судорогами, галлюцинациями [32]. Механизм развития и прогностические факторы нейротоксичности не установлены. Часто данные побочные явления прекращаются спонтанно без всякого лечения [35]. Однако серьезность симптомов может быстро колебаться, что требует тщательного мониторинга пациента. Это особенно важно для явления очень редкого, но опасного для жизни осложнения — отека мозга [34]. У части пациентов нейротоксичность совпадает по времени с развитием СЦШ, однако может наблюдаться изолированно. Обычно тяжелую нейротоксичность, совпадающую по времени с СЦШ, лечат с использованием тоцилизумаба и стероидов, а нейротоксичность в отсутствие СЦШ лечат

только кортикостероидами. Однако, IL-6, по-видимому, не играет важной роли в развитии нейротоксичности, т.к. в моделях на животных было показано, что терапия тоцилизумабом не оказывает существенного влияния на развитие данных симптомов [36]. Недавно группы исследователей продемонстрировали в моделях на животных, что IL-1, продуцируемый активированными макрофагами, играет важную роль в патофизиологии нейротоксичности, связанной с CAR T-клеточной терапией [36, 37]. Эти данные говорят о том, что, возможно, блокада IL-1 будет эффективна в устранении симптомов нейротоксичности.

Нейротоксичность, по-видимому, чаще встречается при применении аксикабтагена силолейсела (67% случаев в ZUMA-1 [16, 22]) по сравнению с тисагенлеклейселем (21% в JULIET [14]) и лизокабтагеном маралейселем (30% в TRANSCEND [25]).

Проблемы и перспективы развития

CAR T-клеточная терапия демонстрирует значительную эффективность у пациентов с рецидивирующей/рефрактерной ДКВКЛ. Тем не менее, очевидно, что метод только развивается, и некоторые проблемы ещё предстоит решить. Главным плюсом данной терапии является её результативность, а именно: десятикратный рост частоты ремиссии и уменьшение риска летального исхода более чем на 70% [9]. Однако необходимо дальнейшее совершенствование эффективности терапии: показатель общей выживаемости в течение полутора лет равняется 50%, это огромная цифра, но стоит стремиться к её увеличению [9]. К недостаткам метода можно отнести высокую стоимость, сложность изготовления CAR T-клеток, низкую доступность метода, высокую вероятность развития серьёзных побочных эффектов. Таким образом, CAR T-клеточная терапия нуждается в совершенствовании с точки зрения безопасности и эффективности, а также улучшения производства CAR T-клеток.

Управление токсичностью

В области безопасности наиболее ожидаемым новшеством является интеграция в CAR T-лимфоциты молекулярных механизмов, позволяющих «выключать» терапевтические клетки в случае развития нежелательных побочных эффектов. Одним из способов такого «выключения» служит трансдукция Т-лимфоцитов так называемыми суицидальными генами, продукты которых под действием специфических малых молекул запускают апоптоз Т-лимфоцитов

[38]. Также в борьбе с нежелательными явлениями поможет создание системы, позволяющей «включать» терапевтические клетки только под воздействием низкомолекулярных димеризующих соединений: CAR T-клетки смогут активироваться только в присутствии мишени и этих соединений, чем обеспечивается обратимый и дозируемый контроль [39]. Необходимо, однако, отметить, что обе эти системы пока находятся на стадии проверки концепции.

Для преодоления проблемы *on target/off tumor*-эффекта (реакции против неопухолевой мишени) первый шаг должен быть сделан ещё на этапе отбора антигена-мишени. Прежде всего, необходимо проводить поиск тех антигенов, которые присутствуют преимущественно на трансформированных клетках. Также ценной может быть информация о часто возникающих мутациях, формирующих новые эпитопы на поверхности опухолевых клеток [40]. К новым стратегиям преодоления *on target/off tumor*-эффекта относится метод, суть которого заключается в экспрессии на поверхности клетки двух химерных рецепторов, имеющих разную специфичность и разные сигнальные последовательности [40]. Такие CAR T-клетки способны очень точно отличать клетки-мишени с коэкспрессией двух целевых антигенов (клетки опухоли) от клеток, экспрессирующих один из двух маркеров (нормальные клетки), и таким образом обеспечивать локальное уничтожение опухоли без риска проявления *off tumor*-активности по отношению к здоровым тканям. Однако эффективность такого подхода в значительной степени будет зависеть от точного соблюдения баланса сигналов от обоих рецепторов. Таким образом, сильная сторона этой системы — повышенная специфичность — неразрывно связана с серьёзным недостатком: сниженной устойчивостью к ускользанию опухолевых клеток от иммунного надзора.

Увеличение эффективности

Были выявлены два основных механизма рецидива после терапии CAR T-клетками: рецидивы из-за плохой персистенции и истощения CAR T-клеток и рецидивы из-за потери или подавления целевого антигена [41].

Истощение CAR T-клеток может быть связано с повышенной экспрессией молекул иммунных контрольных точек PD-1/ PD-L1 [16]. PD-1 представляет собой мембранный белок, биологическая функция которого заключается в поддержании T-клеточного ответа в рамках физиологического диапазона. В ответ на цитолитическую и эффекторную функции T-клеток рецептор PD-1 регулирует их активацию посредством взаимодействия со своими лигандами

PD-L1 и -L2, в результате чего запускается апоптоз CD8+ цитотоксических T-лимфоцитов [42]. Таким образом, высокая экспрессия PD-1 может приводить к супрессии иммунного ответа. Поэтому было предположено, что блокада PD-1/ PD-L1 может помочь восстановить функцию истощённых CAR T-клеток.

В работах последних лет представлены данные об эффективности терапии CAR T-клетками совместно с пембролизумабом [43, 44] или ниволумабом [45, 46] (человеческими моноклональными антителами, селективно блокирующими взаимодействие между PD-1 и его лигандами PD-L1 и PD-L2), а также атезолизумабом (антителом против PD-L1) у пациентов с рецидивирующей/рефрактерной ДКВКЛ. Были получены клинически значимые ответы, включая полные ответы, у пациентов с прогрессированием на фоне CAR T-клеточной терапии. Причём у большинства пациентов наблюдается увеличение количества CAR T-клеток при добавлении терапии ингибиторами иммунных контрольных точек. В настоящее время проводится несколько исследований комбинированной терапии CAR T-клетками с ингибиторами иммунных контрольных точек [1, 28].

Возможным решением проблемы потери экспрессии целевого антигена опухолевыми клетками является создание биспецифических CAR T-клеток [12]. Так, для контроля В-клеточных новообразований предполагается комбинированное таргетирование CD19, CD22, CD20 и других линейно-специфических молекул. Fry и соавт. были первыми, кто установил, что пациенты, у которых возник рецидив после анти-CD19 CAR T-клеточной терапии, могут достигать ремиссии заболевания в результате терапии CAR T-клетками, нацеленными на альтернативный антиген: CD22 [47]. Это способствовало разработке двойных антиген-ориентированных подходов для преодоления утечки антигена [48]. Несколько клинических испытаний CAR T-клеток, исследующих комбинированное нацеливание CD19 и другого антигена, такого как CD22, CD123 или CD20, в настоящее время были начаты у пациентов со злокачественными В-клеточными опухолями [49, 50].

Иммунологическое отторжение является ещё одной потенциальной проблемой, которая может ограничивать терапевтическую эффективность CAR T-клеток. Большинство CAR содержат вариабельные области, полученные из мышинных антител, поэтому эти пептидные последовательности являются потенциально иммуногенными и вызывают частичную элиминацию CAR T-клеток в организме человека [51]. Кроме того, соединения между различными доменами CAR представляют собой искусственные аминокислотные

последовательности, которые также могут быть иммуногенными. Снижение иммуногенности CAR может быть особенно важным, если нужно вводить несколько доз CAR T-клеток, потому что после первой дозы может генерироваться иммунологическая память, что приведёт к существенному снижению противоопухолевой активности последующих доз. CAR с гуманизированными или полностью человеческими областями антител могут иметь пониженные уровни иммуногенности, что может снизить вероятность разрушения CAR T-клеток иммунной системой хозяина и, таким образом, способствовать повышению эффективности CAR T-клеточной терапии. CAR с областями антител человека были разработаны, и в настоящее время тестируются у пациентов с ОЛЛ или НХЛ [52, 53].

Кроме того, активность CAR T-клеток потенциально может быть увеличена путём введения фармацевтических агентов. Например, было показано, что ингибитор тирозинкиназы ибрутиниб усиливает противоопухолевую эффективность CAR T-клеток на модели животных [54]. Введение IL-15 после инфузии CAR T-клеток также может иметь клиническую пользу, учитывая связь между высоким уровнем IL-15 в сыворотке и ремиссиями у пациентов с лимфомой, проходящих терапию CAR T-клетками [35].

Улучшение производства CAR T-клеток

Улучшение производственной платформы CAR T-клеток также является очень важным, так как позволяет пациентам получить более легкий доступ к этому лечению. В клинических исследованиях в среднем только 70% пациентов получали инфузию CAR T-клеток. Отчасти это связано с относительно длительным сроком их производства (в исследовании JULIET [14] среднее время от регистрации до вливания составило 54 дня). Во время изготовления CAR T-клеток пациенты получают обычную химиотерапию, которая часто является неэффективной. Следовательно, быстрое производство крайне важно. Ранее изготовление CAR T-клеток включало несколько этапов, некоторые из которых выполнялись вручную. Недавно была разработана автоматизированная система быстрого производства, которая занимает от 7 до 14 дней [55, 56].

Другим решением для сокращения времени ожидания производства является создание готового банка CAR T-клеток. Пациенты и врачи вынуждены ждать длительное время, так как CAR T-клетки изготавливаются на заказ для каждого пациента. Кроме того, существует риск сбоя производства, особенно у пациентов,

прошедших предварительное лечение, которые не имеют адекватных здоровых T-клеток. Недавно была разработана аллогенная автономная анти-CD19 CAR T-клетка под названием UCART19 [57]. С помощью методов генной инженерии создана конструкция, позволяющая избежать реакции «трансплантат против хозяина». В настоящее время продолжается I фаза исследования UCART19 у пациентов с ОЛЛ [58]. Последние достижения в технологии редактирования генов могут привести к созданию в будущем совершенных готовых аллогенных CAR T-клеток.

Выводы

Технология использования CAR T-клеток — это метод, показавший обнадеживающие результаты терапии B-клеточных НХЛ. Тем не менее, необходимо дальнейшее развитие метода для решения спорных вопросов и проблем. Ближайшие годы покажут, сможет ли эта технология заменить существующую терапию B-клеточных лимфом, удастся ли найти эффективные способы управления токсичностью, а также упростить и удешевить процедуру создания терапевтических клеток, благодаря разработке новых методик.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии в статье конфликта интересов.

Финансирование

Исследование не имело спонсорской поддержки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Makita S, Imaizumi K, Kurosawa S, Tobinai K. Chimeric antigen receptor T-cell therapy for B-cell non-Hodgkin lymphoma: opportunities and challenges // *Drugs in Context* 2019;8:212567. <https://doi.org/10.7573/dic.212567>
2. Brudno JN, Kochenderfer JN. Chimeric Antigen Receptor T-cell Therapies for Lymphoma // *Nat Rev Clin Oncol*. 2018 Jan;15(1):31–46. <https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2017.128>
3. Martelli M, Ferreri AJ, Agostinelli C et al. Diffuse large B-cell lymphoma // *Crit. Rev. Oncol. Hematol*. 2013;87:146–171. <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2012.12.009>
4. Feugier P, Van Hoof A, Sebban C et al. Long-term results of the R-CHOP study in the treatment of elderly patients with diffuse large B-cell lymphoma: a study by the Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adulte // *J. Clin. Oncol*. 2005;23:4117–4126. <https://doi.org/10.1200/JCO.2005.09.131>
5. Elstrom RL, Martin P, Ostrow K et al. Response to second-line therapy defines the potential for cure in patients with recurrent diffuse large B-cell lymphoma: implications for the development of novel

- therapeutic strategies // *Clin. Lymphoma Myeloma Leuk.* 2010;10:192–196. <https://doi.org/10.3816/CLML.2010.n.030>. PMID:20511164
6. Seshadri T, Stakiw J, Pintilie M et al. Utility of subsequent conventional dose chemotherapy in relapsed/refractory transplanteligible patients with diffuse large B-cell lymphoma failing platinum-based salvage chemotherapy // *Hematology* 2008;13:261–266. <https://doi.org/10.1179/102453308X343527>
 7. Van Den Neste E, Schmitz N, Mounier N et al. Outcomes of diffuse large B-cell lymphoma patients relapsing after autologous stem cell transplantation: an analysis of patients included in the CORAL study // *Bone Marrow Transplant.* 2017;52:216–221. <https://doi.org/10.1038/bmt.2016.213>
 8. Emtage PC, Lo AS, Gomes EM et al. Second-generation anti-carcinoembryonic antigen designer T cells resist activation-induced cell death, proliferate on tumor contact, secrete cytokines, and exhibit superior antitumor activity in vivo: a preclinical evaluation // *Clin Cancer Res.* 2008;14(24):8112–8122. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-07-4910>
 9. Штыров Е.М., Зотов Р.А., Лапштаева А.В. CAR T клеточная терапия как современный метод лечения онкологических заболеваний // *Бюллетень науки и практики.* 2019;5(5):121–127. https://doi.org/10.33619/2414_2948/42/16/ [Shtyro E., Zotov R., Lapshtaeva, A. (2019). CAR T cell Therapy as a Modern Method for the Treatment of Oncological Diseases // *Bulletin of Science and Practice*, 2019;5(5):121–127. https://doi.org/10.33619/2414_2948/42/16. (in Russian)].
 10. Klebanoff CA, Khong HT, Antony PA et al. Sinks, suppressors and antigen presenters: how lymphodepletion enhances T cell mediated tumor immunotherapy // *Trends Immunol.* 2005;26:111–117. <https://doi.org/10.1016/j.it.2004.12.003>
 11. Turtle CJ, Hanafi LA, Berger C et al. Immunotherapy of non-Hodgkin's lymphoma with a defined ratio of CD8+ and CD4+ CD19-specific chimeric antigen receptor-modified T cells // *Sci Transl Med.* 2016;8:355ra116. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aaf8621>
 12. Павлова А.А., Масчан М.А., Пономарев В.Б. Адоптивная иммунотерапия генетически модифицированными Т-лимфоцитами, экспрессирующими химерные антигенные рецепторы // *Онкогематология* 2017;12(1):17–32. <https://doi.org/10.17650/1818-8346-2017-12-1-17-32/> [Pavlova A.A., Maschan M.A., Ponomarev V.B. Adoptive immunotherapy with genetically engineered T lymphocytes modified to express chimeric antigen receptors // *Oncohematology* 2017;12(1):17–32. <https://doi.org/10.17650/1818-8346-2017-12-1-17-32> (in Russian)].
 13. Makita S, Yoshimura K, Tobinai K. Clinical development of anti-CD19 chimeric antigen receptor T-cell therapy for B-cell non-Hodgkin lymphoma // *Cancer Sci.* 2017;108:1109–1118. <https://doi.org/10.1111/cas.13239>
 14. Schuster SJ, Bishop MR, Tam CS et al. JULIET Investigators. Tisagenlecleucel in adult relapsed or refractory diffuse large B-cell lymphoma // *N Engl J Med.* 2019;380:45–56. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1804980>
 15. Schuster SJ, Bishop MR, Tam C et al. Global pivotal phase 2 trial of the CD19-targeted therapy CTL019 in adult patients with relapsed or refractory (R/R) diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) — An interim analysis // *Hematol. Oncol.* 2017;35:27. https://doi.org/10.1002/hon.2437_6
 16. Neelapu SS, Locke FL, Bartlett NL et al. Axicabtagene ciloleucel CAR T-cell therapy in refractory large B-cell lymphoma // *N Engl J Med.* 2017;377:2531–2544. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1707447>
 17. FDA approves axicabtagene ciloleucel for large B-cell lymphoma. Approved drugs. U.S. Food and Drug Administration. <https://www.fda.gov/drugs/informationon-drugs/approveddrugs/ucm581296.htm>. Accessed September 30, 2018.
 18. Schuster SJ, Svoboda J, Chong EA et al. Chimeric antigen receptor T cells in refractory B-cell lymphomas // *N Engl J Med.* 2017;377:2545–2554. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1708566>
 19. Borchmann P, Tam CS, Jäger U et al. An updated analysis of JULIET, a global pivotal phase 2 trial of tisagenlecleucel in adult patients with relapsed or refractory (R/R) diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL). Abstract S799. The 23rd Congress of European Hematology Association (EHA), Stockholm, Sweden. https://learningcenter.ehawe.org/eha/2018/stockholm/214521/peter_borchmann.an.updated.analysis.of.juliet.a.global.pivotal.phase.2.trial.html. Accessed September 30, 2018.
 20. Schuster SJ, Bishop MR, Tam C et al. Sustained disease control for adult patients with relapsed or refractory diffuse large B-cell lymphoma: an updated analysis of Juliet, a global pivotal phase 2 trial of tisagenlecleucel. ASH annual meeting; San Diego 2018; Dec 1–4 [abstract #1684]. <https://ash.confex.com/ash/2018/webprogram/Paper115252.html>. Accessed January 8, 2019.
 21. Locke FL, Neelapu SS, Bartlett NL et al. Phase 1 results of ZUMA-1: a multicenter study of KTE-C19 anti-CD19 CAR T cell therapy in refractory aggressive lymphoma // *Mol Ther.* 2017;25:285–295. <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2016.10.020>
 22. Locke FL, Ghobadi A, Jacobson CA et al. Long-term safety and activity of axicabtagene ciloleucel in refractory large B-cell lymphoma (ZUMA-1): a single-arm, multicentre, phase 1–2 trial // *Lancet Oncol.* 2019;20:31–42. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(18\)30864-7](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(18)30864-7)
 23. Nastoupil LJ, Jain MD, Spiegel JY et al. Axicabtagene ciloleucel (axi-cel) CD19 chimeric antigen receptor (CAR) T-cell therapy for relapsed/refractory large B-cell lymphoma: Real world experience // *Blood* 2018;132:91. <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2018-99-114152>
 24. Jacobson CA, Hunter B, Armand P et al. Axicabtagene ciloleucel in the real world: Outcomes and predictors of response, resistance and toxicity // *Blood* 2018;132:92. <https://doi.org/10.1182/blood-2018-99-117199>
 25. Abramson JS, Palomba ML, Gordon LI et al. Pivotal safety and efficacy results from Transcend NHL 001, a multicenter phase 1 study of lisocabtagene maraleucel (liso-cel) in relapsed/refractory (R/R) large B cell lymphomas // *Blood* 2019;134:241. <https://doi.org/10.1182/blood-2019-127508>
 26. Abramson JS, Palomba ML, Gordon LI et al. CR rates in relapsed/refractory (R/R) aggressive B-NHL treated with the CD19-directed CAR T-cell product JCAR017 (TRANSCEND NHL001) // *J. Clin. Oncol.* 2017;35:7513. https://doi.org/10.1200/JCO.2017.35.15_suppl.7513

27. Abramson J, Palomba ML, Gordon L et al. High CR rates in relapsed/refractory (R/R) aggressive B-NHL treated with the CD19-directed CAR T cell product JCAR017 (TRANSCEND NHL 001) // *Hematol. Oncol.* 2017;35:138. https://doi.org/10.1200/JCO.2017.35.15_suppl.7513
28. Roex G, Feys T, Beguin Y et al. Chimeric Antigen Receptor-T-Cell Therapy for B-Cell Hematological Malignancies: An Update of the Pivotal Clinical Trial Data. *Pharmaceutics.* 2020;12(2):194. Published 2020 Feb 24. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12020194>
29. Davila ML, Riviere I, Wang X et al. Efficacy and toxicity management of 19–28z CAR T cell therapy in B cell acute lymphoblastic leukemia // *Sci Transl Med* 2014;6(224):224ra25. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3008226>
30. Hay KA, Hanafi LA, Li D et al. Kinetics and biomarkers of severe cytokine release syndrome after CD19 chimeric antigen receptor-modified T-cell therapy // *Blood.* 2017;130:2295–2306. <https://doi.org/10.1182/blood-2017-06-793141>
31. Frey N. Cytokine release syndrome: who is at risk and how to treat // *Best Pract Res Clin Haematol.* 2017;30:336–340. <https://doi.org/10.1016/j.beha.2017.09.002>
32. Lee D, Santomaso B, Locke F, Ghobadi A, Turtle CJ, Brudno JN, Maus MV, Park JH, Mead E, Pavletic S et al. ASTCT consensus grading for cytokine release syndrome and neurologic toxicity associated with immune effector cells // *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2019;25:625–638. <https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2018.12.758>
33. Neelapu SS, Tummala S, Kebriaei P et al. Chimeric antigen receptor T-cell therapy — assessment and management of toxicities // *Nat. Rev. Clin. Oncol.* 2018, 15, 47–62. <https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2017.148>
34. Lee DW, Gardner R, Porter DL et al. Current concepts in the diagnosis and management of cytokine release syndrome // *Blood* 2014;124:188–195. <https://doi.org/10.1182/blood-2014-05-552729>
35. Kochenderfer JN, Somerville RPT, Lu T et al. Lymphoma remissions caused by anti-CD19 chimeric antigen receptor T cells are associated with high serum interleukin-15 levels // *J. Clin. Oncol.* 2017;35:1803–1813. <https://doi.org/10.1200/JCO.2016.71.3024>
36. Norelli M, Camisa B, Barbiera G et al. Monocyte-derived IL-1 and IL-6 are differentially required for cytokine-release syndrome and neurotoxicity due to CAR T cells // *Nat. Med.* 2018, 24:739–748. <https://doi.org/10.1038/s41591-018-0036-4>
37. Giavridis T, van der Stegen SJC, Eyquem J et al. CAR T cell-induced cytokine release syndrome is mediated by macrophages and abated by IL-1 blockade // *Nat Med.* 2018;24:731–738. <https://doi.org/10.1038/s41591-018-0041-7>
38. Jones BS, Lamb LS, Goldman F, Di Stasi A. Improving the safety of cell therapy products by suicide gene transfer // *Front Pharmacol* 2014;5:254. <https://doi.org/10.3389/fphar.2014.00254>
39. Wu CY, Roybal KT, Puchner EM, Onuffer J, Lim WA. Remote control of therapeutic T cells through a small molecule-gated chimeric receptor // *Science.* 2015;350:aab4077. <https://doi.org/10.1126/science.aab4077>
40. Кулемзин С.В., Кузнецова В.В, Мамонкин М и др. CAR T-клеточная терапия: баланс эффективности и безопасности // *Молекулярная биология.* 2017;51(2):274–287. <https://doi.org/10.7868/S0026898417020148> [Kulemzin S.V., Kuznetsova V.V., Mamonkin M. et al. CAR T-cell therapy: a balance of efficacy and safety // *Molecular biology.* 2017;51 (2):274–287. <https://doi.org/10.7868/S0026898417020148> (in Russian)].
41. Xu X, Sun Q, Liang X et al. Mechanisms of relapse after CD19 CAR T-cell therapy for acute lymphoblastic leukemia and its prevention and treatment strategies // *Front. Immunol.* 2019;10:2664. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02664>
42. Latchman Y, Wood C R, Chernova T. et al. PD–L2 is a second ligand for PD-1 and inhibits T cell activation // *Nat Immunol* 2001;2(3):261–8. <https://doi.org/10.1038/85330>
43. Chong EA, Melenhorst JJ, Lacey SF et al. PD-1 blockade modulates chimeric antigen receptor (CAR)-modified T cells: refueling the CAR // *Blood.* 2017;129:1039–1041. <https://doi.org/10.1182/blood-2016-09-738245>
44. Ardeshtna KM, Marzolini MAV, Norman J et al. Phase 1/2 study of AUTO3 the first bicistronic chimeric antigen receptor (CAR) targeting CD19 and CD22 followed by an anti-PD1 in patients with relapsed/refractory (r/r) diffuse large B cell lymphoma (DLBCL): Results of cohort 1 and 2 of the Alexander study // *Blood* 2019;134:246. <https://doi.org/10.1182/blood-2019-122724>
45. Hill BT, Roberts ZJ, Xue A et al. Rapid tumor regression from PD-1 inhibition after anti-CD19 chimeric antigen receptor T-cell therapy in refractory diffuse large B-cell lymphoma // *Bone Marrow Transplant.* 2019;55:1184–1187. <https://doi.org/10.1038/s41409-019-0657-3>
46. Cao Y, Lu W, Sun R et al. Anti-CD19 chimeric antigen receptor T cells in combination with nivolumab are safe and effective against relapsed/refractory B-cell non-hodgkin lymphoma // *Front. Oncol.* 2019;9:767. <https://doi.org/10.3389/fonc.2019.00767>
47. Fry TJ, Shah NN, Orentas RJ et al. CD22-targeted CAR T cells induce remission in B-ALL that is naive or resistant to CD19-targeted CAR immunotherapy // *Nat. Med.* 2018;24:20–28. <https://doi.org/10.1038/nm.4441>
48. Shah N, Maatman T, Hari P, Johnson B. Multi targeted CAR-T cell therapies for B-cell malignancies // *Front. Oncol.* 2019;9:146. <https://doi.org/10.3389/fonc.2019.00146>
49. Hill L, Lulla P, Heslop HE. CAR-T cell therapy for non-Hodgkin lymphomas: A new treatment paradigm // *Adv. Cell Gene Ther.* 2019, 2, e54
50. Jacoby E, Shahani SA, Shah NN. Updates on CAR T-cell therapy in B-cell malignancies // *Immunol. Rev.* 2019;290:39–59. <https://doi.org/10.1002/acg2.54>
51. Turtle CJ, Hanafi LA, Berger C et al. Immunotherapy of non-Hodgkin's lymphoma with a defined ratio of CD8+ and CD4+ CD19-specific chimeric antigen receptor-modified T cells. *Sci // Transl Med.* 2016;8:355ra116. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aaf8621>
52. Alabanza L, Pegues M, Geldres C et al. Function of novel anti-CD19 chimeric antigen receptors with human variable regions is affected by hinge and transmembrane domains // *Mol Ther.* 2017;25:2452–2465. <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2017.07.013>
53. Sommermeyer D, Hill T, Shamah SM et al. Fully human CD19-specific chimeric antigen receptors for T-cell

- therapy // *Leukemia*. 2017;31:2191–2199. <https://doi.org/10.1038/leu.2017.57>
54. Ruella M, Kenderian SS, Shestova O et al. The addition of the BTK inhibitor ibrutinib to anti-CD19 chimeric antigen receptor T Cells (CART19) improves responses against mantle cell lymphoma // *Clin. Cancer Res*. 2016;22:2684–2696. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-15-1527>
 55. Lu TL, Pugach O, Somerville R et al. A rapid cell expansion process for production of engineered autologous CAR-T cell therapies // *Hum Gene Ther Methods*. 2016;27:209–218. <https://doi.org/10.1089/hgtb.2016.120>
 56. Mock U, Nickolay L, Philip B et al. Automated manufacturing of chimeric antigen receptor T cells for adoptive immunotherapy using CliniMACS prodigy // *Cytotherapy*. 2016;18:1002–1011. <https://doi.org/10.1016/j.jcyt.2016.05.009>
 57. Qasim W, Zhan H, Samarasinghe S et al. Molecular remission of infant B-ALL after infusion of universal TALEN gene-edited CAR T cells // *Sci Transl Med*. 2017;9(374):pii:eaaj2013. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aaj2013>
 58. Eyquem J, Mansilla-Soto J, Giavridis T. et al. Targeting a CAR to the TRAC locus with CRISPR/Cas9 enhances tumour rejection // *Nature*. 2017;543:113–117. <https://doi.org/10.1038/nature21405>

Поступила в редакцию 17.11.2020 г.

I.V. Gribkova, A.A. Zavyalov

Chimeric antigen receptor T-cell therapy for B-cell non-Hodgkin lymphoma: opportunities and challenges

State Budgetary Institution «Research Institute for Healthcare Organization and Medical Management of Moscow Healthcare Department»

B-cell non-Hodgkin lymphoma (NHL) is the most common hematologic malignant neoplasm. Despite the improvement of immunochemotherapy, a significant number of patients have a refractory form of the disease. CAR T-cell therapy (therapy with T-lymphocytes with a chimeric antigen receptor (CAR)) is considered the most promising and effective therapy for overcoming chemorefractory B-cell NHL. Based on promising results from key studies, the US Food and Drug Administration (FDA) and the European Medicines Agency (EMA) have approved anti-CD19 CAR T-cell therapy for relapsing / refractory diffuse B-cell lymphoma. However, several controversial issues remain, including the optimal management of toxicity, overcoming relapses after CAR T-cell therapy, and improving the production platform of CAR T-cells. This review describes the results of recent clinical research and development, as well as the prospects for the development of CAR T-cell therapy for B-cell NHL.

Key words: B-cell non-Hodgkin lymphoma, CAR T-cell therapy, chimeric antigen receptor, tisagenlecleucel, axicabtagene ciloleucel, lisocabtagene maraleucel

*В.М. Мерабишвили¹, Ю.П. Юркова¹, А.М. Щербаков¹, Е.В. Левченко¹, А.А. Барчук¹,
Н.Ф. Кротов¹, Э.Н. Мерабишвили²*

Рак легкого (С33, 34). Заболеваемость, смертность, достоверность учета, локализационная и гистологическая структура (популяционное исследование)

¹ ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, Санкт-Петербург

² БГОУ ВПО «СЗГМУ им. И.И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург

Рак легкого (РЛ) является основной причиной заболеваемости и смертности населения России и многих экономически развитых стран мира. Вместе с тем, относясь к локализациям с высоким уровнем летальности, официальные данные о числе учтенных первичных случаев (формирующие уровень заболеваемости) существенно занижены, что подтверждает индекс достоверности учета, который на многих территориях выше критических значений. Целью нашего исследования является представить реальное состояние распространенности РЛ в России, опираясь на вновь созданную базу данных (БД) популяционного ракового регистра (ПРР) Северо-Западного федерального округа Российской Федерации (СЗФО РФ) — единственного в России. Нами проанализированы потери числа первичных больных, не вошедших в государственную отчетность, показана реальная величина достигнутого уровня гибели больных на первом году диспансерного наблюдения, исчислены закономерности погодичной летальности больных, медианы выживаемости и 1 и 5-летняя выживаемость больных раком легких на основе БД популяционного ракового регистра СЗФО РФ, на материалах которого впервые в России прослежена динамика изменения детальной локализационной и гистологической структуры рака легкого.

Ключевые слова: рак легкого, заболеваемость, смертность, достоверность учета, локализационная и гистологическая структура

В первой части исследования основное внимание нами уделено распространенности РЛ в мире, динамическим процессам заболеваемости и смертности населения России и СЗФО РФ, достоверности учета и особенностям изменения детальной локализационной и гистологической структуры РЛ.

Для оценки динамики заболеваемости населения РЛ можно воспользоваться справочника-

ми МНИОИ им П.А. Герцена и монографиями Международного Агентства по исследованию рака (МАИР) — «Рак на пяти континентах» [2, 8].

Заболеваемость

Ежегодно в мире, по экспертной оценке МАИР, возникает более 15 млн. первичных случаев РЛ, а количество смертей превышает 10 млн. Сохраняется высокий уровень летальности. Вместе с тем, отмечено снижение заболеваемости РЛ среди мужского населения и увеличение среди женского.

Злокачественные новообразования в некоторых странах мира. Трахея, бронхи, легкое (С33, 34). Мужчины. 2008 - 2012. МАИР "Рак на 5 континентах" XI том. Cancer incidence in Five Continents. Trachea, bronchi, lungs. Males. V. XI IARC. 2008 - 2012.

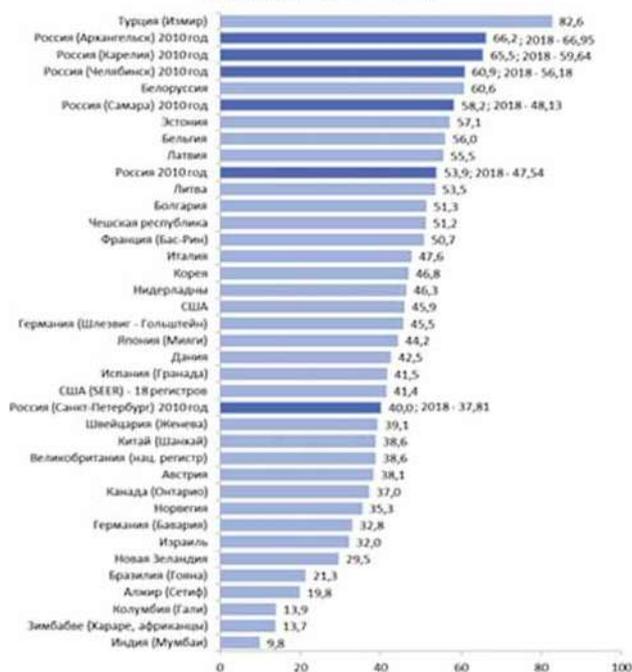


Рис. 1. Злокачественные новообразования в некоторых странах мира. Трахея, бронхи, легкое. Мужчины. 2008–2012 гг.

Злокачественные новообразования в некоторых странах мира. Трахея, бронхи, легкое. Женщины. 2008 - 2012. МАИР "Рак на 5 континентах" XI том. Cancer incidence in Five Continents. Trachea, bronchus, lungs. C33, 34. Females. V. XI IARC. 2008 - 2012.

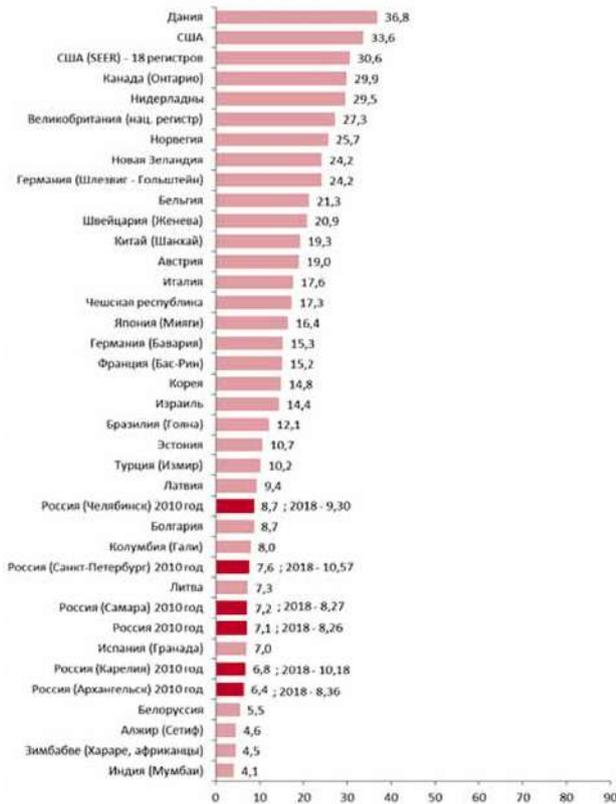


Рис. 2. Злокачественные новообразования в некоторых странах мира. Трахея, бронхи, легкое. Женщины. 2008–2012 гг.

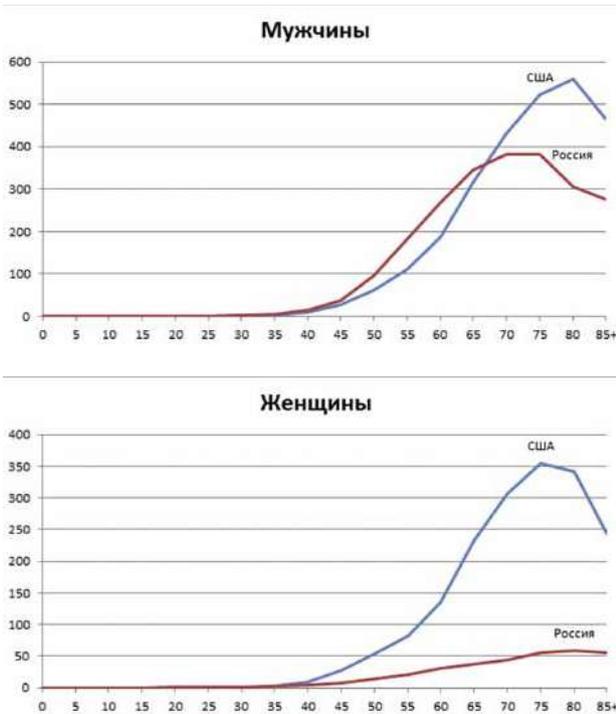


Рис. 3. Повозрастные показатели заболеваемости РЛ среди населения России и США [1, 8]

На рис. 1 и 2 представлены последние опубликованные данные рангового распределения стандартизованных показателей заболеваемости мужского и женского населения по избранным странам мира, исчисленные на основе БД раковых регистров [8].

Среди мужского населения заболеваемость РЛ наивысшая в Турции (Измир) 82,6 ‰. Высокий уровень заболеваемости РЛ регистрируется и среди вновь вошедших в издание МАИР двух северо-западных территорий России (Архангельская область и Карелия), а также Самарская и Челябинская области. Ближе к средним значениям уровень заболеваемости РЛ в России.

Среди женского населения, вновь включенные в XI том монографии МАИР территории России, занимают скромное место в нижней трети всех административных территорий мирового сообщества с уровнем заболеваемости в пределах 6–9 ‰ при максимальных уровнях в Дании — 36,8 ‰, США — 33,6 ‰, Канаде — 29,9 ‰.

На рис. 3 представлены повозрастные показатели заболеваемости РЛ в России и США, что касается мужского населения в работоспособных возрастах (25–60 лет) в России несколько выше уровень заболеваемости, а с 70-летнего возраста в США мужчины заболевают значительно чаще. Среди женского населения, только до 24 лет уровни заболеваемости в России и США одинаковы. В последующих возрастных группах в США заболеваемость женщин РЛ многократно выше, что вероятно связано с привычкой к курению табачных изделий.

Учитывая, что в мире многие раковые регистры обслуживают скромные объемы численности населения, приходится обобщать наблюдения в базах данных по пятилетним периодам. Так, для примера, в восьми популяционных раковых регистрах (ПРР) за 5 лет было накоплено менее 1 тысячи наблюдений, а на семи территориях менее 500 случаев. В XI томе МАИР обобщены первичные случаи заболеваний злокачественными новообразованиями (ЗНО), учтенные за период 2008–2012 гг. Сравнительные данные по России к данному пятилетнему промежутку времени взяты нами за 2010 г. (середина интервала) из справочника МНИОИ им. П.А. Герцена, где за 1 год регистрируется более 600 тыс. первичных случаев ЗНО [1].

В табл. 1 представлена динамика заболеваемости населения России и СЗФО РФ и Санкт-Петербурга раком легких.

В целом по России, в СЗФО РФ и в Санкт-Петербурге наблюдается стойкое снижение уровней стандартизованных показателей заболеваемости мужского населения РЛ и существенный рост показателей среди женского населения.

Таблица 1. Динамика заболеваемости населения раком легкого (С33, 34) в России, СЗФО РФ и Санкт-Петербурге (стандартизованные показатели)

Оба пола							
	2000	2005	2010	2015	2016	2017	2018
Россия	29,30	26,22	25,18	24,15	23,77	24,11	23,64
СЗФО	–	–	24,05	24,13	23,55	24,07	22,94
Санкт-Петербург	25,72	22,82	19,73	22,60	21,93	22,41	20,58
Мужчины							
	2000	2005	2010	2015	2016	2017	2018
Россия	64,17	57,62	53,97	49,88	48,88	49,02	47,54
СЗФО	–	–	52,03	49,66	47,86	49,15	45,51
Санкт-Петербург	58,02	48,72	40,04	42,85	41,59	42,63	37,81
Женщины							
	2000	2005	2010	2015	2016	2017	2018
Россия	7,07	6,68	7,13	7,72	7,72	8,09	8,26
СЗФО	–	–	7,23	8,70	9,00	8,79	9,38
Санкт-Петербург	6,84	7,53	7,58	10,66	10,54	10,52	10,57

Таблица 2. Динамика смертности населения от рака легкого (С33, 34) в России, СЗФО РФ и Санкт-Петербурге (стандартизованные показатели)

Оба пола							
	2000	2005	2010	2015	2016	2017	2018
Россия	27,28	23,91	22,43	20,23	19,94	19,13	19,08
СЗФО	–	–	22,40	20,53	19,81	19,62	19,24
Санкт-Петербург	25,61	21,90	20,17	18,19	17,93	17,56	16,50
Мужчины							
	2000	2005	2010	2015	2016	2017	2018
Россия	60,80	53,5	49,49	43,35	42,74	40,43	40,07
СЗФО	–	–	49,73	44,09	42,32	41,42	40,25
Санкт-Петербург	57,53	47,85	41,73	36,08	36,11	35,03	31,56
Женщины							
	2000	2005	2010	2015	2016	2017	2018
Россия	5,92	5,57	5,68	5,61	5,49	5,58	5,68
СЗФО	–	–	6,25	6,52	6,58	6,60	6,61
Санкт-Петербург	7,03	7,04	7,38	7,63	7,51	7,24	7,67

Таблица 3. Динамика локализационной структуры рака легкого в Санкт-Петербурге (оба пола). БД ПРР СЗФО РФ

Нозология Абс. число	2000-2004		2005-2009		2010-2014		2015-2018		
	%	Абс. число	%	Абс. число	%	Абс. число	%		
С33*, 34*	8613		7894		7349		7510		
С33	31	0,4	33	0,4	23	0,3	25	0,3	
С34	8582	99,6	7861	99,6	7326	99,7	7485	99,7	
	.0	506	5,9	602	7,6	431	5,9	538	7,2
	.1	3455	40,0	3193	40,5	2917	39,7	2727	36,3
	.2	375	4,4	325	4,1	312	4,2	290	3,9
	.3	1739	20,2	1564	19,8	1506	20,5	1492	19,9
	.8	6	0,1			5	0,1	48	0,6
	.9	2501	29,0	2177	27,6	2155	29,3	2390	31,8

Примечание. * С33 — злокачественное новообразование трахеи; * С34 — злокачественное новообразование бронхов и легкого; С34.0 — главных бронхов; С34.1 — верхней доли, бронхов или легкого; С34.2 — средней доли, бронхов или легкого; С34.3 — нижней доли, бронхов или легкого; С34.8 — поражение бронхов или легкого, выходящее за пределы одной и более вышеуказанных локализаций

Из *табл. 2* можно сделать заключение, что уровень смертности населения от РЛ существенно снизился в России и СЗФО РФ, в том числе и Санкт-Петербурге. Среди женского населения смертность от РЛ возросла, но значительно меньшими темпами, чем заболеваемость.

Динамика локализационной структуры РЛ

БД ПРР СЗФО РФ позволяет изучить закономерности изменения детальной локализационной структуры РЛ.

В БД ПРР СЗФО РФ с 2000 по 2019 г. по Санкт-Петербургу накоплено более 30000 наблюдений (31366). За 4 периода наблюдений абсолютное число учтенных больных снизилось с 8613 до 7510 или на 12,8%. На долю ЗНО трахеи (С33) приходилось от 0,4% до 0,3% от всей группы ЗНО легких (С33,34), чья доля является основной (99,6 и 99,7%).

Детальная локализационная структура С34 (*табл. 3*) в основном сохраняет свой порядок, до 40% всей патологии РЛ приходится на ЗНО верхней доли бронхов или легкого (С34.1), около 20% приходится на ЗНО нижней доли бронхов или легких (С34.3). На главные бронхи (С34.0) приходится 6–7%, на средние доли бронхов и легких приходится около 4%. Велика доля больных неуточненной локализации бронхов или легких (С34.9), причем её удельный вес возрос за четыре периода наблюдения с 29,0 до 31,8%.

Динамика гистологической структуры РЛ

Данные гистологической структуры РЛ анализировались ранее Мерабишвили В.М. и со-

авт. по Санкт-Петербургу с 2002 по 2008 гг., где первое место — занимал плоскоклеточный рак, БДУ (8070/3) — 44,1% [7]. Из 31 366 больных РЛ, включенных в БД ПРР СЗФО РФ по Санкт-Петербургу с гистологически подтвержденным диагнозом учтено 19 486 больных или 62,1%. Овсяноклеточный рак — М — 8042/3 регистрировался в основном в первый период наблюдения (*табл. 4*). Многие гистотипы сохранили по всем периодам наблюдения свои удельные места. Многократно снизился удельный вес рубрики М — 8000/3 — новообразование злокачественное с 8,4 до 0,3, что свидетельствует о повышении уровня гистологических заключений.

Достоверность учета

Качество учета больных ЗНО может быть оценено простым расчетом: необходимо число умерших больных разделить на число первично учтенных на той же территории и за тот же временной период, т.е. рассчитать индекс достоверности учета (ИДУ), чья величина не должна превышать 1,0 или число умерших не должно превышать число заболевших. Это особенно важно при расчете заболеваемости для локализаций с высоким уровнем летальности, где величина ИДУ нередко равна 2 и даже 4. Методология расчета величины ИДУ нами изложена в серии публикаций и касается не только локализаций с высоким уровнем летальности, но и средним и низким [3–6] РЛ, относясь к локализациям ЗНО с высоким уровнем летальности, должен иметь величину ИДУ не более 0,7. На *рис. 4* представлена динамика величины ИДУ для РЛ в целом по России и СЗФО РФ (оба пола).

Таблица 4. Динамика гистологической структуры рака легкого в Санкт-Петербурге (оба пола). БД ПРР СЗФО РФ

Гистология*	2000–2004		2005–2009		2010–2014		2015–2018	
	Абс. число	Структ %						
8000/3	723	8,4	82	1,0	23	0,3	25	0,3
8010/3	35	0,4	42	0,5	52	0,7	251	3,3
8042/3	30	0,3	5	0,1	2	0,0	0	0,0
8070/3	1935	22,5	1982	25,1	1874	25,5	2061	27,4
8140/3	744	8,6	826	10,5	1204	16,4	1528	20,3
8041/3	652	7,6	736	9,3	689	9,4	613	8,2
8072/3	433	5,0	356	4,5	245	3,3	49	0,7
8071/3	133	1,5	137	1,7	81	1,1	91	1,2
8020/3	134	1,6	105	1,3	75	1,0	67	0,9
8250/3	67	0,8	109	1,4	88	1,2	26	0,3
8012/3	46	0,5	40	0,5	46	0,6	41	0,5
8560/3	23	0,3	33	0,4	24	0,3	13	0,2
Всего больных	8613		7894		7349		7510	

Примечание. М-8000/3 — новообразование злокачественное; М8010/3 — рак БДУ; М8042/3 — овсяноклеточный рак; М8070/3 — плоскоклеточный рак БДУ; М8140/3 — аденокарцинома БДУ; М8041/3 — мелкоклеточный рак, БДУ; М8072/3 — плоскоклеточный рак крупноклеточный неороговевающий; М8071/3 — плоскоклеточный рак ороговевающий БДУ; М8020/3 — недифференцированный рак БДУ; М8250/3 — бронхиоло-альвеолярная аденокарцинома; М8012/3 — крупноклеточный рак БДУ; М8560/3 — железисто-плоскоклеточный рак



Рис. 4. Динамика величины ИДУ по России и СЗФО РФ

Среди мужского населения, территории, где величина ИДУ для РЛ меньше этой величины, составляют мизерную долю (табл. 5). Это Новгородская, Воронежская, Нижегородская, Тамбовская и Тюменская области, а также Республика Мордовия и Ингушетия. Величина ИДУ для РЛ среди мужского населения России — 0,85, что свидетельствует о существенном недоучете больных этой группы, не говоря о том, что 10 территорий имеет величину этого индекса более 1, т. е. число умерших больше числа заболевших.

Среди женского населения, величина ИДУ 0,7 и более отмечена на меньшем числе территорий (табл. 6). На шести территориях смертность выше заболеваемости. Удовлетворительный уровень величины ИДУ отмечен для административных территорий СЗФО РФ (Псковской, Мурманской, Калининградской, Архангельской, Новгородской областей и Республики Карелия).

Таким образом, на основании проведенного исследования можно отметить, что стандартизованный показатель заболеваемости РЛ у мужчин в России больше, чем во многих европейских странах. Относительно женского населения России данный показатель один из наименьших при сравнении со странами, представленными в монографии МАИР «Рак на пяти континентах т.ХI». Относительно половозрастных особенностей, заболеваемость РЛ в России среди мужчин до 70 лет выше, чем в США. Среди женского населения различия в заболеваемости отмечены после 24-летнего возраста с существенным увеличением в США. В целом по России у мужчин

Таблица 5. Ранговое распределение индекса достоверности учета для РЛ (СЗ3, 34) среди мужского населения 2018 г.

Ленинградская область	1,31
Ленинградская область	1,31
Ненецкий а.о.	1,14
Москва	1,11
Кемеровская область	1,05
Республика Алтай	1,02
Тульская область	1,01
Забайкальский край	1,01
Республика Чечня	1,00
Чукотский авт.округ	1,00
...	
Калининградская область	0,98
...	
Вологодская область	0,95
Республика Башкортостан	0,95
Республика Карелия	0,95
Севастополь	0,95
Московская область	0,94
Пермский край	0,94
Республика Крым	0,93
Смоленская область	0,92
...	
Северо-Западный ФО	0,89
...	
Республика Коми	0,87
...	
Санкт-Петербург	0,85
Россия	0,85
Кировская область	0,85
...	
Сахалинская область	0,84
Псковская область	0,83
...	
Алтайский край	0,78
Архангельская обл.(б/а.о)	0,78
Мурманская область	0,78
...	
Новгородская область	0,69
Воронежская область	0,69
Нижегородская область	0,66
Республика Мордовия	0,64
Тамбовская область	0,59
Тюменская обл.(б/а.о)	0,58
Республика Ингушетия	0,50

Таблица 6. Ранговое распределение индекса достоверности учета для РЛ (СЗЗ,34) среди женского населения 2018 г.

Костромская область	1,70
Ненецкий а.о.	1,50
Республика Адыгея	1,39
Республика Чечня	1,28
Республика Хакасия	1,13
Ленинградская область	1,11
Кемеровская область	0,97
Сахалинская область	0,94
Москва	0,90
...	
Республика Крым	0,86
...	
Республика Алтай	0,86
...	
Санкт-Петербург	0,79
...	
Челябинская область	0,77
...	
Вологодская область	0,76
...	
Ростовская область	0,76
Северо-Западный ФО	0,76
...	
Россия	0,74
...	
Республика Коми	0,72
...	
Псковская область	0,69
Иркутская область	0,67
...	
Республика Карелия	0,67
Калининградская область	0,64
...	
Архангельская обл. (б/а.о)	0,63
...	
Мурманская область	0,61
...	
Новгородская область	0,47
Тюменская обл.(б/а.о)	0,42
Тамбовская область	0,41
Республика Чувашия	0,37
Чукотский авт.округ	0,33

отмечено снижение заболеваемости и смертности от РЛ, среди женского населения отмечена обратная тенденция, хотя стоит отметить, что смертность увеличилась значительно меньше, чем заболеваемость.

С 2000 к 2018 г. в СЗФО РФ увеличилось число пациентов с неуточненной локализацией РЛ более чем на 2%. Гистологическая верификация РЛ в СЗФО составляет 62%, что может быть связано с поздним диагностированием заболевания. Наблюдается положительная динамика снижения частоты использования обобщающего гистологического кода ЗНО (М-8000/3) «новообразование злокачественное», т.е. возрастает удельный вес более детальной гистологической характеристики опухоли. В РФ, как и в мире, по-прежнему отмечается существенный недоучет пациентов с РЛ, что связано с поздней выявляемостью заболевания.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии в статье конфликта интересов.

Финансирование

Исследование не имело спонсорской поддержки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Злокачественные новообразования в России в 2010 году (заболеваемость и смертность) / Под ред. В.И. Чиссова, В.В. Старинского, Г.В. Петровой. М.: ФГБУ «МНИОИ им. П.А. Герцена» Минздравсоцразвития России. 2012 [Malignant neoplasms in Russia in 2010 (morbidity and mortality) / Ed. V.I. Chissov, V.V. Starinsky, G.V. Petrova. M.: FGBU «MNIIOI im. P.A. Herzen» of the Ministry of Health and Social Development of Russia. 2012 (In Russ.)].
2. Злокачественные новообразования в России в 2018 году (заболеваемость и смертность) / Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, Г.В. Петровой. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена — филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России. 2019 [Malignant neoplasms in Russia in 2018 (morbidity and mortality) / Ed. A.D. Kaprin, V.V. Starinsky, G.V. Petrova. M.: MNIIOI them. P.A. Herzen is a branch of the Federal State Budgetary Institution «National Medical Research Center of Radiology» of the Ministry of Health of Russia. 2019 (In Russ.)].
3. Мерабишвили В.М. Аналитические показатели. индекс достоверности учета // Вопросы онкологии. 2018;64(3):445-452 [Merabishvili V.M. Analytical indicators. accounting reliability index // Problems of Oncology. 2018;64(3):445-452. (In Russ.)].
4. Мерабишвили В.М. Злокачественный новообразования в Северо-Западном федеральном округе России (заболеваемость, смертность, достоверность учета, выживаемость больных). Экспресс-информация. Выпуск V. под ред. проф. А.М. Беляева, проф. А.М. Щербакова. СПб., 2020 [Merabishvili V.M. Malignant neoplasms in the Northwestern Federal District of Russia (morbidity, mortality, reliability of registration,

- patient survival). Express information. Issue V. ed. prof. A.M. Belyaev, prof. A.M. Shcherbakov. SPb., 2020. (In Russ.).]
5. Мерабишвили В.М. Индекс достоверности учета-важнейший критерий объективной оценки деятельности онкологической службы для всех локализаций злокачественных новообразований, независимо от уровня летальности больных // Вопросы онкологии. 2019;65(4):510-515 [Merabishvili V.M. The accounting reliability index is the most important criterion for an objective assessment of the activity of the oncological service for all localizations of malignant neoplasms, regardless of the mortality rate of patients // Oncology Issues. 2019;65(4):510-515 (In Russ.)].
 6. Мерабишвили В.М., Арсеньев А.И., Тарков С.А. и др. Заболеваемость и смертность населения от рака легкого, достоверность учета // Сибирский онкологический журнал. 2018;17(6):15-26. [https:// doi: 10.21294/1814-4861-2018-17-615-26](https://doi.org/10.21294/1814-4861-2018-17-615-26) [Merabishvili V.M., Arseniev A.I., Tarkov S.A. and others. Morbidity and mortality of the population from lung cancer, the accuracy of accounting // Siberian Journal of Oncology. 2018;17(6):15-26. [https:// doi: 10.21294 / 1814-4861-2018-17-615-26](https://doi.org/10.21294/1814-4861-2018-17-615-26) (In Russ.)].
 7. Мерабишвили В.М., Барчук А.С., Барчук А.А. и др. Заболеваемость, диагностика, динамика гистологической структуры, эффективность лечения больных раком легкого различных возрастно-половых групп на современном этапе // Профилактическая и клиническая медицина. 2015;56(3):88-97 [Merabishvili V.M., Barchuk A.S., Barchuk A.A. and others. Morbidity, diagnosis, dynamics of histological structure, the effectiveness of treatment of patients with lung cancer of various age and sex groups at the present stage // Preventive and clinical medicine. 2015;56(3):88-97 (In Russ.)].
 8. Cancer Incidence in Five Continents, Vol. XI (electronic version) IARC Scientific Publication №166/Ed. by Bray F, Colombet M, Mery L, Piñeros M, Znaor A, Zanetti R, Ferlay J. Lyon, 2017. [https:// doi: // ci5.iarc.fr](https://doi.org/10.1002/i5cfr) (дата обращения 20.11.2020)

*V.M. Merabishvili¹, Yu.P. Yurkova¹, A.M. Shcherbakov¹,
E.V. Levchenko¹, A.A. Barchuk¹, N.F. Krotov¹,
E.N. Merabishvili²*

Lung cancer (C33, 34). Morbidity, mortality, accuracy of registration, localization and histological structure (population study)

¹ N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology, St. Petersburg

² State Education Establishment of Higher Professional «Northwestern State Medical University named after I.I. Mechnikov» of the Health Ministry of the Russian Federation

Lung cancer (LC) is the main cause of morbidity and mortality in the population of Russia and many economically developed countries of the world. At the same time, referring to localizations with a high mortality rate, the official data on the number of recorded primary cases (which form the incidence rate) are significantly underestimated, which is confirmed by the registration reliability index, which in many territories is higher than critical values. The aim of our study is to present the real state of the prevalence of PC in Russia, based on the newly created database (DB) of the population cancer register (PRR) of the Northwestern Federal District of the Russian Federation (NWFD RF) — the only one in Russia. We analyzed the loss of the number of primary patients who were not included in the state reporting, showed the real value of the achieved death rate of patients in the first year of dispensary observation, calculated the patterns of annual mortality of patients, the median of survival and 1 and 5-year survival of patients with lung cancer based on the database of the population cancer registry. Northwestern Federal District of the Russian Federation, on the materials of which for the first time in Russia the dynamics of changes in the detailed localization and histological structure of lung cancer was traced.

Key words: lung cancer, morbidity, mortality, accuracy of registration, localization and histological structure

Поступила в редакцию 25.01.2021

А. Клинические исследования

© Коллектив авторов, 2021

УДК 618.19

DOI 10.37469/0507-3758-2021-67-3-368-373

Вопросы онкологии, 2021. Том 67, №3

*О.Д. Брагина^{1, 2}, В.И. Чернов^{1, 2}, Л.А. Таширева¹, Р.В. Зельчан^{1, 2}, А.А. Медведева¹,
Н.М. Лукина¹, В.Е. Гольдберг¹, В.М. Толмачев^{2, 3}*

Определение наиболее информативных прогностических параметров для оценки статуса рецептора эпидермального фактора роста Her2/neu в основном опухолевом узле у больных раком молочной железы при использовании таргетного радионуклидного препарата «^{99m}Tc-ADAPT6»

¹ ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук»

² ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский политехнический университет»

³ Уппсальский университет, Швеция

Целью исследования явилось выявление наиболее информативных прогностических параметров, позволяющих оценить статус рецептора эпидермального фактора роста Her2/neu в первичном опухолевом узле у больных раком молочной железы, при использовании препарата «^{99m}Tc-ADAPT6».

Материал и методы. В исследование были включены 15 больных раком молочной железы (T₁₋₄N₀₋₂M₀) до начала системного лечения: у 8 пациентов была выявлена гиперэкспрессия Her2/neu в первичной опухоли молочной железы, у 7 экспрессия маркера диагностирована не была. Во всех случаях проводилось морфологическое и иммуногистохимическое исследование основного опухолевого узла. Всем больным было выполнено радионуклидное исследование с применением препарата «^{99m}Tc-ADAPT6» в дозировке основного вещества 500 мкг.

Результаты. У больных с Her2-позитивными опухолями молочной железы отмечалось достоверно более высокое накопление препарата в первичной опухоли ($p < 0,05$, Mann-Whitney U test), а также высокие показатели опухоль/фон, опухоль/широчайшая мышца спина и опухоль/печень по сравнению с больными, имеющими отрицательный статус маркера ($p < 0,05$, Mann-Whitney U test). На основании проведенного анализа с применением метода логистической регрессии была разработана математическая модель для прогнозирования статуса Her2/neu в первичной опухоли у больных раком молочной железы (специфичность и чувствительность 100%; $p = 0,0002$).

Заключение. Результаты проведенного объема исследований препарата «^{99m}Tc-ADAPT6» позволяют рассматривать его в качестве до-

полнительного перспективного агента для определения статуса Her2/neu у больных раком молочной железы.

Ключевые слова: рак молочной железы, радионуклидная диагностика, альтернативные каркасные белки, ADAPT6, Her2/neu

Введение

В настоящее время для радионуклидной тераностики [1, 2] злокачественных образований в качестве нацеливающего модуля активно применяется новый класс таргетных молекул — «альтернативные каркасные белки» или «скаффолды» [3–5]. Данные молекулярные конструкции имеют высокую аффинность к «таргетному» антигену, стабильность, низкую иммуногенность и характеризуются быстрым удалением несвязавшихся частиц из организма больного [6, 7], что необходимо для получения качественного изображения опухолевых очагов и сокращения времени между введением препарата и началом исследования [8, 9].

К одним из представителей альтернативных каркасных белков относятся молекулы ADAPT6, являющиеся альбумин-связывающими доменами стрептококкового протеина G с небольшими размерами (46–59 аминокислотных остатков, молекулярная масса 5–7 кДа) и нацеленные на рецептор эпидермального фактора роста Her2/neu [10, 11].

Оценка статуса Her2/neu у онкологических больных (прежде всего пациентов с раком молочной железы) определяет прогноз заболевания, а также назначение таргетной терапии, улучшающей показатели выживаемости у больных с гиперэкспрессией данного маркера [12, 13]. К сожалению, используемые на данный момент иммуногистохимическое исследование и

флуорисцентная гибридизация *in situ* (FISH анализ) не позволяют оценить распространенность опухолевого процесса *in vivo*, что особенно актуально в аспекте существующей гетерогенности экспрессии Her2/neu в ткани первичного опухолевого узла и метастатических очагов (регионарных лимфатических узлов, отделенных органов и тканей), что по данным литературы встречается в 6–48% случаев [14].

Проведенная ранее на базе отделения радионуклидной диагностики НИИ онкологии Томского НИМЦ совместно с научно-исследовательским центром «Онкотерапевтика» Томского Политехнического Университета I фаза клинических исследований препарата «^{99m}Tc-ADAPT6» у больных раком молочной железы продемонстрировала хорошую переносимость соединения, а также высокое соотношение между накоплением меченного протеина в опухолях с гиперэкспрессией Her2/neu и опухолями, имеющими отрицательные значения данного маркера. Кроме того, в ходе выполненного анализа были определены оптимальная дозировка используемого протеина (500 мкг основного вещества) и временная точка для проведения исследования — 2 часа после инъекции препарата ($p < 0,05$, Mann-Whitney U test) [15, 16].

Целью настоящей работы явилось выявление наиболее информативных прогностических параметров, позволяющих оценить статус рецептора эпидермального фактора роста Her2/neu в первичном опухолевом узле у больных раком молочной железы при использовании препарата «^{99m}Tc-ADAPT6».

Материал и методы

Клиническое исследование было зарегистрировано (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT03991260) и одобрено биоэтическим комитетом НИИ Онкологии Томского НИМЦ. В него были включены 15 больных раком молочной железы (T₁₋₄N₀₋₂M₀), которым до начала системного лечения было выполнено радионуклидное исследование с применением препарата «^{99m}Tc-ADAPT6» в дозировке основного вещества 500 мкг. Восемь пациентов имели положительный статус Her2neu, семь — отрицательный. Всеми пациентами было подписано добровольное информированное согласие с информацией о разглашении полученных сведений (п.3, статья 13 Федерального закона Российской Федерации №323-ФЗ от 21 ноября 2011 г.).

Морфологические методы исследования. Во всех случаях выполнялось морфологическое и иммуногистохимическое исследования биопсийного материала первичной опухоли по стандартным методикам в условиях лаборатории общей и молекулярной патологии НИИ Онкологии Томского НИМЦ. Диагноз РМЖ устанавливался согласно «Гистологической классификации опухолей молочной железы» (ВОЗ, 2019). Иммуногистохимическое исследование биопсийного материала проводилось с использованием антител фирмы Dako к онкопротеину c-erbB-2 (рабочее разведение 1:500, кроличьи). При оценке результатов негативными считались случаи с от-

сутствием окрашивания или со слабым, прерывистым мембранным окрашиванием (категории 0 и 1+), положительными — случаи с сильным окрашиванием всей цитоплазматической мембраны более 10% опухолевых клеток (категории 3+). При наличии от слабого до умеренного окрашивания всей цитоплазматической мембраны более 10 % опухолевых клеток (категории 2+) всем пациентам выполнялся FISH-анализ [17, 18].

FISH-анализ выполнялся с использованием ДНК-зонда ERBB2(17q12)/SE17 (Kreatech, США), оценка результата реакции проводилась с помощью люминесцентного микроскопа Axiostar PLUS, Carl Zeiss (Германия). Положительными считались результаты теста при соотношении среднего количества копий гена *ERBB2* и среднего числа центромер хромосомы 17 в клетке более 2,2.

Радионуклидные методы исследования. Препарат готовился непосредственно перед введением в асептических условиях в отделении радионуклидной диагностики НИИ Онкологии Томского НИМЦ по трикарбонильной методике с использованием набора «CRS Isolink» (Center for Radiopharmaceutical Science, Paul Scherrer Institute, Villigen, Швейцария) [19]. Для этого в набор «CRS Isolink» добавляли 500 мкл (2 ГБк) элюата ^{99m}TcO₄⁻ и инкубировали в течение 30 мин при температуре 100 °C. После чего 400 мкл трикарбонильного технеция помещали к 500 мкг ADAPT6 и инкубировали при температуре 50 °C в течение 60 мин. Очистка полученного соединения от белковых примесей и несвязавшихся с технецием молекул ADAPT6 проводилась с использованием очистительных колонок NAP-5 (GE Healthcare, Швеция). Очищенный препарат разбавлялся в 10 мл стерильного 0,9% раствора NaCl, забирался через стерилизующий фильтр и после измерения активности медленно вводился пациенту внутривенно.

Проводилась оценка результатов однофотонной эмиссионной компьютерной томографии (ОФЭКТ) органов грудной клетки, выполненной в положении «лежа на спине» через 2 ч после введения меченного протеина. Запись выполнялась в 32 проекциях (каждая проекция по 30 сек) на матрице 64×64 пикселя без аппаратного увеличения. Полученные данные подвергались постпроцессинговой обработке с использованием специализированного пакета программ E.Soft фирмы Siemens (Германия) с оценкой характера накопления радиофармпрепарата в исследуемой области (симметричность, интенсивность, однородность накопления, наличие и численность очаговых включений индикатора в исследуемом органе). Помимо этого, рассчитывались количественные показатели опухоль/фон, опухоль/широкая мышца спины (опухоль/ШМС) и опухоль/печень (О/П). Оценка показателей производилась путем обведения «зоны интереса» (region of interest — ROI) опухоли на аксиальных срезах с наилучшей визуализацией последней ($v=3,53 \text{ см}^3$); симметричных «зон интереса» контрлатеральной молочной железы (фон), проекции широкой мышцы спины и печени.

Статистическая обработка результатов проводилась с использованием пакета программ STATISTICA 10.0 for Windows и Prism 9 (GraphPad, США). Проверку нормальности распределения показателей осуществляли с помощью критерия Шапиро-Вилка. Учитывая ненормальное распределение изучаемых количественных признаков, оценку достоверности различий медиан для сравнения независимых выборок использовали непараметрический критерий Манна-Уитни. Результаты отражали в виде медианы (Me), первого (Q1) и третьего (Q3) квартилей. Прогностическая значимость изучаемых параметров оценивалась с помощью ROC-анализа. Метод логистической регрессии был использован для оценки риска. Обсуждались результаты с достоверностью различий при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Данные по накоплению препарата «^{99m}Tc-ADAPT6» в первичных опухолях, симметричных участках противоположной молочной железы, ШМС и печени у больных раком молочной железы с положительной и отрицательной экспрессией Her2/neu представлены в табл. 1. При сравнительном анализе данных было выявлено, что у больных с Her2-положительными опухолями

молочной железы отмечалось достоверно более высокое накопление препарата в первичной опухоли ($p < 0,05$, Mann-Whitney U test) (рис. 1).

При оценке показателей опухоль/фон, опухоль/ШМС и опухоль/печень во всех случаях соотношение накопления препарата было достоверно выше у больных в подгруппе с Her2-положительным раком молочной железы ($p < 0,005$, Mann-Whitney U test). Полученные данные представлены в табл. 2 и на рис. 2.

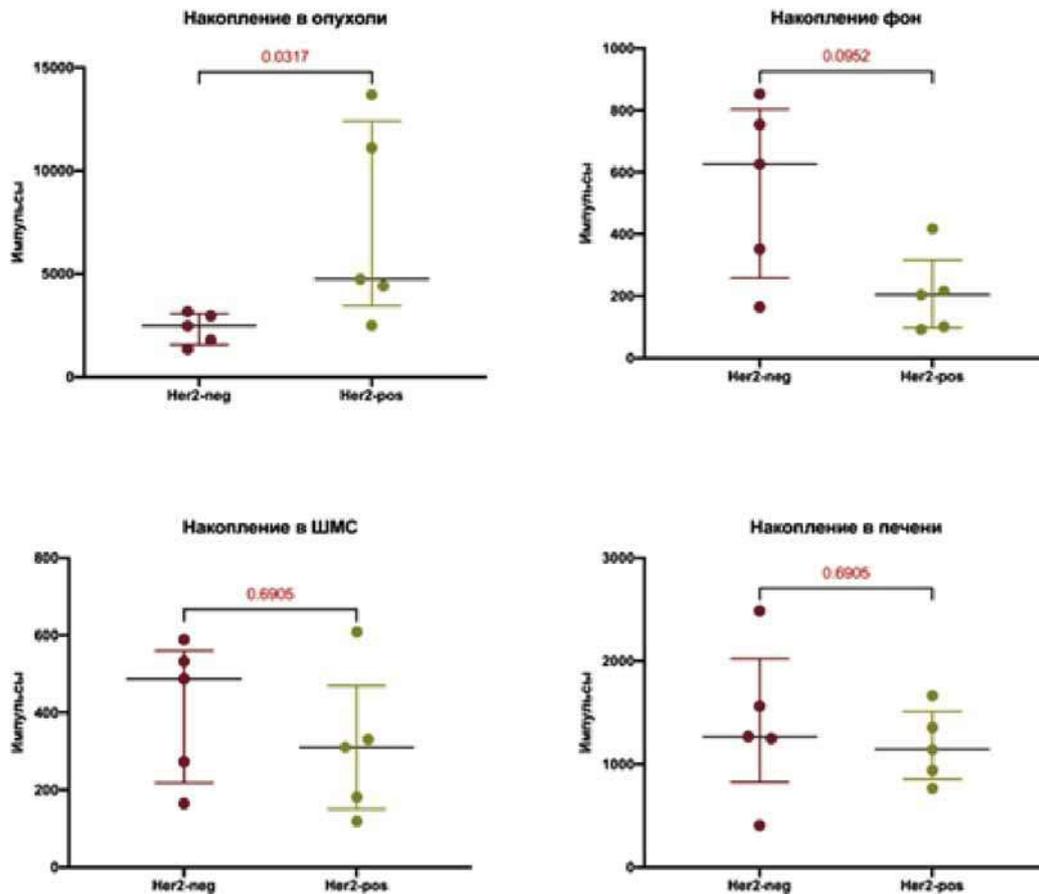


Рис. 1. Накопление препарата «^{99m}Tc-ADAPT6» в первичной опухоли, симметричном участке противоположной молочной железы, проекции ШМС и печени у больных раком молочной железы с положительной и отрицательной экспрессией Her2/neu через 2 ч после введения: Her2-neg — группа Her2-негативных пациентов, Her2-pos — группа Her2-положительных пациентов

Таблица 1. Сравнение показателей накопления препарата «^{99m}Tc-ADAPT6» в первичной опухоли, симметричном участке противоположной молочной железы (фон), в проекции широчайшей мышцы спины и печени у больных раком молочной железы с различной экспрессией Her2/neu через 2 ч после введения

Накопление препарата (суммарное количество импульсов) Me [Q1 – Q3]	Her2 статус	
	Положительный	Отрицательный
Опухоль	4745 (3462– 2394)	2482 (1570–3066)
	p=0,032	
Фон	204 (97–317)	626,0 (258,5–803,5)
	p>0,05	
Проекция широчайшей мышцы спины	310 (150,5–469,5)	487 (219–560,5)
	p>0,05	
Печень	1143 (855–1510)	1267 (829–2024)
	p>0,05	

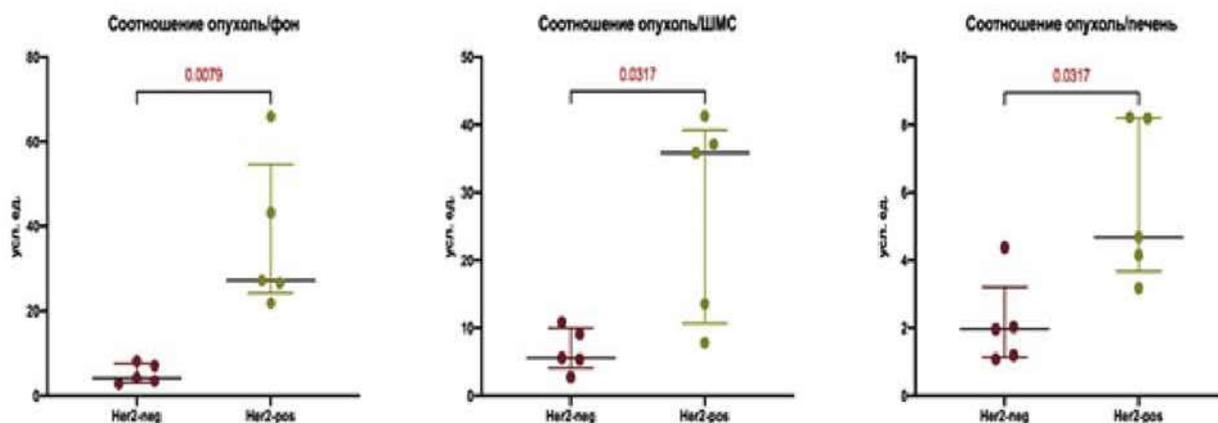


Рис. 2. Соотношения опухоль/фон, опухоль/ШМС и опухоль/печень у больных раком молочной железы с положительной и отрицательной экспрессией Her2/neu через 2 ч после введения препарата «^{99m}Tc-ADAPT6»: Her2-neg — группа Her2-негативных пациентов, Her2-pos — группа Her2-положительных пациентов

Таблица 2. Соотношения опухоль/фон, опухоль/ШМС и опухоль/печень у больных раком молочной железы с различной экспрессией Her2/neu через 2 ч после введения «^{99m}Tc-ADAPT6»

Показатель Me [Q1 – Q3]	Her2 статус	
	Положительный	Отрицательный
Опухоль/фон	27,25 (24,24 – 54,65)	4,19 (3,14 – 7,62)
	p=0,0079	
Опухоль/ШМС	35,83 (10,68 – 39,21)	5,57 (4,07 – 9,96)
	p=0,0317	
Опухоль/печень	4,68 (3,66 – 8,20)	1,96 (1,13 – 3,20)
	p=0,0317	

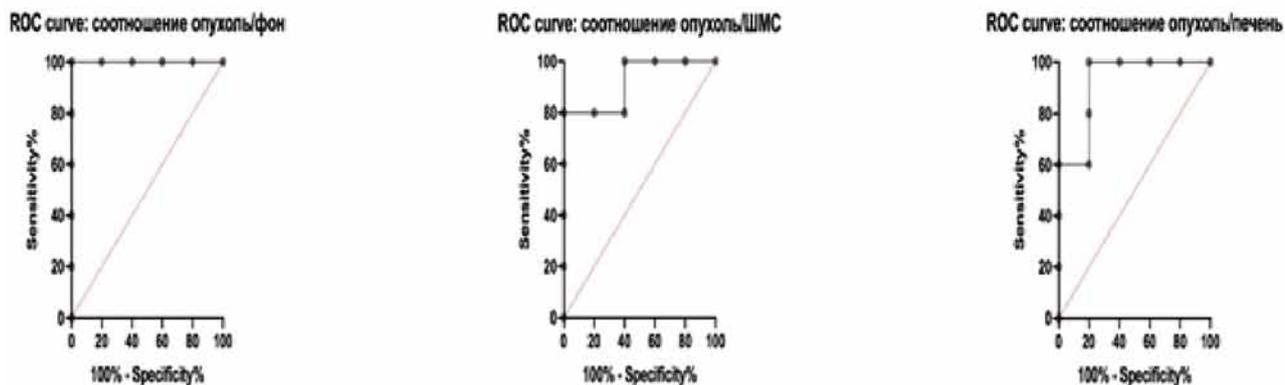


Рис. 3. ROC-кривые диагностических показателей опухоль/фон, опухоль/ШМС и опухоль/печень для определения статуса Her2/neu первичной опухоли у больных раком молочной железы через 2 ч после введения препарата «^{99m}Tc-ADAPT6»

Дополнительно, для определения прогностической значимости изучаемых параметров в определении статуса Her2/neu в первичной опухоли был проведен ROC-анализ с построением ROC-кривых. Наиболее информативным параметром по данным выполненного исследования оказался показатель опухоль/фон: площадь под кривой составила 1,000 (95% доверительный интервал (ДИ) 1,000–1,000), $p < 0,009$. Пороговое значение прогностической значимости маркера — 15,05, чувствительность — 100,0%, специфичность — 100,0%.

Достоверными диагностическими критериями в определении статуса рецептора Her2/neu в первичной опухоли у больных раком молоч-

ной железы также являлись показатели опухоль/ШМС и опухоль/печень. По данным выполненного анализа площадь под кривой для параметра опухоль/ШМС составила 0,92 (95% ДИ 0,7385–1,000), $p = 0,0283$. Пороговое значение прогностической значимости маркера — 12,19, чувствительность — 80,0%, специфичность — 100,0%. Для показателя опухоль/печень — 0,92 (95% ДИ 0,7385–1,000), $p = 0,0283$. Пороговое значение прогностической значимости маркера — 2,605, чувствительность — 100,0%, специфичность — 80,0% (рис. 3).

На основании проведенного анализа с применением метода логистической регрессий было

показано, что соотношение опухоль/фон более 15,05 через 2 ч после введения препарата «^{99m}Tc-ADAPT6» является фактором риска наличия положительного статуса рецептора эпидермального фактора роста Her2/neu в первичной опухоли у больных раком молочной железы (Chi-square=13,86, p=0,0002). Чувствительность и специфичность модели — 100%.

Заключение

Изучение радиофармацевтических препаратов для определения статуса рецептора эпидермального фактора роста Her2/neu является перспективным научным направлением и все больше освещается на площадках международных форумов. Первой адресной молекулой, прошедшей клинические испытания в г. Уппсале, Швеция, являлась меченная ¹¹¹In и ⁶⁸Ga молекула аффибоди (¹¹¹In - ABY-025 и ⁶⁸Ga - ABY-025) для ОФЭКТ и ПЭТ диагностики метастатического Her2-позитивного рака молочной железы [20, 21]. По данным анализа было получено высокое накопление меченного протеина в ткани опухоли с гиперэкспрессией Her2/neu по сравнению с опухолями, имеющими отрицательный статус. Помимо этого, была показана хорошая контрастная визуализация опухолей, характеризующаяся невысокими лучевыми нагрузками на пациентов, и удовлетворительная переносимость с отсутствием иммунных реакций на повторное введение препарата [22].

Результаты клинических исследований нового препарата на основе меченных технецием-^{99m} адресных молекул ADAPT6 к онкопротеину Her2/neu, проведенные в отделении радионуклидной диагностики НИИ онкологии Томского НИМЦ, также продемонстрировали хорошую переносимость соединения и высокую диагностическую эффективность в типировании первичных опухолей молочной железы в зависимости от статуса рецептора эпидермального фактора роста Her2/neu.

Выполненный в аспекте настоящего исследования анализ позволил дополнительно выделить наиболее информативные параметры для типирования статуса Her2/neu у больных раком молочной железы. В частности, применение показателя опухоль/фон в математической модели с высокими показателями чувствительности и специфичности (100 и 100% соответственно, p=0,0002) позволяет прогнозировать статус Her2/neu в первичной опухоли у больных раком молочной железы.

Таким образом, проведенный объем исследований препарата «^{99m}Tc-ADAPT6» позволяет рассматривать его в качестве дополнительного перспективного агента для определения статуса рецептора эпидермального фактора Her2/neu у больных раком молочной железы.

Вклад авторов

Авторы внесли равнозначный вклад в написание статьи.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии в статье конфликта интересов.

Финансирование

Работа выполнена в рамках гранта Министерства науки и высшего образования соглашение № 075-15-2019-1925 по теме «Разработка таргетных молекул на основе каркасных белков для диагностики и терапии злокачественных новообразований: тераностический подход».

ЛИТЕРАТУРА

1. Чернов В.И., Брагина О.Д., Синилкин И.Г. и др. Радиоиммунотерапия: современное состояние проблемы // Вопросы онкологии. 2016;1(62):24-30 [Chernov V.I., Bragina O.D., Sinilkin I.G. et al. Radioimmunotherapy: current state of the problem // Problems of oncology. 2016;1(62):24-30 (In Russ.)].
2. Брагина О.Д., Чернов В.И., Зельчан Р.В. и др. Альтернативные каркасные белки в радионуклидной диагностике злокачественных образований // Бюллетень сибирской медицины. 2019;18(3):125-133 [Bragina O.D., Chernov V.I., Zelchan R.V. et al. Alternative scaffolds in radionuclide diagnosis of malignancies // Bulletin of Siberian Medicine. 2019;18(3):125-133 (In Russ.)]. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-125-133>.
3. Azhar A., Ahmad E., Zia Q. et al. Recent advances in the development of novel protein scaffolds-based therapeutics // International Journal of Biological Macromolecules. 2017;102:630-641. <https://doi:10.1016/j.ijbiomac.2017.04.045>.
4. Брагина О.Д., Ларькина М.С., Стасюк Е.С. и др. Разработка высокоспецифического радиохимического соединения на основе меченных ^{99m}Tc рекомбинантных адресных молекул для визуализации клеток с гиперэкспрессией Her2/neu // Бюллетень сибирской медицины. 2017;16(3):25-33. <https://doi:10.20538/1682-0363-2017-3-25-33> [Bragina O.D., Larkina M.S., Stasyuk E.S. et al. Development of highly specific radiochemical compounds based on ^{99m}Tc-labeled recombinant molecules for targeted imaging of cells overexpressing Her-2/neu // Bulletin of Siberian Medicine. 2017;16(3):25-33 (In Russ.)]. <https://doi:10.20538/1682-0363-2017-3-25-33>.
5. Vorobyeva A, Schulga A, Konovalova E. Optimal composition and position of histidine-containing tags improves biodistribution of ^{99m}Tc-labeled DARPIn G3. Scientific Reports // 2019;9(1):9405. <https://doi:org/10.1038/s41598-019-45795-8>.
6. Nilvebrant J, Hober S. The albumin-binding domain as a scaffold for protein engineering // Comput Struct Biotechnol J. 2013;6:1-8. <https://doi:10.5936/csbj.201303009>.
7. Nilvebrant J, Astrand M, Georgieva-Kotseva M. et al. Engineering of bispecific affinity proteins with high affinity for ERBB2 and adaptable binding to albumin // PLoS One. 2014;9: e103094. <https://doi:10.1371/journal.pone.0103094>.
8. Krasniqi A., D'Huyvetter M., Devoogdt N. et al. Same-Day Imaging Using Small Proteins: Clinical Experience

- and Translational Prospects in Oncology // Journal of Nuclear Medicine. 2018;59: 885–891. [https://doi: 10.2967/jnumed.117.199901](https://doi.org/10.2967/jnumed.117.199901).
9. Simeon R., Chen Z. In vitro-engineered non-antibody protein therapeutics // Protein Cell. 2018;9:3-14. [https://doi: 10.1007/s13238-017-0386-6](https://doi.org/10.1007/s13238-017-0386-6).
 10. Garousi J., Lindbo S., Nilvebrant J. et al. ADAPT, a novel scaffold Protein-based probe for radionuclide imaging of molecular targets that are expressed in disseminated cancers // Cancer Res. 2015;75: 4364–4371. [https://doi: 10.1158/0008-5472.CAN-14-3497](https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-14-3497).
 11. Lindbo S., Garousi J., Åstrand M. et al. Influence of histidine-containing tags on the biodistribution of ADAPT scaffold proteins // Bioconj Chem. 2016;27:716-726. [https://doi: 10.1021/acs.bioconjchem.5b00677](https://doi.org/10.1021/acs.bioconjchem.5b00677).
 12. Zavyalova M., Vtorushin S.V., Telegina N. et al. Clinicopathological features of nonspecific invasive breast cancer according to its molecular subtypes // Experimental Oncology. 2016;38(2):122–127.
 13. Babyshkina N., Malinovskaya E., Cherdyntseva N. et al. Neoadjuvant chemotherapy for different molecular breast cancer subtypes: a retrospective study in Russian population // Medical Oncology. 2014;9(31):1-12.
 14. Брагина О.Д., Чернов В.И., Гарбуков Е.Ю. и др. Возможности радионуклидной диагностики Her2-позитивного рака молочной железы с использованием меченных технецием-99m таргетных молекул: первый опыт клинического применения // Бюллетень сибирской медицины. 2021;20(1):23-30. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-1-23-30> [Bragina O.D., Chernov V.I., Garbukhov E.Yu. et al. Possibilities of radionuclide diagnostics of Her2-positive breast cancer using technetium-99m-labeled target molecules: the first experience of clinical use // Bulletin of Siberian Medicine. 2021;20(1):23-30. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-1-23-30>.
 15. Bragina O., Witting E., Garousi J. et al. Phase I study of ^{99m}Tc-ADAPT6, a scaffold protein-based probe for visualization of HER2 expression in breast cancer // J Nucl Med. 2021; 62 (4):493-499. [https://doi: 10.2967/jnumed.120.248799](https://doi.org/10.2967/jnumed.120.248799).
 16. Брагина О.Д., Чернов В.И., Гарбуков Е.Ю. и др. Сравнительный анализ клинического использования меченных технецием-99m рекомбинантных таргетных молекул в различных дозировках для радионуклидной диагностики Her2-позитивного рака молочной железы // Вестник рентгенологии и радиологии. 2021; 102 (2): 89-97. doi.org/10.20862/0042-4676-2021-102-2-89-97 [Bragina O.D., Chernov V.I., Garbukhov E.Yu. et al. Comparative analysis of the clinical use of technetium-99m labeled recombinant target molecules in different dosages for radionuclide diagnostics of Her2-positive breast cancer// Journal of Radiology and Nuclear Medicine. 2021; 102 (2): 89-97. doi.org/10.20862/0042-4676-2021-102-2-89-97 (In Russ.)].
 17. Wolff A.C., Hammond M. E. H., Hicks D.G. et al. Recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists clinical practice guideline update // J Clin Oncol. 2013;31:3997-4013. [https://doi: 10.1200/JCO.2013.50.9984](https://doi.org/10.1200/JCO.2013.50.9984).
 18. Tolmachev V., Orlova A., Andersson K. Methods for radiolabelling of monoclonal antibodies // Methods Mol Biol. 2014;1060:309-30. [https://doi: 10.1007/978-1-62703-586-6_16](https://doi.org/10.1007/978-1-62703-586-6_16).
 19. Bartley A.N., Washington M.K., Ventura C.B. et al. HER2 testing and clinical decision making in gastroesophageal adenocarcinoma: guideline From the College of American Pathologists, American Society for Clinical Pathology, and the American Society of Clinical Oncology // J Clin Oncol. 2017;35:446-464. [https://doi: 10.5858/arpa.2016-0331-CP](https://doi.org/10.5858/arpa.2016-0331-CP).
 20. Sandström M., Lindskog K., Velikyan I. et al. Biodistribution and radiation dosimetry of the anti-HER2 Affibody molecule ⁶⁸Ga-ABY-025 in breast cancer patients // J Nucl Med. 2016;57:867-871. [https://doi: 10.2967/jnumed.115.169342](https://doi.org/10.2967/jnumed.115.169342).
 21. Sörensen J., Velikyan I., Sandberg D. et al. Measuring HER2-receptor expression in metastatic breast cancer using [⁶⁸Ga] ABY-025 Affibody PET/CT // Theranostics. 2016;6:262-271. [https://doi: 10.7150/thno.13502](https://doi.org/10.7150/thno.13502).
 22. Keyaerts M., Xavier C., Heemskerck J. et al. Phase I study of ⁶⁸Ga-HER2-nanobody for PET/CT assessment of HER2 expression in breast carcinoma // J Nucl Med. 2016;57:27-33. [https://doi: 10.2967/jnumed.115.162024](https://doi.org/10.2967/jnumed.115.162024).

Поступила в редакцию 20.01.2021 г.

*O.D. Bragina^{1, 2}, V.I. Chernov^{1, 2}, L.A. Tashireva¹,
R.V. Zelchan^{1, 2}, A.A. Medvedeva¹, N.M. Lukina¹,
V.E. Goldberg¹, V.M. Tolmachev^{2, 3}*

Determination of the most informative prognostic parameters for assessing the status of the epidermal growth factor receptor Her2/neu in the primary tumor in breast cancer patients using the targeted radiopharmaceutical «^{99m}Tc-ADAPT6»

¹ Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences Cancer Research institute
² National Research Tomsk Polytechnic University
³ Uppsala University, Sweden

The aim of the study was to identify the most informative prognostic parameters that allow assessing the status of the epidermal growth factor receptor Her2/neu in the primary tumor in breast cancer patients using the radiopharmaceutical «^{99m}Tc-ADAPT6».

Material and methods. The study included 15 patients with breast cancer (T1-4N0-2M0) before the system therapy. Eight patients were found to overexpress Her2/neu in the primary breast tumor, in 7 cases the expression of the marker was not diagnosed. Morphological and immunohistochemical studies were performed in all cases. All patients are undergoing a radionuclide study using the radiopharmaceutical «^{99m}Tc-ADAPT6» at a dosage of protein 500 µg.

Results. Patients with Her2-positive breast tumors showed a significantly higher accumulation of «^{99m}Tc-ADAPT6» in primary tumor (p<0.05, Mann-Whitney U test), as well as high tumor/background, tumor/latissimus dorsi muscle and tumor/liver as compared with patients with negative status of Her2/neu (p<0.005, Mann-Whitney U test). Based on the analysis performed using the logistic regression method, there was a mathematical model for predicting the Her2/neu status in primary tumor of breast cancer patients (specificity and sensitivity 100%; p=0.0002)

Conclusion. The results of the study make it possible to consider the radiopharmaceutical «^{99m}Tc-ADAPT6» as an additional promising agent for determining the Her2/neu status in breast cancer patients.

Key words: breast cancer, radionuclide diagnostics, alternative scaffold proteins, ADAPT6, Her2 / neu

*Д.Р. Ортабаева¹, А.Д. Зирияходжаев^{1,2,3}, Е.А. Рассказова¹, Э.К. Сарибекян¹,
Ш.Г. Хакимова¹, Т.С. Бересток^{1,2}*

Использование ксеноперикарда в реконструктивной хирургии у больных раком молочной железы

¹ МНИОИ им.П.А.Герцена — филиал ФГБУ «НМИЦР» Минздрава РФ, Москва

² ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет), Москва

³ ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», Москва

Цель — проанализировать возможность использования ксеноперикарда для реконструкции молочной железы при раке.

Материалы и методы: в статье представлено клиническое наблюдение пациентки с диагнозом рак молочной железы, которой выполнена подкожная мастэктомия с одномоментной реконструкцией эндопротезом и ксеноперикардом для укрепления нижнего склона молочной железы.

Результаты: в нашем исследовании получен хорошей косметический результат, а также наличие ксеноперикарда не влияет на проведение послеоперационных курсов химиотерапии и лучевой терапии.

Заключение: нами представлен первый опыт применения бычьего перикарда в России в целях реконструкции молочной железы у больных РМЖ. Был использован Ксеноперикард БиоЛАБ-ПП/ПА отечественного происхождения в целях укрепления нижнего склона реконструируемой МЖ с использованием силиконового имплантата.

Ключевые слова: рак молочной железы, реконструкция молочной железы, ксеноперикард крупного рогатого скота, ксеноперикард БиоЛАБ-ПП/ПА, ацеллюлярный дермальный матрикс (АДМ)

Введение

Существуют различные подходы к реконструкции молочной железы (МЖ) у больных раком молочной железы (РМЖ), и большинство из них основаны на использовании силиконовых имплантатов. Это обусловлено меньшей инвазивностью и трудоёмкостью имплантации силиконовых эндопротезов по сравнению с хирургическими техниками реконструкции МЖ посредством аутологических лоскутов. Известно, что реконструкция у больных РМЖ в 80% выполняется с использованием силиконовых имплантатов [1].

За последние 10 лет в практику реконструктивной хирургии было введено большое разно-

образии синтетических сеток и биологических матриц для обеспечения безопасной и легко воспроизводимой одномоментной реконструкции молочной железы (МЖ) на основе силиконовых имплантатов. Доказано, что при применении дополнительного укрытия нижнего склона реконструируемой молочной железы (ацеллюлярный дермальный матрикс, сетчатый имплантат, деэпителизованный лоскут, ТДЛ-лоскут) качество жизни пациентки выше, чем в группе без дополнительно укрытия эндопротеза [2].

В частности, использование АДМ обеспечивает более легко выполнимую, менее травматичную и продолжительную технику хирургического вмешательства по сравнению с использованием аутологических лоскутов [3]. По состоянию на 2016 г. в литературе сообщалось примерно о 3200 реконструкциях МЖ с использованием различных АДМ (синтетических и биологических) [4].

В связи с высокой стоимостью представленных на рынке АДМ не прекращаются поиски новых материалов.

Основываясь на собственном опыте использования синтетических сеток, биологических матриц и аутологических лоскутов для реконструкции МЖ в комбинации с силиконовыми имплантатами, мы предлагаем новый материал отечественного происхождения — бычий перикард БиоЛАБ-ПП/ПА.

Ксеноперикард БиоЛАБ-ПП/ПА разработан Научным центром сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева РАМН с предназначением для коррекции дефектов межпредсердной и межжелудочковой перегородок, больших артериальных сосудов, для профилактики спаечного процесса в средостении, а также для коррекции сложных врождённых пороков сердца, сочетающихся со стенозом легочной артерии. Пластины используют в здравоохранении и изготавливают для работы при номинальных значениях температуры от 32 до 42 °С и длительном воздействии среды крови. Пластина «БиоЛАБ-ПП/ПА» представляет собой цельный прямоугольный лист, выкроенный из перикарда телёнка, химически

стабилизированного раствором глутарового альдегида с дополнительной стерилизацией 4% раствором формалина.

В мировой литературе всего несколько сообщений о применении материалов на основе бычьего перикарда в реконструкции МЖ. В отечественной литературе подобные работы нам не встречались.

Первое сообщение в литературе об использовании бычьего перикарда при реконструкции МЖ принадлежит американским хирургам М.М. Mofid, М.С. Meiningер и М.С. Lacey [5], которые в 2012 г. представили результаты многоцентрового ретроспективного исследования. В общей сложности ими был установлен бычий перикард Veritas® 54 пациенткам при 93 хирургических вмешательствах — двухэтапных (с использованием тканевого экспандера) и одноэтапных реконструкциях МЖ с использованием силиконовых имплантатов в течение 2 лет (2009–2011 гг.). Критериями включения были: возраст старше 18 лет, подкожная мастэктомия с одномоментной реконструкцией силиконовым имплантатом и ксеноперикардом Veritas®. В исследовании учитывались такие характеристики пациенток, как возраст, индекс массы тела (ИМТ); антибиотики, применяемые в целях профилактики; масса ткани удалённой молочной железы; сроки удаления дренажных трубок; стадия РМЖ, химиотерапия (ХТ) или лучевая терапия (ЛТ) в анамнезе; сопутствующие заболевания, включая сахарный диабет (СД), артериальную гипертензию (АГ), сердечно-сосудистые заболевания; курение. Во время операции у всех пациенток проводилось орошение раны и промывание тканевых экспандеров и силиконовых имплантатов раствором бацитрацина. Хирургическая техника включала рассечение большой грудной мышцы, пришивание ксеноперикарда Veritas® к субмаммарной складке, каудальному краю большой грудной мышцы и передней зубчатой мышце латерально отдельными узловыми швами рассасывающимся шовным материалом полидиаксон 2.0, укрывая тем самым нижний склон эндопротеза пластиной ксеноперикарда. Дренирование раны через контрапертуру по передней подмышечной линии. Средний период наблюдения за пациентками составил 11 мес. ЛТ была проведена у 16,7% пациенток, ХТ — у 31,5%. Дренажные трубки удаляли в среднем на 10-е сутки после операции. Образование сером наблюдалось в 7,5% случаев, инфекционные осложнения — в 6,5%. Лишь у 2-х пациенток была выявлена специфичная микрофлора — *Pseudomonas aeruginosa* и *Staphylococcus aureus*, при этом в обоих случаях было произведено удаление эндопротезов. Краевой некроз кожи наблюдался в 5,4% случаев. Ни у одной из па-

циенток за период наблюдения не было выявлено признаков капсулярной контрактуры. Совокупная частота осложнений составила 21,5%. Статистически значимой разницы относительно осложнений в случае одномоментных и отсроченных реконструкций выявлено не было. Сравнительные результаты использования бычьего перикарда с данными аналогичных исследований с использованием ацеллюлярного дермального матрикса (ADM), авторы выявили более низкую частоту осложнений в пользу ксеноперикарда, однако данная разница была статистически значимой только в сравнении с данными Chun Y.S. и соавт. [6] (48,7%, $p < 0,0001$). Различий в частоте возникновения других осложнений (инфекция, серома, капсулярная контрактура) также не было отмечено.

В том же году об успешном применении в реконструкции МЖ бычьего перикарда Tutorpatch®, предназначенного для реконструкции лица или в нейрохирургии, сообщили итальянские учёные [7].

Gubitosi A. и соавт. использовали коллагеновую мембрану Tutomesh®, экстрагированную из консервированного перикарда быка при одномоментной реконструкции МЖ в 28 случаях. Частота сером составила 20,8%, инфекционных осложнений — 8,3%, гематома развилась в 1 случае (4,2%). Возникновения краевого некроза кожи не было отмечено ни у одной пациентки. В 2 случаях СД 2 типа был ассоциирован с отёком и экхимозами; АГ с инфицированием в 1 случае (удаление имплантата) и серомой в 1 случае. Ожирение I степени (ИМТ 30–32,7) было ассоциировано с серомой в 3 случаях и инфицированием — в 1 случае. В тех случаях, когда не применяют фибриновый спрей (между пластиной перикарда и кожным чехлом), частота осложнений была ниже — гематома в 4,2%, инфицирование в 4,2% и серома в 16,8%. Авторы заключают, что использование бычьего перикарда Tutomesh® для одномоментной реконструкции МЖ является безопасным. Частота осложнений невысока, за исключением развития сером, что может быть предотвращено посредством использования фибринового спрея [8].

В своём ретроспективном нерандомизированном исследовании немецкие учёные Eichler S. и соавт. сравнивали результаты использования двух ксеноматериалов — фетального бычьего ацеллюлярного дермального матрикса (ADM) SurgiMend® и коллагеновой мембраны из бычьего перикарда Tutomesh®. С 2014 по 2016 г. при одномоментной реконструкции молочной железы после подкожной мастэктомии в общей сложности у 45 пациенток были использованы данные материалы — в 18 случаях SurgiMend® и в 27 случаях — Tutomesh®. Так, коллагеновая мембрана на основе бычьего перикарда

Tutomesh® на 92% состоит из коллагена I типа, который поддерживает её трехмерную структуру, благодаря чему является стойкой к растяжению. Аналогично SurgiMend®, благодаря подрастающим сосудам и фибробластам, данный материал постепенно замещается собственной тканью пациентки. Авторы применяли стандартную хирургическую технику субмамулярной установки силиконового эндопротеза с подшиванием материалов для укрытия нижнего склона последнего к краю большой грудной мышцы и к субмамарной складке. В послеоперационном периоде антибиотикотерапия не назначалась. Дренажные трубки удаляли на 2-е сутки после операции. Частота послеоперационных осложнений в случае использования SurgiMend® составила 27,8%, в случае использования Tutomesh® — 37,0%, включая гематомы, раздражение кожи, инфицирование, «red breast syndrome» и повторные ревизии (без статистически достоверной разницы $p=0,75$). Наиболее частым осложнением было развитие «red breast syndrome» (16,7% — SurgiMend®; 14,8% — Tutomesh®). Инфицирование наблюдали в 5,6% — 1 случай SurgiMend® vs 5 случаев Tutomesh® — разница статистически незначима ($p=0,42$). Ревизия раны с удалением импланта через 1 мес после операции была произведена только у 1 пациентки с использованием бычьего перикарда. Повторные операции по поводу капсулярной контрактуры или по онкологическим причинам (местные рецидивы) выполняли в 22,2% (SurgiMend®) и 22,5% (Tutomesh®) всех случаев. Сравнив результаты своего анализа с данными других исследований, авторы оценивают частоту полученных ими осложнений относительно низкой. Так, частота потери имплантата при использовании SurgiMend® составляет 3,7%, Epiflex® — 12,5%, Tutomesh® — 3,5%, AlloDerm — 2,9–11,2% [4].

Последняя публикация, посвященная изучению данного вопроса, принадлежит Castagnetti F. и соавт., представившим результаты ретроспективного исследования с включением 123 пациенток, которым в 2012–2017 гг. при подкожной мастэктомии с одномоментной реконструкцией силиконовым имплантатом в целях укрытия нижнего полюса имплантата был установлен бычий перикардиальный матрикс Veritas®. Хирургическая техника осуществлялась по стандартной методике с подшиванием пластины перикарда отдельными узловыми рассасывающимися швами к краю большой грудной мышцы и к субмамаммарной складке, а в случае объема устанавливаемого имплантата более 400 мл — и к краю передней зубчатой мышцы. С целью профилактики инфицирования за две недели до операции у пациенток производили идентификацию носительства *Staphylococcus aureus*, и в случае

носительства назначали антибиотикотерапию. Введение антибиотика выполняют за 30 мин до операции, а пациенткам после ХТ антибиотикотерапию назначают в течение 10 сут после операции. Средний возраст пациенток составил $50,2\pm 9,1$ лет (25–69 лет); средний показатель ИМТ — $23,2\pm 3,2$ кг/м²; медиана наблюдения — $51,84\pm 16,76$ мес (24–91 мес). ХТ в неoadъювантном/адъювантном режиме получили 40,7% больных, 4,1% была выполнена подкожная мастэктомия по поводу рецидива заболевания после резекции с ЛТ и 19,5% пациенткам после операции была проведена ЛТ на сформированную молочную железу. При анализе результатов исследования выяснилось, частота ранних и поздних послеоперационных осложнений при среднем периоде наблюдения 51,84 мес составила 37,6% и 24,1% соответственно. Наиболее частым ранним послеоперационным осложнением являлась преходящая ишемия тканей [$n=39$ (27,7%)]. Гематома выявлена в 3,6% случаях, диастаз раны — в 1,4%, некроз кожи — в 3,6% ($n=5$) с последующим удалением имплантата у 1 пациентки, ревизия и некрэктомия — 2,8% ($n=4$), инфицирование — 1,4% ($n=2$). Наиболее частым поздним осложнением являлись рипплинг [$n=18$ (12,7%)], причём он чаще возникал в случае при подкожной мастэктомии, нежели в случае кожесохранной мастэктомии (17,7% vs. 5,5%; $p=0,035$), и серома [$n=4$ (2,8%)]. В общей сложности, по поводу ранних и поздних осложнений замена имплантата была необходима в 5 случаях по поводу инфицирования, некроза, серомы, асимметрии и тяжелой капсулярной контрактуры. Капсулярная контрактура у пациенток оценивалась по шкале Baker через 1 год после операции: 121 сформированных МЖ (85,8%) — I степень контрактуры, 17 МЖ (12,1%) — II степень, и только 3 МЖ (2,1%) — III степень [9].

Клинический случай

Большая Е., 54 лет, опухоль в левой молочной железе самостоятельно обнаружила в феврале 2020 г. В марте 2020 г. обратилась в МНИОИ им. П.А.Герцена.

При осмотре молочные железы небольшого размера, отмечается небольшая асимметрия — D<S; сосково-ареолярные комплексы обеих молочных желез не изменены, выделений из сосков нет. При пальпации в ткани правой молочной железы четкие узловые образования не определяются, в левой молочной железе в проекции нижне-наружного квадранта и границы наружных квадрантов определяются два участка уплотнения до 1,5 см в диаметре. В подмышечных областях увеличенные лимфатические узлы не пальпируются (рис. 1).



Рис. 1. Вид пациентки перед операцией

При клинико-рентгено-УЗКТ обследовании обеих молочных желез картина развитой железистой ткани, на фоне которой слева в нижне-наружном квадранте определяется гипозоногенное образование с нечеткими контурами 10×19 мм. На границе наружных квадрантов подобное образование с нечеткими контурами неоднородной структуры 14×11×15 мм. По данным УЗИ аксиллярных, парастернальных, надключичных и подключичных областей увеличенные лимфатические узлы не выявлены. Заключение — картина рака левой молочной железы, мультицентрическая форма (рис. 2).

Гистологическое исследование биоптатов опухолей левой молочной железы № 20/2-123 от 03.02.2020 г. Инвазивный неспецифицированный рак молочной железы 3 степени злокачественности по Ноттингемской системе, мультифокальный рост. Иммуногистохимическое исследование (ИГХ) № 48987К от 14.02.2020 г. РЭ — 8 баллов, РП — 7 баллов, Her2/neu-отрицательная экспрессия, Ki67 — 27%, E-кадгерин — положительная экспрессия.

При молекулярно-генетическом исследовании от 05.02.2020 г. мутаций в генах BRCA1, BRCA2 и CHEK2 не выявлено.

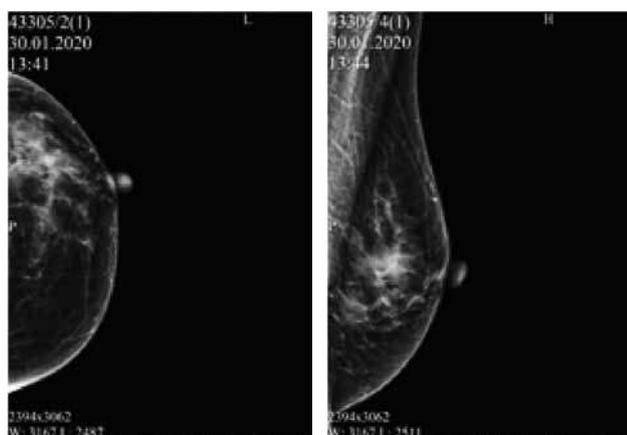


Рис. 2. Маммограммы в двух проекциях

По данным комплексного обследования по системам и органам (КТ органов грудной полости, УЗИ органов брюшной полости и забрюшинного пространства, малого таза, скинтиграфия костей, МРТ головного мозга) данных за отдалённое метастазирование заболевания не получено.

Пациентка не курит, хронические заболевания отсутствуют, менопауза в течение 4 лет; ИМТ — 21,5.

Таким образом, был установлен диагноз — рак левой молочной железы IA стадии, cT1(m)N0M0G3, люминальный тип B, Her2-негативный. С учётом характера и распространённости опухолевого процесса междисциплинарным консилиумом с участием хирурга, химиотерапевта и радиолога на I этапе комплексного лечения больной рекомендовано хирургическое лечение.

03.03.2020 г. выполнена операция — подкожная мастэктомия слева с одномоментной реконструкцией силиконовым эндопротезом (Mentor 354-1507 150 cc Siltex™ Round Moderate Profile) в комбинации с ксеноперикардом БиоЛАБ-ПП/ПА по разработанному нами способу (RU 2020 117 971), биопсия «сторожевого» лимфатического узла.

С целью решения вопроса о необходимости дополнительного укрытия нижнего склона перед операцией определена толщина кожного покрова молочной железы (pinch-тест), которая составила 1,0 см.

Хирургическая техника

С помощью гамма-детектора определен сторожевой лимфатический узел в левой подмышечной области. Произведён кожный разрез длиной 4 см в левой подмышечной области, рассечены кожа и подкожная клетчатка, после повторной непосредственной идентификации в ране сторожевой лимфатический узел выделен и удалён, направлен на срочное цитологическое

исследование. По данным цитологического исследования № 1857-62/2020оп в мазках-отпечатках атипичные клетки не обнаружены.

Согласно инструкции производителя, предварительно подготовлена пластина ксеноперикарда БиоЛАБ-ПП/ПА — отмыта в течение 90 мин при интенсивном помешивании в стеклянной стерильной ёмкости в 500 мл стерильного 0,85% раствора хлорида натрия (температура раствора 25 °С) со сменой раствора каждые 15 мин (рис. 3).



Рис. 3. Вид пластины ксеноперикарда БиоЛАБ-ПП/ПА

В положении больной на спине под общим обезболиванием, согласно предоперационной разметке, периареолярным разрезом на границе верхних квадрантов, линейным разрезом на границе наружных квадрантов длиной в 3 см рассечены кожа и подкожная клетчатка, ткань молочной железы подкожно мобилизована и удалена. Большая грудная мышца мобилизована путем отсечения от нижнего края ее прикрепления, латеральнее до уровня, соответствующего 7–8 часам условного циферблата. Нижнелатеральная часть большой грудной мышцы отсепарована от передней грудной стенки. Путем электродиссекции сформирован субпекторальный карман до маркированных уровней по периметру формируемой железы (рис. 4). Пластина ксеноперикарда проецирована на нижнюю зону реконструкции молочной железы, соответствующую нижнему склону. Край пластины ксеноперикарда, соответствующий нижнему, подшит отдельными узловыми швами викрил 3/0 к фасции передней грудной стенки, соответствующей субмаммарной складке (рис. 5). После прикрепления ксеноперикарда к субмаммарной складке измерена ширина кармана для выбора эндопротеза. Осуществлен тщательный гемостаз в сформированном субпекторальном кармане. Рана промыта раствором антибиотика, дренирована силиконовой



Рис. 4. Формирование субпекторального кармана для силиконового импланта



Рис. 5. Пластина ксеноперикарда фиксирована к субмаммарной складке



Рис. 6. Установка силиконового импланта в субпекторальный карман, сформированный пластиной ксеноперикарда и большой грудной мышцей



Рис. 7. Края пластины ксеноперикарда, большой грудной и передней зубчатой мышц фиксированы узловыми швами

трубкой, выведенной через рану подмышечной области по передней подмышечной линии. В субпекторальный карман установлен силиконовый эндопротез Mentor 354-1507 150 cc Siltex™Round Moderate Profile (рис. 6). После тщательного гемостаза и помещения протеза край ксеноперикарда подшит к нижним и боковым краям большой грудной мышцы. Верхний край пластины ксеноперикарда натянут до нижнего мобилизованного края большой грудной мышцы с закрытием силиконового эндопротеза. Края большой грудной мышцы и пластины ксеноперикарда соединены непрерывным швом викрил 3/0. Отсепарован фрагмент передней зубчатой мышцы размерами 5×3×6 см. Мобилизованный фрагмент передней зубчатой мышцы перемещен к краю пластины ксеноперикарда. Фиксированы края передней зубчатой мышцы и ксеноперикарда для создания герметичности мышечно-ксеноперикардального кармана (рис. 7). Послойное ушивание ран с наложением косметических внутрикожных швов монокрيل 4/0.

В профилактических целях за 30 мин. до операции введен антибиотик — цефтриаксон 1,0 г в/в. В послеоперационном периоде назначена консервативная терапия — цефтриаксон 1,0 г. Эпизодов повышения температуры, кожно-аллергических реакций в послеоперационном периоде не наблюдалось. Дренажная трубка удалена на 4-е сутки после операции. Пациентка удовлетворена полученным эстетическим эффектом (рис. 8).

Морфологическое исследование операционного материала № 84572 Макрописание. 1. «Сто-рожевой» лимфоузел — фрагмент жировой клетчатки размерами 3×1×0,8 см с мягко-эластичным лимфоузлом диаметром 1 см, (разрезан хирургом, доставлен после цитологического исследования). Также фрагмент жировой клетчатки размерами 2,5×1,5×0,5 см, с лимфатическим узлом диаметром 0,5 см. 2. Края резекции маркированы хирургом. Фрагмент ткани молочной железы размерами 13×12×1,7 см. На разрезе, в ткани железы, в нижне-наружном квадранте, в 2 см от нижнего, в 0,3 см от фасциального, в 0,1 см от подкожного краев резекции — плотный опухолевый узел I беловатый, с нечеткими границами, размерами 1,2×0,9×0,8 см. Также на границе наружных квадрантов, в 1,5 см от узла I, в 0,1 см от подкожного, в 0,1 см от фасциального, в 2 см от нижнего, в 3 см от верхнего, в 1 см от латерального, в 7 см от медиального краев резекции — плотный опухолевый узел II, беловатый, без четких контуров, с зернистой поверхностью среза, размерами 3×1,5×1,3 см. Окружающая ткань железы представлена дольчатой жировой тканью с тонкими, белесыми прослойками, расширенными протоками. Отдельно — фрагмент ткани молочной железы размерами 2,5×1,5×1 см. 3. Подмышечная клетчатка — фрагмент жировой клетчатки размерами 3×2×1 см. Микрописание. 2. Оба опухолевых узла имеют одинаковое строение — инвазивный рак без признаков специфичности II степени злокачественности,



Рис. 8. Вид пациентки на 10-е сутки после операции

с участками микропапиллярной карциномы, со структурами внутрипротокового рака. Отмечается периневральный рост рака, раковая эмболия сосудов. В «дорожке» между узлами — структуры внутрипротокового инвазивного рака. В латеральном крае резекции — комплексы рака, в нижнем, медиальном, верхнем краях опухоли нет. В одном «сторожевом» и в одном отдельно доставленном лимфатических узлах из № 1, и в 4-х из № 2 — метастазы рака не выявлены. Заключение: инвазивный рак молочной железы комбинированного строения с участками микропапиллярного рака. При повторном ИГХ на операционном материале № АЖ41: ER — 8 баллов, PgR — 3 баллов, Her2/neu-отрицательная экспрессия, Ki67 — 22%, E-cadherin-положительная экспрессия. Заключение: Люминальный тип В, Her2/neu-негативный. Установлен окончательный клинический диагноз: рак левой молочной железы ПА стадии, pT2(m)N0M0R1, люминальный тип В, Her2-негативный.

Клиническая ситуация повторно обсуждена на междисциплинарном консилиуме № 3440 от 08.04.2020 г. Рекомендовано проведение лучевой терапии (из-за отказа пациентки от предлагаемой реоперации по поводу позитивного края резекции) на область реконструированной левой молочной железы РОД 2–2,5 Гр, СОД 50 Гр — экв; ПХТ по схеме 4АС или 4ТС: 4 курса по схеме доксорубицин 60 мг/м² и циклофосфан 600 мг/м² (курсы повторяются каждый 21 день) или 4 курса доцетаксел 75–100 мг/м² и циклофосфан 600 мг/м² (курсы каждый 21 день); определение гормонального статуса пациентки, и при подтверждении менопаузы — гормональная терапия (ГТ) в течение 5 лет ингибиторами ароматазы (летрозол 2,5 мг/сут. или анастрозол 1 мг/сут). Решение о продолжении ГТ через 5 лет с учётом клинической картины.

Обсуждение

Резюмируя данные литературы относительно использования материалов на основе бычьего перикарда в целях реконструкции МЖ, на наш взгляд, на данный момент представляется сложным сделать однозначные выводы. Это объясняется небольшим количеством сообщений по данному вопросу.

Все исследования являлись ретроспективными нерандомизированными с небольшим периодом наблюдения за пациентами, что не позволило авторам в полном объёме оценить характер и количественные соотношения поздних осложнений после использования ксеноперикарда, в т. ч. в сочетании с ЛТ.

Другим немаловажным фактором является то, что во всех исследованиях использовали

разные материалы на основе бычьего перикарда (Veritas®, Tutopatch®, Tutomesh®), отличающиеся по технологии их изготовления, и соответственно, по характеру очистки, толщине и другим характеристикам.

Также следует отметить, что ни в одном из исследований с использованием материалов на основе бычьего перикарда не производят оценку качества жизни пациенток согласно общепринятым опросникам (Breast Q. и т. д.).

Нами представлен первый опыт применения бычьего перикарда в России в целях реконструкции молочной железы у больных РМЖ. Был использован Ксеноперикард БиоЛАБ-ПП/ПА отечественного происхождения в целях укрепления нижнего склона реконструируемой МЖ с использованием силиконового имплантата. У пациентки наблюдалось неосложненное послеоперационное течение, получен удовлетворительный косметический результат. Однако, в силу короткого периода наблюдения и наличия единичного случая оценить результат сложно.

Несомненно, для изучения качественных характеристик и получения полного представления о целесообразности использования данного нового материала необходимо проведение проспективного исследования с включением достаточного количества пациенток.

Вклад авторов:

Д.Р.Ортабаева — написание текста рукописи, обзор публикаций по теме статьи;

А.Д.Зикирходжаев — анализ полученных данных;

Е.А.Рассказова — получение данных для анализа анализ полученных данных, написание текста рукописи;

Э.К.Сарибекян — анализ полученных данных;

Ш.Г.Хакимова — написание текста рукописи;

Т.С.Бересток — обзор публикаций по теме статьи.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии в статье конфликта интересов.

Финансирование

Источника финансирования нет.

ЛИТЕРАТУРА

1. Breast Reconstruction Specialist Dr. Constance M Chen Offers Tips for Patients. New York, New York. Published March 20, 2020. <https://doi.org/10.1002/prweb.16994261>. Accessed March 30, 2020.
2. Савостьянова А.С., Зикирходжаев А.Д. Применение ацелюлярного матрикса в одномоментной рекон-

струкции молочной железы при раке // Молодежный инновационный вестник. 2016;5(1):635–637.

3. Schefflan M, Colwell AS (2014) Tissue reinforcement in implantbased breast reconstruction // *Plast Reconstr Surg Glob Open* 2(8):e192.
4. Eichler C, Efremova J, Brunnert K, Kurbacher CM, Gluz O, Puppe J, Warm MA. Head to Head Comparison Between SurgiMend® — Fetal Bovine Acellular Dermal Matrix and Tutomesh® — A Bovine Pericardium Collagen Membrane in Breast Reconstruction in 45 // *Cases. In Vivo*. 2017 Jul-Aug;31(4):67–682. [https:// doi: 10.21873/invivo.11112](https://doi.org/10.21873/invivo.11112). PMID: 28652438; PMCID: PMC5566921.
5. Mofid MM, Meininger MS, Lacey MS. Veritas® bovine pericardium for immediate breast reconstruction: a xenograft alternative to acellular dermal matrix products // *Eur J Plast Surg*. 2012 Oct;35(10):717–722. [https:// doi: 10.1007/s00238-012-0736-9](https://doi.org/10.1007/s00238-012-0736-9). Epub 2012 Jun 17. PMID: 23002328; PMCID: PMC3443340.
6. Chun YS, Verma K, Rosen H, Lipsitz S, Morris D, Kenney P, Eriksson E (2010) Implant-based breast reconstruction using acellular dermal matrix and the risk of postoperative complications // *Plast Reconstr Surg*. 125:429–436.
7. Semprini G, Cattin F, De Biasio F, Cedolini C, Parodi PC. The bovine pericardial patch in breast reconstruction: a case report // *G Chir*. 2012 Nov-Dec;33(11–12):392–4. PMID: 23140923.
8. Gubitosi A, Docimo G, Parmeggiani D, Pirozzi R, Vitiello C, Schettino P, Avellino M, Casalino G, Amato M, Ruggiero R, Docimo L. Acellular bovine pericardium dermal matrix in immediate breast reconstruction after Skin Sparing Mastectomy // *Int J Surg*. 2014;12 Suppl 1:205–8. [https:// doi: 10.1016/j.ijssu.2014.05.007](https://doi.org/10.1016/j.ijssu.2014.05.007). Epub 2014 May 22. PMID: 24859403.
9. Castagnetti F, Bertani C, Foroni M, Falco G, Cenini E, De Bonis F, Ferrari G. The Bovine Pericardium Matrix in Immediate Implant-Based Breast Reconstruction // *Aesthetic Plast Surg*. 2020 Feb 28. [https:// doi: 10.1007/s00266-020-01651-z](https://doi.org/10.1007/s00266-020-01651-z). Epub ahead of print. PMID: 32112193.

Поступила в редакцию 25.12.2020 г.

*D.R. Ortabaeva¹, A.D. Zikiryakhodzhayev^{1, 2, 3},
E.A. Rasskazova¹ E.K. Saribekyan¹, Sh.G. Khakimova¹,
T.S. Berestok^{1, 2}*

The use of xenopericardium in reconstructive surgery in patients with breast cancer

¹ Research and research oncological Institute n. a. P. A. Herzen – branch of NERC Ministry of health of Russia, Moscow

² First MSMU n.a. I.M. Sechenov Ministry of health of Russia, Moscow

³ Peoples' Friendship University of Russia, Moscow

Objective: to analyze the possibility of using xenopericardium for breast reconstruction in cancer

Materials and methods: the article presents a clinical case of a patient diagnosed with breast cancer who underwent a subcutaneous mastectomy with simultaneous reconstruction with an endoprosthesis and a xenopericardium to strengthen the lower slope of the breast.

Results: in our study, a good cosmetic result was obtained, and the presence of xenopericardium does not affect the conduct of postoperative courses of chemotherapy and radiation therapy.

Conclusion: we present the first experience of using bovine pericardium in Russia for breast reconstruction in patients with breast cancer. Xenopericardium BioLAB-PP/PA of domestic origin was used to strengthen the lower slope of the reconstructed MJ using a silicone implant.

Key words: breast cancer, breast reconstruction, bovine xenopericardium, BioLAB-PP/PA xenopericardium, acellular dermal matrix (ADM)

*С.И. Ткачёв¹, С.Б. Алиева¹, С.В. Медведев², А.В. Назаренко³,
Д.С. Романов^{1,4}, А.С. Абдужамбаров¹, Л.Е. Ротобельская¹, Т.Н. Борисова¹,
О.П. Трофимова¹, В.В. Глебовская¹, С.М. Иванов¹, Д.И. Федосеенко¹,
И.И. Гришина¹*

Стереотаксическая радиотерапия метастазов рака молочной железы в печени

¹ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина»
Минздрава России, Москва

² МНИОИ им. П.А. Герцена — филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, Москва

³ ГБУЗ МКНЦ им. А.С. Логинова, Москва

⁴ ООО «Центр инновационных медицинских технологий», Москва

Экстракраниальная стереотаксическая радиотерапия (ЭСРТ) в настоящее время занимает свою нишу в комплексном лечении онкологических больных с метастазами в печени. Предполагается, что определённые группы больных раком молочной железы могут получить преимущества от использования данного метода, способные конвертироваться в улучшение показателей общей выживаемости и выживаемости без признаков прогрессирования процесса.

Цель исследования: оценка эффективности и переносимости стереотаксической радиотерапии у больных с метастазами рака молочной железы в печени.

Материалы и методы: Нами были проанализированы результаты применения экстракраниальной стереотаксической радиотерапии у 25 больных раком молочной железы с 43 метастазами в печени. Лечение проводилось за 3 фракции с разовой очаговой дозой 10–15 Гр и суммарной — 30–45 Гр.

Результаты: Продолженный рост облучённого очага был зафиксирован лишь в 1 случае из 43 метастазов (2,3%) у 25 (4%) пациенток. 1-, 3- и 5-летние показатели общей выживаемости от момента выполнения стереотаксической радиотерапии составили 82,9%, 62% и 38,7% соответственно. Отдалённые постлучевые повреждения наблюдались в 8% случаев и не оказали значимого влияния на качество жизни и возможность проведения противоопухолевого лечения.

Выводы: ЭСРТ может быть рекомендована в качестве относительно безопасного и высокоэффективного метода воздействия на метастазы рака молочной железы в печени. С учётом высоких достигнутых показателей локального контроля, дальнейшие исследования по эскалации дозы в данной группе больных не требуются.

Ключевые слова: экстракраниальная стереотаксическая радиотерапия, рак молочной железы, метастатическое поражение печени, олигометастазы, олигопрогрессирование

Введение

Нет никаких сомнений в том, что основным методом лечения больных метастатическим раком молочной железы, является системная противоопухолевая терапия. Результаты применения новых лекарств и их комбинаций ведут к достижению всё лучших показателей безрецидивной и общей выживаемости.

При этом концепция «олигометастатической болезни» и «олигопрогрессирования» выглядит способной поменять парадигму лечения части пациентов с рядом онкологических заболеваний [1], одним из которых может оказаться какой-либо из молекулярных подтипов рака молочной железы (РМЖ). Во всяком случае, эта болезнь была одной из первых, обсуждавшихся в контексте потенциальных преимуществ использования локальных методов лечения метастазов, в первую очередь, хирургического и лучевого [2]. По мнению цитируемых по настоящее время исследователей среди больных с впервые выявленными метастазами РМЖ может быть до 10% подходящих под такую концепцию лечения [3], однако, в настоящее время, при проведении надлежащего анализа в соответствии с критериями современных онкологических возможностей следует ожидать пересмотра данного показателя очевидно в большую сторону. Предположение о возможной эффективности локальных подходов было основано на наблюдениях, которое заключалось в более частом прогрессировании по уже определявшимся олигометастазами, нежели в виде появления новых. В последние годы, когда современные подходы системного противоопухолевого лечения улучшили контроль

за микрометастазами рака молочной железы и увеличили показатели выживаемости без прогрессирования, в большом количестве наблюдений долгоживущих пациенток отмечается добавление агрессивного локального воздействия к рекомендованной лекарственной терапии. С совершенствованием линейных ускорителей электронов, планирующих систем, а вследствие этого — представлений врачей-радиотерапевтов о своих возможностях — одним из основных вариантов, предлагаемых пациентам с олигометастатической болезнью локальных воздействий стала экстракраниальная стереотаксическая радиотерапия (ЭСРТ, stereotactic body radiation therapy, SBRT).

К настоящему времени увидел свет ряд исследований, посвящённых применению данной методики у больных РМЖ. Серия таких работ была выпущена коллективом учёных Университета Рочестера [4–6]. Одной из них стал анализ результатов двух вариантов лечения женщин с олигометастатическим РМЖ [5], показавший обнадеживающие результаты: 4-летний показатель общей выживаемости (ОВ), равный 59%, и 4-летний показатель выживаемости без признаков прогрессирования процесса (ВБП), равный 38%. Показатель же локального контроля метастазов, подвергнутых лучевой терапии, составил почти 90%. Медиана показателя ВБП составила 23 мес, ОВ — не была достигнута (прогнозируемый по модели Каплана-Майера показатель >40 мес). Лучшие результаты были получены при метастатическом поражении только костей скелета, облучении солитарного метастаза, а также, метастазов в состоянии стабилизации или частичной регрессии [5], кстати, в исследовании, посвящённом резекции метастазов РМЖ в печени, благоприятными факторами стали положительный рецепторный статус, ответ на предшествующую химиотерапию, меньшее количество и размеры метастазов, а также более длительный период без проявлений болезни [7]. Основываясь на этих и других исследованиях, авторы мета-анализа [8] указывают на заметно лучшие показатели выживаемости при использовании ЭСРТ у больных олигометастатическим РМЖ, нежели при других первичных опухолях — что, впрочем, может быть в большей степени заслугой системной противоопухолевой терапии.

В другом крупном исследовании изучались возможности использования ЭСРТ при олигометастатическом РМЖ или олигопрогрессировании РМЖ [9]. В ретроспективный анализ были включены 46 пациенток [70% — с олигометастазами (не более 3), 30% — с олигопрогрессированием РМЖ (1 прогрессирующий очаг)] с 58 отдельными метастазами (по 19 — в костях,

лёгких и печени, 1 — в надпочечниках), подвергнутыми ЭСРТ с января 2002 по июль 2019 г. (в большинстве — в 2017–2018 гг.). Двухлетние показатели локального контроля (ЛК), ВБП и ОВ составили 89%, 17% и 62% соответственно. Для показателя ВБП важным фактором оказался солитарный характер метастатического процесса ($p=0,022$), для ОВ — меньший возраст пациентки на момент лечения ($p=0,041$). У 9 больных (15,5%) были зафиксированы проявления лучевой токсичности I, у 1 (1,7%) — II степени.

При этом всё растущая частота использования ЭСРТ в лечении олигометастатических больных (и в частности, РМЖ) затрудняет разработку дизайна и выполнение проспективных клинических исследований, потому что в большинстве центров стран, являющихся движущим ядром онкологической и радиотерапевтической науки, ЭСРТ уже используется как рутинная опция. Так, в крупном интернациональном опросе радиационных онкологов было установлено, что 83% специалистов уже предлагали ЭСРТ олигометастатическим пациентам, а ещё половина из оставшихся планировали начать использовать данный подход в ближайшие 3 года [10].

Научному обществу доступны две работы, посвящённые ЭСРТ метастазов РМЖ в печени. Первая из них была выпущена в 2017 г. итальянскими авторами [11]. В неё были включены 23 пациентки с 33 метастазами, лучевое лечение которых было выполнено с 2010 по 2014 гг. Была использована схема с 3 фракциями, суммарная очаговая доза (СОД) варьировала от 56,25 до 75 Гр, причём в облучении 2/3 метастазов был использован именно максимальный вариант. В отношении ограничения подвижности печени в рамках дыхательного цикла авторами исследования были использованы 4-мерная компьютерная томография (4D-СТ) или абдоминальная компрессия. С медианой наблюдения в 24 (3–59) мес продолженный рост подвергнутых ЭСРТ метастазов был выявлен у 3 (13,1%) пациенток из 23. Однолетний показатель ЛК составил 96%, 2-летний — 87%, ОВ — 92 и 66% соответственно. При одновариантном анализе период без прогрессирования болезни более 12 мес, люминальный тип опухоли и проведение лекарственной противоопухолевой терапии (хотя исходя из текста статьи складывается впечатление о том, что она проводилась всем пациенткам в исследовании) после ЭСРТ были ассоциированы с лучшими показателями ОВ, наличие метастазов вне печени — с худшими показателями ВБП.

В работе турецких учёных, увидевшей свет в 2018 г., описаны результаты ЭСРТ (с апреля 2013 по сентябрь 2017 г.) у 22 пациенток с 29 метастазами [12]. Авторы использовали 3 сеанса с СОД 54 Гр, абдоминальную компрессию

с увеличенными отступами от CTV (clinical target volume) к PTV (planning target volume). Медиана продолжительности наблюдения составила 16 (4,4–59,4) мес, 1- и 2-летние показатели ЛК — 100 и 88% соответственно, ОВ — 85 и 57% соответственно.

Материалы и методы

Мы провели ретроспективный анализ результатов ЭСРТ метастазов в печени у 25 больных РМЖ. Данное лечение было выполнено пациентам в радиотерапевтическом отделении НИИ КиЭР ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» с сентября 2012 по январь 2020 г.

Медиана возраста больных составила 53 года (43–70); 9 пациенток (36%) были младше 50 лет. У всех больных был верифицирован рак молочной железы, по молекулярным подтипам опухоли распределились следующим образом: 20 (80%) — люминальные (разделение на А и В подтипы не проведено из-за того, что у 6 пациенток неизвестен статус Ki67; однозначно известно о 2 пациентках с люминальным А подтипом, максимально возможное число — 7), из которых у 4 к моменту выполнения ЭСРТ были исчерпаны резервы доступной в тот момент гормональной терапии; 9 (36%) — Her2-позитивные; 3 (12%) — трижды-негативные. У пациенток с известным индексом пролиферативной активности Ki67 он составлял: <20% — у 16% больных, =20% — у 10%, >20% — у 74%.

У 4 (16%) пациенток на момент ЭСРТ сохранялась первичная или рецидивная опухоль молочной железы, у 14 (56%) — определялись внепечёночные метастазы 1–3 локализаций (10 — костные, 4 — лёгкие и плевра, 4 — лимфатические узлы), из которых не контролировались они только у 2 (лёгкие и лимфатические узлы).

У 7 больных (28%) ЭСРТ были подвергнуты не все метастазы, существовавшие в тот момент в печени. Причины были различными: во-первых, у ряда пациентов ЭСРТ были подвергнуты только неконтролируемые текущим специфическим лечением метастазы («олигопрогрессирование») при наличии других, отвечающих на данное лечение стабилизацией или частичной регрессией; во-вторых, у ряда пациенток при первом же контрольном обследовании после ЭСРТ было подтверждено наличие тех очагов в печени, которые при обследовании перед ЭСРТ не были расценены как метастатические. При этом «активные», то есть неконтролируемые метастазы в печени, не подвергнутые ЭСРТ, определялись лишь у 3 больных (12%).

У 6 пациенток ЭСРТ была выполнена как первый метод лечения в отношении метастазов в печени (в том числе при продолжении прежней линии системной терапии, на которой и было зафиксировано прогрессирование). У 8 (32%) больных ЭСРТ были подвергнуты метастазы в состоянии стабилизации или частичной регрессии на фоне предшествующего лекарственного противоопухолевого лечения, у 17 (68%) на фоне их роста или появления. Медиана периода времени от выявления подвергнутого ЭСРТ метастаза до собственно выполнения его облучения составила 1,8 (0,3–94,2) мес.

У 14 пациенток (56%) курс ЭСРТ был проведён в комбинации с конкурентной системной терапией. В 7 случаях это был вариант гормональной терапии, в 3 — таргетной терапии, в 2 — химиотерапии, по одному — химиотаргетной и гормонотаргетной терапии.

Всего у 25 пациенток ЭСРТ были подвергнуты 43 метастаза. Таким образом, среднее их количество у одной пациентки составило 1,7 метастаза. У 18 (72%) больных был облучён лишь один метастаз, у 5 (20%) — два или три, у 2 (8%) — более трёх. Медиана размеров данных метастазов составила 18 (3–92) мм.

Всем больным курс ЭСРТ был выполнен за 3 сеанса в течение 3–9 дней. У 3 (12%) пациенток СОД составила 30 Гр, у 4 (16%) — 36 Гр, у 18 (72%) — 45 Гр.

В нашем исследовании у 12 (48%) пациенток был использован подход выполнения облучения с задержкой дыхания на вдохе под контролем системы RPM (Real-time Position Management™), в то время облучение остальных пациентов было выполнено на свободном дыхании с ограничением его экскурсии.

Результаты

На момент анализа ретроспективных данных живы 12 пациенток с медианой продолжительности жизни — 22,2 мес (7,4–86,8), умерли — 13 больных с медианой продолжительности жизни после ЭСРТ — 21,2 мес (5,7–66,3), из них в первый год — только 4 (16%). Причиной смерти лишь у 4 из этих 13 стали метастазы в печени, у 7 — вне печени, у 1 — сочетание этих причин, ещё у 1 — сердечная недостаточность как побочный эффект химиотерапии. 8 (32%) пациенток фактически пережили 3 года, 4 из них (16%) — 5 лет.

Лишь в отношении одного метастаза из подвергнутых ЭСРТ 43 был зафиксирован продолженный рост. Через 2,6 мес по месту жительства была выполнена контрольная магнитно-резонансная томография (МРТ), в заключении которой были указаны размеры, равные 31×20 мм; исследование не было предоставлено пациентке на электронном носителе. При этом по данным МРТ, выполненной за 2 недели до начала курса ЭСРТ, размеры очага составляли 23×24×18 мм; через 3 недели после окончания — 25×20 мм (при этом описано и появление новых очагов в печени). Далее обследование выполнялось с помощью ультразвукового исследования (УЗИ), поэтому мы провели ретроспективную оценку размеров данного очага: 30×24 мм (7 нед до ЭСРТ), 19×16 мм (5 нед после ЭСРТ), 15×16 мм (2,4 мес после) и 26 мм (5,4 мес после, однако в описании отражено лишь: «отмечается значительное увеличение количества и размеров метастазов в печени максимально до 26 мм», а после этого в описаниях отсутствует привязка метастазов к конкретному сегменту печени). Несмотря на некоторую спорность описаний исследований, мы приняли решение считать этот метастаз неуспехом ЭСРТ, так как не можем доказать иное.

Таким образом, продолженный рост был зафиксирован лишь у 1 пациентки (4%) из 25 (и ЛК через 12 мес и далее — 96%), стабилизация — у 3 (12%), частичная регрессия — у 12 (48%), полная — у 9 (36%).

За период наблюдения у 13 больных появились новые метастазы в печени с медианой времени от ЭСРТ до их выявления равной 3,8 (0,8–25,9) мес.

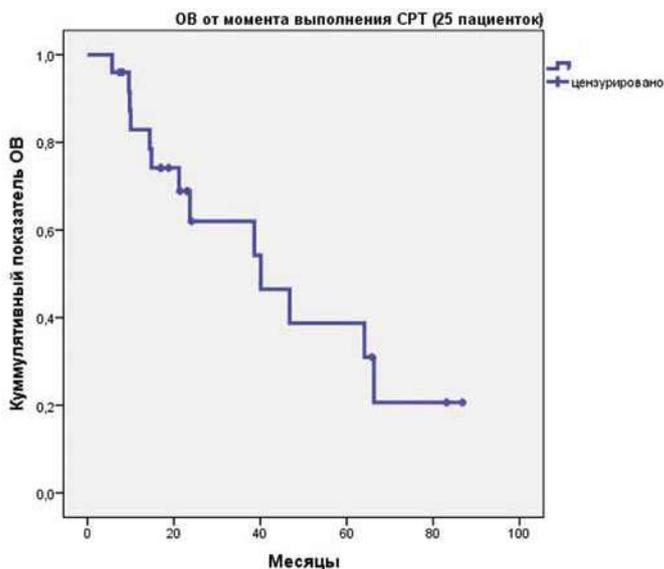


Рис. 1. ОВ от момента выполнения ЭСРТ всех пациенток

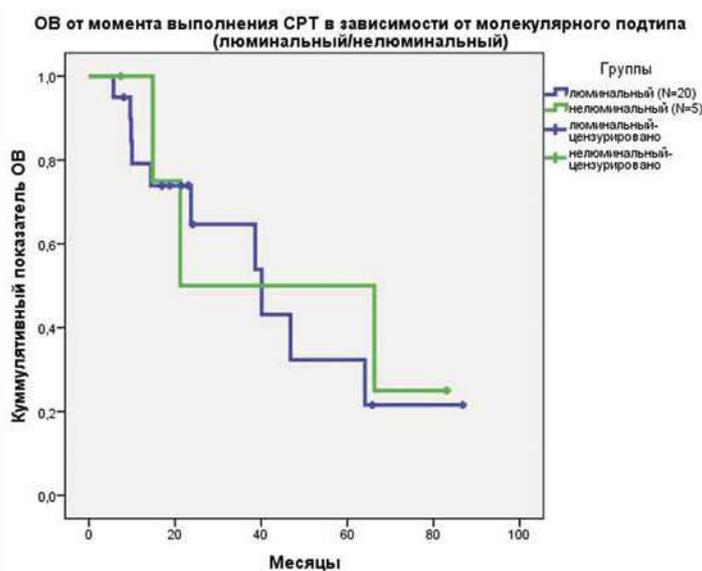


Рис. 2. ОВ от момента выполнения ЭСРТ в зависимости от люминального/нелюминального типа РМЖ

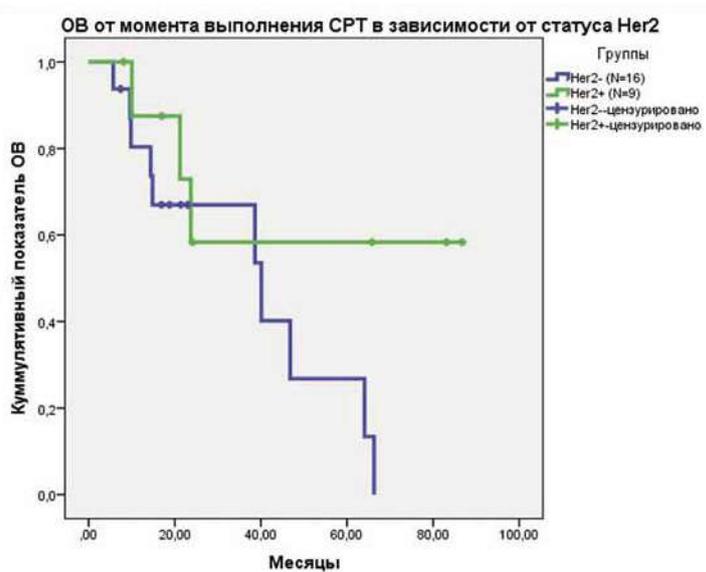


Рис. 3. ОВ от момента выполнения ЭСРТ в зависимости от HER2-статуса

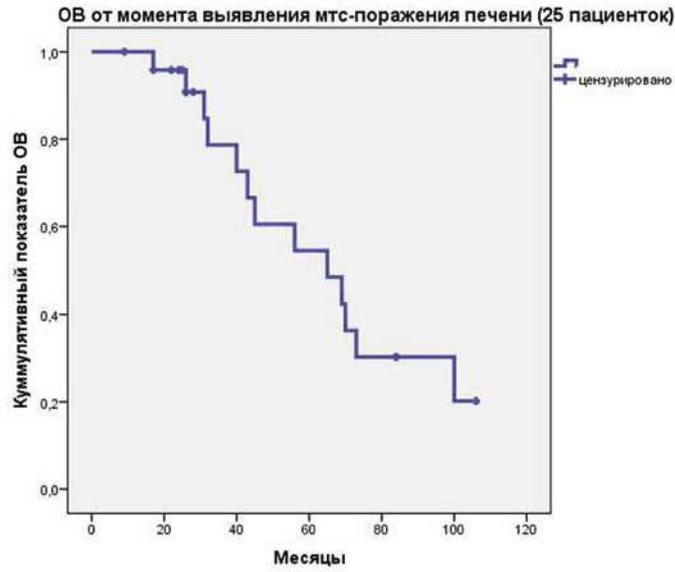


Рис. 4. ОВ от момента выявления метастатического поражения печени всех пациенток

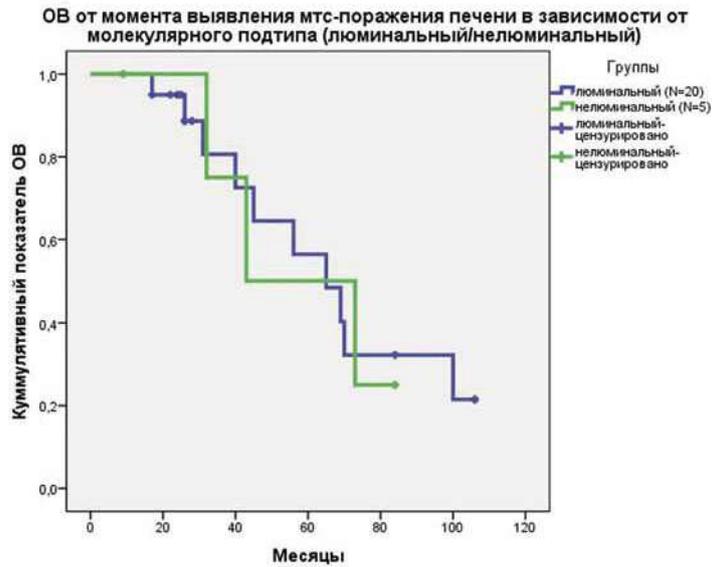


Рис. 5. ОВ от момента выявления метастатического поражения печени в зависимости от люминального/нелюминального типа РМЖ

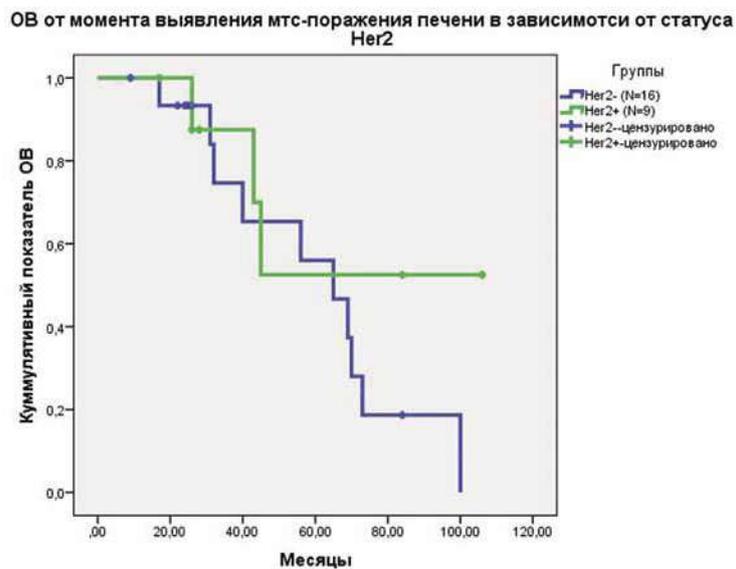


Рис. 6. ОВ от момента выявления метастатического поражения печени в зависимости от HER2-статуса

Влияние локальных методов лечения на показатели общей выживаемости и выживаемости без признаков прогрессирования процесса — предмет дискуссии и может быть доказано лишь в рамках рандомизированных исследований с надлежащим образом спланированным дизайном. С другой стороны, накопление информации о пациентах, в лечении олигометастатической болезни или олигопрогрессирования у которых была использована ЭСРТ, может послужить субстратом для выработки понимания, при каких заболеваниях и в каких клинических ситуациях следует использовать такой подход, а в каких проведение ЭСРТ грозит только рисками снижения качества жизни и ненужной тратой ресурсов. Технически вторым вариантом выглядит ситуация, когда в ближайшие месяцы после облучения небольших размеров метастазов печени в ней появляются новые метастазы (тем самым нивелируя смысл в элиминации одного и даже нескольких очагов). Однако 13 пациенток в нашем исследовании, метастазы у которых появились в разные сроки наблюдения, явно недостаточно для попытки связать риск появления оных в ближайшее время после ЭСРТ с какими-либо прогностическими факторами.

Ранее мы проанализировали ряд факторов, способных повысить вероятность появления новых метастазов печени в течение 3 и 6 мес после ЭСРТ, среди 80 больных различными злокачественными опухолями [13]. В результате данного анализа мы смогли сделать вывод о необходимости выполнения МРТ с внутривенным контрастированием в течение месяца до начала ЭСРТ, что позволяет выявить небольшие метастазы (и, вероятно, метастазы с признаками терапевтического воздействия), недоступные компьютерной томографии с внутривенным контрастированием и УЗИ, которые могли бы быть выявлены уже только после ЭСРТ.

Мы проанализировали ОВ от момента выполнения ЭСРТ во всей группе больных, а также, в зависимости от гормонального и Her2-статусов. Медиана показателя ОВ среди всех пациенток составила 40,1 мес (95% ДИ: 15,6–64,6) (рис. 1). 1-, 3- и 5-летние показатели ОВ составили 82,9%, 62% и 38,7% соответственно.

Медиана показателя ОВ у 20 больных с люминальным типом РМЖ составила 40,1 мес (95% ДИ: 17,9–62,6), у 5 с нелюминальным — 21,2 мес (95% ДИ: 0–71,7), однако различия оказались недостоверными ($p=0,718$) (рис. 2). 1-, 3- и 5-летние показатели ОВ больных с люминальным типом составили 79,2%, 64,7% и 32,3% соответственно, при нелюминальном — 100%, 50% и 50% соответственно.

Медиана показателя ОВ у 16 больных с Her2-негативным типом РМЖ составила 40,1 мес (95% ДИ: 9,8–70,4), у 9 с Her2-позитивным — оказалась не достигнутой, однако различия оказались недостоверными ($p=0,117$) (рис. 3). 1-, 3- и 5-летние показатели ОВ больных с Her2-негативным типом составили 80,4%, 67% и 26,8% соответственно, при Her2-позитивном — 87,5%, 58,3% и 58,3% соответственно.

Мы также проанализировали показатели ОВ от момента выявления метастатического поражения печени.

Медиана показателя ОВ среди всех пациенток составила 65 мес (95% ДИ: 33,5–96,5) (рис. 4). 1-, 3- и 5-летние показатели ОВ составили 100%, 78,7% и 54,5% соответственно.

Медиана показателя ОВ у 20 больных с люминальным типом РМЖ составила 65 мес (95% ДИ: 43–87), у 5 с нелюминальным — 43 мес (95% ДИ: 2,8–83,2), однако различия оказались недостоверными ($p=0,937$) (рис. 5). 3- и 5-летние показатели ОВ больных с люминальным типом составили 80,6% и 56,4% соответственно, при нелюминальном — 75% и 50% соответственно.

Медиана показателя ОВ у 16 больных с Her2-негативным типом РМЖ составила 65 мес (95% ДИ: 44,4–85,6), у 9 с Her2-позитивным — оказалась не достигнутой, однако различия оказались недостоверными ($p=0,195$) (рис. 6). 3- и 5-летние показатели ОВ больных с Her2-негативным типом составили 74,7% и 56% соответственно, при Her2-позитивном — 87,5% и 52,5% соответственно.

Лучевые повреждения

Наиболее частыми жалобами в течение курса ЭСРТ были тошнота (9, 36%), боли / чувство дискомфорта в брюшной полости / спине (7, 28%), озноб (3, 12%), общая слабость (2, 8%), изменения вкусовых ощущений (горечь, металлический привкус (2, 8%), рвота, артериальная гипертензия, сонливость (по 1 случаю, 4%). Стоит отметить, что в большинстве случаев максимальная острота этих реакций наблюдалась вечером после первого сеанса ЭСРТ и плавно снижалась к третьему.

Как уже было указано ранее, лишь в одном случае острая лучевая токсичность была настолько выражена, что не позволила реализовать курс СРТ в запланированные сроки.

Из поздних лучевых повреждений нами были выявлены и ассоциированы (как минимум, в качестве одного из возможных факторов развития) с ЭСРТ 1 случай изъязвления слизистой желудка (небольшая язва до 5×7 мм спустя более чем 2,5 года химиотерапии капецитабином, купирована консервативной терапией).

ей, не рецидивировала; при этом период без проявлений болезни у пациентки составляет уже 83 мес) и 1 фиброза подкожной-жировой клетчатки в проекции входа пучков ионизирующего излучения. Ещё один случай развития язвы желудка не подлежал ассоциации с проведённой ЭСРТ, так как язва развилась в области стенки желудка, не только не получившей хоть сколь-нибудь значимую дозу, но и максимально далеко расположенной от объёма облучения (то есть более логичным было бы развитие язвы в других её участках). Таким образом, несмотря на относительно высокую формальную частоту развития лучевых повреждений (8%), ни один из 2 случаев не может считаться значимыми с точки зрения продолжительности жизни и даже её качества.

Обсуждение

ЭСРТ при олигометастатических формах болезни и олигопрогрессировании является, возможно, самой противоречивой составляющей комплексного подхода к таким ситуациям в медицинских учреждениях Российской Федерации. С одной стороны, есть ряд клиник, старающихся использовать ЭСРТ в максимальном количестве возможных случаев, с другой — те, где с точки зрения локальных методов элиминации отдельных очагов рассматривается лишь хирургический метод (который имеет значимо больше ограничений у метастатических пациентов, чем ЭСРТ), и те, где пациент с любым количеством метастазов рассматривается как кандидат лишь на системные методы терапии.

В настоящее время мы не вправе утверждать, что ЭСРТ является обязательной частью комплексного лечения больных олигометастатическим РМЖ, в том числе, с метастазами в печени. Для того, что это лечение стало частью стандартов и клинических рекомендаций, нужны огромные исследования III фазы, в которых по отдельности будут рассмотрены пациентки с различными молекулярными подтипами с учётом факторов возраста, предлеченности, количества и локализации метастазов и т. д. Другим вариантом может быть признание всего научного и клинического сообщества необходимости такого рода комплексного подхода, но его нельзя будет претворить в жизнь без согласия стороны, оплачивающей лечение (то есть, чаще всего, страховых компаний). Нужно учитывать существенное удорожание стоимости лечения больных с олигометастазами, так как ЭСРТ справедливо рассматривается не как замена необходимой пациентке противоопухолевой терапии, а как дополнение к ней. Доказать возможность снижения расходов на лечение или возможность

выбора более мягкой схемы системной терапии за счёт применения ЭСРТ — самостоятельный огромный труд, ничуть не меньший, чем требуется для подтверждения достоверного положительного влияния ЭСРТ на показатели ОВ у «олигометастатических» и «олигопрогрессирующих» больных.

Если же сосредоточиться на конкретных выводах представленной работы, то наше внимание обратил на себя факт использования зарубежными коллегами больших СОД (в диапазоне 54–75 Гр) при том же режиме фракционирования, нежели наши 30–45 Гр [11, 12]. Учитывая схожие показатели ЛК в нашем и зарубежных исследованиях и тот факт, что СОД 54 Гр достаточна для достижения высоких показателей ЛК метастазов колоректального рака, которые предположительно являются самыми резистентными к ЭСРТ [14–18], то можно высказать предположение о чрезмерности используемых зарубежными коллегами доз ионизирующего излучения. На наш взгляд, достаточными являются 3 сеанса по 15 Гр (до СОД 45 Гр), и преимущество этой более мягкой схемы заключается даже не в меньшей ожидаемой частоте развития лучевых повреждений (которая больше зависит от локализации метастаза и близости к нему критических структур, нежели от формальной дозы, подведённой в метастаз), а в больших возможностях проведения последующих курсов ЭСРТ на метастазы в органах, расположенных на уровне верхних этажей брюшной полости (печень, надпочечники, нижние доли лёгких, лимфатические узлы брюшной полости и забрюшинного пространства, позвонки и рёбра, а также более экзотические варианты) при повторении ситуации с олигометастазами или олигопрогрессированием.

Анализ клинических результатов применения технологии лучевой терапии с задержкой дыхания на вдохе не был проведён в анализируемой группе больных из-за крайне высоких показателей локального контроля и относительно низких — частоты развития лучевых повреждений, а также небольшого суммарного количества пациенток. Тем не менее, по аналогии с метастазами в печени опухолей других локализаций (в частности, колоректального рака), где использование вышеуказанной технологии повышает возможность применения терапевтически значимых высоких СОД, мы рекомендуем для клинического применения именно задержку дыхания на вдохе, а не метод 4D-СТ или механическое ограничение экскурсии диафрагмы.

В целом, экстракраниальная стереотаксическая радиотерапия может быть рекомендована для использования в клинической практике

can be converted into improved overall survival and survival rates without signs of progression of the process.

Purpose of the study: to evaluate the efficacy and tolerability of stereotactic radiotherapy in patients with breast cancer metastases in the liver.

Materials and Methods: We have analyzed the results of using stereotactic radiotherapy in 25 breast cancer patients with 43 liver metastases. The treatment was carried out in 3 fractions with a fraction dose of 10–15 Gy and a total dose of 30–45 Gy.

Results: Growth of the irradiated lesions was recorded only in 1 case out of 43 metastases (2.3%) and 25 (4%) patients. 1-,

3- and 5-year overall survival rates from the moment of stereotactic radiotherapy were 82.9%, 62% and 38.7%, respectively. Long-term post-radiation adverse events were observed in 8% of cases and did not have a significant effect on the quality of life and the possibility of antitumor treatment.

Conclusions: stereotactic radiotherapy can be recommended as a relatively safe and highly effective method of elimination of breast cancer liver metastases. Taking into account the high achieved local control, further studies on dose escalation in this group of patients are not required.

Key words: stereotactic body radiotherapy, breast cancer, metastatic liver disease, oligometastases, oligoprogression

*А.Ю. Зозуля, И.А. Балдуева, С.Н. Новиков, Д.В. Гирдюк, Н.В. Емельянова,
Е.И. Тюряева, Е.А. Федосова, Ф.Е. Антипов, А.И. Арсеньев, И.А. Коробова,
М.М. Гиришович, С.В. Канаев, А.М. Беляев*

Характер изменения иммунного статуса у пациентов с метастатическими формами солидных опухолей, подвергшихся стереотаксической лучевой терапии: зависимость от дозы и количества облученных очагов

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

Цель. Изучение динамики иммунного статуса у пациентов метастатическими формами солидных опухолей до и в различные сроки после стереотаксической лучевой терапии (СТЛТ) на метастатические очаги в зависимости от дозы и количества облученных очагов.

Материалы и методы. Произведена количественная оценка и сравнительный анализ иммунологических показателей крови до облучения, через 3–4 нед и через 6–8 нед после осуществления СТЛТ у больных со злокачественными новообразованиями, имеющими олигометастазы в печени и/или легких, в группах с суммарной очаговой дозой (СОД) менее 46 Гр и СОД > 45 Гр, а также при облучении одного очага или двух и более. Все образцы периферической крови анализировали методом проточной цитометрии. Статистический анализ проводили с использованием критериев Фридмана и Немени.

Результаты. В динамике, преимущественно через 3–4 нед после СТЛТ, при использовании более высоких доз (СОД > 45 Гр) определяется статистически значимое повышение содержания Т-лимфоцитов (CD3⁺CD19⁺); Т-хелперов (CD3⁺CD4⁺); активированных Т-хелперов (CD3⁺CD4⁺HLA-DR⁺); активированных цитотоксических Т-лимфоцитов (CD3⁺CD8⁺HLA-DR⁺). Снижение В-лимфоцитов (CD3⁺CD19⁺) наблюдалось в обеих дозовых группах (СОД < 46 Гр и СОД > 45 Гр). Также мы отмечали активацию Т-клеточного звена иммунитета как в группе с облучением одного очага, так и в группе, где облучению были подвержены 2 и более метастазов.

Выводы. Использование более высоких доз СТЛТ ассоциировано с более выраженным противоопухолевым Т-клеточным иммунным ответом, в то время как анализ групп пациентов с различным количеством облученных очагов на настоящий момент требует дальнейшего исследования.

Ключевые слова: метастатический опухолевый процесс, стереотаксическая лучевая терапия (СТЛТ), суммарная очаговая доза (СОД), количество облученных метастазов, иммунный статус, активация Т-лимфоцитов

В настоящее время имеются объективные данные, указывающие на то, что стереотаксическая лучевая терапия (СТЛТ) вызывает не только локальные эффекты в области опухолевой ткани, но и индуцирует системный противоопухолевой ответ, вероятно, опосредованный иммунными механизмами [1, 2]. Исследование, выполненное нами ранее [3], показало, что проведение СТЛТ у пациентов с метастатическими формами солидных опухолей ассоциировано с активацией Т-клеточного иммунного ответа, которая проявляется увеличением Т-лимфоцитов (CD3⁺CD19⁺); Т-хелперов (CD3⁺CD4⁺); активированных Т-хелперов (CD3⁺CD4⁺HLA-DR⁺) и активированных цитотоксических Т-лимфоцитов (CD3⁺CD8⁺HLA-DR⁺) на фоне снижения активности антителопродуцирующих клеток (CD3⁺CD19⁺). Интересно, что наиболее выраженные, статистически значимые изменения показателей иммунного статуса отмечались через 3–4 нед после завершения СТЛТ [3].

Вместе с тем, вопрос о взаимосвязи между изменениями иммунного статуса, объемом облучения, величиной суммарной очаговой дозы и режимом фракционирования остается малоизученным. В связи с этим, мы изучили динамику иммунного статуса больных в зависимости от режима подведения дозы и количества метастатических очагов, облученных с помощью СТЛТ.

Материалы и методы

В исследование включено 30 пациентов (20 женщин и 10 мужчин) с метастатическими формами солидных опухолей (средний возраст 59,1 лет [95% ДИ 54,4–63,7]), которые проходили лечение в отделении радиотерапии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России. У всех больных производилась оценка иммунного статуса

до и в различные сроки после завершения СТЛТ на метастатические очаги, локализованные в печени или в легком. Критериями исключения были анамнестические сведения и данные лабораторных исследований, свидетельствующие об имеющейся гематологической патологии. В анализ включены результаты, полученные у 30 пациентов со злокачественными новообразованиями различных локализаций с метастатическим поражением печени или легких: колоректальным раком (n=15), раком молочной железы (n=6), мелкоклеточным раком легкого (n=2), саркомой мягких тканей (n=2), раком околоушной слюной железы (n=2), меланомой (n=1), раком пищевода (n=1), раком простаты (n=1).

Стереотаксическая лучевая терапия выполнялась на линейном ускорителе электронов «Novalis Tx» (EX=6 МэВ). Облучение метастатических очагов в легких проводили в режимах: 4 фракции по 13,5 Гр или 3 фракции по 20 Гр. СТЛТ метастатических очагов в печени проводилась за 3 фракции по 15 Гр или 3 фракции по 20 Гр. У каждого больного СТЛТ использовалась для облучения от одного до трех метастатических очагов.

В зависимости от дозы облучения нами были выделены группы пациентов с использованием суммарной очаговой дозы (СОД) 46 Гр и менее (n=15) и СОД >45 Гр (n=15).

В зависимости от количества облученных очагов проанализированы показатели иммунного статуса в группе с облучением одного метастатического очага (n=18) в сравнении с группой с облучением 2 и более метастатических очагов (n=12).

Оценка иммунологических показателей производилась в 3 контрольных точках: до начала лучевого лечения (точка 1), через 3–4 нед (точка 2) и через 6–8 нед (точка 3) после его завершения. При определении иммунологического статуса анализировалось содержание основных субпопуляций лимфоцитов в периферической крови с помощью метода проточной цитометрии на цитофлюориметре FACS Canto™ II (BD Bioscience, США). Для обработки данных использовали программное обеспечение BD FACSDiva (версия v 8.0.1). Оценивали изменения количества Т-лимфоцитов (CD3⁺CD19⁻); В-лимфоцитов (CD3⁻CD19⁺); Т-хелперов (CD3⁺CD4⁺); активированных Т-хелперов с различными фенотипами (CD3⁺CD4⁺HLA-DR⁺ и CD4⁺CD25⁺); цитотоксических Т-лимфоцитов (CD3⁺CD8⁺); активированных цитотоксических Т-лимфоцитов (CD3⁺CD8⁺HLA-DR⁺); NK-клеток (CD3⁻CD16⁺56⁺); NKT-клеток (CD3⁺CD16⁺56⁺); Т-регуляторных лимфоцитов (CD4⁺CD25^{bright}CD127^{low}); двойных положительных Т-лимфоцитов (CD3⁺CD4⁺CD8⁺); двойных отрицательных Т-лимфоцитов (CD3⁺CD4⁻CD8⁻); иммунорегуляторного индекса (CD4⁺/CD8⁺). Для более удобной и наглядной интерпретации результатов исследо-

вания построены визуальные ряды, которые характеризуют динамику показателей иммунного статуса.

Систематизацию, статистический анализ и визуализацию данных проводили с помощью R v. 3.6.2. Для определения статистически значимых различий в динамике изменения показателей применяли критерий Фридмана [4]. В качестве апостериорного теста для множественных попарных сравнений использовали критерий Немени [5]. Различия считались статистически значимыми при p<0,05.

Результаты

При исследовании Т-лимфоцитов (CD3⁺CD19⁻) у пациентов с распространенными формами солидных опухолей с использованием дозы более 45 Гр выявлено статистически значимое увеличение количества Т-лимфоцитов (CD3⁺CD19⁻) через 3–4 нед после облучения [χ^2 Фридмана = 8,4; p = 0,015; попарное p = 0,022]. При этом, весьма интересен тот факт, что при использовании СОД < 46 Гр, статистически значимых изменений в содержании Т-лимфоцитов не наблюдалось (рис. 1). Схожая картина была обнаружена и при исследовании Т-хелперов (CD3⁺CD4⁺). Так, при использовании СОД > 45 Гр наблюдалась тенденция к увеличению общего количества клеток этой субпопуляции [χ^2 Фридмана = 6,2; p = 0,046, попарное p = 0,058] через 3–4 нед после облучения в сравнении с исследованием, выполненным до проведения СТЛТ. В случае применения доз ≤ 45 Гр, статистически значимых изменений в содержании Т-хелперов обнаружено не было (рис. 2).

Отмечалось статистически значимое повышение содержания активированных Т-хелперов через 3–4 нед после завершения лучевой терапии и дальнейшее увеличение показателей данной субпопуляции через 6–8 нед после окончания СТЛТ как в группе с СОД > 45 Гр [χ^2 Фридмана = 12,1; p = 0,002; попарное p = 0,005 и 0,001 соответственно], так и в группе с СОД < 46 Гр (рис. 3) [χ^2 Фридмана = 19,7; p = 0,001; попарное p = 0,001 и 0,001 соответственно].

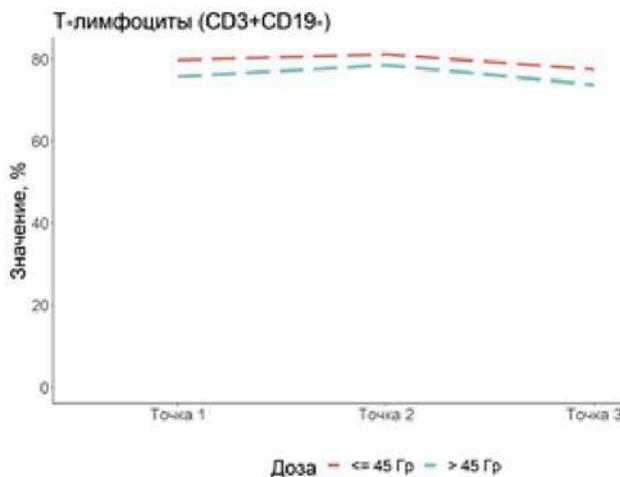


Рис. 1. Динамика (визуальный ряд) содержания Т-лимфоцитов при различных СОД (медианы значений)

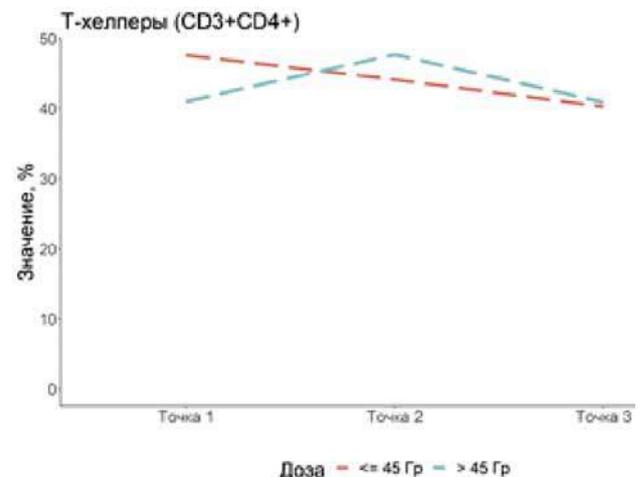


Рис. 2. Динамика (визуальный ряд) содержания Т-хелперов при различных СОД (медианы значений)

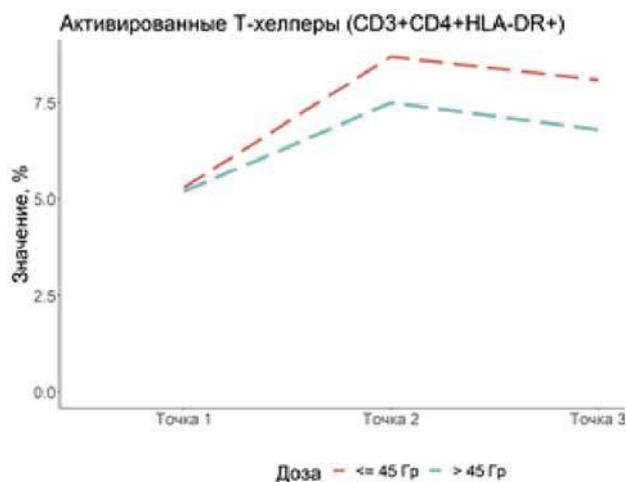


Рис. 3. Динамика (визуальный ряд) содержания активированных Т-хелперов при различных СОД (медианы значений)

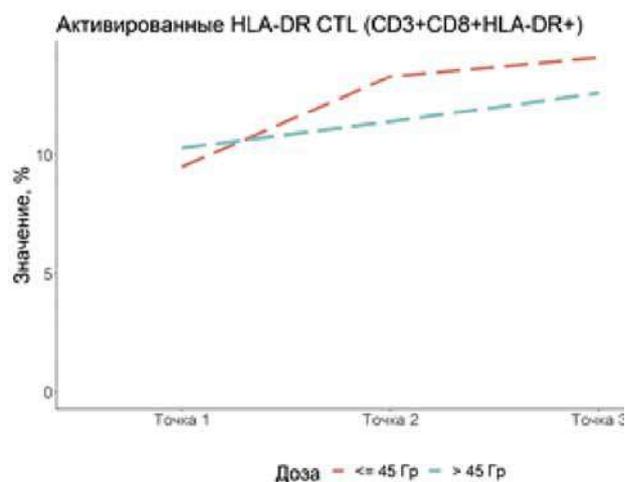


Рис. 4. Динамика (визуальный ряд) содержания активированных цитотоксических Т-лимфоцитов при различных СОД (медианы значений)

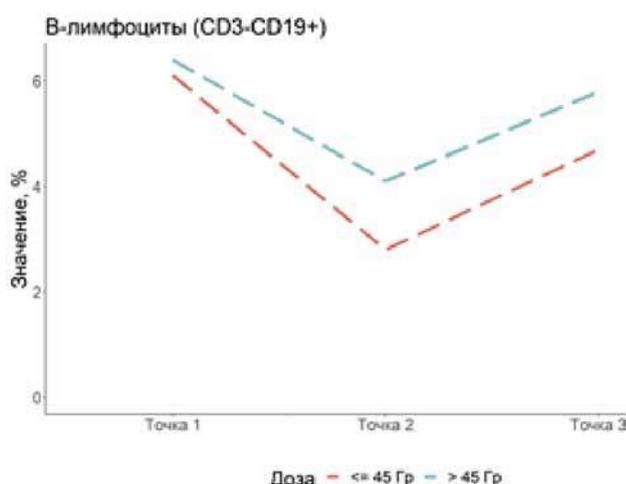


Рис. 5. Динамика (визуальный ряд) содержания В-лимфоцитов при различных СОД (медианы значений)

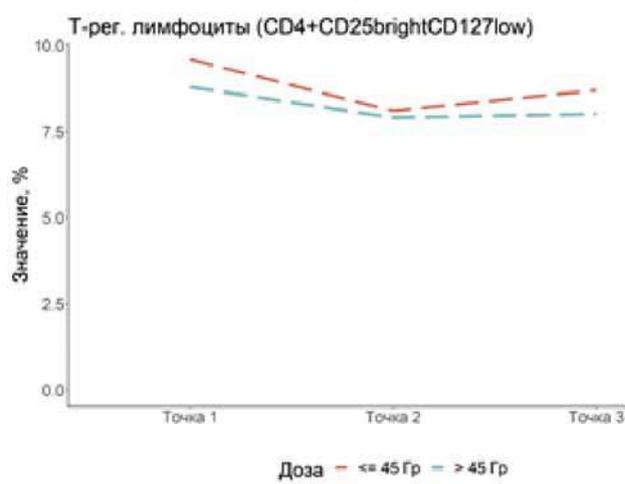


Рис. 6. Динамика (визуальный ряд) содержания Т-регуляторных лимфоцитов при различных СОД (медианы значений)

Достаточно интересна картина динамики активированных цитотоксических Т-лимфоцитов (CD3⁺CD8⁺HLA-DR⁺). При использовании СОД < 46 Гр нами было отмечено статистически значимое повышение клеток данной субпопуляции как через 3–4 нед после СТЛТ, так и через 6–8 нед после лучевого воздействия [χ^2 Фридмана = 10; $p = 0,007$; попарное $p = 0,002$ и $0,002$ соответственно]. При этом, статистически значимых изменений в клетках с фенотипом CD3⁺CD8⁺HLA-DR⁺ при СОД > 45 Гр не было зафиксировано (рис. 4).

Помимо этого, наблюдалось снижение количества В-лимфоцитов (CD3⁺CD19⁺) через 3–4 нед и через 6–8 нед после СТЛТ по сравнению с иммунологическими показателями до проведения радиотерапии в группе СОД < 46 Гр [χ^2 Фридмана = 16,3; $p = 0,001$; попарное $p = 0,001$ и $0,02$ соответственно]. В случае использования более высоких доз (>45 Гр), мы наблюдали статистически значимое снижение В-лимфоцитов только через 3–4 нед после лучевого воздействия [χ^2 Фридмана = 16,1; $p = 0,001$; попарное $p = 0,001$] (рис. 5). Весьма привлекательными в свете противоопухолевого иммунного ответа видятся графики,

полученные при исследовании Т-регуляторных лимфоцитов, обладающих супрессивной функцией. Хотя нами и не получено статистически значимых изменений в данной субпопуляции, тенденция к снижению очевидна (рис. 6).

Статистически значимых изменений остальных показателей иммунного статуса у пациентов в группах (СОД < 46 Гр и СОД > 45 Гр) нами не выявлено.

При анализе показателей иммунного статуса в зависимости от количества облученных очагов мы обнаружили статистически значимое увеличение количества Т-лимфоцитов (CD3⁺CD19⁺) через 3–4 нед после радиотерапии как в группе, где был облучен один очаг (группа А) [χ^2 Фридмана = 7,4; $p = 0,024$; попарное $p = 0,021$], так и в группе, где радиотерапии подверглись 2 и более метастаза (группа Б) [χ^2 Фридмана = 6,4; $p = 0,04$; попарное $p = 0,05$] (рис. 7). Интересно, что в те же временные сроки после СТЛТ в группе А мы наблюдали и увеличение количества Т-хелперов [χ^2 Фридмана = 7,2; $p = 0,02$; попарное $p = 0,03$], чего не происходило в группе с облучением 2 и более очагов (рис. 8).

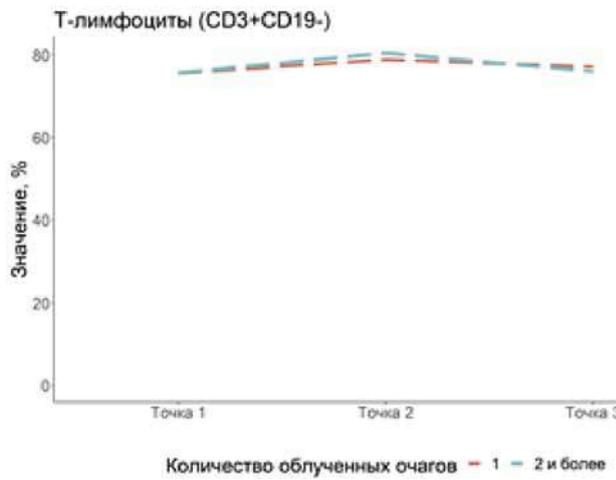


Рис. 7. Динамика (визуальный ряд) содержания Т-лимфоцитов в зависимости от количества облучаемых очагов (медианы значений)

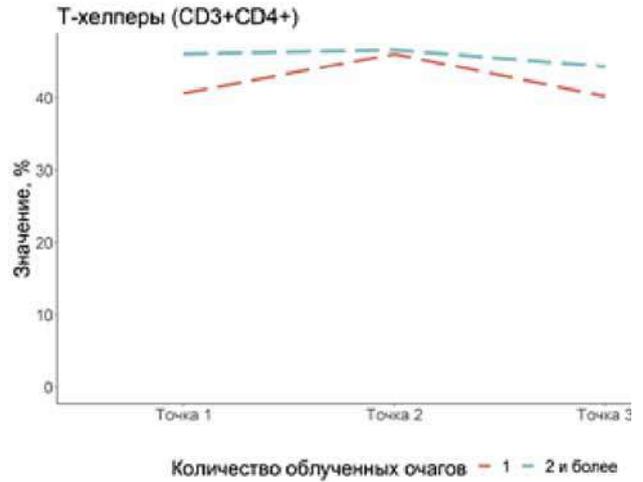


Рис.8. Динамика (визуальный ряд) содержания Т-хелперов в зависимости от количества облучаемых очагов (медианы значений)

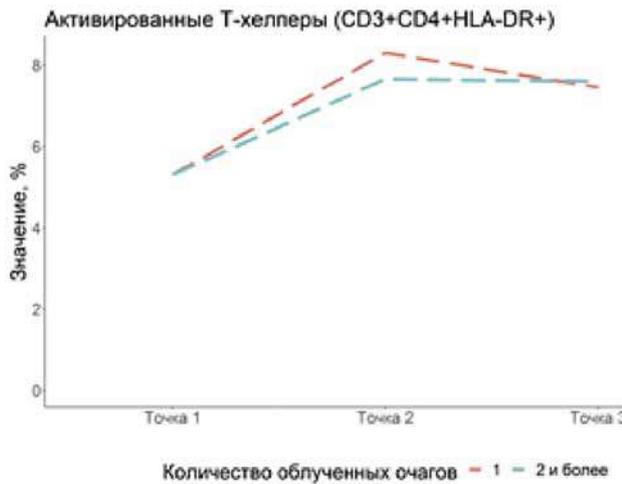


Рис. 9. Динамика (визуальный ряд) содержания активированных Т-хелперов в зависимости от количества облучаемых очагов (медианы значений)

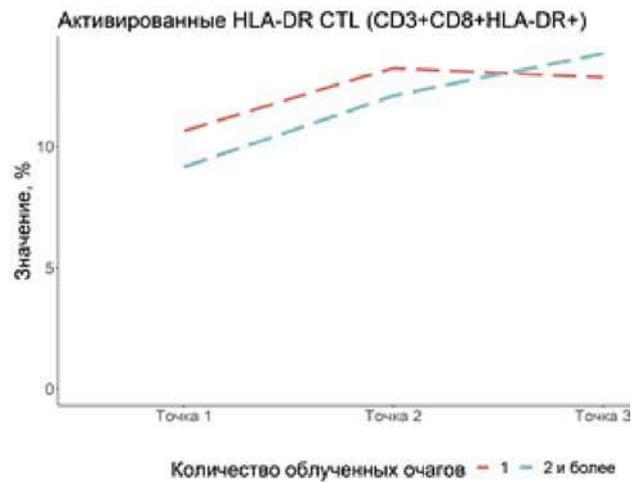


Рис. 10. Динамика (визуальный ряд) содержания активированных цитотоксических Т-лимфоцитов в зависимости от количества облучаемых очагов (медианы значений)

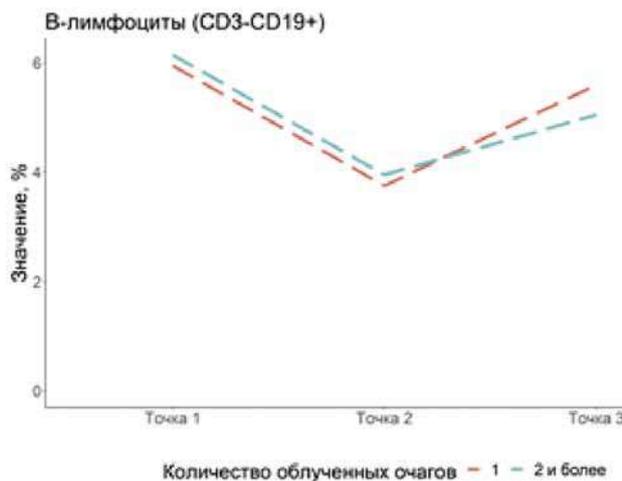


Рис. 11. Динамика (визуальный ряд) содержания активированных В-лимфоцитов в зависимости от количества облучаемых очагов (медианы значений)

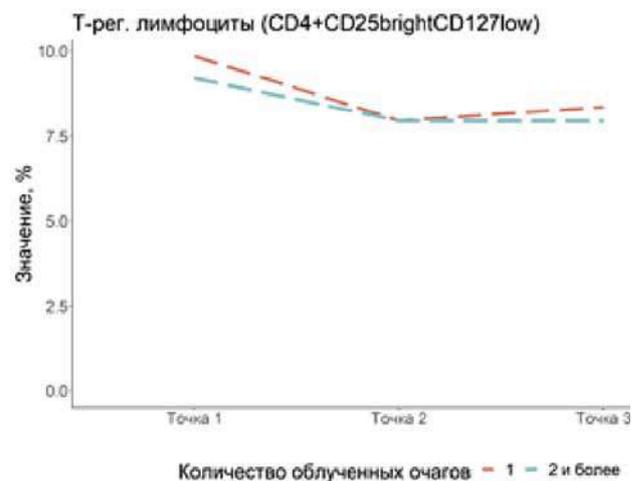


Рис. 12. Динамика (визуальный ряд) содержания Т-регуляторных лимфоцитов в зависимости от количества облучаемых очагов (медианы значений)

Также нами было зафиксировано увеличение содержания активированных Т-хелперов (CD3⁺CD4⁺HLA-DR⁺) в обеих группах через 3–4 нед и через 6–8 нед после облучения в сравнении со значениями, полученными до начала СТЛТ (рис. 9) [группа А - χ^2 Фридмана = 22,3; $p = 0,001$; попарное $p = 0,001$ и $0,001$ соответственно; группа Б - χ^2 Фридмана = 10,5; $p = 0,005$; попарное $p = 0,04$ и $0,006$ соответственно]. Помимо этого, статистически значимые изменения наблюдали в содержании активированных цитотоксических Т-лимфоцитов. Так, при облучении одного метастатического очага через 3–4 нед после СТЛТ по сравнению с исследованием до радиотерапии отмечалось статистически значимое увеличение показателей данной субпопуляции [χ^2 Фридмана = 8,7; $p = 0,012$; попарное $p = 0,013$] с их постепенным недостоверным снижением к 6–8 нед. Напротив, при облучении двух и более очагов отмечена тенденция к постепенному росту лимфоцитов с фенотипом CD3⁺CD8⁺HLA-DR⁺ к 3–4 нед и статистически значимое увеличение активированных цитотоксических Т-лимфоцитов через 6–8 нед после завершения СТЛТ (рис. 10) [χ^2 Фридмана = 6,5; $p = 0,038$; попарное $p = 0,038$].

Кроме того, мы наблюдали статистически значимое снижение В-лимфоцитов в группе А (с облучением 1 очага) как через 3–4 нед, так и через 6–8 нед после СТЛТ в сравнении с показателями до облучения [χ^2 Фридмана = 17,01; $p = 0,001$; попарное $p = 0,001$ и $0,04$ соответственно]. В группе Б (облучены два и более очага) было зафиксировано статистически значимое снижение клеток гуморального иммунитета только через 3–4 нед после радиотерапии [χ^2 Фридмана = 15,2; $p = 0,001$; попарное $p = 0,001$] (рис. 11). По аналогии с дозозависимыми группами, при облучении одного или нескольких метастатических очагов мы также наблюдали тенденцию (статистически незначимую) к снижению Т-регуляторных лимфоцитов.

Обсуждение

Как известно из данных литературы, противоопухолевый иммунный ответ реализуется в основном за счет следующих механизмов: усиленного высвобождения различных опухолево-ассоциированных антигенов и эффекторных молекул (HMGB-1), появления молекулярных фрагментов, ассоциированных с повреждениями опухолевых клеток (DAMPs), активации молекул главного комплекса гистосовместимости (HLA) I класса, продукции интерферона I типа и индукции иммуногенной смерти клеток [6]. Кроме того, следует отметить, что облучение оказывает влияние на сосуды, строму опухоли,

стволовые опухолевые клетки [7]. Вышеуказанные события приводят к активации антигенпрезентирующих клеток и различных субпопуляций Т-лимфоцитов, которые, в конечном итоге, могут привести к гибели опухолевых клеток как в зоне облучения, так и в необлученных очагах [8].

На сегодняшний день происходит активная дискуссия в отношении влияния дозы СТЛТ на выраженность системных иммунологических эффектов радиотерапии. Клинические данные, позволяющие напрямую сравнивать разные дозы и фракции, отсутствуют. Однако, использование режимов гипофракционирования с разовой очаговой дозой от 8 Гр и более ассоциируется с увеличением частоты возникновения абскопальных эффектов [2]. В частности, результаты мета-анализа Marconi R, Strolin S. и соавт. [9] указывают на достоверное увеличение частоты возникновения абскопальных эффектов при увеличении суммарной очаговой дозы, поглощенной опухолью. В нашей работе мы использовали более высокие дозы, поскольку достижение локального контроля было приоритетом комплексного противоопухолевого лечения.

В результате нашего исследования мы обнаружили, что при использовании более высоких доз (СОД >45 Гр) происходит более активный иммунный ответ преимущественно за счет увеличения Т-лимфоцитов (CD3⁺CD19⁺); Т-хелперов (CD3⁺CD4⁺); активированных Т-хелперов (CD3⁺CD4⁺HLA-DR⁺) и активированных цитотоксических Т-лимфоцитов (CD3⁺CD8⁺HLA-DR⁺). Показатели гуморального иммунитета снижались на фоне СТЛТ в обеих дозовых группах (СОД < 46 Гр и СОД > 45 Гр), однако, при использовании СОД > 45 Гр наблюдалось более активное восстановление антителопродуцирующих клеток (CD3⁺CD19⁺).

В то же время, некоторыми авторами высказывается мнение о том, что при облучении большего количества очагов наблюдается более выраженный иммунный ответ. Так, Brooks и Chang [10] предполагают, что облучение более чем одного опухолевого очага увеличивает шанс успешного запуска противоопухолевого иммунного ответа по нескольким причинам: более массивное высвобождение и захватывание опухолевоассоциированных антигенов; стимуляция сосудистой сети опухоли; оптимизированный доступ иммунных клеток ко всей опухолевой массе; разрушение устойчивых к системному лечению субклональных популяций опухоли.

При этом, согласно данным нашего исследования, анализ показателей иммунного статуса в зависимости от количества облученных очагов не привел к столь однозначным выводам. Мы наблюдали активацию Т-клеточного звена иммунитета как в группе с облучением одного очага,

так и в группе, где облучению были подвержены 2 и более метастазов. При анализе полученных данных создается впечатление о более поздней активации Т-клеток при облучении нескольких метастазов по сравнению с радиотерапией одного очага. Возможно, такая неоднозначная картина связана с небольшим количеством наблюдений, разнородной локализацией первичной опухоли у исследуемых пациентов.

Таким образом, полученные результаты позволяют предположить, что использование более высоких доз СТЛТ ассоциировано с более выраженным противоопухолевым иммунным ответом, в то время как анализ групп пациентов с различным количеством облученных очагов на настоящий момент не позволяет представить однозначного заключения о развитии радиоиндуцированных иммунологических изменений. Безусловно, полученные данные, должны стать промежуточным этапом в дальнейших научных изысканиях по представленной тематике.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии в статье конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

- Xing D, Siva S, Hanna GG. The abscopal effect of stereotactic radiotherapy and immunotherapy: fool's gold or el dorado? Clin Oncol (R Coll Radiol). 2019;31(7):432–443. <https://doi.org/10.1016/j.clon.2019.04.006>.
- Ngwa W, Irabor OC, Schoenfeld JD et al. Using immunotherapy to boost the abscopal effect. Nat Rev Cancer 2018;18(5):313–322. <https://doi.org/10.1038/nrc.2018.6>.
- Зозуля А.Ю., Новиков С.Н., Балдуева И.А. и др. Изменение иммунного статуса у пациентов с метастатическими формами солидных опухолей на фоне стереотаксической лучевой терапии // Вопросы онкологии. 2020;66(3):277–282.
- Friedman, Milton (March 1940). «A comparison of alternative tests of significance for the problem of m rankings». The Annals of Mathematical Statistics. 11(1):86–92.
- Nemenyi P. (1963) Distribution-free Multiple Comparisons. Ph.D. thesis, Princeton University.
- Golden EB, Frances D, Pellicciotta I. et al. Radiation fosters dose-dependent and chemotherapy-induced immunogenic cell death. Oncoimmunology. 2014;3:e28518. <https://doi.org/10.4161/onci.28518>.
- Gerber SA, Sedlacek AL, Cron KR, et al. IFN-gamma mediates the antitumor effects of radiation therapy in a murine colon tumor. Am J Pathol 2013; 182:2345–2354. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2013.02.041>.
- Зозуля А.Ю., Балдуева И.А., Новиков С.Н. Иммунологические эффекты стереотаксической лучевой терапии при злокачественных новообразованиях различных локализаций: обзор литературы // Сибирский онкологический журнал. 2020;19(5):108–113.
- Marconi R, Strolin S, Bossi G, Strigari L. A meta-analysis of the abscopal effect in preclinical models: Is the biologically effective dose a relevant physical trigger? PLoS ONE 2017;12(2):1–16. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0171559>.
- Brooks ED, Chang JY. Time to abandon single-site irradiation for inducing abscopal effects. Nat Rev Clin Oncol., 2019;16:123e–135.

Поступила в редакцию 11.01.2021

*A.Yu. Zozulya, I.A. Baldueva, S.N. Novikov,
D.V. Girdyuk, N.V. Emelyanova, E.I. Tyuryaeva,
E.A. Fedosova, F.E. Antipov, A.I. Arseniev,
I.A. Korobova, M.M. Girshovich, S.V. Kanaev,
A.M. Belyaev*

Changes in the immune status of patients with metastatic solid tumors during stereotactic radiation therapy: dependence on dose and amount of irradiated metastasis

N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology Ministry of health of Russian Federation, St. Petersburg

Purpose. To evaluate immunological status in patients with metastatic forms of solid tumors before and at different intervals after stereotactic body radiation therapy (SBRT) of metastatic lesions depending on the dose and the number of irradiated metastasis.

Materials and methods. A quantitative assessment and analysis of blood immunological parameters was conducted before irradiation, via 3–4 weeks and via 6–8 weeks after SBRT in patients with malignant tumors with oligometastases in the liver and lungs, in groups with a total focal dose (TFD < 46 Gy) and TFD > 45 Gy, and also in groups with irradiation of one metastases and two or more. All peripheral blood samples were analyzed by flow cytometry. Statistical analysis was performed using Friedman and Nemenyi criteria.

Results. 3–4 weeks after the end of SBRT, when using higher doses (TFD > 45 Gy), we observed statistically significant increase of T-lymphocytes (CD3⁺CD19⁺); T-helpers (CD3⁺CD4⁺); activated T-helpers (CD3⁺CD4⁺HLA-DR⁺); activated cytotoxic T-lymphocytes (CD3⁺CD8⁺HLA-DR⁺). Decreasing of B-lymphocytes (CD3⁺CD19⁺) was observed in both dose groups (TFD < 46 Gy and TFD > 45 Gy). We also noted the activation of the T-cell link of immunity both in the group with irradiation of one metastatic lesion, and in the group where 2 or more metastases were exposed to irradiation.

Conclusion. Using of higher doses of SBRT is associated with a more activated antitumor T-cell immune response, while the analysis of groups of patients with different amount of irradiated metastasis currently requires further research.

Key words: metastatic tumor process; stereotactic body radiation therapy (SBRT); total focal dose (TFD); amount of irradiated metastases; immune status; activation of T-lymphocytes

*А.А. Михетько, А.С. Артемьева, О.В. Ивко, О.Б. Ткаченко, М.В. Гринкевич,
А.Н. Сидорова, Ю.В. Петрик*

Эндоскопическая эндосонография с тонкоигольной аспирационной биопсией в диагностике опухолей поджелудочной железы

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

Цель работы: оценка эффективности эндоскопической эндосонографии с тонкоигольной аспирационной биопсией в диагностике образований поджелудочной железы.

Материал и методы. Проанализированы 163 тонкоигольных аспирационных биопсий под контролем эндосонографии (ЭУС-ТАБ), выполненные с октября 2016 по декабрь 2020 г. в НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова при помощи игл SonoFlex EUS (Endo-Flex, Germany), размером 21G, 22G, 19G, игл Expect (Boston Scientific, USA), размером 22G и 25G, а также игл 22 G EchoTip ProCore (Cook Medical, USA) у 160 больных (6 кистозных и 154 солидных образований ПЖ). Клеточный блок был изготовлен у 134 больных. Иммуноцитохимическое исследование (ИЦХ) было выполнено в 39 случаях.

Результаты. Среди пациентов было 83 мужчины и 77 женщин в возрасте от 22 до 89 лет (средний возраст $60,49 \pm 0,91$). У 87 (54,38%) больных опухоль локализовалась в головке, у 44 (27,50%) — в теле и у 29 (18,12%) — в хвосте ПЖ. Размеры опухоли варьировали от 7 до 92 мм (в среднем — $29,69 \pm 1,31$ мм). Материал для цитологического исследования был признан информативным в 161 (98,77%) из 163 биопсий. Злокачественная опухоль при цитологическом исследовании была установлена у 111 (69,38%) из 160 больных, подозрение на злокачественный процесс — у 7 (4,37%), доброкачественный характер поражения — у 40 (25,0%), неинформативный материал — у 2 (1,25%) пациентов. Результаты цитологического исследования удалось сопоставить с данными гистологии (операционного или биопсийного материала) у 35 больных. Информативный материал для цитологического исследования при ЭУС-ТАБ ПЖ удалось получить в 98,8% случаев.

Заключение. Результаты цито-гистологических сопоставлений показали высокую чувствительность (93,1%) и специфичность (100%) цитологического метода в диагностике новообразований ПЖ. Метод ЭУС-ТАБ весьма эффективен в диагностике опухолей

ПЖ, при этом являясь наиболее безопасным способом морфологической верификации.

Ключевые слова: поджелудочная железа, эндосонография, тонкоигольная пункционная биопсия, цитологическая диагностика, малоинвазивный метод

Введение

Эндоскопическая ультрасонография (ЭУС) представляет собой комбинацию эндоскопического и внутриспросветного ультразвукового исследования. Метод обладает высокой разрешающей способностью и позволяет визуализировать новообразования, в том числе в поджелудочной железе (ПЖ) даже небольшого размера (менее 0,5 см). При этом инструментальные методы диагностики, в том числе, ЭУС не позволяют достоверно определить морфологическую структуру опухоли и ее злокачественный потенциал. Для уточнения диагноза требуется морфологическая верификация. По многочисленным сообщениям в литературе вариантом выбора является тонкоигольная аспирационная биопсия под контролем эндоскопической ультрасонографии (ЭУС-ТАБ), имеющая ряд преимуществ в отношении визуализации процесса и высокую чувствительность при низком риске диссеминации опухолевых клеток в биопсийном канале и других осложнений манипуляции [1–3]. Поскольку речь идет о тонкоигольной биопсии, основным методом диагностики является цитологический. Рутинное цитологическое исследование материала может быть дополнено иммуноцитохимическим (ИЦХ) исследованием, которое, в свою очередь, выполняется как на традиционных цитологических препаратах, так и на материале клеточного блока (КБ) [4, 5].

Впервые тонкоигольная аспирационная биопсия под ЭУС контролем была описана в 1994 г. Hendriksen и соавт. В настоящее время методика получила широкое распространение и включена в различные руководства и алгоритмы диагностики и стадирования новообразований желудочно-кишечного тракта и прилежащих органов. Большинство авторов, особенно зарубежных,

сообщают о высокой эффективности цитологического метода в диагностике новообразований ПЖ (чувствительность — 78-99%, специфичность — 82–100%) [6, 7]. Для наиболее четкого взаимопонимания между цитологами и врачами клинических специальностей группой экспертов общества цитопатологов Папаниколау (США) в 2015 г. была разработана и представлена система цитоморфологической оценки патологии панкреатобилиарной зоны (аналог системы «Bethesda» для щитовидной железы) [8, 9]. Некоторые отечественные авторы сообщают о применении этой системы оценки в своей практической работе [10]. При этом в нашей стране отношение к цитологическому методу как способу морфологического подтверждения диагноза при опухолях ПЖ по-прежнему остается неоднозначным.

Целью настоящего исследования является оценка эффективности эндоскопической эндоскографии с тонкоигольной аспирационной биопсией в диагностике образований поджелудочной железы.

Материалы и методы

Были проанализированы результаты 163 ЭУС-ТАБ, выполненные амбулаторно с октября 2016 по декабрь 2020 г. в НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова у 160 больных (6 кистозных и 154 солидных образований ПЖ). ЭУС исследование выполнялось при помощи линейного эхоэндоскопа (Pentax (Pentax, Tokyo, Japan). Перед началом манипуляции производился диагностический осмотр зоны интереса и окружающих ее структур из всех возможных отделов сканирования. Выбиралась оптимальная позиция, при которой целевой участок располагался в центральной области ультразвукового окна, максимально близко к прилежащему датчику. Для исключения возможности повреждения крупных сосудов при биопсии мы использовали цветной Допплер режим сканирования. Процедура ЭУС-ТАБ выполнялась в условиях глубокой седации пациента под ЭУС-контролем при помощи игл SonoFlex EUS (Endo-Flex, Germany), размером 21G, 22G, 19G, игл Expect (Boston Scientific, USA), размером 22G и 25G, а также игл 22 G EchoTip ProCore (Cook Medical, USA). Выбор иглы зависел от локализации поражения, удобства позиции эндоскопа, УЗ-характеристик опухоли и необходимых характеристик получаемого материала.

Для выполнения процедуры игла для ЭУС-ТАБ проводилась через рабочий канал эндоскопа и фиксировалась к нему. После выбора наиболее удобной позиции для выполнения пункции, было необходимо убедиться, что на пути проведения иглы отсутствуют крупные сосудистые структуры, а также протоки, повреждение которых может привести к нежелательным последствиям. Игла одним движением продвигалась в центральную часть зоны интереса. Для обеспечения поступления клеточного материала в просвет иглы нами последовательно использовались две методики: постепенное извлечение внутреннего стилета иглы и создание вакуум-аспирации при помощи шприца с отрицательным давлением и фиксатором типа luer lock. При этом, выполнялись множественные возвратно-поступательные движения иглой в пределах интересующей зоны, из одного вкола, всеоразно меняя направление. Количество таких движений строго не регламентировано, обычно составляло около 10–15 раз.

Полученный материал извлекался из канала иглы при помощи стилета, либо при помощи промывания стерильным нейтральным раствором и помещался на предметное стекло, затем оценивался визуально, тканевые фрагменты отделялись от примеси крови и помещались в контейнер (криопробирку) с транспортной средой. Остаток материала переносился на предметные стекла. После разбора пунгата, процедура повторялась необходимое количество раз, до получения предположительно достаточного количества диагностического материала (обычно 2–3 раза). При пункции кистозного новообразования старались получить не только тканевый материал стенки кисты или из солидного компонента, но и ее содержимое, которое аспирировалось максимально полно и помещалось в пробирку для биохимического и цитологического исследований. После завершения манипуляции, область вмешательства подлежала контрольной УЗ-оценке, для исключения осложнений, в том числе кровотечения.

Полученный при ЭУС-ТАБ материал исследовался в лаборатории цитологии. Традиционные цитологические препараты окрашивались азур-эозином по методу Паппенгейма и подвергались микроскопии. Из материала, помещенного в криопробирку, изготавливался КБ с использованием в качестве объемлющей среды агара. Далее, этот материал передавался в патологоанатомическое отделение для гистологической проводки и изготовления срезов, которые в лаборатории цитологии окрашивались гематоксилин-эозином и исследовались. КБ были изготовлены у 134 больных. ИЦХ было выполнено в 39 случаях на иммуноштейнере «Ventana BenchMark GX» как на материале КБ, так и на ранее окрашенных цитологических препаратах. При исследовании материала, полученного из кисты, приговление препаратов для цитологического исследования производилось на цитоцентрифуге Cytospin-4.

Результаты

Пациентами были 83 мужчины и 77 женщин в возрасте от 22 до 89 лет (средний возраст $60,49 \pm 0,91$ год). У 87 (54,38%) больных опухоль локализовалась в головке, у 44 (27,50%) в теле и у 29 (18,12%) в хвосте ПЖ. Размеры опухоли варьировали от 7 до 92 мм (в среднем — $29,69 \pm 1,31$ мм). Материал для цитологического исследования был признан информативным в 161 (98,77%) из 163 биопсий. Злокачественная опухоль при цитологическом исследовании была установлена у 111 (69,38%) из 160 больных, подозрение на злокачественный процесс у 7 (4,37%), доброкачественный характер поражения у 40 (25,0%), неинформативный материал у 2 (1,25%) пациентов. Результаты цитологического исследования удалось сопоставить с данными гистологического исследования (операционного или биопсийного материала) у 35 больных (табл. 1). Оказалось, что злокачественный процесс при цитологическом исследовании был правильно установлен у 30 из 32 пациентов (у 27 в утвердительной и у 3 в предположительной форме), доброкачественный процесс во всех 3-х случаях. Сопоставления цитологических заключений с гистологической формой опухоли (табл. 2) показали, что наибольшие трудности возникли при интерпретации цитологической

картины при протоковой аденокарциноме G1 — 2 ложноотрицательных цитологических заключения и 3 — подозрения на злокачественный процесс. При этом, 6 нейроэндокринных опухолей и 1 солидно-псевдопапиллярная опухоль были уверенно диагностированы при цитологическом исследовании, дополненном ИЦХ. Среди доброкачественных процессов следует отметить случай успешной цитологической диагностики шванномы ПЖ у мужчины 58 лет, опубликованный нами ранее [11].

Клиническое наблюдение. Мужчина, 55 лет.

В анамнезе в 2016 г. была выполнена лапароскопическая нефрадреналэктомия справа по поводу почечноклеточного рака почки, светлоклеточного варианта, pT3aN0Mx.

В июне 2019 г. при контрольном исследовании по данным компьютерной томографии органов брюшной полости с внутривенным контрастированием во всех отделах ПЖ выявлены

гиперваскулярные очаги (числом не менее 8) размерами до 22×18, один из которых деформировал просвет селезеночной вены. Предполагается прогрессирование опухолевого процесса с метастазированием рака почки в паренхиму ПЖ.

Выполнена ЭУС, при которой в головке, теле и хвосте ПЖ также были обнаружены гипоехогенные очаговые округлые образования, с выраженным периферическим кровотоком, повышенной плотности при эластографии (рис. 1, а–б). Максимальный очаг размером около 20 мм, располагался в области хвоста железы, прилегая к селезеночным сосудам без четкой границы со стенкой вены. Для морфологической верификации процесса была дважды выполнена тонкоигльная аспирационная пункция данного образования под ЭУС-контролем при помощи иглы SonoFlex EUS (Endo-Flex, Germany), размером 22G. Были приготовлены традиционные цитологические препараты и КБ (рис. 2, а–б).

Таблица 1. Результаты цито-гистологических сопоставлений

Гистология	Количество наблюдений	Цитология		
		Злокачественный процесс	Подозрение	Доброкачественный процесс
Злокачественный процесс	32	27 (84,38%)	3 (9,37%)	2 (ЛО) (6,25%)
Доброкачественный процесс	3	–	–	3 (100%)

Примечание. ЛО — ложноотрицательные случаи

Таблица 2. Сопоставление цитологических заключений с гистологической формой опухоли

Доброкачественные процессы — 3		Злокачественные процессы — 32	
Гистология	Цитология	Гистология	Цитология
Хронический панкреатит — 2	Доброкачественный процесс (БДУ) — 2	Протоковая аденокарцинома — 24	Протоковая аденокарцинома — 18 (75,0%). Подозрение на аденокарциному — 3. Муцинозная опухоль с дисплазией High grade — 1. Ложноотрицательный ответ — 2
Шваннома — 1	Шваннома — 1	НЭО — 6	НЭО — 6 (100%)
		Метастаз колоректального рака — 1	Слизеобразующая аденокарцинома — 1
		СППО — 1	СППО — 1
3 (100%)	3 (100%)	32 (100%)	26 (81, 3%)

Примечание. НЭО — нейроэндокринная опухоль, СППО — солидно-псевдопапиллярная опухоль



Рис. 1, а. Эндосонография. Определяется округлое солидное образование, размером до 20 мм

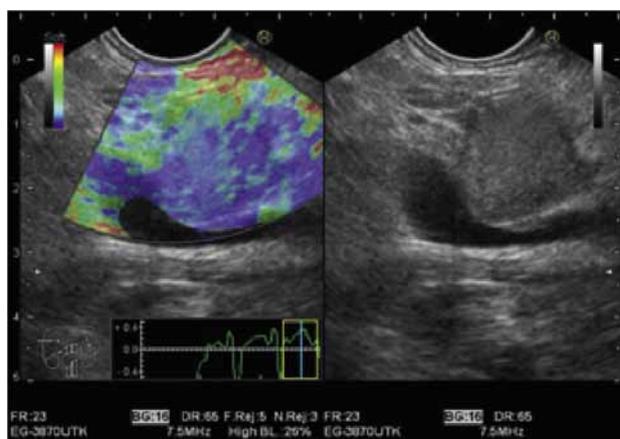


Рис. 1, б. Эндосонография с эластографией. При эластографии — образование плотное

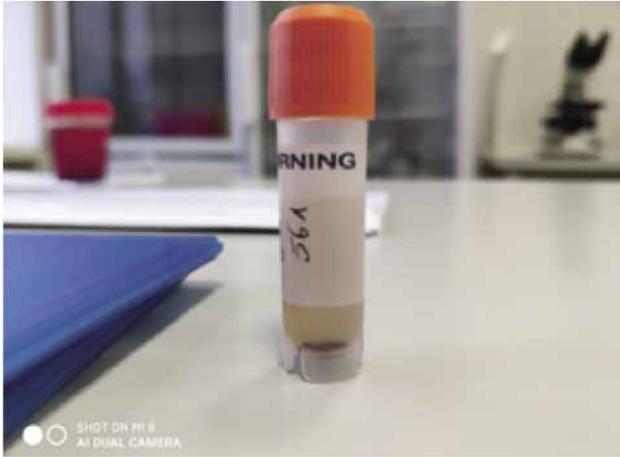


Рис. 2, а. Материал в криопробирке для приготовления клеточного блока



Рис. 2, б. Материал для цитологического исследования и ИЦХ: готовый клеточный блок и гистологические срезы из него на предметных стеклах для ИЦХ (верхний ряд) и цитологические препараты для рутинного исследования, окрашенные азур-эозином по методу Паппенгейма (нижний ряд)

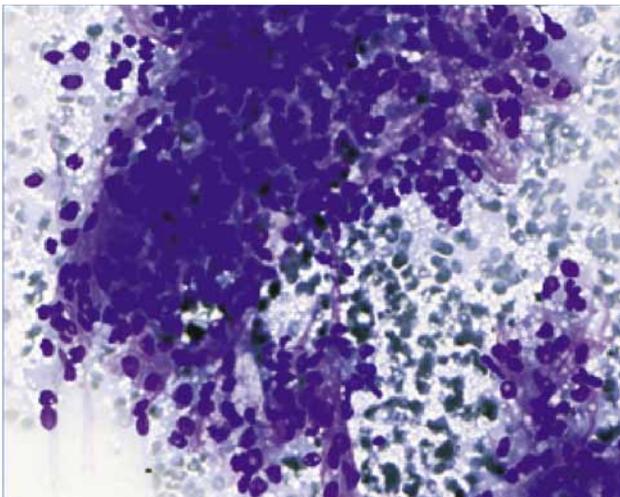


Рис. 3, а. Скопления клеток светлоклеточного почечноклеточного рака (СПР) среди оксифильного межклеточного вещества в материале ЭУС-ТАБ у больного 55 лет. Цитологический препарат. Окраска азур-эозин. Ув. 40

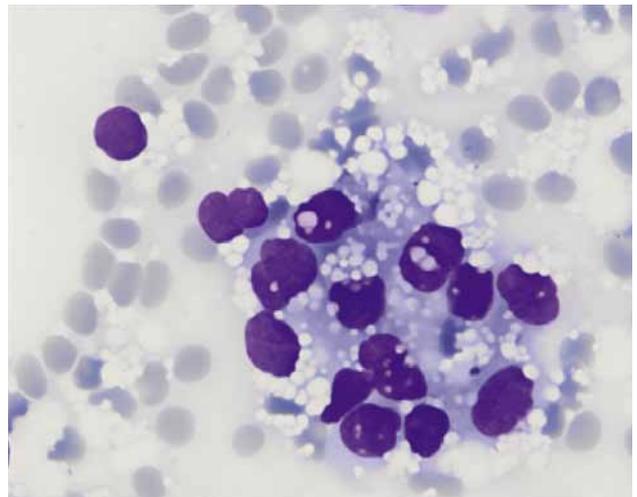


Рис. 3, б. Клетки СПР с обильной светлой вакуолизированной цитоплазмой и полиморфными ядрами. То же наблюдение. Цитологический препарат. Окраска азур-эозин. Ув. 100

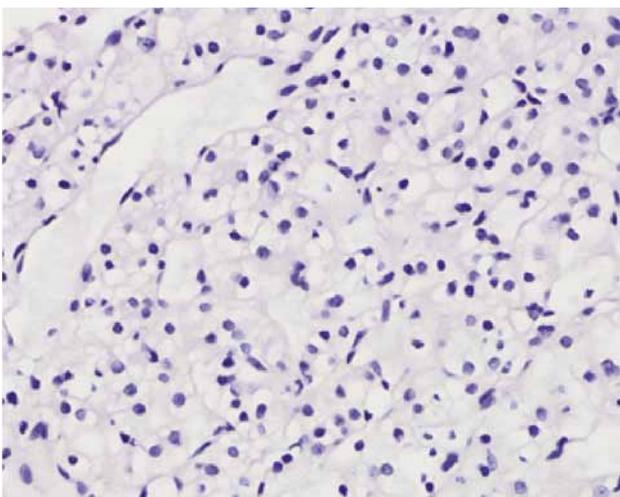


Рис. 3, в. Клеточный блок. Окраска гематоксилином-эозином. Ув. 40. СПР. Опухоль состоит из крупных клеток со светлой вакуолизированной цитоплазмой

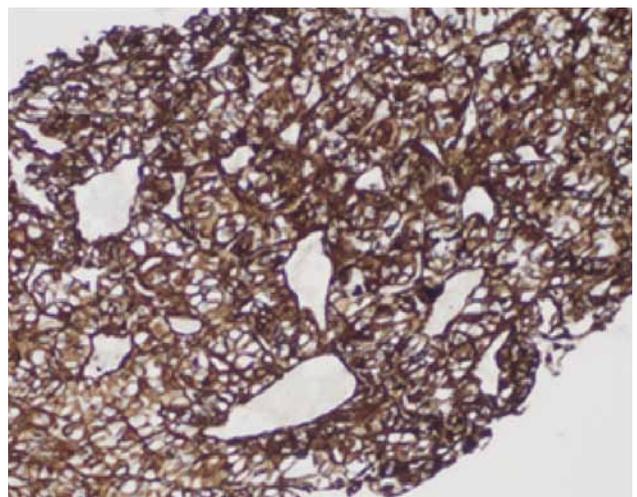


Рис. 3, г. Клеточный блок. ИЦХ-реакция. Положительная экспрессия Vimentin в клетках СПР. Ув. 20. То же наблюдение

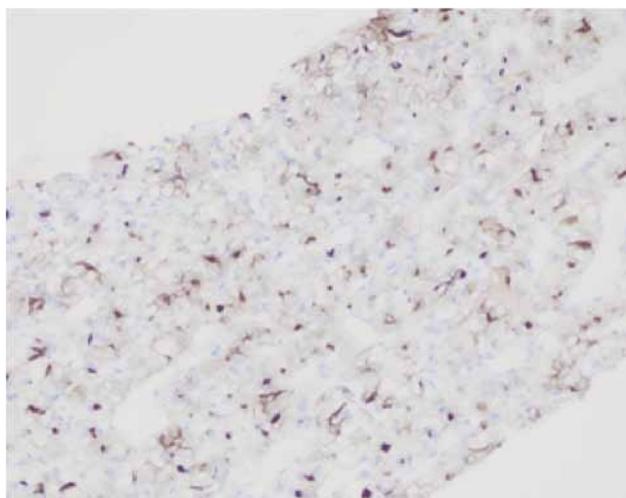


Рис. 3, д. Клеточный блок. ИЦХ-реакция. Положительная экспрессия CD10 в клетках СПР. Ув. 20. То же наблюдение

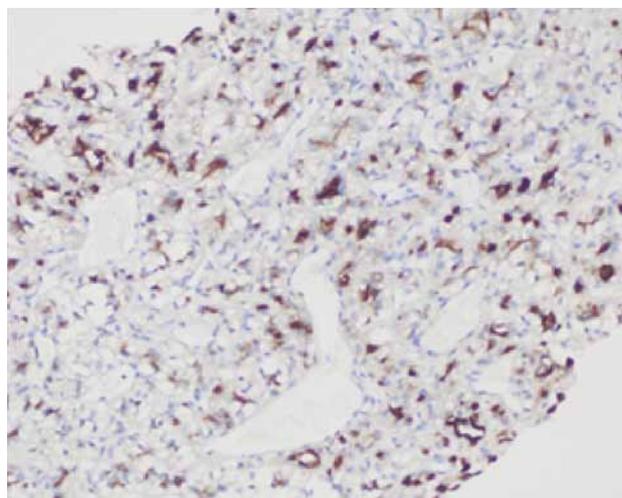


Рис. 3, е. Клеточный блок. ИЦХ-реакция. Положительная экспрессия RCC в клетках СПР. Ув. 20. То же наблюдение

Данные цитологического исследования препаратов с последующим ИЦХ, проведенным на материале КБ (имела место положительная экспрессия RCC, CD10, Vimentin, EMA, PAX8 при отсутствии экспрессии CK7, CK20) позволили верифицировать метастаз светлоклеточного почечноклеточного рака (рис. 3, а–е).

Принимая во внимание данные обследования, по результатам которого выявлено прогрессирование процесса, пациент был направлен на проведение лекарственной противоопухолевой терапии.

Обсуждение

Перед началом процедуры важную роль играет сбор полноценного анамнеза заболевания и выявление сопутствующей патологии. Это позволяет оценить предположительную ценность манипуляции по сравнению с возможными противопоказаниями и принять решение о необходимости ее выполнения. Пациент должен быть информирован о всех преимуществах и возможных осложнениях предстоящего вмешательства и дать свое согласие на его осуществление. По данным литературы, ЭУС-ТАБ является безопасной методикой с низкой частотой серьезных осложнений, таких как болевой синдром (0,38%), кровотечение (0,1%) и панкреатит (0,4%) [12, 13]. У наших пациентов осложнений ЭУС-ТАБ выявлено не было.

Для забора клеточного материала в просвет иглы возможно применение и комбинация следующих методик: подтягивание внутреннего стилета иглы и создание в ее просвете отрицательного давления, присоединение к игле вакуум-шприца, а также пункция с предзаполнением просвета иглы стерильным физиологическим раствором.

Аспирация материала при помощи вакуум-заряженного шприца, фиксированного к внешнему концу канала иглы, обеспечивает высокую эффективность манипуляции и является рекомендованной для ЭУС-ТАБ солидных и кистозных новообразований поджелудочной железы. Однако, за счет высокого разрежения внутри канала иглы, создается высокий риск обильного загрязнения извлекаемого клеточного материала кровью, особенно, в богато васкуляризованных опухолях, что ведет к снижению качества полученного образца [14, 15]. Методика медленного постепенного извлечения внутреннего стилета иглы зарекомендовала себя, как метод получения клеточного материала, связанный с низкой контаминацией кровью, но не уступающий по эффективности вакуум-аспирации при помощи шприца [16–18]. Заполнение просвета иглы стерильным раствором призвано снизить риск загрязнения материала кровью, что соответственно ведет к повышению клеточности и диагностической ценности получаемого материала, однако преимущество этой технологии в обеспечении повышенной диагностической точности остается дискуссионным [19–22]. Методика пункции нами всегда подбиралась индивидуально, в зависимости от характеристик опухоли, ее васкуляризации по данным цветного доплерокартирования, выбранной иглы. Однако, наиболее часто, применялась комбинация из двух или трех методик, что обеспечивало высокую эффективность и информативность полученного материала. Если не использовалась методика заполнения иглы раствором, то внедрение ее через стенку органа до опухоли-мишени всегда производилось с предпродвиженным стилетом, так как это ведет к значительному снижению контаминации материала слизью и клетками

стенки пищеварительного тракта, что непосредственно влияет на результат биопсии [23].

Ряд авторов, для повышения информативности материала настаивают на обязательном присутствии цитолога во время манипуляции, для немедленной оценки качества полученного материала «rapid on-site evaluation» (ROSE) [3, 5, 24]. Мы также использовали ROSE на этапе освоения методики ЭУС-ТАБ, но затем перешли только на визуальную, макроскопическую оценку материала врачом-эндоскопистом с обязательным приготовлением не менее 10 стеклопрепаратов и помещением наиболее крупных тканевых фрагментов в криопробирку с транспортной средой для последующего изготовления КБ. Обеспечить присутствие врача-цитолога во время каждой манипуляции бывает сложно. При этом, на наш взгляд, огромное значение имеет опыт и профессиональные навыки врача-эндоскописта, а также технические особенности проведения манипуляции. Такого подхода придерживаются и некоторые другие авторы [25].

Бурдюков М.С. и соавт. (2017) приводят обзор данных литературы, связывая чувствительность ЭУС-ТАБ с количеством пункций патологического очага во время манипуляции, которых должно быть не менее 7 для достижения 90% точности [2]. По нашим данным материал для цитологического исследования был признан информативным в 98,8%.

Ложноотрицательные результаты ЭУС-ТАБ и случаи неуверенных цитологических заключений «подозрение на рак» были связаны с объективными трудностями в диагностике протоковой аденокарциномы — G1. Дифференциальная цитоморфологическая диагностика муцинозных неоплазий ПЖ с различной степенью дисплазии и малигнизацией также часто затруднительна в биопсийном материале по объективным причинам, связанных с особенностями строения данных опухолей [7, 26, 27]. Поскольку с аналогичными проблемами можно столкнуться и при анализе гистологического материала трепан-биопсии (ТБ), то преимущество использования более толстых биопсийных игл 18, 19G является предметом дискуссии. По данным Sweeney J. и соавт. (2020) результаты ТБ и ТАБ сопоставимы [28]. При этом иглы для ЭУС-ТАБ (22G) менее травматичны и, как правило, значительно дешевле.

Заключение

Результаты цито-гистологических сопоставлений показали высокую чувствительность (93,1%) и специфичность (100%) цитологического метода в диагностике новообразований ПЖ.

Определить гистологическую форму опухоли при цитологическом исследовании материала ПЖ удалось в 81,3% случаев. Метод ЭУС-ТАБ весьма эффективен в диагностике опухолей ПЖ, при этом являясь наиболее безопасным способом морфологической верификации. Серьезных осложнений манипуляции нами выявлено не было.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии в статье конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Тарасенко Л.А., Карман А.В., Дударев В.С. и др. Эндосонография в диагностике рака поджелудочной железы. Обзор литературы и перспективы использования в эндоскопическом отделении онкологического стационара // Онкологический журнал. 2015;9(3):100–109 [Tarasenko L.A., Karman A.V., Dudarev V.S. et al. Endosonography in diagnostics of pancreatic cancer. Literature review and prospects of using in endoscopy department of oncology clinic. *Oncological Journal*. 2015;9(3):100–109 (In Russ)].
2. Бурдюков М.С., Нечипай А.М., Кудрявицкий Е.Е. и др. Пути повышения эффективности тонкоигольных пункций под контролем эндосонографии: ретроспективный анализ неинформативных заключений морфологических исследований // Поволжский онкологический вестник. 2017;32(5):75–87 [Burdyukov M.S., Nechipay A.M., Kudryavitskiy E.E. et al. Measures to improve effectiveness of endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration: retrospective analysis of indetermined pathology // *Oncology bulletin of the Volga region*. 2017;32(5):75–87 (In Russ)].
3. Hedenström P, Demir A, Khodakaram K, Nilsson O, Sadik R. EUS-guided reverse bevel fine-needle biopsy sampling and open tip fine-needle aspiration in solid pancreatic lesions — a prospective, comparative study // *Scandinavian Journal of Gastroenterology*. 2018;53(2):231–237. <https://doi.org/10.1080/00365521.2017.1421704>
4. Ieni A, Todaro P, Crinò SF, Barresi V, Tuccari G. Endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration cytology in pancreaticobiliary carcinomas: diagnostic efficacy of cell-block immunocytochemistry // *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*. 2015;14(3):305–312. [http://dx.doi.org/10.1016/s1499-3872\(15\)60367-8](http://dx.doi.org/10.1016/s1499-3872(15)60367-8)
5. Duskova J, Krechler T, Dvorak M. Endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration biopsy of pancreatic lesions. An 8-year analysis of single institution material focusing on efficacy and learning progress // *Cytopathology*. 2017;28(3):109–115. <https://doi.org/10.1111/cyt.12375>
6. Al-Hajeili M, Alqassas M, Alomran A, Batarfi B et al. The Diagnostic Accuracy of Cytology for the Diagnosis of Hepatobiliary and Pancreatic Cancers // *Acta Cytologica*. 2018;62(4):311–316. <https://doi.org/10.1159/000489549>
7. Ibrahim AA, Cramer HM, Wu HH. Endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration of the pancreas: a retrospective study of 1000 cases // *Journal of the American Society of Cytopathology*. 2014;3(5):227–235. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jasc.2014.04.005>

8. Pitman MB, Layfield LJ. The Papanicolaou Society of Cytopathology System for Reporting Pancreaticobiliary Cytology. Definitions, Criteria, and Explanatory Notes // Springer Cham Heidelberg New York Dordrecht London. 2015.
9. Olofson AM, Biernacka A, Li Z, Boonipat T, Gutmann EJ, Smith KD, Gardner TB, Gordon SR, Padmanabhan V, Marotti JD, Liu X. Indeterminate diagnoses in EUS-guided FNA of the pancreas: analysis of cytologist and clinician perceptions, cytologic features, and clinical outcomes // *Journal of the American Society of Cytopathology*. 2018;7(5):274–281. <https://doi.org/10.1016/j.jasc.2018.02.006>
10. Двойникова Е.Р., Агапов М.Ю., Стегний К.В. Оценка эффективности эндосонографии и тонкоигольной пункции под контролем эндоскопической ультрасонографии при заболеваниях поджелудочной железы на этапе освоения методики // *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2018;71(1):57–59. <https://doi.org/10.17238/PmJ1609-1175.2018.1.57-59> [Dvoynikova E.R., Stegnyy K.V., Goncharuk R.A. et al. The effectiveness of eus-guided fine needle aspiration and fine needle forceps biopsy at pancreatic diseases in the process of gaining experience // *Pacific Medical Journal*. 2018;71(1): 57–59 (In Russ)].
11. Михетько А.А., Артемьева А.С., Ивко О.В. и др. Случай цитоморфологической диагностики шванномы поджелудочной железы // *Вопр. онкол.* 2020;66(3):296–301 [Mikhetko A.A., Artemieva A.S., Ivko O.V. et al. Case of cytomorphological diagnosis of pancreatic schwannoma // *Voprosy oncologii*. 2020;66(3):296–301 (In Russ)].
12. Wang KX, Ben QW, Jin ZD et al. Assessment of morbidity and mortality associated with EUS-guided FNA: a systematic review // *Gastrointest Endosc.* 2011;73(2):283–290. <https://doi.org/10.1016/j.gie.2010.10.045>
13. Conti CB, Cereatti F, Grassia R. Endoscopic ultrasound-guided sampling of solid pancreatic masses: the fine needle aspiration or fine needle biopsy dilemma. Is the best needle yet to come? // *World J Gastrointest Endosc.* 2019;11(8):454–471. <https://doi.org/10.4253/wjge.v11.i8.454>
14. Polkowski M, Jenssen C, Kaye P et al. Technical aspects of endoscopic ultrasound (EUS)-guided sampling in gastroenterology: European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE) Technical Guideline // *Endoscopy*. 2017;49(10):989–1006. <https://doi.org/10.1055/s-0043-119219>
15. Bang JY, Navaneethan U, Hasan MK, Hawes R, Varadarajulu S. Endoscopic Ultrasound-guided Specimen Collection and Evaluation Techniques Affect Diagnostic Accuracy // *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. 2018;16(11):1820–1828. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2018.03.004>
16. Saxena P, El Zein M, Stevens T et al. Stylet slow-pull versus standard suction for endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration of solid pancreatic lesions: a multicenter randomized trial // *Endoscopy*. 2017;50(5):497–504. <https://doi.org/10.1055/s-0043-122381>
17. Chen JY, Ding QY, Lv Y et al. Slow-pull and different conventional suction techniques in endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration of pancreatic solid lesions using 22-gauge needles // *World J Gastroenterol.* 2016;22(39):8790–8797. <https://doi.org/10.3748/wjg.v22.i39.8790>
18. El Haddad R, Barret M, Beuvon F et al. The slow-pull capillary technique increases the quality of endoscopic ultrasound fine needle biopsy samples in solid pancreatic lesions // *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2016;28(8):911–916. <https://doi.org/10.1097/MEG.0000000000000638>
19. Villa NA, Berzosa M, Wallace MB et al. Endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration: the wet suction technique // *Endosc Ultrasound.* 2016;5(1):17–20. <https://doi.org/10.4103/2303-9027.175877>
20. Attam R, Arain MA, Bloechl SJ et al. «Wet suction technique (WEST)»: a novel way to enhance the quality of EUS-FNA aspirate. Results of a prospective, single-blind, randomized, controlled trial using a 22-gauge needle for EUS-FNA of solid lesions // *Gastrointest Endosc.* 2015;81(6):1401–1407. <https://doi.org/10.1016/j.gie.2014.11.023>
21. Wang R, Wang J, Li Y, Duan Y et al. Diagnostic accuracies of endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration with distinct negative pressure suction techniques in solid lesions: A retrospective study // *Oncol Lett.* 2017;13(5):3709–3716. <https://doi.org/10.3892/ol.2017.5942>
22. Antonini F, Fuccio L, Fabbri C, Macarri G. Endoscopic ultrasound-guided tissue acquisition of pancreatic masses with core biopsy needles using wet suction technique // *Endosc Ultrasound.* 2017;6(1):73–74. <https://doi.org/10.4103/2303-9027.200212>
23. Polkowski M, Jenssen C, Kaye P et al. Technical aspects of endoscopic ultrasound (EUS)-guided sampling in gastroenterology: European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE) Technical Guideline — March 2017 // *Endoscopy.* 2017;49(10):989–1006. <https://doi.org/10.1055/s-0043-119219>
24. Kalogeraki A, Papadakis GZ, Tamiolakis D et al. EUS — Fine-Needle Aspiration Biopsy (FNAB) in the Diagnosis of Pancreatic Adenocarcinoma: A Review // *Romanian Journal of Internal Medicine.* 2018;54(1):25–30. <http://dx.doi.org/10.1515/rjim-2016-0002>
25. Kim HJ, Jung YS, Park JH et al. Endosonographer’s macroscopic evaluation of EUS-FNAB specimens after interactive cytopathologic training: a single-center prospective validation cohort study // *Surg Endosc.* 2016;30:4184–92. <https://doi.org/10.1007/s00464-015-4727-3>
26. Chi Z, Wu HH, Cramer H et al. Cytomorphological Features Useful to Prevent Errors in the Diagnosis of Pancreatic Adenocarcinoma by Fine Needle Aspiration Cytology // *Acta Cytologica.* 2017;61(1):7–16. <https://doi.org/10.1159/000451019>
27. Fernández Aceñero MJ, Vázquez M, Esteban JM et al. Influence of the Histopathological Features of the Lesion on the Diagnostic Yield of Fine-Needle Aspiration Cytology of Pancreatic Solid Lesions // *Acta Cytologica.* 2018;62(4):259–264. <https://doi.org/10.1159/000488383>
28. Sweeney J, Soong L, Goyal A. Endoscopic ultrasound-guided tissue acquisition of solid mass lesions of the pancreas: A retrospective comparison study of fine-needle aspiration and fine-needle biopsy // *Diagn Cytopathol.* 2020;48(4):322–329. <https://doi.org/10.1002/dc.24377>

Поступила в редакцию 08.12.2020 г.

*A.A. Mikhetko, A.S. Artemieva, O.V. Ivko,
O.B. Tkachenko, M.V. Grinkevich, A.N. Sidorova,
U.V. Petrik*

**Endoscopic endosonography with fine-needle
aspiration biopsy in the diagnosis of pancreatic
tumors**

N.N. Petrov National Medical Research Center
of Oncology, Saint Petersburg

Objectives of the study: efficiency assessment of cytological methods in the diagnosis of pancreatic tumors.

Material and methods. Our study includes results of 163 pancreatic fine needle aspirations of solid and cystic tumors, from 160 patients of the N.N. Petrov Cancer Research Center for the 4-year period (2016–2020).

Results. Representative cell material for morphological studies was obtained in 98.6% of cases. The results of cytological examination of 35 patients with pancreatic tumors were compared with histological data. Malignant process was correctly established in 30 out of 32 patients, benign process- in all three cases. The sensitivity of cytological examination was 93.1%, specificity — 100%.

Conclusion. Pancreatic fine-needle aspiration cytology is safe, rapid, accurate and cost-beneficial modality of investigation of pancreatic mass lesion.

Key words: pancreas, fine-needle aspiration cytology, cytological diagnosis, cytohistological correlation

Л.М. Берштейн¹, А.О. Иванцов¹, А.Г. Ивлева¹, Д.А. Васильев¹, И.В. Берлев^{1, 2}

Лимфоцитарно-макрофагальное заселение при различных молекулярно-биологических типах рака эндометрия: сопоставление с рецепторным статусом и пролиферативной активностью опухолевой ткани

¹ ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, Санкт-Петербург

² ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова», Минздрава России, Санкт-Петербург

Последние годы ознаменовались постепенным сдвигом от прежнего подразделения рака эндометрия (РЭ) на два основных типа по современным молекулярно-биологическим классификациям этого заболевания, одна из которых (в настоящее время, скорее всего, наиболее популярная) основана на использовании комбинации генетического и иммуногистохимического анализа [Talhouk и соавт., 2017, 2019]. Целью настоящего сообщения была попытка сопоставить особенности лимфоцитарной и макрофагальной инфильтрации ткани РЭ с ее рецепторным статусом и индексом пролиферации Ki-67, принимая во внимание молекулярно-биологический тип заболевания.

К исследованию привлекался материал от нелеченых больных РЭ, число которых варьировало в зависимости от использованного метода. Средний возраст больных был близок к 55–60 годам, и свыше 80% пациенток находились в постменопаузе. Анализировали депарафинированные блоки ткани карцином эндометрия, что позволяло произвести поиск мутаций POLE (ДНК полимеразы эpsilon), оценить с помощью ИHC экспрессию онкобелка p53 и MMR (mismatch-repair)-белков /MLH1, MSH2, MSH6 и PMS2/, а также выделить тип заболевания без характерного молекулярного профиля (WCMP). Помимо исследования экспрессии p53 и MMR-белков, ИHC метод применялся и для изучения представленности рецепторов эстрогенов (ER) и прогестерона (PR), величины индекса пролиферативной активности Ki-67, а также выраженности макрофагально-лимфоцитарной инфильтрации ткани РЭ на основе анализа маркера макрофагов (CD68) и клеток лимфоцитарного ряда (цитотоксических CD8 и регуляторных FoxP3) с использованием реактивов компаний Ventana и Dako.

Ключевые слова: рак эндометрия, молекулярно-биологические типы, характеристики

Введение

Все более широкое использование одного из основных вариантов современной классификации молекулярно-биологических типов рака эндометрия (РЭ) [1], выявило необходимость дополнительно характеризовать эти типы с различных точек зрения, имея в виду как особенности заболевающих женщин, так и самой опухолевой ткани.

В наших недавних публикациях [2, 3] были предприняты шаги в этом направлении применительно к эндокринологии заболевания и некоторым системным маркерам провоспалительно-прогенотоксической природы.

В предварительном плане, но в недостаточной степени нами уделялось внимание и вопросу о том, что можно сказать о представленности в ткани различных типов РЭ лимфоцитарных и макрофагальных клеток, но при этом практически обходились стороной особенности связи заселения ткани РЭ подобного рода клетками с пролиферативной активностью опухоли и увязано ли это как-либо с гормоночувствительностью карцином тела матки при различных молекулярно-биологических типах РЭ [4, 5], т.е., лидирующего по своей частоте во многих странах онкогинекологического новообразования.

Настоящее сообщение пытается устранить отмеченные недостатки на основе собственных данных и дать, по возможности, оценку, в каком направлении это может иметь значение применительно к запросам клиники.

Как известно, клетки лимфоцитарного ряда имеют отношение к формированию иммунного ответа новообразования и к вариабельности течения опухолевого процесса [4, 6, 7, 8] и, как одно из следствий — рассматриваются при обсуждении вопроса о показаниях к использованию при РЭ иммунотерапии, в частности, применения блокаторов контрольных точек иммунного ответа [9, 10]. Направление, основанное на анализе клеток лимфоцитарной природы, наряду с уже ставшим практически традиционным

изучением представленности цитотоксических Т-лимфоцитов CD8(+), главной задачей которых является уничтожение поврежденных клеток собственного организма, а также регуляторных Т-лимфоцитов FoxP3(+), чья повышенная активность может сочетаться с ослаблением влияния иммунной системы на опухолевые клетки [10], с относительно недавнего времени дополнено при оценке лимфоцитарной инфильтрации опухоли определением таких маркеров как PD-1 и PD-L1, собственные данные в отношении которых мы представили в более ранней публикации [5].

Цель настоящего сообщения, о чем уже говорилось и в резюме, и в преамбуле к статье, состояла в том, чтобы (избегая вопроса об иммунотерапии) сосредоточиться как на рецепторном статусе опухолей при различных типах РЭ, так и на их заселении клетками лимфоцитарного и макрофагального ряда, и сопоставить оба эти направления исследования с интенсивностью клеточного размножения (по индексу Ki-67) в опухолевой ткани, т.е. с показателем, который нередко, как полагают, характеризует степень агрессивности течения карцином тела матки и может рассматриваться, в дополнение, как точка приложения для воздействий на этот процесс [12].

Материал и методы

К исследованию привлекался материал от нелеченых больных РЭ (суммарно порядка 190 человек), число которых варьировало в зависимости от использованного метода. Средний возраст больных, как отмечалось, был близок к 60 годам, причем, свыше 75–80% пациенток находились в постменопаузе.

Распределение случаев РЭ по молекулярно-биологическим типам в соответствии с классификацией Talhouk и соавт. [1, 7] базировалось на принципах, изложенных в наших предыдущих публикациях [2, 3, 4], и сводилось к анализу депарафинированных блоков полученной в результате хирургического вмешательства ткани карцином эндометрия, что позволяло произвести поиск мутаций POLE (ДНК полимеразы эpsilon), оценить иммуногистохимически экспрессию онкобелка p53 и MMR (mismatch-repair)-белков /MLH1, MSH2, MSH6 и PMS2/ и отнести каждый конкретный случай к тому или иному молекулярно-биологическому типу новообразования. В соответствии с упомянутой классификацией выделяли 4 типа РЭ: с мутацией POLE, дефицитом MMR-белков (MMR-D), экспрессией p53 и без характерного молекулярного профиля, WCOMP [1], MMR-дефицитные случаи диагностировали, опираясь на рекомендации Stelloo и соавт. [13].

Иммуногистохимический метод применялся и для изучения экспрессии рецепторов эстрогенов (ER), прогестерона (PR) и рецепторов тирозинкиназы — эпидермального фактора роста 2 типа (HER-2/neu) в опухолевой ткани [13], а также выраженности макрофагально-лимфоцитарной инфильтрации этой ткани на основе анализа маркера макрофагов (CD68) и клеток лимфоцитарного ряда (цитотоксических CD8 и регуляторных FoxP3) [8, 9, 15]. Некоторые дополнительные технические сведения об иммуногистохимическом и некоторых других методах приводились нами ранее [4, 5].

Результаты и их обсуждение

Полученные в работе данные (представленные с комментариями в табл. 1–6) оказалось возможным разделить на несколько разделов.

В первом из этих разделов результаты концентрировались с целью установить их зависимость от молекулярно-биологического типа опухоли (определявшегося на основе генетического и ИГХ анализа) по средним данным, представленным в табл. 1. и характеризующим в указанном аспекте сведения в отношении маркеров лимфоцитарно-макрофагального заселения, индекса пролиферативной активности (Ki-67) опухолевой ткани и показателей рецепторного статуса у пациенток, образовавших отдельные группы больных, страдающих раком эндометрия (РЭ).

В комментарии к табл. 1 отмечается, что белок FoxP3 (scurfin) функционирует как регулятор (транскрипционный фактор) эффектов регуляторных Т-клеток, чья чрезмерная активность способствует снижению иммунного ответа, в том числе, включая ослабление воздействия иммунной системы на опухолевые клетки. CD8 характеризует маркеры цитотоксических Т-клеток (клеток-киллеров), трансмембранные гликопротеины — корцепторы Т-клеточных рецепторов, которые связываются с молекулой главного комплекса гистосовместимости (МНС) и специфичны в данном случае для белков МНС класса I. CD68 — гликопротеин, входящий в семейство LAMP, связанное с лизосомальными мембранами, экспрессирован на поверхности моноцитов и макрофагов и используется в качестве маркера макрофагов.

При этом, по средним данным, CD68 оказался наиболее высок в группе пациенток с мутацией гена POLE, а ниже всего — в группе без характерного молекулярного профиля (WCOMP). Соответствующие сведения применительно к этому и другим исследованным параметрам можно найти в табл. 1.

Результаты, приведенные в табл. 2, характеризуют представленность в имевшемся материале маркеров лимфоцитарно-макрофагального заселения при различных типах РЭ и ранговую корреляцию по Спирмену этих маркеров с рецепторной характеристикой на уровне экспрессии рецепторов эстрогенов, прогестерона и HER-2/neu.

Как выяснилось, такой лимфоцитарный маркер, как FoxP3, позитивно коррелирует с экспрессией рецепторов эстрогенов в отличие от экспрессии рецепторов прогестерона.

С другой стороны, экспрессия HER-2/neu не демонстрирует в этом отношении каких-либо четких закономерностей.

Интересные данные, как представляется, отражены в табл. 3, комментарий к которой ука-

зывает на то, что величина ранговой корреляции по Спирмену соотношения рецепторов эстрогенов (ER) и прогестерона (PR) наименее высока в группе MMR-D (0,2620) и достигает наибольших значений в группах с признаками мутации гена POLE (0,614) и экспрессии p53 (0,7675), но не при типе без характерного молекулярного профиля /WCMP/(0,406) и не в объединенной группе больных (0,419).

В совокупности, это может рассматриваться в качестве демонстрации того, что у больных с некоторыми выделяемыми в современных классификациях молекулярно-биологическими типами РЭ, как видно, нарушается процесс передачи эстрогенного сигнала от ER к PR, учет чего может быть важен и в практическом плане. Добавим, что в вертикальной колонке, обозначенной как «тип РЭ», в таблицах, начиная с табл. 2, приведено число наблюдений (пациенток).

Следующая табл. 4 отражает переход к оценке связей различных маркеров лимфоцитарно-макрофагального заселения опухолевой ткани с выраженностью в ней процесса клеточного размножения (при оценке по пролиферативно-

му индексу Ki-67). При этом в отношении наличия позитивной связи с пролиферацией явно «лидирует» такой маркер как FoxP3, правда, за некоторыми исключениями (см. комментарий, приведенный в табл. 4 и указывающий, в дополнение, на возможность прикладного значения обнаруженного факта).

Завершающие раздел собственных результатов табл. 5 и 6 сознательно рассматривают накопленные данные с других позиций, а именно: как пролиферативная активность, выявляемая на основе оценки индекса Ki-67, коррелирует с экспрессией рецепторов эстрогенов (ER) и прогестерона (PR) при разных типах РЭ, не принимая при этом во внимание/не учитывая, отмечавшиеся выше (табл. 3 и табл. 4) связи «пролиферации» и «стероидной рецепции» с лимфоцитарно-макрофагальным заселением ткани новообразований. Это, как отмечается в комментариях, опять-таки может приводить как к фундаментальным, так и к прикладным заключениям, ради чего, собственно, и было запланировано исследование, послужившее основой настоящего сообщения.

Таблица 1. Сведения о величине M±m (средние±/ошибка средней) в опухолевой ткани маркеров лимфоцит/макрофагального заселения, индекса пролиферативной активности Ki-67 и показателей рецепторного статуса ER, PR, HER2/неи при разных молекулярно-биологических типах рака эндометрия (РЭ)

Типы РЭ		foxP3	cd8	cd68x200	ER allred	PR allred	Her2	ki-67
	n	194	81	216	216	216	209	217
Все больные	M	13,6443	253,8395	122,3148	5,64352	5,78704	0,12440	35,91244
	m	2,09979	27,56682	4,46031	0,136047	0,168095	0,026603	1,351178
	n	1	2	12	11	11	11	11
POLE	M	12,0000	553,0000	165,6667	3,63636	5,09091	0,00000	42,81818
	m	-	119,0000	17,0028	0,887004	1,074113	0,00000	6,324294
	n	73	26	74	74	74	70	74
MMR-D	M	15,5753	241,3077	123,8378	5,86486	5,74324	0,07143	42,98649
	m	2,82983	27,62411	7,81181	0,200263	0,283484	0,031004	2,224738
	n	11	12	21	20	21	20	21
p53	M	33,8182	370,1667	127,7619	5,60000	5,33333	0,40000	50,47619
	m	10,6120	100,6237	17,1690	0,535085	0,618498	0,168585	3,722275
	n	109	41	106	110	109	107	110
WCMP	M	10,3303	213,1463	115,8679	5,69091	5,96330	0,12150	27,71818
	m	2,98171	40,19874	6,01853	0,182077	0,221172	0,034399	1,647255
		foxP3	cd8	cd68x200	ER allred	PR allred	Her2	ki-67

Комментарий. Белок FoxP3 (scurlfin) функционирует как регулятор (транскрипционный фактор) развития и функционирования регуляторных Т-клеток, чья чрезмерная активность способствует снижению иммунного ответа, в том числе, повреждающего воздействия иммунной системы на опухолевые клетки. CD8 — маркеры цитотоксических Т-клеток (клеток-киллеров), трансмембранные гликопротеины — корецепторы Т-клеточных рецепторов, которые связываются с молекулой главного комплекса гистосовместимости (МНС), и специфичны в данном случае для белков МНС класса I. CD68 — гликопротеин из семейства LAMP, связанного с лизосомальными мембранами. Экспрессирован на поверхности моноцитов и макрофагов и используется в качестве маркера макрофагов. П/ж указывает на наибольшее, а курсив — на наименьшее значение параметра применительно к тому или иному типу РЭ (при числе больных/n >10).

Таблица 2. Маркеры лимфоцит-макрофагального заселения и их корреляция по Spearman с экспрессией ER, PR и HER2/neu при разных типах РЭ

Тип РЭ	Маркеры лимфоцит-макрофагальной инфильтрации			
		ER PR		Her2/neu
		Spearman (ранговая)	Spearman (ранговая)	Spearman (ранговая)
POLE (12)	FoxP3	0,4002	0,5031	0,00
	CD8	0,3106	0,3093	-0,2981
	CD68x200	0,2706	0,1277	0,1069
MMR-D (75)	FoxP3	0,2895	-0,2951	0,0537
	CD8	-0,0625	0,1181	0,3503
	CD68x200	-0,0501	-0,0426	0,1669
P53 (21) pos+mod	FoxP3 real	0,4002	0,5031	0,4338
	CD8	0,3106	0,3093	0,4175
	CD68x200	0,2706	0,1276	0,3217
WCMP (111)	FoxP3	0,3477	0,0502	0,079
	CD8	0,1071	-0,3423	0,1597
	CD68x200	0,0331	-0,0828	-0,062
Все больные (219)	FoxP3	0,3409	-0,0528	0,1011
	CD8	0,1399	0,077	0,1147
	CD68x200	0,0025	-0,001	0,0103

Комментарий. FoxP3 чаще позитивно и достоверно (п/ж) коррелирует с ER (но не с PR), в то время как в отношении экспрессии HER2/neu как при отдельных типах РЭ, так и в объединенной группе больных раком тела матки каких-либо явных тенденций такого рода не выявляется.

Таблица 3. Ранговая корреляция по Спирмену соотношения экспрессии ER и PR при разных молекулярно-биологических типах рака эндометрия (РЭ)

Тип РЭ	Spearman	Коэффициент корреляции по нарастающей (от 1 до 5)	Маркеры лимфоцит-макрофагальной инфильтрации
	ER vs PR		
POLE (12)	0,614	4	FoxP3
			CD8
			CD68x200
MMR-D (75)	0,2620	1	FoxP3
			CD8
			CD68x200
P53 pos+mod (21)	0,7675	5	FoxP3
	(21)		CD8
			CD68x200
WCMP (110)	0,406	2	FoxP3
			CD8
			CD68x200
Все больные (218)	0,419	3	FoxP3
			CD8
			CD68x200

Комментарий. Величина ранговой корреляции по Спирмену соотношения ER и PR наименее высока в группе MMR-D (0,2620) и достигает наибольших значений в группах с признаками мутации гена POLE (0,614) и экспрессии p53 (0,7675), но не при типе без характерного молекулярного профиля / WCMP/(0,406) и в объединенной группе больных (0,419), указывая на тот факт, что у больных с отдельными современными молекулярно-биологическими типами РЭ, как видно, нарушается процесс передачи эстрогенного сигнала от ER к PR, учет чего может быть важен не только в фундаментальном, но и в практическом плане. В скобках n — число случаев.

Таблица 4. Прлиферативная активность опухолевой ткани (индекс Ki-67) и ее связь по Spearman с маркерами лимфоцитарно-макрофагальной инфильтрации при разных молекулярно-биологических типах рака эндометрия (РЭ)

Тип РЭ	Маркеры лимфоцитарно-макрофагальной инфильтрации	Ki-67 Spearman (ранговая)
POLE (12)	FoxP3	0,4339
	CD8	0,4175
	CD68x200	0,3217
MMR-D (75)	FoxP3	0,2420
	CD8	0,1762
	CD68x200	0,1324
P53 (21) pos+mod	FoxP3	0,4338
	CD8	0,4175
	CD68x200	0,3217
WCMP (111)	FoxP3	0,2170
	CD8	0,1868
	CD68x200	0,1153
Все больные (219)	FoxP3	0,2826
	CD8	0,3294
	CD68x200	0,1746

Комментарий. FoxP3 чаще позитивно и достоверно (п/ж) коррелирует с Ki-67, чем другие маркеры лимфоцитарно-макрофагальной инфильтрации, за исключением объединенной группы (всех) больных, что дополнительно указывает на заметные различия между больными, заболевающими отдельными типами РЭ, и может иметь прикладное значение в плане превентивных и терапевтических мер.

Таблица 5. Корреляции по Спирмену пролиферативной активности (Ki-67) vs ER при разных типах РЭ без учета маркеров лимфоцитарно-макрофагального заселения

Тип РЭ	Ki-67 vs ER Spearman (ранговая)
POLE (12)	0,150
MMR-D (75)	0,086
P53 (21) pos+mod	0,137
WCMP (111)	+0,263
Все больные (219)	- 0,031

Комментарий. В четырех группах из пяти (с мутацией гена POLE (-0.150); при экспрессии p53 (-0.137); при дефекте репарации ошибочно спаренных оснований /MMR-D/ (-0.086) и в наименьшей степени — в объединенной (всей) группе больных РЭ (-0.031) выявляется негативная/обратная ранговая корреляция между пролиферативной активностью опухолевой ткани и экспрессией в этой ткани рецепторов эстрогенов; в то же время при типе РЭ без характерного молекулярного профиля, WCMP отмеченная закономерность меняется на зависимость с противоположным знаком (ранговый критерий Спирмена +0,263).

Таблица 6. Корреляции по Спирмену пролиферативной активности (Ki-67) vs PR при разных типах РЭ без учета маркеров лимфоцитарно-макрофагального заселения

Тип РЭ	Ki-67 vs PR Spearman (ранговая)
POLE (12)	
MMR-D (75)	-0,1130
P53 (21) pos+mod	0,133
WCMP (111)	+0,216
Все 217 больные (219)	- 0,0041

Комментарий. Коэффициент ранговой корреляции по Spearman (обозначаемый как r_s) в случае оценки связи между пролиферативной активностью опухолевой ткани и экспрессией в этой ткани рецепторов не эстрогенов, а прогестерона удалось оценить в четырех группах больных РЭ. При этом в группах с экспрессией p53 (r_s 0,133), с дефектом репарации, MMR-D (0,1130), в объединенной группе больных раком тела матки (r_s 0,0041), равно как и в группе без характерного молекулярного профиля ткани опухоли (WCMP), r_s +0, 216, установленные закономерности были идентичны тем, которые были свойственны связям с экспрессией ER, т.е. у больных с частью типов РЭ выявлялась негативная ранговая корреляция между пролиферативной активностью опухолевой ткани и стероидной рецепцией в ней, тогда как при типе WCMP направленность подобной корреляции менялась на противоположную, а именно на позитивную, обозначая и в данном случае и фундаментальную, и прикладную важность накопленных данных.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии в статье конфликта интересов.

Финансирование

Исследование было поддержано грантом РФФИ 18-015-00026.

ЛИТЕРАТУРА

1. Talhouk A, McConechy MK, Leung S et al. Confirmation of ProMisE: A simple, genomics-based clinical classifier for endometrial cancer. *Cancer*. 2017;123(5):802-813. <https://doi.org/10.1002/cncr.30496>.
2. Берштейн Л.М., Порошина Т.Е., Васильев Д.А., Коваленко И.М. Иванцов А.О., Иевлева А.Г., Берлев И.В. Сравнительные особенности состояния углеводного обмена и массы тела при различных молекулярно-биологических типах рака эндометрия. *Вопр. онкол*, 2018;64(3):394-398.
3. Берштейн Л.М., Иевлева А.Г., Иванцов А.О., Васильев Д.А., Клещев М.А., Порошина Т.Е., Коваленко И.М., Венина А.Р., Берлев И.В. Современные молекулярно-биологические типы рака эндометрия: сравнительная эндокринная и провоспалительно-прогенотоксическая характеристика. *Вопр. онкол*. 2019;65(2):272-278.
4. Berstein LM, Iyevleva AG, Ivantsov AO, Vasilyev DA, Poroshina TE, Berlev IV. Endocrinology of obese and nonobese endometrial cancer patients: is there role of tumor molecular-biological type? *Future Oncol*. 2019;15(12):1335-1346. <https://doi.org/10.2217/fon-2018-0687>.
5. Берштейн Л.М., Иванцов А.О., Иевлева А.Г., Венина А.Р., Берлев И.В. Рецепторный фенотип, экспрессия HER-2/неу, PD1, PDL-1 и лимфоцитарно-макрофагальная инфильтрация карцином эндометрия: сравнение современных молекулярно-биологических типов заболевания (Роль индекса массы тела). *Вопр. онкол*. 2020;66(1):71-78.
6. Dun EC, Hanley K, Wieser F, Bohman S, Yu J, Taylor RN. Infiltration of tumor-associated macrophages is increased in the epithelial and stromal compartments of endometrial carcinomas. *Int J Gynecol Pathol*. 2013;32(6):576-584. <https://doi.org/10.1097/PGP.0b013e318284e198>.
7. Talhouk A, Derocher H, Schmidt P, Leung S, Milne K, Gilks CB et al. Molecular Subtype Not Immune Response Drives Outcomes in Endometrial Carcinoma. *Clin Cancer Res*. 2019;25(8):2537-2548. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-18-3241>.
8. de Jong RA, Leffers N, Boezen HM, ten Hoor KA, van der Zee AG, Hollema H, Nijman HW. Presence of tumor-infiltrating lymphocytes is an independent prognostic factor in type I and II endometrial cancer. *Gynecol Oncol*. 2009;114(1):105-110.
9. Eggink FA, Van Gool IC, Leary A, Pollock PM, Crosbie EJ, Mileskin L, Bosse T. et al. Immunological profiling of molecularly classified high-risk endometrial cancers identifies POLE-mutant and microsatellite unstable carcinomas as candidates for checkpoint inhibition. *Oncoimmunology*. 2016;6(2):e1264565.
10. Gadducci A, Guerrieri ME. Immune Checkpoint Inhibitors in Gynecological Cancers: Update of Literature and Perspectives of Clinical Research. *Anticancer Res*. 2017;37(11):5955-5965.

11. Szyllberg Ł, Karbownik D, Marszałek A. The Role of FOXP3 in Human Cancers. *Anticancer Res*. 2016;36(8):3789-3794.
12. Kitson S, Sivalingam VN, Bolton J, Crosbi E J. Ki-67 in endometrial cancer: scoring optimization and prognostic relevance for window studies. *Mod.Pathol*. 2017;30(3):459-468.
13. Stelloo E, Jansen AML, Osse EM et al. Practical guidance for mismatch repair-deficiency testing in endometrial cancer. *Ann Oncol*. 2017;28(1):96-102.
14. Harvey JM, Clark GM, Osborne CK, Allred DC. Estrogen receptor status by immunohistochemistry is superior to the ligand-binding assay for predicting response to adjuvant endocrine therapy in breast cancer. *J Clin Oncol*. 1999;17(5):1474-1481.
15. Łapińska-Szumczyk SM, Supernat AM, Majewska HI, Gulczyński J, Biernat W, Wydra D, Żaczek AJ. Immunohistochemical characterisation of molecular subtypes in endometrial cancer. *Int J Clin Exp Med*. 2015;8(11):21981-21990.

Поступила в редакцию 26.01.2021 г.

*L.M. Berstein¹, A.O. Ivantsov¹, A.G. Iyevleva¹,
D.A. Vasilyev¹, I.V. Berlev^{1, 2}*

**Lymphocyte-macrophage colonization
in various molecular biological types
of endometrial cancer: comparison with
the receptor status and proliferative activity
of tumor tissue**

¹ N.N. Petrov National Medical Research Center
of Oncology, Saint Petersburg, Russia

² I.I. Mechnikov North-Western State Medical University,
Saint Petersburg, Russia

Recent years have been marked by a gradual shift from the previous division of endometrial cancer (EC) into two main types to modern molecular biological classifications of this disease, one of which (at present, most likely, the most popular: Talhouk et al., 2017, 2019) is based on the use of a combination of genetic and immunohistochemical analysis.

The study involved material from untreated EC patients, the number of which varied depending on the method used. The average age of patients was close to 55-60 years, and over 80% of patients were postmenopausal.

Deparaffinized blocks of EC tissue were analyzed for POLE (DNA polymerase epsilon) mutations, evaluated by immunohistochemistry (IHC) the expression of the oncoprotein p53 and MMR (mismatch-repair) proteins / MLH1, MSH2, MSH6 and PMS2 /, and also helped to identify the type of disease without a characteristic molecular profile (WCMP).

In addition to studying the expression of p53 and MMR proteins, the IHC method was also used to study the expression of estrogen (ER) and progesterone (PR) receptors, the Ki-67 proliferative activity index, and the severity of macrophage-lymphocytic infiltration of the EC tissue based on the analysis of the macrophage marker (CD68) and markers of lymphocytic cells (cytotoxic CD8 and regulatory FoxP3) using reagents from Ventana and Dako.

Keywords: endometrial cancer, molecular-biological types, features

Г.С. Петросян^{1,2,3,4}, М.И. Школьник⁴, А.А. Кельн^{1,2,3}, А.В. Лыков^{1,2},
А.В. Купчин^{1,2}, Д.А. Иванов⁵

Динамика изменения почечной функции у пациентов, перенесших радикальную цистопроstateктомию с различными вариантами гетеротопического резервуара

¹ Областной урологический центр АО МСЧ «Нефтяник», г. Тюмень

² ГАУЗ ТО МКМЦ «Медицинский город», г. Тюмень

³ ФГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Тюмень

⁴ Российский научный центр радиологии и хирургических технологий имени академика А.М. Гранова, Санкт-Петербург

⁵ ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет», г. Казань

Введение. Хроническая почечная недостаточность у пациентов, перенесших радикальную цистопроstateктомию (РЦПЭ) с различными вариантами деривации мочи, является одной из значимых проблем, для решения которой требуется междисциплинарный подход. На сегодняшний день имеется недостаточное количество работ, сравнивающих значительное снижение СКФ между различными типами отведения мочи после радикальной цистэктоми.

Цель исследования. Изучить показатели СКФ у пациентов, перенесших РЦПЭ с гетеротопическим резервуаром по Брикер, и сравнить с аналогичными показателями у пациентов, перенесших РЦПЭ с «V» образным гетеротопическим резервуаром.

Материалы и методы. С целью изучения и сравнения динамики СКФ мы ретроспективно отобрали пациентов после радикальной цистопроstateктомии с гетеротипической илеоцистопластикой. Пациенты разделены на две группы: контрольная — пациенты с РЦПЭ и илеоцистопластикой по Брикер (n=46), группа исследования — пациенты с РЦПЭ и модифицированной V-образной гетеротопической илеоцистопластикой (n=49).

Результаты. На этапе выписки пациентов из стационара после РЦПЭ, уровень СКФ не носил статистически значимых отличий между исследуемой и контрольной группой (P= 0,3791), включая пациентов с наличием гидронефроза (P= 0,4664).

При динамическом наблюдении в течение 6 лет разница СКФ между группой исследования и контрольной группой была статистически значимой. В результате чего можно утверждать, что динамика снижения СКФ в группе исследования ниже чем контрольной группе. Особенно значимая разница СКФ наблюдалась у пациентов с имеющимся гидронефрозом на дооперационном этапе.

Заключение. Модифицированная «V» образная гетеротопическая деривация мочи может быть рекомендована к выполнению пациентам, перенесших РЦПЭ, особенно с имеющимся гидронефрозом на дооперационном этапе.

Данный метод стоит использовать у пациентов с хроническим пиелонефритом на фоне ранее диагностированного уретерогидронефроза, что является достаточно частым следствием инвазивного характера роста рака мочевого пузыря с обструкцией мочеточников.

Ключевые слова: рак мочевого пузыря, радикальная цистэктомия, гетеротопическая илеоцистопластика, скорость клубочковой фильтрации

Актуальность

Хроническая почечная недостаточность у пациентов, перенесших радикальную цистопроstateктомию (РЦПЭ) с различными вариантами деривации мочи, является одной из значимых проблем, для решения которой требуется междисциплинарный подход. Радикальная цистопроstateктомия (РЦПЭ) — золотой стандарт лечения мышечно-инвазивного рака мочевого пузыря. На сегодняшний день чаще всего выполняется гетеротопическая деривация мочи по Брикер, а у отдельно отобранной группы пациентов — ортотопическая илеоцистопластика. Тем не менее, продолжают дискуссии относительно выбора подходящего типа отведения мочи после радикальной цистэктоми.

Изменение функции почек является важным фактором риска отдаленных послеоперационных осложнений и смертности. В частности, снижение скорости клубочковой фильтрации (СКФ) на $\geq 30\%$ в течение первого года наблюдения является общепринятым критерием про-

грессирования почечной недостаточности [6]. Известно, что снижение исходной СКФ на $\geq 30\%$ в течение первого и второго года влечет к хроническому нарушению функции почек вплоть до терминальной стадии почечной недостаточности (ТПН) и увеличивает риск развития летального исхода [7].

Кроме того, деривация мочи как в гетеротопический, так и в ортотопический резервуар после радикальной цистэктомии несет риск развития хронического заболевания почек (ХБП) [8, 9, 10]. Следовательно, значительное снижение СКФ (т.е. снижение исходной СКФ на $\geq 30\%$ через 12 мес) [11, 12] может свидетельствовать о развитии ХБП после радикальной цистэктомии. Однако на сегодняшний день имеется недостаточное количество работ, сравнивающих значительное снижение СКФ между больными с различными типами отведения мочи после радикальной цистэктомии.

Целью исследования является изучение показателей СКФ у пациентов, перенесших РЦПЭ с гетеротопическим резервуаром по Брикер, и сравнение с аналогичными показателями у пациентов, перенесших РЦПЭ с «V» образным гетеротопическим резервуаром.

Материалы и методы

Ретроспективно отобрали пациентов, перенесших радикальную цистопростатэктомию с илеоцистопластикой по Брикер в Тюменской области в период с января 1999 по декабрь 2018 г.

Пациентов разделили на две группы, контрольная группа — пациенты перенесшие РЦПЭ с илеоцистопластикой по Брикер (n=46) — контрольная группа. Время наблюдения данных пациентов от 3 до 144 мес, медиана наблюдения 23,5 мес. Исследуемая группа — пациенты перенесшие РЦПЭ с «V»-образной гетеротопической илеоцистопластикой в модификации (n=49). Время наблюдения от 3 до 97 мес, медиана наблюдения 29,1 мес.

Анализ и визуализация данных проводились с использованием среды для статистических вычислений R 3.6.3 (R Foundation for Statistical Computing, Вена, Австрия) с использованием дополнительных пакетов сторонних разработчиков: *lme4 1.1-21*, *lmerTest 3.1-1*, *emmeans 1.4.8*, *car 3.0-7* и *MuMIn 1.43*. [1, 2, 3]

Описательные статистики для количественных переменных представлены в виде среднего (стандартное отклонение) и медианы (1-ый; 3-ий квартили). Для сравнения количественных переменных (базовый уровень СКФ) использовался тест Манна-Уитни.

Для анализа динамики СКФ после операции в исследуемых группах нами использовались смешанные линейные регрессионные модели с включением типа оперативного вмешательства, времени, термина их взаимодействия и уровня СКФ до операции в качестве ковариаты (ANCOVA с повторными наблюдениями). Для оценки качества модели использовался скорректированный коэффициент детерминации (R^2). Различия между группами считали значимыми при $p < 0,05$ [4, 5].

Результаты

При анализе исходного уровня СКФ в изучаемых группах (табл. 1) нами не было выявлено статистически значимых отличий между группами, таким образом группы были сопоставимы. Однако, данная переменная включалась в регрессионные модели в качестве поправочной ковариаты, что исключает возможное его влияние на эффект оперативного лечения [3, 4, 5].

В табл. 2 представлены обобщенные результаты ковариационного анализа. Было установлено, что тип операции был статистически значимым предиктором уровня СКФ после операции как у всех пациентов. Статистически значимых отличий между группами среди пациентов с наличием гидронефроза выявлено не было, однако оценки маргинальных средних значений (рис. 2) могут свидетельствовать о тенденции к более высоким значениям СКФ после операции в экспериментальной группе по сравнению с контрольной.

Таблица 1. Исходный уровень СКФ в изучаемых группах

	«V» образный Брикер	Классический Брикер	P
Все пациенты	60,5 (21,5)	60,5 (19,6)	0,9938
	60,0 (45,0–76,0)	54,0 (47,0–78,0)	
Пациенты с гидронефрозом	54,2 (20,4)	55,5 (17,8)	0,8254
	53,0 (37,0–69,0)	52,0 (47,0–62,0)	

Таблица 2. Результаты ковариационного анализа

Ковариата	Все пациенты (R ² =0,79)			Гидронефроз (R ² =0,82)			Односторонний (R ² =0,83)			Двусторонний (R ² =0,72)		
	χ^2 (LR)	df	P	χ^2 (LR)	df	P	χ^2 (LR)	df	P	χ^2 (LR)	df	P
Группа	9,58	1	0,0020	7,64	1	0,0057	5,08	1	0,0242	1,96	1	0,1617
Время после операции	52,84	7	<0,0001	31,34	7	<0,0001	19,64	7	0,0064	11,87	7	0,1049
Исходный уровень СКФ	56,78	1	<0,0001	24,01	1	<0,0001	17,53	1	<0,0001	2,76	1	0,0964
Группа время после операции	15,70	7	0,0280	17,57	7	0,0141	10,79	7	0,1479	7,05	5	0,2167

В табл. 3 и на рис. 1–3 представлены оценки маргинальных средних значений уровня СКФ (с соответствующими 95% доверительными интервалами) в группах на различных сроках после операции. В табл. 3 также представлены результаты сравнения исследуемых групп в отношении уровня СКФ на разных сроках после операции (приведены разницы между средними с соответствующими 95% доверительными интервалами и р-значения).

На этапе выписки пациентов из стационара после РЦПЭ, уровень СКФ не носил статистически значимых отличий между исследуемой и контрольной группой (P=0,3791), включая пациентов с наличием гидронефроза (P=0,4664).

При динамическом наблюдении разница СКФ между группой исследования и контрольной группой была статистически значимой.

Обсуждение

В настоящий момент имеется ряд работ, в которых исследовали СКФ в динамике у пациентов, перенесших РЦПЭ. Makino K. и соавт. оценили краткосрочную и отдаленную функцию почек у 91 пациента после радикальной цист-простатэктомии (РЦПЭ). Было обнаружено, что у пациентов, перенёсших РЦПЭ быстрое ухудшение функции почек происходит в течение первого года после операции [13].

Eisenberg M.S., Thompson R.H. оценили отдаленное течение почечной функции после РЦПЭ с различными вариантами деривации мочи, изучив 1631 историю болезни в период с 1980 по 2006 г. Снижение функции почек отмечается у большинства пациентов при длительном наблюдении после РЦПЭ [14].

Таблица 3. Оценки маргинального среднего уровня СКФ (с соответствующими 95% доверительными интервалами) у пациентов с гидронефрозом и оценки разницы между средними уровнями СКФ (с соответствующими 95% доверительными интервалами) в динамике

Группа	При выписке	Через 0,5 лет	Через 1 год	Через 2 года	Через 3 года	Через 4 года	Через 5 лет	Через 6 лет
Все пациенты								
«V» образный Брикер	69,1 [63,4; 74,7]	73,4 [67,9; 78,9]	71,3 [65,6; 77,1]	66,2 [60,2; 72,3]	61,3 [54,1; 68,4]	62,2 [53,0; 71,5]	60,5 [51,2; 69,8]	64,0 [54,2; 73,8]
Классический Брикер	65,6 [60,0; 71,1]	60,0 [54,3; 65,7]	57,4 [51,5; 63,3]	54,2 [47,8; 60,6]	46,9 [38,8; 55,0]	47,2 [36,7; 57,7]	42,3 [28,2; 56,3]	38,6 [24,6; 52,6]
Разница	3,5 [11,4; -4,4]	13,4 [21,3; 5,4]	13,9 [22,2; 5,7]	12,0 [20,9; 3,2]	14,4 [25,2; 3,6]	15,1 [29,1; 1,0]	18,2 [35,1; 1,4]	25,4 [42,5; 8,3]
P	0,3791	0,0011	0,0011	0,0077	0,0092	0,0353	0,0340	0,0037
Все пациенты с гидронефрозом								
«V» образный Брикер	66,3 [58,2; 74,3]	70,2 [62,1; 78,3]	67,4 [59,0; 75,8]	63,4 [54,7; 72,2]	60,6 [50,9; 70,3]	59,6 [49,0; 70,2]	57,9 [47,2; 68,5]	61,4 [50,3; 72,4]
Классический Брикер	61,9 [53,1; 70,7]	50,9 [41,8; 60,1]	49,7 [40,3; 59,0]	42,7 [32,7; 52,7]	36,4 [24,3; 48,5]	42,7 [28,9; 56,6]	40,0 15,6; [64,3]	29,0 [4,6; 53,3]
Разница	4,4 [16,3; -7,6]	19,3 [31,5; 7,1]	17,7 [30,3; 5,2]	20,7 [34,0; 7,5]	24,2 [39,8; 8,7]	16,9 [34,3; -0,6]	17,9 [44,5; -8,7]	32,4 [59,2; 5,7]
P	0,4664	0,0024	0,0063	0,0026	0,0024	0,0583	0,1858	0,0179

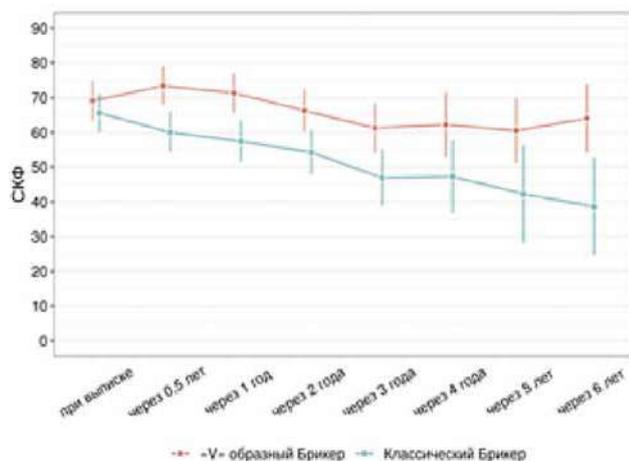


Рис. 1. Оценки маргинального среднего уровня СКФ (с соответствующими 95% доверительными интервалами). Все пациенты. P=0,0280

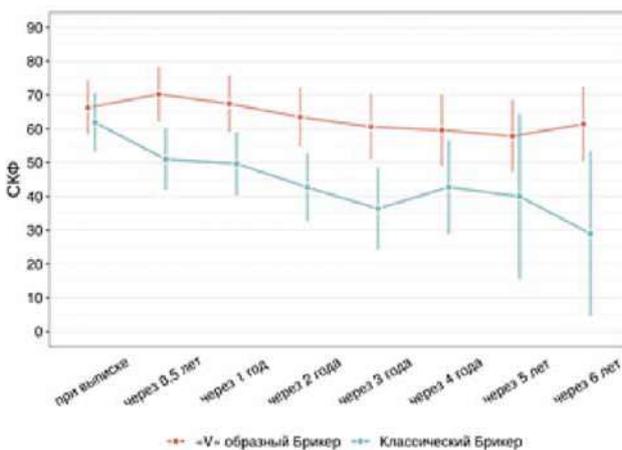


Рис. 2. Оценки маргинального среднего уровня СКФ (с соответствующими 95% доверительными интервалами) у пациентов с гидронефрозом в динамике. P=0,141

Rouanne M., Perreaud A., Letang N. изучив истории болезни 226 пациентов которым в период с 1980 по 2008 г. проведена РЦПЭ. При этом быстрое снижение рСКФ произошло в течение первых 2-х лет после операции (СКФ — 9 мл/мин в год) и с умеренным и незначительным снижением в последующие годы. Обструкция мочевыводящих путей диагностирована у 51 пациента (23%) [15].

Creta M., Fusco F., La Rocca R. провели ретроспективное исследование 70 пациентов со средним возрастом 78 лет, перенесших РЦПЭ с УКС. Средняя предоперационная рСКФ составляла 74,3 мл/мин и значительно снизилась до 54,6 мл/мин через 6 мес ($p < 0,001$). После этого наблюдалось постепенное снижение рСКФ, достигнув медианного значения 46,2 через 60 мес [16].

Faraj K.S., Mi L., Eversman S. ретроспективно проанализировали функцию почек 563 пациентов перенесших РЦПЭ с 2007 по 2018 г. Из них 72 (12,8%) пациентам выполнена ортотопическая илеоцистопластика, а 491 (87,2%) выполнена гетеротопическая илеоцистопластика. У всех пациентов как с ортотопической и гетеротопической илеоцистопластикой снижалась функция почек с течением времени, при этом средняя потеря СКФ через 5 лет составила 17% и 14% от исходных значений соответственно [17].

В проведенном нами исследовании уровня СКФ в динамике, мы выявили статистически значимую разницу СКФ между группой исследования («V» образный) и контрольной группой (классический Брикер). При отдельном исследовании пациентов с имеющимся гидронефрозом (одно или двухсторонний) на дооперационном этапе, наблюдалось умеренное, незначительное снижение уровня СКФ в группе исследования.

Заключение

«V» образная гетеротопическая деривация мочи может быть рекомендована к выполнению пациентам, перенесших РЦПЭ, особенно с имеющимся гидронефрозом на дооперационном этапе.

Вклад авторов:

Петросян Г.С. — написание текста рукописи, обзор публикаций по теме статьи;

Школьник М.И. — получение данных для анализа, анализ полученных данных;

Кельн А.А. — получение данных для анализа, анализ полученных данных;

Лыков А.В. — написание текста рукописи;

Купчин А.В. — обзор публикаций по теме статьи;

Иванов Д.А. — написание текста рукописи.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии в статье конфликта интересов.

Финансирование

Исследование не имело спонсорской поддержки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Fox J, Weisberg S An R Companion to Applied Regression (3rd Edition). SAGE Publications, Inc. 2018. P 205–206, 360–371. ISBN: 978-1544336473
2. Bartoń K. (2020). MuMIn: Multi-Model Inference. R package version 1.43.17. <https://doi.org/10.18637/jid.2020.143.17>
3. Harrell Jr.FE, Slaughter JC. Biostatistics for Biomedical Research. 2020:3–15. <https://doi.org/10.1002/biostat.2020.3-15>
4. Steyerberg EW. Clinical prediction models: a practical approach to development, validation, and updating (2nd Edition). 2019:29–31. ISBN: 978-3030163983
5. EMA. Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP). Guideline on adjustment for baseline covariates in clinical trials. 2013. <https://doi.org/10.1016/j.ema.2013.10.001>
6. Lambers Heerspink HJ, Tighiouart H, Sang Y, Ballew S, Mondal H, Matsushita K, Coresh J, Levey AS, Inker LA. GFR decline and subsequent risk of established kidney outcomes: a meta-analysis of 37 randomized controlled trials // Am J Kidney Dis. 2014 Dec;64(6):860–6. <https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2014.08.018>. Epub 2014 Oct 16. PMID: 25441439
7. Matsushita K, Chen J, Sang Y, Ballew SH, Shimazaki R, Fukagawa M, Imai E, Coresh J, Hishida A. Risk of end-stage renal disease in Japanese patients with chronic kidney disease increases proportionately to decline in estimated glomerular filtration rate // Kidney Int. 2016 Nov;90(5):1109–1114. <https://doi.org/10.1016/j.kint.2016.08.003>. Epub 2016 Sep 22. PMID: 27666758
8. Jin XD, Roethlisberger S, Burkhard FC, Birkhaeuser F, Thoeny HC, Studer UE. Long-term renal function after urinary diversion by ileal conduit or orthotopic ileal bladder substitution // Eur Urol. 2012 Mar;61(3):491–7. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2011.09.004>. Epub 2011 Sep 15. PMID: 21944435
9. Shimko MS, Tollefson MK, Umbreit EC, Farmer SA, Blute ML, Frank I. Long-term complications of conduit urinary diversion // J. Urol. 2011;185:562–567 [Google Scholar] [PubMed].
10. Rouanne M, Perreaud A, Letang N, Yonneau L, Neuzillet Y, Hervé JM, Botto H, Leuret T. Trends in renal function after radical cystectomy and ileal conduit diversion: new insights regarding estimated glomerular filtration rate variations // Clin Genitourin Cancer. 2015 Jun;13(3):e139–44. <https://doi.org/10.1016/j.clgc.2014.11.003>. Epub 2014 Nov 15. PMID: 25514859
11. Lambers Heerspink HJ, Tighiouart H, Sang Y, Ballew S, Mondal H, Matsushita K, Coresh J, Levey AS, Inker LA. GFR decline and subsequent risk of established kidney outcomes: a meta-analysis of 37 randomized controlled trials // Am J Kidney Dis. 2014 Dec;64(6):860–6. <https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2014.08.018>

// doi: 10.1053/j.ajkd.2014.08.018. Epub 2014 Oct 16. PMID: 25441439

12. Matsushita K, Chen J, Sang Y, Ballew SH, Shimazaki R, Fukagawa M, Imai E, Coresh J, Hishida A. Risk of end-stage renal disease in Japanese patients with chronic kidney disease increases proportionately to decline in estimated glomerular filtration rate // *Kidney Int.* 2016 Nov;90(5):1109–1114. <https://doi.org/10.1016/j.kint.2016.08.003>. Epub 2016 Sep 22. PMID: 27666758
13. Makino K, Nakagawa T, Kanatani A et al. Biphasic decline in renal function after radical cystectomy with urinary diversion // *Int J Clin Oncol.* 2017;22(2):359–365. <https://doi.org/10.1007/s10147-016-1053-2>
14. Eisenberg MS, Thompson RH, Frank I et al. Long-term renal function outcomes after radical cystectomy // *J Urol.* 2014;191(3):619–625. <https://doi.org/10.1016/j.juro.2013.09.011>
15. Rouanne M, Perreaud A, Letang N et al. Trends in renal function after radical cystectomy and ileal conduit diversion: new insights regarding estimated glomerular filtration rate variations // *Clin Genitourin Cancer.* 2015;13(3):e139–144. <https://doi.org/10.1016/j.clgc.2014.11.003>
16. Creta M, Fusco F, La Rocca R et al. Short- and Long-Term Evaluation of Renal Function after Radical Cystectomy and Cutaneous Ureterostomy in High-Risk Patients // *J Clin Med.* 2020;9(7):2191 // Published. 2020 Jul 11. <https://doi.org/10.3390/jcm9072191>
17. Faraj KS, Mi L, Eversman S et al. The effect of urinary diversion on long-term kidney function after cystectomy [published online ahead of print, 2020 May 29] // *Urol Oncol.* 2020;1078–1439(20)30199-X. <https://doi.org/10.1016/j.urolonc.2020.05.003>

Поступила в редакцию 27.12.2020 г.

G.S. Petrosyan^{1,2,3,4}, M.I. Shkolnik⁴, A.A. Keln^{1,2,3},
A.V. Lykov^{1,2}, A.V. Kupchin^{1,2}, D.A. Ivanov⁵

Dynamics of changes in renal function in patients undergoing radical cystoprostatectomy with various variants of heterotopic reservoir

¹ Regional urological center of AC MSU «Neftyanik», Tyumen, the Russian Federation

² MCMC «Medical City», Tyumen, the Russian Federation

³ Tyumen State Medical University of the Russia Ministry of Health, Tyumen, the Russian Federation

⁴ Russian scientific center of radiology and surgical technologies named after academician A.M. Granov, Saint-Petersburg

⁵ Kazan State Medical University, Kazan, the Russian Federation

Relevance. Chronic renal failure in patients undergoing radical cystoprostatectomy (RCPE) with various variants of urine derivation is one of the significant problems that requires an interdisciplinary approach. To date, there is an insufficient number of studies comparing a significant decrease in glomerular filtration rate (GFR) between different types of urine diversion after radical cystectomy.

Purpose of research. To study glomerular filtration rate (GFR) indicators in patients who underwent radical cystectomy with a heterotopic Bricker reservoir and compare them with similar indicators in patients who underwent radical cystectomy with a «V» shaped heterotopic reservoir. To compare early postoperative complications in patients who underwent radical cystoprostatectomy with the formation of a heterotopic Bricker reservoir and with a modified V-shaped heterotopic reservoir.

Materials and methods. To study and compare the dynamics of glomerular filtration rate (GFR), we retrospectively selected patients after radical cystoprostatectomy with heterotopic ileocystoplasty. Patients were divided into two groups: the control group — patients with radical cystoprostatectomy and Bricker ileocystoplasty (n=46), the study group — patients with radical cystoprostatectomy and modified V-shaped heterotopic ileocystoplasty (n=49).

Results. At the stage of discharge of patients from the hospital after radical cystoprostatectomy, the level of glomerular filtration rate (GFR) was not statistically significant differences between the study and control group (P=0.3791), including patients with the presence of hydronephrosis (P=0.4664).

The difference in glomerular filtration rate (GFR) between the study group and the control group was statistically significant after 6 years of dynamic follow-up. As a result, it can be argued that the dynamics of glomerular filtration rate (GFR) reduction in the study group is lower than in the control group. A particularly significant difference in glomerular filtration rate (GFR) was observed in patients with existing hydronephrosis at the preoperative stage.

Conclusion. Modified «V» — shaped heterotopic urine derivation can be recommended for patients who have undergone radical cystoprostatectomy, especially with existing hydronephrosis at the preoperative stage.

This method should be used in patients with chronic pyelonephritis against the background of previously diagnosed ureterohydronephrosis, which is a fairly frequent consequence of the invasive nature of the growth of bladder cancer with ureteral obstruction.

Key words: bladder cancer, radical cystectomy, heterotopic ileocystoplasty, glomerular filtration rate

С.В. Масевнин¹, Д.А. Пташников^{1, 2}, Е.В. Левченко³, Н.С. Заборовский¹, И. Купарадзе²

Соматическая патология как фактор риска задержки оперативного лечения у пациентов с метастатическим поражением позвоночника

¹ ФГБУ «НМИЦ травматологии и ортопедии имени Р.Р. Вредена» Минздрава России, Санкт-Петербург

² ГБОУ ВПО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург

³ ФГБУ «НМИЦ онкологии имени Н.Н. Петрова» Минздрава России, Санкт-Петербург

Цель. Определение степени влияния обострения соматической патологии на смещение сроков оперативного лечения у пациентов с метастатическим поражением позвонков.

Материалы и методы. Проведен ретроспективный анализ данных 210 пациентов с новообразованиями позвоночника, проходивших лечение в период с 2013 по 2017 г. В данной когорте был проведен анализ средних сроков от момента определения показаний к оперативному лечению до операции, а также частоты соматической патологии, которая являлась противопоказанием к хирургическому лечению.

Результаты. Средние сроки от момента определения показаний к оперативному лечению до операции в основной когорте пациентов составили 46,4 дней (12–86). Обострение патологии ЖКТ с образованием язвы или эрозий желудка и двенадцатиперстной кишки являлось наиболее частой причиной отложенного оперативного лечения (41%). При этом 86% случаев данного осложнения приводили к смещению сроков хирургического вмешательства до 1 мес. Наличие очагов хронической инфекции статистически значимо обуславливало наибольшую продолжительность дооперационного периода (>1 мес) в 52,6% случаев.

Заключение. Обострение патологии ЖКТ и наличие очагов хронической инфекции у пациентов с метастатическим поражением позвоночника являются наиболее частыми противопоказаниями к хирургическому лечению и причинами увеличения сроков дооперационного периода.

Ключевые слова: метастатическое поражение позвонков, соматическая патология, противопоказания к хирургическому лечению

Введение

Оперативное лечение пациентов с метастатическим поражением позвонков, направленное на стабилизацию позвоночного столба и деком-

прессию нервных структур, значимо влияет на качество жизни [12, 13], снижает уровень болевого синдрома, предотвращает прогрессирование неврологического дефицита и позволяет продолжить полноценную терапию онкологической патологии [7]. Тем самым, хирургическое лечение пациентов данного профиля может опосредованно влиять на продолжительность жизни. При этом объем оперативного лечения должен определяться исходя из прогнозируемой продолжительности жизни, общего состояния пациента и распространенности онкологического процесса. Комплексная оценка данных критериев позволяет соответствовать принципам паллиативной хирургии и избегать излишне травматичных оперативных приемов, что сокращает сроки реабилитации и позволяет, как можно раньше продолжить специфическую терапию онкологического заболевания.

Несмотря на мнение подавляющего большинства врачей, что оперативное лечение данной патологии необходимо проводить в максимально ранние сроки, хирургия пациентов описываемого профиля является плановой и должна строго соответствовать стандартам оказания медицинской помощи в плановом порядке. При этом пациенты соответствующего профиля нередко имеют отягощенный соматический статус с обострением или декомпенсацией хронической патологии, что откладывает оперативное лечение или делает его проведение невозможным.

Целью данного исследования являлось определение факторов, влияющих на сроки оперативного лечения у пациентов с метастатическим поражением позвоночника.

Материалы и методы

Проведен ретроспективный анализ данных 210 пациентов с новообразованиями позвоночника, проходивших лечение в период с 2013 по 2017 г. По результатам начального анализа из общей когорты пациентов были исключены 33 человека, у которых было выявлено первичное поражение позвоночника и 17 пациентов, которым выполнялось минимально инвазивное лечение (вертебропластика, радиоча-

стотная абляция). Из оставшихся 160 пациентов 118 имели онкологический анамнез, а у 42 — диагноз был установлен впервые на основании патогистологического исследования материала после трепанбиопсии. Всем пациентам окончательной когорты (n=160) было выполнено оперативное лечение под эндотрахеальным наркозом. Проведенное лечение включало в себя стабилизирующее оперативное лечение при необходимости с декомпрессией нервных структур (n=134) или радикальное реконструктивно-восстановительное лечение у пациентов с солитарным очагом в позвоночнике, с полной резекцией опухоли, по возможности единым блоком, замещением дефекта тела позвонка межтеловым имплантом и инструментальной фиксации позвоночника (n=26).

Результаты

Продолжительность периода от момента определения показаний к оперативному лечению до непосредственно хирургического вмешательства зависит от множества факторов как несвязанных между собой, так и оказывающих взаимное влияние. При этом организация медицинской помощи онкологическим больным в условиях федеральных центров в настоящее время находится на достаточно высоком уровне, что позволяет снизить влияние таких факторов, как определение источника финансирования или ожидание госпитализации в единой очереди пациентов. Таким образом, на передний план выходят медицинские противопоказания к проведению планового оперативного вмешательства. В данном исследовании мы оце-

нили частоту таких факторов и их влияние на увеличение сроков дооперационного периода.

Средние сроки от момента определения показаний к оперативному лечению до операции в основной когорте пациентов составили 46,4 дня (12–86). При этом средние сроки статистически значимо не отличались в группах пациентов с подтвержденным онкологическим диагнозом и впервые выявленной патологией (табл. 1), а также в группах с различным объемом оперативного лечения (табл. 2).

Анализ противопоказаний к плановому хирургическому вмешательству выявил наличие патологии желудочно-кишечного тракта (язва желудка, двенадцатиперстной кишки, эрозии желудка), венозной системы (острый тромбоз, тромбофлебит), сердечно-сосудистой системы (неконтролируемая артериальная гипертензия), наличие очагов хронической инфекции (цистит, гайморит, хронические инфекции полости рта) и инфекционных заболеваний (ОРВИ, острый бронхит, пневмония).

Первым этапом, исключив из первичной когорты пациентов, оперированных в первые 30 сут после установления показаний (n=68), а также пациентов у которых задержка оперативного лечения была вызвана причинами, не связанными с медицинскими противопоказаниями (n=8), мы провели анализ полученной группы больных (n=84) и оценили распределение соматических заболеваний по нозологии (рис.).

Таблица 1. Средние сроки до оперативного лечения в зависимости от наличия онкологического анамнеза

	Онкологический анамнез (n=118)	Впервые выявленная патология (n=42)	p — значение
Средние сроки до операции	45,6	47,2	0,124

Таблица 2. Средние сроки до операции в зависимости от объема хирургического лечения

	I группа (MIS стабилизация) (n=42)	II группа (MIS стабилизация + декомпрессия) (n=92)	III группа (радикальная резекция) (n=26)	p — значение
Средние сроки до операции	44,8	46,3	47,8	0,086

Распределение соматической патологии в общей группе пациентов (n=84)

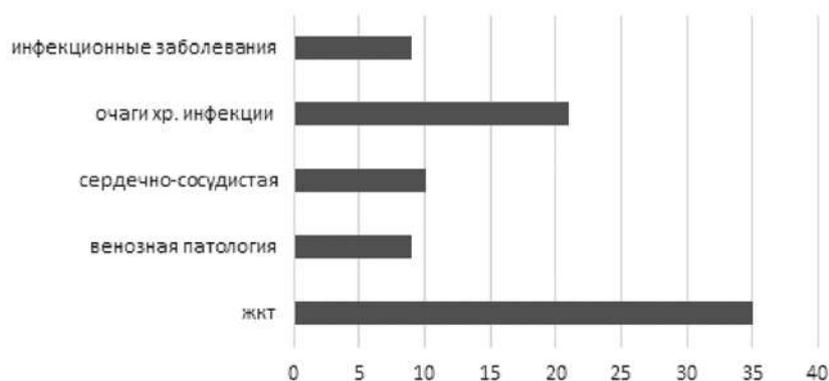


Рис. 1. Распределение по нозологии сопутствующей соматической патологии в общей когорте пациентов

Таблица 3. Частота обострения сопутствующей соматической патологии в группах с различной продолжительностью дооперационного периода

Патология	I группа n=21	II группа n=44	III группа n=19	p — значение
	(30–45 сут)	(46–60 сут)	(более 60 сут)	
ЖКТ	6 (28,6%)	24 (54,5%)	5 (26,3%)	0,044*
				pI–II 0,051**
				pII–III 0,041**
				pI–III 0,875**
Венозная патология	4 (19,1%)	5 (11,4%)	–	0,151*
Сердечно-сосудистая патология	6 (28,6%)	3 (6,8%)	1 (5,3)	0,025*
				pI–II 0,018**
				pII–III 0,818**
				pI–III 0,056**
Очаги хронической инфекции	3 (14,3%)	8 (18,2%)	10 (52,6%)	0,007*
				pI–II 0,697**
				pII–III 0,006**
				pI–III 0,011**
Инфекционные заболевания	2 (9,5%)	4 (9,1%)	3 (15,8%)	0,720*

*Согласно критерию Краскела–Уоллеса; **согласно критерию Манна–Уитни.

В большинстве случаев у пациентов были выявлены обострения заболеваний желудочно-кишечного тракта (41%) и наличие очагов хронической инфекции (25%). В равных долях задержку оперативного лечения вызывали патологии сердечно-сосудистой системы (12%), венозной системы (11%) и инфекционные заболевания (11%).

Следующим этапом общая когорта пациентов была поделена на группы в зависимости от продолжительности дооперационного периода. В первую группу вошел 21 пациент с продолжительностью дооперационного периода от 30 до 45 сут, во вторую группу 44 человека с периодом от 46 до 60 сут и третью группу составили 19 пациентов с ожиданием хирургического лечения более 60 сут. В данных группах нами была проанализирована частота соматической патологии, которая являлась противопоказанием к оперативному лечению и ее распределение в группах (табл. 3).

Первичный анализ распределения данной патологии показал, что в первой группе наибольшая частота встречаемости была у сердечно-сосудистой патологии и заболеваний ЖКТ (по 28,6%). Во второй группе значительную роль в переносе сроков хирургического лечения играла патология ЖКТ (54,5%). В третьей группе более половины всех случаев задержки оперативного лечения были обусловлены наличием очагов хронической инфекции (52,6%).

Статистическая значимость различий в группах была оценена при помощи непараметрических критериев Краскела–Уоллеса и Манна–Уитни. При этом первым этапом было проведено сравнение в трех группах по критерию Краскела–Уоллеса, а в дальнейшем, при выявлении значимых различий ($p < 0,05$), попарные сравнения групп при помощи критерия Манна–Уитни с новым критерием значимости: $0,05/3 = 0,017$. Таким образом, мы получили статистически значимые различия в частоте выявления очагов хронической инфекции в третьей группе в сравнении с первой и второй ($p = 0,011$ и $p = 0,006$ соответственно).

Обсуждение

Онкологическая патология позвоночника в подавляющем большинстве случаев представлена метастатическим поражением [3]. Несмотря на значительные успехи химиотерапевтических, лучевых и радиохирургических методик лечения онкологической патологии, оперативное вмешательство у пациентов с метастатическим поражением позвонков в большинстве случаев остается единственным методом, позволяющим обеспечить стабильность позвоночника и полноценную декомпрессию нервных структур [9]. При этом комплексное лечение онкологического заболевания зачастую влияет на существующую соматическую патологию,

вызывая обострение или, в некоторых случаях, ее декомпенсацию. Кроме того, терапия онкологического заболевания, являясь безусловным приоритетом, нередко полностью вытесняет лечение сопутствующей патологии в результате нарушения комплаенса у некоторых пациентов. Данная ситуация часто возникает у пациентов с наличием отдаленных метастазов вследствие страха прогрессирования заболевания, являющегося одним из основных психологических стрессов онкологических пациентов, который может приводить к недооценке значимости терапии сопутствующей патологии или профилактики ее обострения [6, 12].

Данные факторы, наряду с приемом широкого спектра обезболивающих препаратов и глюкокортикостероидов могут с высокой вероятностью вызывать обострение заболеваний ЖКТ и сердечно-сосудистой патологии. Так, по современным данным, гастродуоденальные язвы возникают у 20–25% больных, длительно принимающих НПВП, а эрозивные поражения — более чем у 50% пациентов [4]. Кроме того, в настоящее время доказана роль психоэмоциональных механизмов в патогенезе эрозивного гастрита, которые безусловно сопутствуют онкологическому заболеванию [1, 5].

Также у всех пациентов данного профиля имеются нарушения иммунной системы, что обуславливает, прежде всего, появление самой онкологической патологии. Кроме того, специфическое лечение, которое получают большинство онкологических больных, способствует усугублению иммунодефицита и увеличению частоты различных инфекционных заболеваний [2].

В то же время иммуносупрессивная терапия онкологической патологии (глюкокортикостероиды, химиотерапия, лучевая терапия) вызывает нарушение секреторной функции кожных желез и повышение проницаемости кожных покровов для микроорганизмов, что повышает риски развития локальных инфекций [8, 10, 11, 14].

Лечение сопутствующей патологии в условиях агрессивной терапии онкологического процесса отличается в первую очередь тем, что у пациентов данного профиля зачастую невозможно исключить факторы, непосредственно вызывающие развитие или усугубляющие течение соматической патологии. Это, в свою очередь, приводит к увеличению сроков и снижению эффективности терапии по сравнению со стандартными вариантами течения заболеваний.

Таким образом, эффективность стандартного курса терапии эрозивного гастрита продолжительностью 2–3 нед, по данным эндоскопического контрольного исследования, составляет 58% [5], а в случаях сохраняющихся факторов риска закономерно снижается [4].

Проведенное исследование показало, что обострение патологии ЖКТ с образованием язвы или эрозий желудка и двенадцатиперстной кишки являлось наиболее частой причиной отложенного оперативного лечения (41%). При этом 86% случаев данного осложнения приводили к смещению сроков хирургического вмешательства до 1 мес. Наличие очагов хронической инфекции статистически значимо обуславливало наибольшую продолжительность дооперационного периода (>1 мес) в 52,6% случаев.

Заключение

Обострение патологии ЖКТ и наличие очагов хронической инфекции у пациентов с метастатическим поражением позвоночника являются наиболее частыми противопоказаниями к хирургическому лечению и причинами увеличения сроков дооперационного периода. Своевременное обследование пациентов данного профиля позволяет ускорить оказание хирургического этапа медицинской помощи.

Вклад авторов

Авторы внесли равнозначный вклад в работу над статьей.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии в статье конфликта интересов.

Источник финансирования

Источника финансирования нет.

ЛИТЕРАТУРА

1. Белова Е.Б. Эрозии желудка и двенадцатиперстной кишки: некоторые аспекты патогенеза и дифференцированной терапии: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. Ижевск, 2006.
2. Григорьевская З.В., Петухова И.Н., Багирова Н.С. и др. Нозокомиальные инфекции у онкологических больных: проблема нарастающей резистентности грамотрицательных микроорганизмов // Сибирский онкологический журнал. 2017;16(1):91–97.
3. Заборовский Н.С., Пташников Д.А., Топузов Э.Э. и др. Эпидемиология опухолей позвоночника у пациентов, получивших специализированную ортопедическую помощь // Травматология и ортопедия России. 2019;25(1):104–112.
4. Ивашкин В.Т., Шептулин А.А., Маев И.В. и др. Клинические рекомендации Российской гастроэнтерологической ассоциации по диагностике и лечению язвенной болезни // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 2016;26(6):40–54.
5. Рудая Н.С., Жерлов Г.К. Хронические эрозии желудка: новые возможности патогенетического лечения // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2009;№ 6:127–131.

6. Dankert A, Duran G, Engst-Hastreiter U et al. Fear of progression in patients with cancer, diabetes mellitus and chronic arthritis // *Rehabilitation (Stuttg)*. 2003;42(3):155–163. German. PubMed PMID: 12813652
7. Hessler C, Burkhardt T, Raimund F et al. Dynamics of neurological deficit after surgical decompression of symptomatic vertebral metastases // *Spine (Phila Pa 1976)*. 2009; 34:566–71.
8. Ibrahim NK, Sahin AA, Dubrow RA et al. Colitis associated with docetaxel-based chemotherapy in patients with metastatic breast cancer // *Lancet* 2000;355(9200):281–283.
9. Kim HJ, Buchowski JM, Moussallem CD, Rose PS. Modern techniques in the treatment of patients with metastatic spine disease // *J Bone Joint Surg Am*. 2012;94(10):943–951.
10. Leather HL, Wingard JR. Infections following hematopoietic stem cell transplantation. Infections in the compromised host // *Inf. Dis. Clin. of N Am*. 2001;15(2):487–520.
11. Mandel GL. Principles and Practice of Infections Diseases. 16th ed. Elsevier Churchill Livingstone. 2010;4320 p.
12. Quan GM, Vital JM, Aurouer N et al. Surgery improves pain, function and quality of life in patients with spinal metastases: a prospective study on 118 patients // *Eur Spine J*. 2011;20:1970–8.
13. Tomita K, Kawahara N, Kobayashi T et al. Surgical strategy for spinal metastases // *Spine (Phila Pa 1976)*. 2001;26:298–306.
14. Wang CY, Jermg JS, Cheng KY. Pandrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* among hospitalized patients: clinical features, risk-factors and outcomes // *Clinical Microbiology and Infection*. 2006;12:63–64.

Поступила в редакцию 11.01.2021

*S.V. Masevnin¹, D.A. Ptashnikov^{1, 2}, E.V. Levchenko³,
N.S. Zaborovskii¹, I. Kuparadze²*

Somatic pathology as a risk factor for delayed surgical treatment in patients with spinal metastases

¹ R.R. Vreden National Medical Research Center of Traumatology and Orthopedics, Saint-Petersburg

² Mechnikov North-West State Medical University, Saint-Petersburg

³ N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology, Saint-Petersburg

Aim. Determining the degree of influence of exacerbation of somatic pathology on the shift of the terms of surgical treatment in patients with spinal metastases.

Methods. A retrospective analysis of the data of 210 patients with spinal neoplasms undergoing treatment in the period from 2013 to 2017 was performed. In this cohort, the average terms from the moment of determining the indications for surgical treatment to surgery, as well as the frequency of somatic pathology, which was a contraindication to surgical treatment, were analyzed.

Results. The average time from the moment of determining the indications for surgical treatment to surgery in the main cohort of patients was 46.4 days (12–86). An aggravation of the gastrointestinal tract pathology with the formation of ulcers or erosion of the stomach and duodenum was the most common cause of delayed surgical treatment (41%). At the same time, 86% of cases of this complication led to a shift in the timing of surgery to 1 month. The presence of foci of chronic infection statistically significantly determined the greatest duration of the preoperative period (>1 month) in 52.6% of cases.

Conclusion. An aggravation of the gastrointestinal tract pathology and the presence of foci of chronic infection in patients with metastatic spinal lesions are the most frequent contraindications to surgical treatment and the reasons for the increase in the duration of the preoperative period.

Key words: spinal metastases, somatic pathology, contraindications for surgical treatment

С.Н. Михайлова¹, В.М. Козлова¹, Т.П. Казубская¹, Е.В. Шаранова¹, М.Ю. Юрченко³,
Д.Б. Хестанов¹, Е.И. Трофимов², Л.В. Мехеда¹

Злокачественные опухоли у детей с нейрофиброматозом тип 1

¹ ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

² ФГБУ «Научно-клинический центр оториноларингологии ФМБА», Москва

³ ГБУЗ «НПЦ специализированной медицинской помощи детям имени В.Ф. Войно-Ясенецкого Департамента здравоохранения города Москвы»

Нейрофиброматоз тип 1 (НФ1) моногенно наследуемый синдром с хорошо известной вариабельностью клинических манифестаций, склонностью к развитию злокачественных опухолей. Изучение ассоциации между НФ1 и разными типами раков у детей необходимы для понимания риска их возникновения и прогноза заболевания, а также последующих исследований этой предрасположенности.

Цель. Анализ клинических данных пациентов с НФ1 и, возникших у них злокачественных и доброкачественных опухолей.

Материалы и методы. Ретроспективный анализ клинических данных 19 пациентов от 0 до 18 лет со злокачественной опухолью, проведен в НИИ ДОиГ ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» в период с 1997 по 2018 г.

Результаты. Клинические признаки НФ1 демонстрировали возраст зависимое время их проявления. Эмбриональные опухоли были наиболее частыми и возникли у 11 из 19 пациентов (57,9%), преобладала эмбриональная рабдомиосаркома (42,1%), чаще поражающая урогенитальный тракт. Семейный НФ1 обнаружен в 31,6% случаев. Заболевание НФ1 родителей этих детей (у четырех матерей и двух отцов) ограничивалось пигментным поражением кожи и множественными нейрофибромами. Тестирование гена *NF1* в семьях трех детей с эмбриональными детскими опухолями обнаружило две мутации *de novo* (p.V2635FS и p.W1314X) и мутацию (p.2363_2365del) у отца и его 10-месячного сына. Злокачественные опухоли оболочек периферических нервов возникли у 15,8% пациентов к пубертатному возрасту. Саркомы мягких тканей и гемопоэтические опухоли возникли у 10,5% пациентов, соответственно. Заболевание меланомой обнаружено у одного пациента (5,3%).

Заключение. Полученные данные позволяют дополнить диапазон типов злокачественных опухолей у детей, ассоциированных с НФ1, возможность их применения в клиниче-

ской практике для более рационального и целенаправленного наблюдения за пациентами. Дальнейшее изучение молекулярно-генетических и клинических аспектов НФ1 необходимо для разработок в области перспективных методов терапии НФ1.

Ключевые слова: нейрофиброматоз тип 1, мутации *NF1*, злокачественные, доброкачественные опухоли

Введение

Нейрофиброматоз (НФ) одно из распространенных наследственных заболеваний, предрасполагающих к возникновению опухолей с поражением нервов, кожи и центральной нервной системы. НФ включает три генетически отдельных нейрокожных синдрома: нейрофиброматоз тип 1, нейрофиброматоз тип 2 и шванноматоз. Их объединяют опухоли, исходящие из оболочек нервов, включающие периневральную и фибробластическую дифференцировку клеток при нейрофиброме, и шванновскую клеточную дифференцировку при шванноме. Характерной опухолью при нейрофиброматозе типа 1 являются нейрофибромы, тогда как, шванномы являются основным типом опухоли при нейрофиброматозе 2 типа и шванноматозе. Каждый из них имеет свой патогенез и ассоциируется с генетическими изменениями в разных генах: *NF1*, *NF2*, *SMARCB1* или *LZTR1*, соответственно, благодаря чему, стала возможной их генетическая диагностика [1, 2].

Нейрофиброматоз 1 типа (периферический нейрофиброматоз или болезнь Реклингаузена), безусловно, самый распространенный тип нейрофиброматоза и поражает примерно 1 из 2500–3000 новорожденных. Нейрофиброматоз 1 типа (НФ1) был первым, для которого было доказано генетическое происхождение, наследуется по аутосомно-доминантному типу с почти полной пенетрантностью и высокой частотой возникновения новых мутаций. Около 50% случаев является результатом мутации *de novo*. Заболевание характеризуется вовлечением в патологический

процесс практически всех органов и систем, широким диапазоном и вариабельностью клинических проявлений, даже в пределах одной семьи, прогрессирующим течением и высоким риском осложнений, среди которых есть тяжелые (слепота за счет опухоли зрительных нервов, злокачественные опухоли). Типичные клинические проявления включают наличие множественных пятен цвета “кофе с молоком”, гиперпигментацией кожных складок, узелков Лиша, глиом зрительных нервов и нейрофибром. Другие особенности, связанные с НФ1 — это низкий рост, макроцефалия, сколиоз и специфические костные аномалии, когнитивные расстройства, дефицит внимания, расторможенность, трудности с обучением и повышенный риск злокачественных опухолей. Диагностические критерии для НФ1 установлены на конференции the National Institutes of Health (NIH) в 1988 г. [3]. Пациенты должны соответствовать двум или более из этих критериев: шесть или более пятен цвета кофе с молоком (>5 мм в диаметре у детей, >15 мм у лиц в постпубертатном периоде), две или более (под-) кожных нейрофибромы или одна плексиформная нейрофиброма, подмышечные или паховые пигментация, глиома зрительного нерва (хиазмы зрительного тракта), два или более узелков Лиша (пигментированные гамартомы радужной оболочки глаза), типичная дисплазия костей в виде дисплазии основной кости, истончения кортикального слоя длинных костей с псевдоартрозом или без такового, наличие родственника первой степени родства с НФ1.

Причиной НФ1 является потеря функции гена *NF1* (MIM: 613113) в результате генетических мутаций. Ген *NF1* идентифицирован в 1989 г., с тех пор полностью расшифрован и охарактеризована его функция [4, 5]. Ген *NF1* локализуется в проксимальной части короткого плеча 17-й хромосомы (в локусе 17q11.2). Этот ген протяженный и сложно организованный, перекрывает область геномной ДНК в 300 kb (kb — килобаза, равная 1 тыс. пар нуклеотидов) состоит из 60 экзонов. Ген *NF1* экспрессируется в нейронах, шванновских клетках, олигодендроцитах, лейкоцитах и является одним из самых крупных генов, кодирующих заболевания человека. Высокая частота спонтанных мутаций объясняется большими размерами гена и/или определенными особенностями его внутренней структуры. Ген *NF1* — опухолевый супрессор, кодирует протеин — neurofibromin (нейрофибромин), состоящий из 2800 аминокислот и включает множество функциональных доменов. [6]. Важную роль в онкогенезе играет домен связанный с GTPase активирующим протеином (GAP), который негативно регулирует RAS, превращая активный RAS-гуанозинтрифосфат (RAS-GTP)

в неактивный RAS-гуанозиндифосфат (RAS-GDP), через его GAP-связанный домен (GRD), тем самым, подавляя передачу сигнала RAS/MAPK каскада в нисходящем направлении [7, 8]. Кроме того, было показано, что Ras GTPases связанные домены взаимодействуют со многими путями, включая Raf/Mek/Erk — каскад митоген-активированной протеинкиназы, который участвует в регулировании роста и дифференцировки клеток [9, 10]. Нейрофибромин также функционирует в PI3K/mTOR и с AMP сигналинге и эти два пути могут быть запущены негативной регуляцией гена *NF1* [11, 12]. Открытие роли *NF1* в передаче сигнала в RAS/MAPK каскаде позволили рассматривать НФ1 как один из многих аутосомно-доминантных генетических синдромов, разделяющих многие клинические признаки и риск развития рака, которые в настоящее время называют RAS-опатиями. К ним относятся синдромы, вызываемые герминальными мутациями в генах, кодирующих компоненты или регуляторы Ras/митоген-активируемой протеинкиназы, включая синдромы Нунан (ген *PTPN11*); Легиус (ген *SPRED1*) и др. [13–15]. Предполагается, что наблюдаемые при НФ1 и других RAS-опатиях мутации в генах происходят одновременно, подтверждая, что они действуют синергично. Указанием на комплексность молекулярных изменений при НФ1 является пример ребенка с билатеральной оптической глиомой, у которого обнаружены мутации в генах *NF1* и *PTPN11*, а у членов его семьи, носителей аналогичной *NF1* мутации, признаками НФ1 были только пятна «кофейного цвета» на коже [16,17].

НФ1 это моногенное наследуемое заболевание и каждая клетка будущего ребенка несет мутацию в одном аллеле гена *NF1*(+/-) (гетерозиготное состояние). Если такую мутацию находят в периферической крови ребенка, это подтверждает наследственный характер НФ1. При мутациях *NF1*(+/-) заболевание может развиваться, только если во втором аллеле этого гена, произойдет независимая мутация *NF1*(+/+) (потеря гетерозиготности — LOH) уже в соматической клетке. Эмбрионы с гомозиготной мутацией *NF1*(+/+) нежизнеспособны [18]. В процессе эмбриогенеза мутации могут происходить на ранних этапах постзиготических рекомбинаций развития эмбриона, в результате только часть его клеток будет носить *NF1* мутацию. Такие мутации имеют мозаичный характер, так как первоначальные мутации имеются не во всех, а только в некоторых клетках тела. Согласно данным литературы, мозаичные мутации гена *NF1* встречаются в случаях классического поражения НФ1 *de novo* и при сегментарной форме нейрофиброматоза [19].

На сегодня известно более 2800 различных патогенных герминальных вариантов гена *NF1* и наиболее частые из них, это точковые мутации [20]. Более 80% мутаций прогнозируемо ведут к синтезу «усеченного» протеинового продукта — нейрофибромина, либо к полному отсутствию транскрипта (нонсенс-мутации, мутации в сайтах сплайсинга, делеции, вставки со сдвигом рамки, крупные делеции, охватывающие значительную часть или весь ген). Остальные мутации представляют собой внутренние делеции, без сдвига рамки и миссенс-мутации, затрагивающие функционально важные участки нейрофибромина [21, 22]. Важным аспектом НФ1 является то, что точковые мутации, влияющие на правильный сплайсинг гена *NF1*, являются частой причиной, как герминальных, так и соматических мутаций [23]. У носителя герминальных *NF1* мутаций могут возникать доброкачественные и злокачественные опухоли. Большинство пациентов с НФ1 имеют риск малигнизации оболочек периферических нервов. Злокачественные опухоли могут возникать в разном возрасте, как у детей, так и у взрослых. Согласно эпидемиологическим исследованиям, заболеваемость раком при НФ1 примерно в 4 раза выше, чем в общей популяции [24]. Учитывая повышенную предрасположенность пациентов с НФ1 к развитию разных типов неоплазий, важным является исследование взаимосвязи между НФ1 и различными злокачественными опухолями, чтобы определить возможность оценки риска их возникновения и прогноза у пациентов с НФ1.

Целью исследования является проведение анализа клинических данных пациентов с нейрофиброматозом типа 1 и возникших у них злокачественных и доброкачественных опухолей.

Материалы и методы

Ретроспективный анализ клинических данных 19 пациентов с нейрофиброматозом 1 типа, лечившихся в НИИ ДООГ ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» в период с 1997 по 2018 г. В исследование включались дети от 0 до 18 лет со злокачественной опухолью и с установленным диагнозом нейрофиброматоз 1 типа. Из всех пациентов у 18 отмечалась классическая клиника НФ1 и 1 случай — сочетание НФ1 с синдромом Нунан. В анализ включалась информация о возрасте диагностики злокачественной опухоли у пациентов, её локализация и морфологическая структура, клиническая картина заболевания для каждого пациента. У пациентов собирались данные клинического осмотра, возраст манифестации первых симптомов нейрофиброматоза, МРТ, осмотр офтальмолога, семейная история заболевания нейрофиброматозом у ближайших родственников. У всех пациентов и доступных для обследования членов их семей получено информированное согласие на включение их в изучение. У некоторых из пациентов, имеющих семейную историю заболевания НФ1, обследованы все доступные родственники. С 2017 г. стало возможным тестирование герминальных мутаций в гене *NF1* и проводилась у доступных для этого обследования пациентов и их родствен-

ников. ДНК-тестирование мутаций в гене *NF1* выполнено в ФГБНУ «Медико-генетического центра им. акад. Н.П. Бочкова». В таблице 1 собраны и систематизированы все полученные у пациентов данные.

Результаты

Наиболее характерные клинические признаки НФ1, обнаруженные в группе исследуемых больных. Общим клиническими проявлениями заболевания НФ1 у пациентов со злокачественными опухолями были пятна «кофе с молоком» на коже от светло- до темно-коричневого цвета, разной формы и размеров, преимущественно на туловище и конечностях. В исследуемой группе пятна «кофе с молоком» присутствовали у 100% пациентов. Их число нарастало примерно до 4 лет, далее интенсивность стихала и вновь увеличивалось в пубертатный период. Другим общим признаком синдрома является диффузная пигментация (по типу веснушек) в подмышечных областях и крупных складках. Наличие этого признака наблюдалась у 16 (84,2%) пациентов и не было только у пациентов № 2,4 и 8, возраст которых был от 10 мес до 2,2 года (таблица). Узелки Лиша (меланитарные гамартумы радужной оболочки глаза) представляющие собой узелки, возвышающиеся над поверхностью радужки, выявлялись у 8 пациентов (42,1%), возраст обнаружения в 10 лет и позднее в 13–18 лет. Различного рода деформации скелета характерные для синдрома (врожденный ложный сустав костей голени, сколиоз, деформация грудины, дисплазия крыла клиновидной кости) наблюдались у 13 (68,4%) пациентов в разном возрасте, но в основном после 4-х лет жизни.

Из всей группы кожные и подкожные нейрофибромы встречались у 10 (52,6%) пациентов на туловище, шее, голове, конечностях. Возраст их появления от 10 лет и старше, кроме пациента № 14, у которого нейрофибромы возникли к 4,5 годам. Это доброкачественные, кофейного и розоватого цвета, мягкие кожные папулы или узелки на коже или под кожей. Они увеличиваются в размерах с возрастом, но имеют ограниченный потенциал роста. Диаметр опухоли обычно колеблется от нескольких миллиметров до 2 см, редко превышает 3 см.

Плексиформная нейрофиброма диагностирована у пациента № 11 в возрасте 5 лет. Это болезненные твердые подкожные узелки, часто с гиперпигментацией и гипертрихозом, которые могут проникать в подлежащие ткани, вызывать деформацию прилегающих структур мягких тканей и костей, вызывая неврологические нарушения. У этого пациента в возрасте 14 лет на фоне плексиформной нейрофибромы возникла злокачественная шваннома.

Глиома зрительно нерва обнаружена у 4-х пациентов (21,1%), самый ранний возраст ее диагностики был у пациента в 4 года. Глиома зрительных нервов возникает из глиальных элементов зрительного нерва, чаще развивается из астроцитов, сопровождается нарушением зрения, косоглазием, нистагмом и другими неврологическими симптомами. Кроме того, у детей развития глиом наблюдается в гипоталамусе [25].

Клинические признаки НФ1 у родителей изучаемых детей были выявлены в шести семьях (се-

мейный НФ1 — 31,6%), у четырех матерей и двух отцов. Заболевание НФ1 у родителей ограничивалось пигментным поражением кожи и нейрофибромами от 0,5 до 2 см на туловище и конечностях. Тестирование мутаций в гене *NF1* удалось провести в трёх семьях, обнаружены мутации, две из которых были *de novo*, пациент № 1 — с.7903delG; p.V2635FS (экзон 53) и пациент № 6 — нонсенс мутация: с.G3942A; p.W1314X (экзон29). У 10-месячного пациента № 2 и его отца выявлена делеция *NF1* (с.7089_7094; p.2363_2365del, экзон 47).

Злокачественные опухоли, возникшие у детей с НФ1и обнаруженные у них клинические признаки НФ1

№ пациента	Злокачественная опухоль	Возраст манифестации злокачественной опухоли	Множественные пятна «кофе с молоком»	Веснушки	Аномалии скелета	Глиома зрительного нерва	Подкожные и кожные нейрофибромы	Узелки Лиша	Мутации в гене <i>NF1</i>	Семейный анамнез
1	Эмбриональная рабдомиосаркома паратестикулярная	1 год 5 мес	+	+		-	-	-	с.7903delG; p.V2635FS (53 экзон)	De novo
2	Нейробластома заднего средостения с распространением в позвоночный канал	10 мес	+	-		-	-	-	с.7089_7094 p.2363_2365del (47 экзон)	У отца НФ1
3	Эмбриональная рабдомиосаркома орбиты глаза	3 года 3 мес	+	+		-	-			У матери НФ1
4	Эмбриональная рабдомиосаркома придатка левого яичка	2 года	+		+	-	-	-		У матери НФ1
5	Эмбриональная рабдомиосаркома мочевого пузыря	10 лет	+	+	Синдром Нунан	+ в 7 лет	-	-		-
6	Эмбриональная рабдомиосаркома преддверия влагалища	3 мес	+ с 6 мес	+	«Ложный сустав» правой голени	-	-	-	с.G3942A p.W1314X (29 экзон)	De novo
7	Эмбриональная рабдомиосаркома забрюшинная	10 лет 8 мес	+	+	+	+	+	-		-
8	Эмбриональная рабдомиосаркома малого таза	2 года 2 мес	+							У матери НФ1
9	Эмбриональная рабдомиосаркома орбиты	10 лет	+	+	+		+	+		У матери НФ1
10	PNET подчелюстной области	4 года	+	+	-	+		-		-
11	Злокачественная шваннома области голеностопного сустава на фоне плексиформной нейрофибромы	14 лет	+	+	+	+	+	+		-
12	Злокачественная неврилемома правого бедра	17 лет	+	+	+	-	+	+		-
13	Злокачественная опухоль оболочек периферических нервов грудной стенки	14 лет	+	+	+	-	+	+		-
14	Ювенильная фибросаркома мягких тканей шеи	4 года 5 мес	+	+	+	-	+	-		-
15	Синовиальная саркома бедра	13 л 11 мес	+	+	+	-	+	+		-
16	Острый миелоидный лейкоз	14 лет	+	+	+	-	+	+		-
17	Лимфома Ходжкина	17 лет	+	+	+		+	+		У отца НФ1
18	Меланома кожи надлопаточной области	18 лет	+	+	+	-	+	+		-
19	Нефробластома левой почки	4 года	+	+	-	-	+	-		-

Злокачественные опухоли у детей больных нейрофиброматозом 1 типа. В исследуемой выборке больных манифестация злокачественного новообразования наблюдалась в разном возрасте. Наиболее ранний возраст диагностики неоплазии был у ребенка 3 мес, наиболее поздний — у пациента 18 лет (см. таблицу). Средний возраст пациентов на момент диагностирования злокачественного новообразования составлял 8,6 года, соотношение мальчики/девочки было 10/9. Из всех типов неоплазий наиболее частой была эмбриональная рабдомиосаркома. Как видно из таблицы эмбриональная рабдомиосаркома у детей с НФ1 возникала в разных органах, включая орбиту глаза (пациенты № 3, 9), забрюшинно — в малом тазу (пациенты № 7, 8), но во всем диапазоне локализаций, превалировало поражение уrogenитального тракта (пациенты № 1,4, 5, 6). Самый ранний дебют опухоли у пациентки № 6 в возрасте 3 мес. У нее диагностирована эмбриональная рабдомиосаркома и саблевидная деформация оси костей правой голени по типу «ложного сустава» (рисунок).



Саблевидная деформация оси костей правой голени
неравномерная структура и неоднородная толщина коркового
слоя большеберцовой и малоберцовой костей

По разным наблюдениям, НФ1 встречается у 50–75 % больных с врожденными «ложными суставами». Тестирование гена *NF1* обнаружило у нее герминальную *NF1* мутацию в 29 экзоне, в семье единичный случай заболевания. Интересным является пациент № 5, с сочетанной клиникой синдрома Нунан и НФ1, у которого диагностирована эмбриональная рабдомиосаркома мочевого пузыря. Эмбриональная рабдомиосаркома возникла у 8 из 19 пациентов (42,1%).

В целом эмбриональные детские опухоли поражали 11 из 19 пациентов, составив 57,9%. Злокачественные опухоли оболочек периферических нервов возникли у 3-х пациентов (№ 11–13) в возрасте от 14 до 17 лет (15,8%). Саркомы мягких тканей возникли (пациенты № 14,15) у 10,5%, гемопозитические опухоли (пациенты № 16,17) — у 10,5% пациентов. Случай заболевания меланомой у одного пациента (5,3%).

Обсуждение

НФ1 является моногенно наследуемым синдромом и его клинические проявления могут быть не полностью пенетрантными, или могут демонстрировать возраст зависимое время проявления. В исследуемой группе пациентов с НФ1 диагностированы разные неоплазии, которые возникали в разном возрасте. Однако наиболее частыми были эмбриональные опухоли, составив 57,9%, среди которых преобладала эмбриональная рабдомиосаркома (42,1%) (таблица). Основываясь на эпидемиологических исследованиях, риск малигнизации при НФ1 составляет от 5% до 15%, и по этим данным, злокачественные опухоли, возникающие в раннем возрасте, имели плохой прогноз [26]. У трех пациентов (№ 1, № 2 и № 6) тестирование гена *NF1* обнаружило делеции и нонсенс мутации, затрагивающие экзоны 53, 47 и 29 гена *NF1*. У этих детей неоплазии возникли в раннем возрасте. Семейный случай заболевания был только у пациента № 2, отец которого был носителем аналогичной мутации, однако неоплазий у него обнаружено не было, в то время как у его 10-месячного ребенка развилась нейробластома заднего средостения с распространением в позвоночный канал. У отца клиническими проявлениями НФ1 были только множественные «кофейные пятна», кожные, подкожные нейрофибромы и веснушки. В этом семейном случае НФ1, при наличии одной и той же *NF1* мутации, в инициации или прогрессии раннего развития неоплазии у ребенка, определенную роль могут играть другие гены RAS-сигнального пути. По некоторым данным фенотипическую вариабельность при НФ1 можно объяснить влиянием модифицирующих генов [27]. У других пациентов молекулярная диагностика гена *NF1* не проводилась. В мировой литературе имеются данные о корреляции течения заболевания у пациентов с НФ1 с протяженными делециями в гене *NF1*, которые приводят к тяжелой форме заболевания. Кроме того, пациенты с НФ1 и хромосомными микроделециями характеризуются склонностью к образованию опухолей в более раннем возрасте, признаками дисморфизма лица и когнитивными аномалиями. Предполагаемой причиной

такого фенотипа считается потеря генетического материала, соседнего с геном *NF1* [28]. Другая ассоциация обнаружена между делецией в экзоне 17 (с.2970-2972 delAAT) гена *NF1* мягким фенотипом проявления НФ1. Эти пациенты имеют типичные пигментные пятна и узелки Лиша, но у них не развиваются кожные и/или клинически определяемые плексиформные нейрофибромы [29]. Интересным является пациент № 5 с фенотипическими признаками, включающими: невысокий рост, антимонголоидный разрез глаз, широкую переносицу, эпикант, аномальные ушные раковины, короткую шею, микрогнатию, врожденный порок сердца (дефект перегородки). Кожных нейрофибром у него обнаружено не было. Однако наличие глиомы зрительного нерва, множественные пятна «кофе с молоком», веснушки подмышечных областей, локализация эмбриональной рабдомиосаркомы в мочевом пузыре, позволили идентифицировать синдром Нунан, вариант НФ1. Тестирование мутаций *NF1* у него не проводилось, но по данным Jouhilahti EM et al., у пациентов с синдромом Нунан, ассоциированным с мутацией *NF1*, кожные нейрофибромы могут не развиваться, но возникают забрюшинные и висцеральные нейрофибромы [30]. Типичные для НФ1 пигментные пятна типа «кофе с молоком» могут встречаться и при других синдромах, не связанных с мутацией гена *NF1*, которые необходимо дифференцировать с нейрофиброматозом 2 типа, с синдромами: Легиус, дефекта репарации неспаренных оснований (или Turcot syndrome).

Глиомы зрительных нервов также обнаружены ещё у 3-х пациентов (21,1%), разного возраста (пациента № 7, № 10 и № 11). По данным Listernick R. и соавт., глиомы зрительного нерва встречается у 15% пациентов с НФ1, но только менее одной трети из них прогрессирует и требует лечения. Интересно отметить клиническую вариабельность проявления глиом, которые могут спонтанно регрессировать без лечения, в отличие от оптической глиомы у пациентов без НФ. [31].

Злокачественные опухоли оболочек периферических нервов возникли у 3-х пациентов (№ 11–13) в возрасте от 14 до 17 лет, составив 15,8%, что соответствует данным литературы, где эти опухоли встречаются с нарастанием к препубертатному возрасту и риск их возникновения составляет от 10% до 13%. [32]. Кожные и подкожные нейрофибромы у наших пациентов возникали в основном после 4-х лет. Хотя нейрофибромы являются доброкачественными образованиями, однако влияют на качество жизни, в основном из-за своего внешнего вида. Стандартное лечение доброкачественных опухолей в случае сдавления ими соседних тканей, приво-

дящих к нарушению их функций, ограничивается хирургическим удалением.

Злокачественная шваннома возникла у пациента (№ 11) в 14 лет на фоне плексиформной нейрофибромы области голеностопного сустава, которая появилась у него к 5 годам жизни и течение которой, имело рецидивирующий характер. По данным Evans D. и соавт. плексиформные нейрофибромы клинически проявляются к 4–5 годам жизни и прогрессируют в злокачественную опухоль от 2% до 5% случаев [32]. Медленный рост и усиливающаяся боль может быть признаком малигнизации, существующей плексиформной нейрофибромы. Плексиформные нейрофибромы являются патогномичными для НФ1 и могут быть предшественниками злокачественного перерождения оболочек периферических нервов и возникновения саркомы непосредственно из плексиформной нейрофибромы. Было показано, что культивируемые из кожных нейрофибром человека субпопуляции шванновских клеток, несут двухаллельную инактивацию гена *NF1*(+/+) [33]. Кроме того, изучение соматических *NF1* мутаций в опухолях и других тканях пациентов с НФ1 показало наличие биаллельной мутации *NF1*(+/+) и в доброкачественных нейрофибромах [34]. В опухолях, исходящих из оболочек периферических нервов, были описаны мутации в регуляторных генах, включающих гомозиготную делецию в гене *CDKN2A*, кодирующем p16INK4A и p14ARF, и потерю *TP53* [35]. На основании этих данных было предположено, что для прогрессии от плексиформной нейрофибромы к злокачественной опухоли оболочек периферических нервов одной инактивирующей *NF1* мутации недостаточно.

Ювенильная мягкотканая фибросаркома области шеи диагностирована у пациента (№ 14) в 4,5 лет. Как и у нашего пациента, эта опухоль, исходящая из фиброзной ткани, часто проявляет ассоциативную связь с областью головы и шеи, имеет высокий показатель выживаемости. Синовиальная саркома диагностирована у пациента № 15 в пубертатном возрасте. Интересно отметить, что это редкая мягкотканая опухоль, мезенхимального происхождения, может возникать в любом месте, но у юных пациентов чаще поражает конечности. Это заболевание у детей, в отличие от взрослых, имеет лучший прогноз [36].

У двух пациентов № 16 и 17 также в пубертатном возрасте возникли острый миелоидный лейкоз и лимфома Ходжкина соответственно. Биаллельную инактивацию гена *NF1* наблюдали в опухолевой ткани пациентов с ювенильным миеломоноцитарным лейкозом [37]. О неслучайности этой ассоциации свидетельствуют также данные литературы, где есть указания на

развитие гемопозитических опухолей у больных с НФ1 [38].

Меланома кожи диагностирована у пациентки 18 лет. Поскольку злокачественные опухоли оболочек периферических нервов могут быть похожими на десмопластическую меланому, диагностике помогает наличие предшествующего меланоцитарного невуса. Seminog O.O. и соавт. показали, что несмотря на то, что в меланоме пациентов с НФ1 присутствуют соматические *NF1* мутации, для пациентов с НФ1, риск развития меланомы не высокий [39].

Заключение

Изучение 19 детей с НФ1 показало разную степень тяжести проявления как для признаков характерных для этого синдрома, так и для неоплазий, которые у них возникали. Из всей группы, у 57,9% пациентов, идентифицирована повышенная предрасположенность к развитию эмбриональных опухолей, среди которых преобладали рабдомиосаркомы. К пубертатному возрасту у пациентов с НФ1 имеется риск развития разных неоплазий, включая опухоли оболочек периферических нервов, саркомы, гемопозитические опухоли, меланому. Учитывая наличие у пациентов с НФ1 склонности к развитию разных злокачественных опухолей, пациенты нуждаются в систематическом медицинском наблюдении клиницистов разного профиля: невролога, окулиста, нейрохирурга, дерматолога, ортопеда, генетика, онколога, с применением современных методов диагностики. Полученные данные позволяют дополнить диапазон типов злокачественных опухолей у детей, ассоциированных с НФ1 и возможность их применения в клинической практике для более рационального, и целенаправленного наблюдения за пациентами. Дальнейшее изучение молекулярно-генетических и клинических аспектов НФ1 необходимы для разработок в области перспективных методов терапии НФ1.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии в статье конфликта интересов.

Вклад авторов:

Михайлова С.Н., Казубская Т.П., Козлова В.М., Шарапова Е.В., Юрченко М.Ю., Хестанов Д.Б., Трофимов Е.И., Мехеда Л.В. — концепция и дизайн исследования;

Козлова В.М., Трофимов Е.И., Михайлова С.Н., Шарапова Е.В., Юрченко М.Ю., Хестанов Д.Б., Мехеда Л.В. — сбор и обработка материала;

Казубская Т.П., Козлова В.М., Трофимов Е.И. — статистическая обработка;

Казубская Т.П., Козлова В.М., Михайлова С.Н., Трофимов Е.И., Мехеда Л.В., Шарапова Е.В., Юрченко М.Ю., Хестанов Д.Б. — написание текста;

Козлова В.М., Михайлова С.Н., Казубская Т.П., Трофимов Е.И., Мехеда Л.В., Шарапова Е.В., Юрченко М.Ю., Хестанов Д.Б. — редактирование.

Финансирование

Источник финансирования отсутствует.

ЛИТЕРАТУРА

- Lloyd SK, Evans DG. Neurofibromatosis type 2 (NF2): diagnosis and management // Clin Neurol. 2013;115:957–967. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-52902-2.00054-0>
- Ferner RE, Huson SM, Thomas N et al. Guidelines for the diagnosis and management of individuals with neurofibromatosis 1 // J Med Genet. 2007;44(2):81–86. <https://doi.org/10.1136/jmg.2006.045906>
- Stumpf DA, Alksne JF, Annegers JF et al. Neurofibromatosis conference statement. National Institutes of Health Consensus Development Conference // Arch Neurol. 1988;45:575–578.
- Goldgar DE, Green P, Parry DM, Mulvihill JJ. Multipoint linkage analysis in neurofibromatosis type I: an international collaboration // Am J Hum Genet. 1989;44:6–12. PMID: 2491784.
- Fain PR, Goldgar DE, Wallace MR et al. Refined physical and genetic mapping of the NF1 region on chromosome 17 // Am J Hum Genet. 1989;45:721–728. PubMed: 2573276.
- Larribere L, Utika IJ. Multiple role of NF1 in the melanocyte lineage // Pigment Cell Melanoma Res. 2016;29:417–425. <https://doi.org/10.1111/pcmr.12488>
- Xu GF, O'Connell P, Viskochil D et al. The neurofibromatosis type 1 gene encodes a protein related to GAP // Cell. 1990;62(3):599–608. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(90\)90024-9](https://doi.org/10.1016/0092-8674(90)90024-9).
- Klose A, Ahmadian MR, Schuelke M et al. Selective disactivation of neurofibromin GAP activity in neurofibromatosis type 1 // Hum Mol Genet. 1998;7(8):1261–8. <https://doi.org/10.1093/hmg/7.8.1261>
- Ballester R, Marchuk D, Boguski M et al. The NF1 locus encodes a protein functionally related to mammalian GAP and yeast IRA proteins // Cell. 1990;63(4):851–859. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(90\)90151-4](https://doi.org/10.1016/0092-8674(90)90151-4)
- DeClue JE, Cohen BD, Lowy DR. Identification and characterization of the neurofibromatosis type 1 protein product // Proc Natl. Acad. Sci. USA. 1991;88:9914–9918–28. <https://doi.org/10.1073/pnas.88.22.9914>
- Cichowski K, Jacks T. NF1 tumor suppressor gene function: narrowing the GAP // Cell 2001;4(4):593–604. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(01\)00245-8](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(01)00245-8)
- David H, Viskochil DH, William T, Couldwell WT. Neurofibromatosis Type 1 and tumorigenesis: molecular mechanisms and therapeutic implications // Neurosurg Focus. 2010;28(1):E8. <https://doi.org/10.3171/2009.11>
- Tidyman W, Rauen K. The RASopathies: developmental syndromes of Ras/MAPK pathway dysregulation // Curr Opin Genet Dev. 2009;19(3):230–236. <https://doi.org/10.1016/j.gde.2009.04.001>

14. Rauen KA, Huson SM, Burkitt-Wright E et al. Recent developments in neurofibromatoses and RASopathies: management, diagnosis and current and future therapeutic avenues // *Am J Med Genet A*. 2015;167A(1):1–10. https://doi: 10.1002/ajmg.a.36793.]
15. Kratz CP, Rapisuwon S, Reed H et al. Cancer in Noonan, Costello, cardiofaciocutaneous and LEOPARD syndromes // *Am J Med Genet C Semin Med Genet*. 2011;157C(2):83–89. https://doi: 10.1002/ajmg.c.30300
16. Ratner N, Miller SJ. A RASopathy gene commonly mutated in cancer: the neurofibromatosis type 1 tumour suppressor // *Nat Rev Cancer*. 2015;15(5):290–301. https://doi: 10.1038/nrc.391125
17. Tidyman WE, Rauen KA. Mutational and functional analysis in human Ras/MAP kinase genetic syndromes. // *Methods Mol Biol*. 2010;661:433–47. https://doi: 10.1007/978-1-60761-795-2_2
18. John AM, Ruggieri M, Ferner R, Upadhyaya M. A search for evidence of somatic mutations in the NF1 gene // *J Med Genet*. 2000;37(1):44–9. https://doi: 10.1136/jmg.37.1.44.
19. Weihong Xu, Xiao Yang, Xiaoxia Hu, Shibo Li. Fifty-four novel mutations in the NF1 gene and integrated analyses of the mutations that modulate splicing // *Int J Mol Med*. 2014;34:53–60. https://doi: 10.3892/ijmm.2014.1756
20. Koczkowska M, Chen Y, Callens T et al. Genotype-Phenotype Correlation in NF1: Evidence for a More Severe Phenotype Associated with Missense Mutations Affecting NF1 Codons 844–848 // *Am J Hum Genet*. 2017;102:1–19. https://doi: 10.1016/j.ajhg.2017.12.001
21. Messiaen LM, Callens T, Mortier G et al. Exhaustive mutation analysis of the NF1 gene allows identification of 95% of mutations and reveals a high frequency of unusual splicing defects // *Hum Mutat*. 2000;15:541–555. https://doi: 10.1002/1098-1004(200006)15:6<541
22. Ars E, Serra E, Garcia J et al. Mutations affecting mRNA splicing are the most common molecular defects in patients with neurofibromatosis type 1 // *Hum Mol Genet*. 2000;9:237–247. https://doi: 10.1093/hmg/9.2.237
23. Serra E, Ars E, Ravella A et al. Somatic NF1 mutational spectrum in benign neurofibromas: mRNA splice defects are common among point mutations // *Hum Genet*. 2001;108:416–429. https://doi: 10.1007/s004390100514
24. Zoller ME, Rembeck B, Oden A et al. Malignant and benign tumors in patients with neurofibromatosis type 1 in a defined Swedish population // *Cancer*. 1997;79:2125–2131. PMID: 9179058.
25. Albers AC, Gutmann DH. Gliomas in patients with neurofibromatosis type 1 // *Expert Rev Neurother*. 2009;9:535–539. https://doi: 10.1586/ern.09.4
26. Rasmussen SA, Yang Q, Friedman JM. Mortality in neurofibromatosis 1: an analysis using U.S. death certificates // *Am J Hum Genet*. 2001;68:1110–1118. https://doi: 10.1086/320121
27. Pasmant E, Vidaud M, Vidaud D, Wolkenstein P. Neurofibromatosis type 1: from genotype to phenotype // *J Med Genet*. 2012;49:483–489. https://doi: 10.1186/s13023-020-1310-3
28. Descheemaeker M, Roelandts K, De Raedt T et al. Intelligence in individuals with a neurofibromatosis type 1 microdeletion // *Am J Med Genet*. 2004;131:325–3263. https://doi: 10.1002/ajmg.a.30346
29. Maertens O, Brems H, Vandesompele J et al. Comprehensive NF1 screening on cultured Schwann cells from neurofibromas // *Hum Mutat*. 2006;7:030–1040. https://doi: 10.1002/humu.20389
30. Jouhilahti EM, Peltonen S, Heape AM, Peltonen J. The pathoetiology of neurofibromatosis 1. // *Am J Pathol*. 2011;178(5):1932–39. https://doi: 10.1016
31. Listernick R, Ferner RE, Liu GT, Gutmann DH. Optic pathway gliomas in neurofibromatosis-1: controversies and recommendations // *Ann Neurol*. 2007;61:189–198. https://doi: 10.1097/WNO.0000000000000550
32. Evans D, Baser M, McGaughan J et al. Malignant peripheral nerves sheath tumours in neurofibromatosis 1 // *J Med Genet*. 2002;39:311–314. https://doi: 10.1136/jmg.39.5.311
33. Maertens O, Brems H, Vandesompele J T et al. Comprehensive NF1 screening on cultured Schwann cells from neurofibromas // *Hum Mutat*. 2006;27:1030–1040. https://doi: 10.1002/humu.20389
34. Serra E, Rosenbaum T, Winner U et al. Schwann cells harbor the somatic NF1 mutation in neurofibromas: evidence of two different Schwann cell subpopulations // *Hum Mol Genet*. 2000;9:3055–3064. https://doi: 10.1093/hmg/9.20.3055
35. Peltonen J, Peltonen S. Composition of neurofibromas, NF1 expression, and comparison of normal and NF1 haploinsufficient cells // In: *Neurofibromatoses*. Ed by D Kaufmann. Basel, Karger, 2008:129–142.
36. Smolle MA, Parry M, Jeys L, Abudu S, Grimer R. Synovial sarcoma: Do children do better? // *Eur J Surg Oncol*. 2019;45(2):254–260. https://doi: 10.1016/j.ejso
37. De Raedt T, Maertens O, Serra E, Legius E. Somatic NF1 mutation in tumors and other tissue // In: *Neurofibromatoses*. Edited by D Kaufmann. Basel, Karger, 2008:143–153
38. Side L.E, Emanuel P.D, Taylor B et al. Mutations of the NF1 gene in children with juvenile myelomonocytic leukemia without clinical evidence of neurofibromatosis, type 1 // *Blood*. 1998;2:267–272. PMID: 9639526
39. Seminog OO, Goldacre MJ. Risk of benign tumours of nervous system, and of malignant neoplasms, in people with neurofibromatosis: population-based record-linkage study // *Br J Cancer*. 2013;108:193–198. https://doi: 10.1038/bjc.2012.535

Поступила в редакцию 12.01.2021

*S.N. Mikhaylova¹, V.M. Kozlova¹, T.P. Kazubskaya¹,
E.V. Sharapova³, M.Yu. Yurchenko¹, D.B. Khestanov¹,
Yu.I. Trofimov², L.V. Mekheda¹*

Malignant tumors in children with neurofibromatosis Type 1

¹ N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Ministry of Health of Russia; Moscow

² Scientific Clinical Center of Otorhinolaryngology of FMBA, Moscow

³ «NPC of specialized medical care for children named after V.F. Voino-Yasenetsky» Moscow Department of Health

Neurofibromatosis type I (NF1) is the monogenic inherited syndrome with established variability of clinical manifestations and the predisposition to the development of malignant tumors.

Studying NF1 association with different types of cancers in children is necessary to understand the risk of their occurrence and the prognosis of the disease as well as subsequent studies of this predisposition.

Aim. Analysis the clinical data of patients with NF1 and malignant and benign tumors arisen in them.

Methods. A retrospective analysis of clinical data of 19 patients from 0 to 18 years old with a malignant tumor, carried out in N.N. Blokhin NMRCO from 1997 to 2018.

Results. The clinical signs of NF1 showed an age-dependent timing of their onset. Embryonal tumors were the most common and occurred in 11 out of 19 patients (57.9%), embryonal rhabdomyosarcoma predominated (42.1%), more often affecting the urogenital tract. Familial NF1 was found in 31.6% of patients. NF1 disease of the parents of these children (in four mothers and two fathers) was limited to pigmented skin lesions and multiple neuro-

fibromas. Genetic testing of NF1 gene in three families of children with embryonal tumors revealed 2 de novo mutations — p.V2635FS & p.W1314X and one inherited from father to son (p.2363_2365del). Malignant peripheral nerve sheath tumors developed in 15.8% of patients by puberty. Soft tissue sarcomas and hematopoietic tumors occurred in 10.5% of patients, respectively. Melanoma was found in one patient (5.3%).

Conclusion. The data obtained make it possible to supplement the diapason of types of malignant tumors in children associated with NF1 and the possibility of their use in clinical practice for a more rational and targeted observation for patients. Further study of the molecular genetics and clinical aspects of NF1 is necessary for the development of promising therapies for NF1.

Key words: neurofibromatosis type 1, mutations NF1, malignant, benign tumors

Б. Экспериментальные исследования

© Коллектив авторов, 2021
УДК 612.086
DOI 10.37469/0507-3758-2021-67-3-430-435

Вопросы онкологии, 2021. Том 67, №3

*Е.А. Губарева, М.Н. Юрова, М.Л. Тындык, М.А. Майдин, Г.А. Янус,
П.А. Егормин, А.В. Панченко, В.Н. Анисимов*

Влияние постоянного освещения и мелатонина на канцерогенез легких, индуцированный уретаном у мышей, и экспрессию часовых генов и белков

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, Санкт-Петербург

Актуальность. Циркадианные ритмы являются механизмом адаптации к смене дня и ночи. На клеточном уровне они поддерживаются за счет осцилляций транскрипции часовых генов *Bmal1*, 2, *Clock* и *Npas2*, *Per1–3*, *Cry1*, 2; синхронизация ритмов в организме происходит с участием «гормона темноты» мелатонина. Накоплены надежные данные о том, что нарушения биологических «часов» на клеточном и/или организменном уровне связаны с канцерогенезом, однако экспериментальные исследования в этом направлении остаются недостаточными.

Цель. Оценить влияние постоянного освещения и введения мелатонина на химически индуцированный канцерогенез у мышей и экспрессию часовых генов и белков в нормальной и опухолевой ткани легкого.

Материалы и методы. Опухоли легкого были индуцированы уретаном у 120 мышей-самцов линии SHR. С первых суток опыта животные содержались при постоянном (LL) или стандартном освещении (LD); половина животных при каждом световом режиме получала мелатонин (MT) ежедневно в дозе 20 мг/л в течение 45 нед опыта с питьевой водой ночью. В конце эксперимента оценивали частоту и множественность опухолей легкого различных размеров. Экспрессию часовых генов *Clock*, *Bmal1*, *Cry1* оценивали в образцах опухолей и нормальной ткани легкого с использованием метода ПЦР в режиме реального времени; содержание белков *BMAL1*, *CLOCK*, *CRY1* и *PER2* определяли с помощью иммуногистохимии. Статистическую обработку данных проводили с помощью программ MS Excel 2007, GraphPad Prism 6.0 с использованием общепринятых статистических критериев.

Результаты. Число животных с опухолями легкого составило от 89 до 100% в различных

группах. Опухоли крупного размера (>2 мм) статистически значимо чаще наблюдались у животных группы LL (62 опухоли из 294, 21,1%), чем в группе LD (59 опухолей из 405, 14,6%, $p=0,0245$). Введение экзогенного мелатонина при постоянном освещении статистически значимо уменьшало частоту крупных опухолей (28 опухолей из 320, 8,8%, $p=0,0001$ по сравнению с LL). В нормальной ткани легкого животных, содержащихся при постоянном освещении (LL), было выявлено повышение относительной экспрессии часовых генов по сравнению с группой LD: *Bmal1* в 3,1 раза ($p=0,02$) и *Cry1* в 3,6 раз ($p=0,0002$). Для гена *Clock* таких различий не обнаружено. Относительное содержание белков *BMAL1* и *CLOCK* во всех вариантах опыта было выше в аденомах и аденокарциномах по сравнению с нормальной тканью.

Выводы. Выявлено, что постоянное освещение промотирует развитие химически индуцированных опухолей легкого, а введение мелатонина тормозит канцерогенез при постоянном освещении. Установлено, что в опухолях лёгких содержание белков-активаторов транскрипции *BMAL1* и *CLOCK* возрастает по сравнению с нормальной тканью, тогда как повышения уровня экспрессии соответствующих генов в опухолях не наблюдалось.

Ключевые слова: канцерогенез, режим освещения, часовые гены, опухоль легкого, уретан, мыши

Введение

Циркадианные, или суточные, ритмы (ЦР) живых организмов существуют как адаптация к смене дня и ночи. На клеточном уровне циркадианные ритмы поддерживаются за счет осцилляций транскрипции часовых генов *Bmal1*, 2, *Clock* и *Npas2*, *Per1–3*, *Cry1*, 2 [1]. На организменном уровне важную роль в син-

хронизации ритмов с внешней средой играет гормон «темноты» мелатонин (МТ), синтезируемый эпифизом [2]. Помимо основного биологического эффекта, мелатонин демонстрирует антиоксидантные, антигонадотропные и противоопухолевые свойства [3]. Доказано, что избыточное освещение в ночные часы угнетает синтез мелатонина эпифизом и увеличивает риск развития многих заболеваний, в том числе онкологических [4, 5].

Также известно, что в различных опухолях человека нарушается согласованная экспрессия часовых генов; во многих случаях экспрессия репрессоров транскрипции *Per* и *Cry* снижается, а экспрессия активаторов транскрипции *Bmal* и *Clock* повышается [6]. При этом экспериментальные данные о ритме экспрессии часовых генов в опухолях не позволяют выявить общих тенденций [7, 8].

Возможности влияния на циркадианные ритмы в опухолях, а также влияние нарушения режима освещения и введения мелатонина на клеточные «часы» в них остаются недостаточно изученными. Кроме того, в некоторых экспериментах описано противоопухолевое действие мелатонина в условиях стандартного и постоянного освещения [9, 10], тогда как в других работах показано, что мелатонин не угнетает канцерогенез при нарушении суточных ритмов [11, 12].

Целью исследования была оценка влияния постоянного освещения и введения мелатонина на химически индуцированный канцерогенез легкого у мышей и экспрессию часовых генов и белков в нормальной и опухолевой ткани легкого.

Материалы и методы

В опытах использовали аутбредных мышей-самцов SHR в возрасте 3 мес массой тела 25–30 г (питомник Рапполово, ЛО, Россия). Исследования были одобрены локальным этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ Онкологии им. Н.Н. Петрова» (Протокол №2 от 16.01.2017 г.). Животные содержались при температуре 20–24 °С, получали водопроводную воду и лабораторный корм для грызунов (ПК-120, ООО «Лабораторкорм», Россия) *ad libitum*.

120 мышам на 0 сут опыта внутривенно однократно ввели уретан (Fluka, Швейцария) в дозе 1 г/кг. После рандомизации первую и третью группы мышей содержали при стандартном освещении — LD (освещение с 08:00 до 20:00 MSK, 500 Лк), вторую и четвертую — в условиях постоянного освещения — LL (500 Лк). Мыши третьей и четвертой групп получали мелатонин ($\geq 99\%$, Sigma, США) с питьевой водой в концентрации 20 мг/л с 1 сут эксперимента в ночное время (с 20.00 ч до 08.00 ч), группы обозначены как LDMT и LLMT соответственно. За животными вели ежедневное наблюдение в течение 45 нед эксперимента.

После эвтаназии с последующей немедленной аутопсией в конце опыта по пять животных с опухолями из каждой группы были использованы для оценки экспрессии часовых генов. Образцы тканей замораживали в

жидком азоте и хранили при -80 °С. Выделяли общую РНК путем гомогенизации образцов с реагентом TRIzol (ThermoFisherScientific). РНК использовали для проведения реакции обратной транскрипции и получения кДНК. Далее проводили ПЦР в режиме реального времени с праймерами к генам *Clock*, *Bmal1*, *Cry1*, и гену β -актина (референтный ген). Относительный уровень экспрессии вычисляли по формуле: $E_{target} = 2^{-(Cq_{reference} - Cq_{target})}$, где $Cq_{reference}$ и Cq_{target} — количество циклов амплификации, необходимых для наработки детектируемого уровня продукта реакции.

От других животных кусочки тканей с опухолями фиксировали в 10% нейтральном формалине, затем под лупой подсчитывали число и размеры опухолевых узлов, которые делили на малые (≤ 1 мм), средние (1,1–2 мм) и крупные (> 2 мм). После гистологической проводки кусочки органов заливали в парафин, готовили микротомные срезы толщиной 3–5 мкм и окрашивали гематоксилином и эозином. Выявленные новообразования классифицировали согласно рекомендациям МАИР.

Для проведения иммуногистохимического окрашивания использовали первичные антитела к *BMAL1* (NovusBiologicals, NB100-2288), *CLOCK* (NovusBiologicals, NB100-92284), *CRY1* (NovusBiologicals, NB1-69080) и *PER2* (ThermoScientific, PA5-23339). Затем наносили вторичные антитела, конъюгированные с пероксидазой (Anti-Rabbit EnVision System, Dako, Дания) и раствор хромогена — диаминобензидин (ДАБ, 1:50 в буфере Liquid Dab+ Substrate Chromogen System, Dako, Дания). Срезы докрашивали в гематоксилине Майера, затем дегидратировали и заключали в синтетическую среду Biomount.

Для оценки *BMAL1* на микрофотографиях срезов легкого измеряли оптическую плотность, соответствующую окрашиванию ДАБ и вычисляли относительное содержание белка *BMAL1* в опухолях по сравнению с нормальной тканью. Окраску антителами к *CLOCK* оценивали в аденомах и аденокарциномах в баллах от 1 до 3 (1 — слабое окрашивание, 3 — интенсивное). В каждой группе было оценено не менее 10 опухолей.

Статистическую обработку данных проводили с помощью программ MS Excel 2007, GraphPad Prism 6.0. Определение статистической значимости наблюдаемых различий в группах по средним значениям количественной переменной проводили с помощью *t*-критерия Стьюдента или *U*-критерия Манна–Уитни (в зависимости от характера распределения, которое определяли по критерию Шапиро–Уилка). Для межгрупповых сравнений проводили дисперсионный анализ с применением апостериорного теста Тьюки. Для анализа частотных величин использовали таблицы сопряженности и точный критерий Фишера. Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Основные показатели канцерогенеза легкого приведены в таблице. Число животных с опухолями легкого составило от 89 до 100%. Опухоли крупного размера (> 2 мм) статистически значимо чаще наблюдались у животных группы LL (62 опухоли из 294, 21,1%) против 59 опухолей из 405, 14,6%) в группе LD. Введение экзогенного мелатонина при постоянном освещении статистически значимо уменьшало частоту крупных (28 опухолей из 320, 8,8%) по сравнению с LL. Введение мелатонина в группе LD не влияло на частоту опухолей разного размера, однако в дан-

Показатели индуцированного уретаном канцерогенеза легкого у мышей самцов SHR при различных режимах освещения и введении мелатонина

Показатели	Группа				
	LD	LDMT	LL	LLMT	
Число эффективных животных	27	23	28	24	
Число животных с опухолями легкого (%) ¹	27 (100)	21 (91)	25 (89)	23 (96)	
Частота животных с аденомой/аденокарциномой легкого	48/52	48/43	36/53	50/46	
Среднее количество опухолей у животных с опухолью (медиана)	15,0±2,75 (12)	11,3±1,45 (11)	12,4±1,36 (12)	13,9±1,76 (11)	
Общее число выявленных опухолей легкого (%):	405	236	294	320	
в том числе, с наибольшим диаметром	менее 0,5 мм	136 (33,6)	92 (39,0)	90 (30,6)	162 (50,6)
	0,6–1,0 мм	111 (27,4)	64 (27,1)	77 (26,2)	77 (24,1)
	1,1–2,0 мм	99 (24,4)	53 (22,5)	65 (22,1)	53 (16,6)
	более 2,0 мм	59 (14,6)	27 (11,4)	62 (21,1) p=0,0245 ²	28 (8,8) p=0,0001 ³

¹ Из каждой группы по пять животных с опухолями были использованы для оценки экспрессии часовых генов и в расчетах прочих приведенных показателей не учитывались; ² сравнение с группой LD; ³ сравнение с LL (точный тест Фишера).

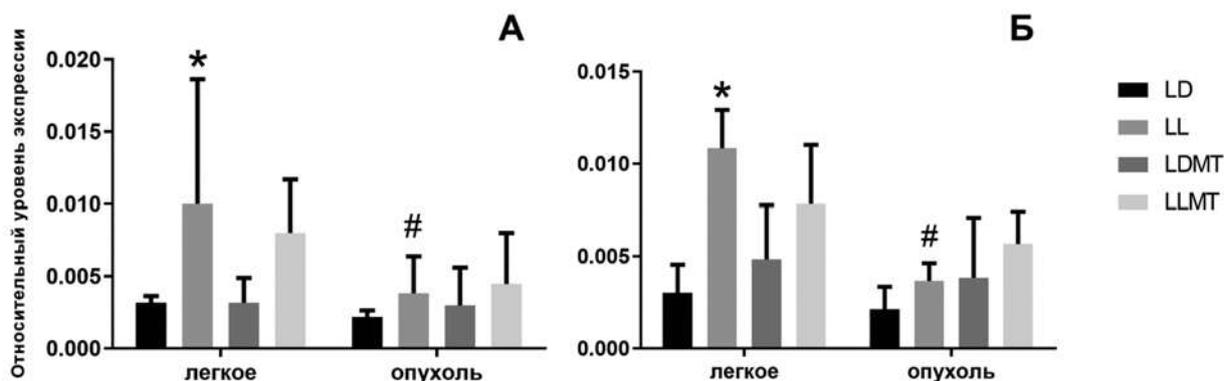


Рис. 1. Экспрессия генов Bmal1 (А) и Cry1 (Б) в образцах нормальной и опухолевой ткани легкого (M ± m).

* p=0,02, апостериорный тест Тьюки при сравнении группы с группой LD, # p=0,0345, U-критерий Манна-Уитни при сравнении с нормальной тканью легкого в той же группе

ной группе было выявлено наименьшее общее количество опухолей (236).

При оценке в нормальной ткани легкого животных уровня относительной экспрессии гена Bmal1 (рис. 1, А) в группе постоянного освещения (LL) выявлено ее увеличение в 3,1 раза по сравнению с обычным режимом (LD) (p=0,02). В опухолях относительная экспрессия гена Bmal1 между группами не отличалась, но в опухолевой ткани легкого у животных группы LL она была в 2,6 раза ниже (p=0,03), чем в нормальной ткани легкого этих же животных.

Экспрессия гена Cry1 (рис. 1, Б) в нормальной ткани легкого была выше в 3,6 раза (p=0,0002) у животных, содержащихся в условиях постоянного освещения (LL) по сравнению с группой стандартного освещения (LD). Экспрессия гена Cry1 в опухолевой ткани легкого в группе LL была в 2,9 раза ниже (p=0,0005), чем в нормальной ткани легкого этих же животных.

Относительная экспрессия гена Clock статистически значимо не различалась ни между

группами, ни между нормальной и опухолевой тканью (данные не приведены).

Относительное содержание белка BMAL1 (рис. 2, А) во всех опытных группах было выше в аденомах (в 1,13–2,08 раза) и аденокарциномах (в 2,58–2,98 раза) по сравнению с нормальной тканью легкого (значение принято за 1). Статистически значимые различия в относительном содержании белка BMAL1 между аденомами и аденокарциномами наблюдались в группах LD (в 2 раза, p=0,005) и LDMT (в 2,4 раза, p=0,04).

Интенсивность окрашивания аденокарцином антителами к CLOCK во всех группах была статистически значимо выше, чем в аденомах (рис. 2, Б). Так, в группе LD интенсивность окрашивания аденом составляла в среднем 1,29±0,20 баллов, аденокарцином — 2,58±0,16 баллов (p=0,0001). Для группы LL эти значения составили 1,50±0,33 и 2,54±0,15 соответственно (p=0,005). Введение мелатонина не влияло на данный показатель: так, для группы LDMT получены значения в 1,33±0,41 балла для аденом и 2,67±0,18 для аденокарцином

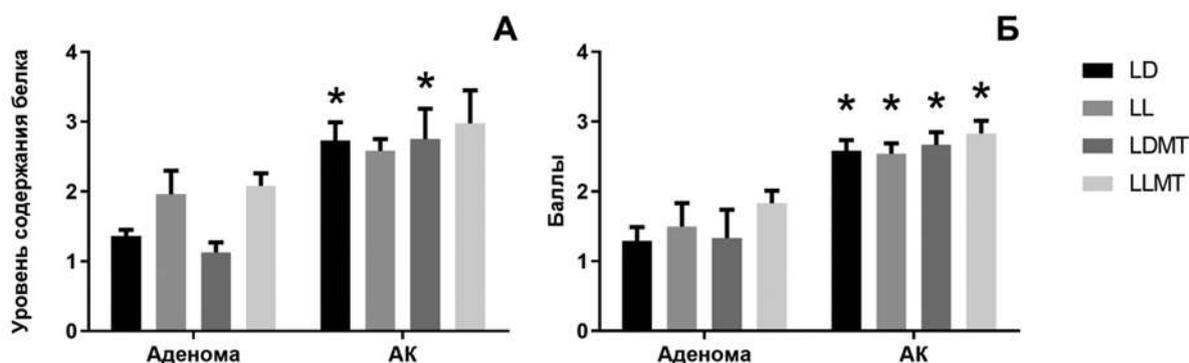


Рис. 2. Относительная интенсивность окрашивания антителами к BMAL1 (А) и CLOCK (Б) аденом и аденокарцином легкого (M ± m).

* $p < 0,05$ при сравнении с аденомами в той же группе, U-критерий Манна–Уитни. Для BMAL1 интенсивность окрашивания нормальной ткани легкого принята за 1

($p=0,002$), а для группы LLMT — $1,83 \pm 0,18$ и $2,83 \pm 0,18$ соответственно ($p=0,009$).

Обсуждение

В нашем опыте выявлено, что постоянное освещение приводит к увеличению частоты встречаемости крупных опухолей легкого. Введение мышам экзогенного мелатонина при нормальном освещении не оказывало статистически значимого влияния на параметры канцерогенеза, хотя общее число опухолей было наименьшим в группе LDMT. Эффект от введения мелатонина в группе LLMT проявился в уменьшении числа крупных опухолей. На модели опухолей легкого, индуцированных уретаном у мышей SHR/u, Веснушкиным Г.М. и соавт. в 2006 г. [13] был показан более выраженный антиканцерогенный эффект мелатонина при стандартном режиме освещения. Возможно, различия в полученных результатах обусловлены дивергенцией между популяциями мышей SHR, особенностями условий содержания и другими внешними факторами. Показано, что у мышей с перевитой карциномой легкого Льюиса применение мелатонина ведет к уменьшению частоты метастазирования только в условиях стресса [14]. Мелатонин угнетает рост некоторых клеточных линий рака легкого [15] и повышает чувствительность опухолевых клеток к воздействию химиотерапевтических препаратов [16, 17]. Таким образом, введение мелатонина можно потенциально рассматривать как важный аспект сопутствующего лечения пациентов с раком легкого.

Экспериментальные исследования подтверждают, что нарушение суточных ритмов играет значимую роль в прогрессировании рака легкого. В частности, на модели опухолей легкого, индуцированных путем интратрахеальной инъекции вирусного вектора, несущего ген Cre-рекомбиназы у мышей, мутантных по K-ras и

p53, было показано, что и хронический джет-лаг, и выключение часовых генов Per2 или Bmal1 приводят к увеличению площади опухолей и повышению их злокачественности [18].

Несмотря на то, что в нашем опыте существенного изменения экспрессии генов Bmal1 и Clock не обнаружено, иммуногистохимическое окрашивание позволило выявить повышение содержания соответствующих им белков в аденомах по сравнению с нормальной тканью, а также в аденокарциномах по сравнению с аденомами. Для гена Cry1 и соответствующего белка ситуация обратная — при наличии экспрессии гена окрашивание антителами к белку CRY1 не позволило выявить детектируемого его количества. Вероятно, механизмы пост-трансляционных модификаций, которые приводят к деградации белков, изменены в опухолевых клетках по сравнению с нормальными.

Известно, что в злокачественных опухолях легкого человека экспрессия часовых генов нарушается, причем уровень их экспрессии коррелирует с прогнозом пациентов [19] и стадией заболевания [18]. Кроме того, показано, что именно согласованная ритмическая экспрессия часовых и многих других генов нарушается в опухолях легкого по сравнению с нормальной тканью [20].

Проведенный эксперимент подтвердил, что постоянное освещение промотирует канцерогенез легкого у лабораторных мышей, а мелатонин снижает этот эффект. Развитие опухолевого процесса сопровождается изменением содержания часовых белков в опухолях по сравнению с нормальной тканью.

Заключение

Анализ литературных данных и полученные нами результаты свидетельствуют о взаимосвязи нарушения суточных ритмов и опухолевого процесса, а также об антиканцерогенном эффекте мелатонина при канцерогенезе легкого.

Постоянное освещение промотирует развитие химически индуцированных опухолей легкого, а введение мелатонина тормозит канцерогенез при постоянном освещении.

Установлено, что в опухолях лёгких содержание белков-активаторов транскрипции BMAL1 и CLOCK возрастает по сравнению с нормальной тканью, тогда как повышения уровня экспрессии соответствующих генов в опухолях не было выявлено.

Вклад авторов:

Губарева Е.А. — получение данных, анализ полученных данных, написание текста рукописи, обзор публикаций по теме статьи;

Юрова М.Н. — получение данных для анализа, обзор публикаций по теме статьи;

Тындык М.Л. — получение данных для анализа;

Майдин М.А. — получение данных для анализа;

Янус Г.А. — анализ полученных данных;

Егормин П.А. — анализ полученных данных;

Панченко А.В. — анализ полученных данных, написание текста рукописи;

Анисимов В.Н. — руководство исследованием, редактирование рукописи.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Исследование выполнено при поддержке гранта РФФ № 18-75-10017 от 08 августа 2018 г.

ЛИТЕРАТУРА

- Cox KH, Takahashi JS. Circadian clock genes and the transcriptional architecture of the clock mechanism // J. Mol. Endocrinol. BioScientifica Ltd. 2019;63(4): R93–R102. https: // doi: 10.1530/JME-19-0153
- Bollinger T, Schibler U. Circadian rhythms — from genes to physiology and disease // Swiss Med. Wkly. 2014;144: w13984. https: // doi: 10.4414/smw.2014.13984
- Reiter RJ, Rosales-Corral SA, Tan D-X et al. Melatonin, a Full Service Anti-Cancer Agent: Inhibition of Initiation, Progression and Metastasis // Int. J. Mol. Sci. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). 2017;18(4). https: // doi: 10.3390/ijms18040843
- Anisimov VN, Vinogradova IA, Panchenko AV et al. Light-at-night-induced circadian disruption, cancer and aging // Curr. Aging Sci. 2012;5(3):170–177. https: // doi: 10.2174/1874609811205030002
- Megdal SP, Kroenke CH, Laden F et al. Night work and breast cancer risk: A systematic review and meta-analysis // Eur. J. Cancer. 2005;41(13):2023–2032. https: // doi: 10.1016/j.ejca.2005.05.010
- Ye Y, Xiang Y, Ozguc FM et al. The Genomic Landscape and Pharmacogenomic Interactions of Clock Genes in Cancer Chronotherapy // Cell Syst. Howard Hughes Medical Institute. 2018;6(3):314–328.e2. https: // doi: 10.1016/j.cels.2018.01.013
- Masri S, Papagiannakopoulos Th, Kinouchi K et al. Lung Adenocarcinoma Distally Rewires Hepatic Circadian Homeostasis // Cell. 2016;165(4):896–909. https: // doi: 10.1016/j.cell.2016.04.039
- Tan X-M, Ye H, Yang K et al. Circadian variations of clock gene Per2 and cell cycle genes in different stages of carcinogenesis in golden hamster buccal mucosa // Sci. Rep. 2015;5(1):9997. https: // doi: 10.1038/srep09997
- Schwimmer H, Metzger A, Pilosof Y et al. Light at night and melatonin have opposite effects on breast cancer tumors in mice assessed by growth rates and global DNA methylation // Chronobiol. Int. 2014;31(1):144–150. https: // doi: 10.3109/07420528.2013.842925
- Dauchy RT, Xiang S, Mao L et al. Circadian and Melatonin Disruption by Exposure to Light at Night Drives Intrinsic Resistance to Tamoxifen Therapy in Breast Cancer // Cancer Res. 2014;74(15):4099–4110. https: // doi: 10.1158/0008-5472.CAN-13-3156
- Baturin DA, Alimova IN, Anisimov VN et al. The effect of light regimen and melatonin on the development of spontaneous mammary tumors in HER-2/neu transgenic mice is related to a downregulation of HER-2/neu gene expression // Neuro Endocrinol. Lett. 2001;22(6):441–447.
- Otálora BB, Madrid JA, Alvarez N et al. Effects of exogenous melatonin and circadian synchronization on tumor progression in melanoma-bearing C57BL6 mice // J. Pineal Res. 2008;44(3):307–315. https: // doi: 10.1111/j.1600-079X.2007.00531.x
- Веснушкин Г.М, Плотникова Н.А., Семенченко А.В., Анисимов В.Н. Мелатонин угнетает канцерогенез легких, индуцируемый уретаном в мышей // Вопросы онкологии. 2006;52(2):164–168.
- Mocchegiani E, Perissin L, Santarelli L et al. Melatonin administration in tumor-bearing mice (intact and pinealectomized) in relation to stress, zinc, thymulin and IL-2 // Int. J. Immunopharmacol. 1999;21(1):27–46. https: // doi: 10.1016/s0192-0561(98)00067-8
- Fan C, Pan Yu, Yang Y et al. HDAC1 inhibition by melatonin leads to suppression of lung adenocarcinoma cells via induction of oxidative stress and activation of apoptotic pathways // J. Pineal Res. 2015;59(3):321–333. https: // doi: 10.1111/jpi.1226
- Kontek R, Nowicka H. The modulatory effect of melatonin on genotoxicity of irinotecan in healthy human lymphocytes and cancer cells // Drug Chem. Toxicol. 2013;36(3):335–342. https: // doi: 10.3109/01480545.2012.737805
- Plaimee P, Weerapreeyakul N, Barusux S, Johns NP et al. Melatonin potentiates cisplatin-induced apoptosis and cell cycle arrest in human lung adenocarcinoma cells // Cell Prolif. 2015;48(1):67–77. https: // doi: 10.1111/cpr.12158
- Papagiannakopoulos T, Bauer MR, Davidson SM et al. Circadian Rhythm Disruption Promotes Lung Tumorigenesis // Cell Metab. NIH Public Access. 2016;24(2):324–331. https: // doi: 10.1016/j.cmet.2016.07.001
- Qiu M, Chen Y-B, Jin S et al. Research on circadian clock genes in non-small-cell lung carcinoma // Chronobiol. Int. 2019;36(6):739–750. https: // doi: 10.1080/07420528.2018.1509080

20. Shiits J, Chen G, Hughey JJ. Evidence for widespread dysregulation of circadian clock progression in human cancer // *F1000Research*. 2018;6:e4327. [https://doi: 10.7717/peerj.4327](https://doi.org/10.7717/peerj.4327).

Поступила в редакцию 23.07.2020 г.

*E.A. Gubareva, M.N. Yurova, M.L. Tyndyk,
M.A. Maydin, G.A. Yanus, P.A. Egormin,
A.V. Panchenko, V.N. Anisimov*

The effect of constant light and melatonin on urethane-induced lung carcinogenesis in mice and expression of clock genes and proteins

N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology, the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Saint Petersburg

Introduction. Circadian rhythms are an adaptational mechanism to day-night cycle. At the cellular level rhythms are supported by oscillations of transcription of *Bmal1*, *2*, *Clock* and *Npas2*, *Per1-3*, *Cry1*, *2* clock genes; in the organism rhythms are synchronized with melatonin, the «hormone of darkness». Reliable data have been obtained that disruption of biological «clocks» at the cellular and/or organism level are associated with carcinogenesis, but the experimental results in this direction remain incomplete.

Aim. Assessment of the continuous lighting and melatonin administration effects on chemically induced carcinogenesis in mice and expression of clock genes and proteins in normal and tumor lung tissue.

Materials and methods. Lung tumors were induced by urethane in 120 male SHR mice. Animals were kept at constant (LL) or standard (LD) light; half of the animals received melatonin (MT) daily at 20 mg/l at night with water for 45 weeks of experiment. At the end of the experiment, the frequency and multiplicity of lung tumours of different size were assessed. Expression of clock genes *Clock*, *Bmal1*, *Cry1* was assessed in tumor samples and normal lung tissue by real-time PCR; protein content of *BMAL1*, *CLOCK*, *CRY1* and *PER2* was determined by immunohistochemistry. Statistical data were processed using the programs MS Excel 2007, GraphPad Prism 6.0 with commonly used statistical criteria.

Results. The number of animals with lung tumors was between 89 and 100% in different groups. Large tumors (>2 mm) were more frequently observed in LL group (62 tumors out of 294, 21.1%) than in LD group (59 tumors out of 405, 14.6%, $p=0.0245$). Administration of exogenous melatonin at constant lighting statistically significantly reduced the frequency of large tumors (28 tumors out of 320, 8.8%, $p=0.0001$ in comparison with LL). In normal lung tissue of animals kept at constant lighting (LL) the increase in relative expression of clock genes in comparison with LD group was revealed: *Bmal1* by 3.1 times ($p=0.02$) and *Cry1* by 3.6 times ($p=0.0002$). No such differences were found for *Clock* gene. The relative content of *BMAL1* and *CLOCK* proteins in all experimental conditions was higher in adenomas and adenocarcinomas compared to normal tissue.

Conclusion. Constant lighting promotes the development of chemically induced lung tumors, and melatonin administration inhibits carcinogenesis under constant lighting. The content of *BMAL1* and *CLOCK* transcription activator proteins in lung tumors was found to increase in comparison with normal tissue, whereas no increase in the expression level of corresponding genes in tumors was observed.

Key words: carcinogenesis, light regimen, clock genes, lung tumor, urethan, mice

Е.А. Зеленский¹, К.В. Рутто¹, А.В. Соколов¹, Е.П. Киселева^{1, 2}

Прием цинка тормозит развитие инволюции тимуса при опухолевом росте у мышей

¹ ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург

² ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург

Цель исследования. Изучить влияние приема цинка на развитие инволюции тимуса при росте перевиваемой опухоли у мышей.

Материалы и методы. Мыши линии СЗНА после подкожной инокуляции клеток сингенной гепатомы 22а получали сульфат цинка с питьевой водой. Через 3 нед опухолевого роста животных убивали и оценивали у них содержание цинка в крови, состояние тимуса и показатели опухолевого роста.

Результаты. На 21-е сутки роста опухоли масса и число клеток в тимусе снижались в 3 раза, а содержание эндогенного цинка в сыворотке крови — в 1,9 раз. Прием сульфата цинка с питьевой водой в концентрации 22 мкг/мл в течение трех недель, начиная с первого дня после инокуляции опухолевых клеток, увеличивал массу и клеточность тимуса, а также содержание цинка в сыворотке крови. При этом цинк не оказывал влияния на размер опухолей и выживаемость мышей с гепатомой 22а. В поиске возможного механизма действия цинка исследовали его влияние на активность двух ферментов антиоксидантной защиты: Cu,Zn-супероксиддисмутазы и каталазы в тимусе. Прием цинка не влиял на эти показатели, которые у опухолевых мышей оставались повышенными.

Заключение. У мышей с гепатомой 22а пероральный прием цинка вызывает торможение развития инволюции тимуса, не влияя при этом на рост самой опухоли. Проведенное исследование дает возможность считать пероральный прием цинка перспективным средством для разработки стратегий по восстановлению тимуса у онкологических больных.

Ключевые слова: инволюция тимуса, цинк, гепатома 22а, супероксиддисмутазы, каталаза

Введение

Известно, что опухолевый рост сопровождается инволюцией тимуса [1]. Нарушение тимопоэза приводит к снижению выхода зрелых тимоцитов и сужению разнообразия Т-клеточных

рецепторов, необходимого для полноценного ответа на вновь поступающие антигены [2]. Это особенно важно для пациентов, проходящих курс химио- или рентгенотерапии, поскольку такое воздействие дополнительно усиливает развитие инволюции тимуса. Разработка эффективных стратегий для улучшения функций тимуса и, как следствие, сохранения адекватной противоинфекционной защиты у онкологических больных является актуальной задачей. Для ее решения в эксперименте применяют различные способы: введение ростовых факторов, интерлейкинов, гормонов, стволовых клеток [3].

Между тем, в литературе имеются данные о том, что для восстановления массы и клеточности тимуса достаточно применить диету с повышенным содержанием цинка или с его добавлением в питьевую воду, что было успешно использовано у старых мышей [4, 5, 6], но не было исследовано при росте опухолей.

Известно, что концентрация цинка в крови старых животных снижается [4, 5, 6]. Дефицит цинка рассматривают в качестве одной из важных причин возрастных иммунологических нарушений и, в частности, инволюции тимуса [7].

Несмотря на то, что старение и опухолевый рост представляют собой разные процессы, дефицит цинка выявляется в обоих случаях. Опухолевый рост как у людей [8], так и у экспериментальных животных [9], сопровождается снижением концентрации цинка в крови. На основании этого мы предположили, что дефицит данного микроэлемента может играть существенную роль в развитии инволюции тимуса также и при опухолевом росте, а препараты цинка помогут существенно улучшить цинковый статус и состояние вилочковой железы.

Известно, что цинк является одним из важнейших микроэлементов, необходимых для пролиферации и дифференцировки клеток иммунной системы. При дефиците цинка происходит нарушение клеточного и гуморального иммунитета, а также снижение способности организма сопротивляться инфекциям [8]. У животных,

находящихся на цинк-дефицитной диете, развивается инволюция тимуса [7]. Кроме того, что дефицит цинка может вызывать в организме окислительный стресс [10]. Этот микроэлемент формирует активный центр одного из важнейших ферментов антиоксидантной защиты — Cu,Zn-супероксиддисмутазы (СОД), активность которой в условиях дефицита цинка может снижаться.

Цель данной работы — изучить влияние перорального приема цинка на развитие инволюции тимуса при росте перевиваемой опухоли гепатомы 22а у мышей. В качестве возможного механизма действия цинка изучали его влияние на активность ферментов антиоксидантной системы в тимусе — СОД и каталазы при росте перевиваемой гепатомы 22а.

Материалы и методы

В работе использовались мыши-самцы линии СЗНА весом 16–18 г, полученные из питомника «Рапполово». Клеточная линия гепатомы 22а была получена из коллекции клеточных культур Института цитологии РАН. Клетки культивировали в среде DMEM, с добавлением 10% фетальной сыворотки. Для получения солидных опухолей мышам подкожно инокулировали в область спины 2×10^5 клеток сингенной гепатомы 22а в объеме 0,2 мл физиологического раствора. Контрольные животные получали инъекцию физиологического раствора. Все экспериментальные животные находились на стандартной диете и получали сухой комбикорм ПК-120 («Лабораткорм», Москва, Россия), содержащий 22,5 мг цинка на кг. Для изучения действия цинка животные с опухолями получали *ad libitum* питьевую воду с добавлением сульфата цинка (Sigma-Aldrich, для клеточных культур) в различных концентрациях с первого дня после инокуляции клеток гепатомы 22а в течение всего периода эксперимента. Все исследования проводились в соответствии с требованиями и условиями, изложенными в «Международных рекомендациях по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» и приказом Минздрава РФ № 267 от 19.06.2003 г. «Об утверждении правил лабораторной практики».

На 21-е сутки опухолевого роста животных наркотизировали и после декапитации собирали кровь, а также извлекали тимус. Содержание цинка в образцах сыворотки определяли с помощью метода атомно-абсорбционной спектроскопии. Образцы растворяли в двух объемах азотной кислоты и проводили измерение по отношению к стандартным растворам цинка (Sigma-Aldrich) на спектрометре ZEE nit 650P (Analytik Jena, Германия).

Размеры опухолей измеряли в двух взаимно перпендикулярных направлениях и вычисляли средний диаметр опухоли по формуле: $D = \sqrt{(a - 1) \times (b - 1)}$, где а — наибольший размер опухоли, b — наименьший размер опухоли, а 1 мм — толщина кожной складки. Оценку выживаемости проводили в группах по 10 животных с гепатомой 22а, получавших либо питьевую воду, либо воду с добавлением сульфата цинка в концентрации 22 мкг/мл в течение всего срока наблюдения.

Для оценки активности каталазы в гомогенатах тимуса использовали метод с применением метаванадата аммония [11]. Для оценки активности Cu,Zn-СОД использовали модифицированный метод [12] с использованием 50 мкМ ресазурина, который восстанавливался суперок-

сидными анион-радикалами, генерируемыми 150 мкМ ксантином и 100 нМ ксантиноксидазой [13]. Для учета вклада Mn-СОД к контрольным пробам добавляли 2 мМ цианида натрия, ингибирующего Cu,Zn-СОД. За 1 условную единицу (у. е.) СОД принимали количество фермента, которое вызывало 50%-е понижение интенсивности флуоресценции продукта восстановления ресазурина с учетом ингибирования Cu,Zn-СОД в контрольной пробе. В пробах гомогенатов также определяли концентрацию белка по Бредфорду и выражали активность ферментов в расчете на мг общего белка.

Статистическую обработку результатов проводили в программе Statistica 13.0 с использованием t-критерия Стьюдента. Различия считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$. Данные представлены в виде среднего значения \pm ошибка среднего ($M \pm m$). Непараметрический корреляционный анализ Спирмена проводили с вычислением коэффициента корреляции r . Расчет кривых выживаемости проводили с помощью метода Каплана–Майера в программе GraphPad Prism 6,0 (GraphPad Software, США), а статистически значимую разницу определяли с помощью критерия Гехана–Бреслоу–Вилкоксона.

Результаты

На 21-е сутки роста гепатомы 22а у мышей наблюдали значительное снижение концентрации цинка в образцах сыворотки крови — в 1,9 раз по сравнению с контрольными показателями (рис. 1, а). На этом же сроке опухолевого роста отмечено также и выраженное снижение массы тимуса — в 3 раза по сравнению с этим же показателем у контрольных мышей (см. рис. 1, б).

Для коррекции этих показателей в питьевую воду животным добавляли сульфат цинка в одной из трех концентраций, а именно 11, 22 и 66 мкг/мл. Прием цинка в концентрациях 22 и 66 мкг/мл вызывал повышение уровня содержания эндогенного цинка в крови, хотя этот уровень и не достигал контрольных показателей (см. рис. 1, а). Масса тимуса у мышей, получавших цинк, также была больше. Наилучший эффект в отношении сохранения массы тимуса оказывала концентрация сульфата цинка 22 мкг/мл, которая достоверно повышала массу тимуса, хотя и оставалась ниже значений, характерных для контрольных животных (см. рис. 1, б). Для дальнейших экспериментов была выбрана эта концентрация.

Следует отметить, что прием цинка в этой же концентрации не оказывал влияния ни на массу тимуса, ни на содержание эндогенного цинка в образцах сыворотки крови у мышей контрольной группы, которым опухоли не прививали (группа K2 на рис. 1, а, б). Тем самым было показано, что дополнительный прием сульфата цинка в концентрации 22 мкг/мл действовал только на мышей с дефицитом цинка (в данном случае, имеющих опухоли) и не влиял на контрольных животных с нормальным содержанием данного микроэлемента.

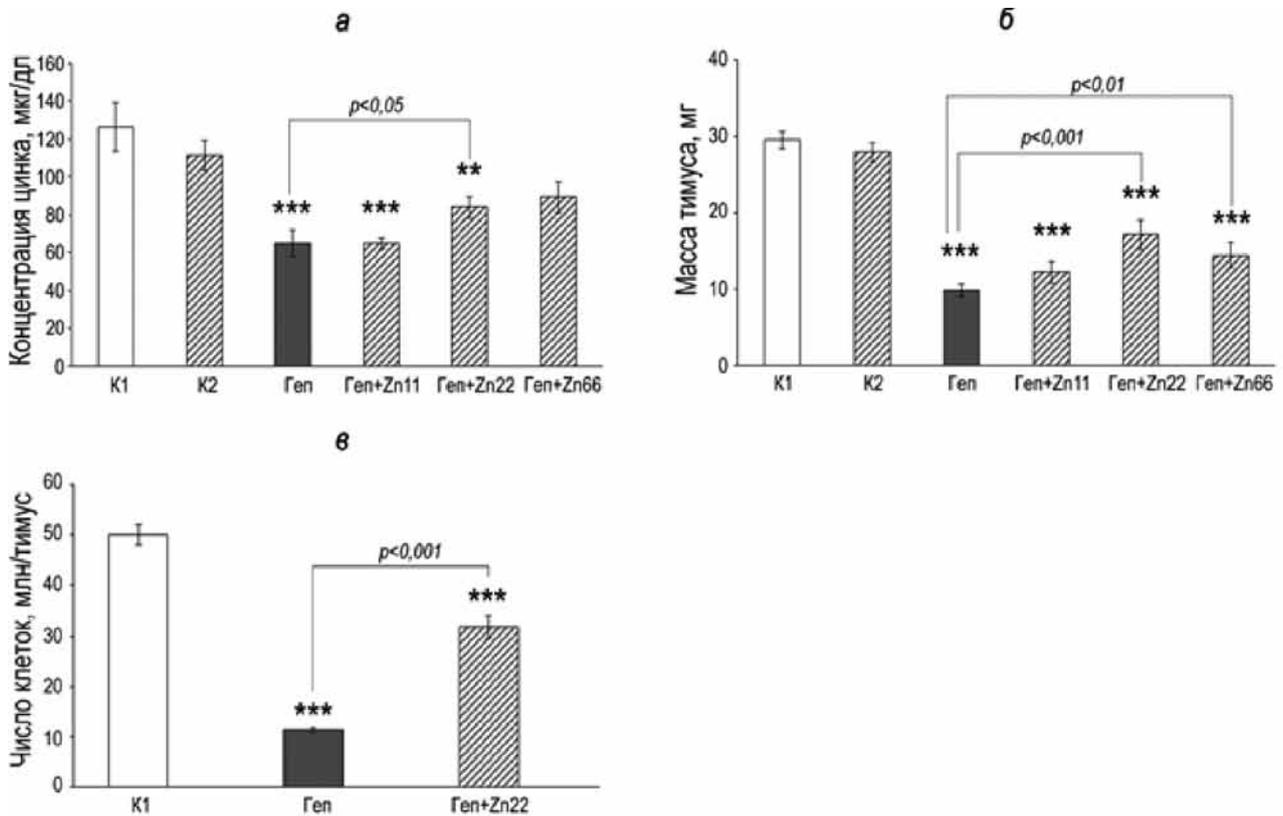


Рис. 1. Влияние приема сульфата цинка на концентрацию эндогенного цинка в сыворотке крови (а) и массу тимуса мышей (б) и число тимоцитов (в) на 21-е сутки роста гепатомы 22а.

По оси ординат: (а) — содержание цинка в сыворотке крови, мкг/децилитр, $M \pm m$, $n=9-19$; (б) — масса тимуса, мг, $M \pm m$, $n=9-19$; (в) — число тимоцитов в расчете на весь орган, миллион/тимус, $M \pm m$, $n=7$. По оси абсцисс группы животных: K1 — контрольные животные; K2 — контрольные животные, получавшие сульфат цинка в концентрации 22 мкг/мл с питьевой водой; Ген — животные с гепатомой 22а; Ген+Zn11, Ген+Zn22 и Ген+Zn66 — животные с гепатомой 22а, получавшие цинк в концентрациях 11, 22 и 66 мкг/мл соответственно. Показана достоверность различий по сравнению с контролем K1 и K2: * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$. Достоверность различий между группами Ген и Ген+Zn22, а также Ген и Ген+Zn66 обозначена скобкой.

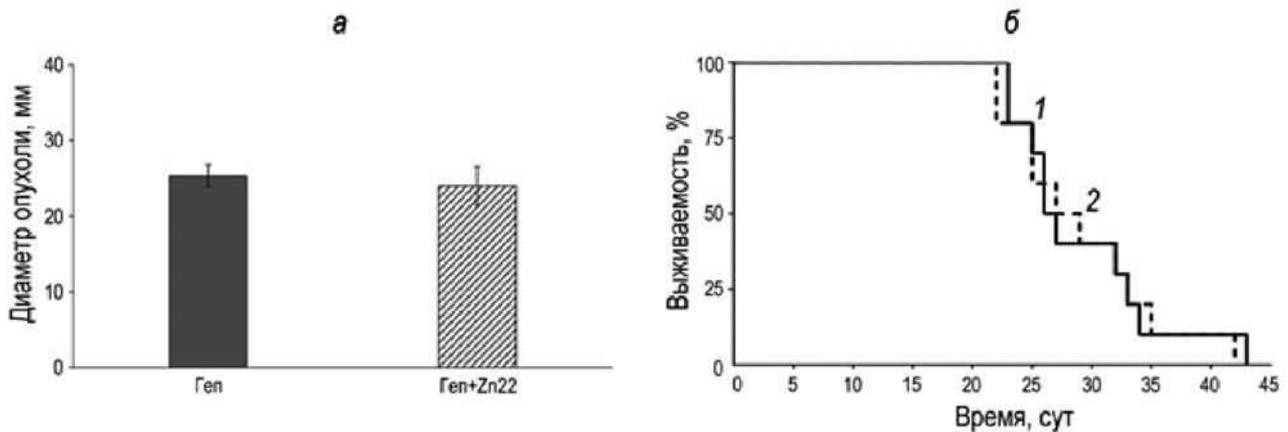


Рис. 2. Влияние приема цинка на размер опухолей (а) и выживаемость мышей с гепатомой 22а (б).

а — по оси ординат: средний диаметр опухолей на 25-е сутки опухолевого роста, мм; по оси абсцисс группы животных ($n=7$): Ген — животные с гепатомой 22а; Ген+Zn22 — животные с гепатомой 22а, получавшие 22 мкг/мл сульфата цинка с питьевой водой; б — по оси ординат — выживаемость животных, %, ($n=10$); по оси абсцисс — время после инокуляции клеток гепатомы 22а, сут. Группа 1 — животные с гепатомой 22а, группа 2 — животные с гепатомой 22а, получавшие 22 мкг/мл сульфата цинка с питьевой водой. Различия между группами по критерию Гехана не достоверны ($P=0,91$). Медиана выживаемости в группе 1 — 26,5 сут, в группе 2 — 28 сут.

Как показано на рис. 1, в, в группе мышей с гепатомой 22а, получавших цинк, более высокие показатели массы тимуса сопровождалась также и большим числом тимоцитов в расчете на весь орган, по сравнению с группой животных, цинка не получавших.

Для того, чтобы ответить на вопрос, не являются ли наблюдаемые эффекты следствием задержки опухолевого роста, оценивали влияние приема цинка на размеры опухолей и выживаемость мышей. Как показано на рис. 2, а, б, прием сульфата цинка не оказывал влияния на

эти показатели. Таким образом, влияние цинка на тимус не опосредовано его действием на опухоль.

При исследовании активности каталазы и Cu,Zn-СОД в тимусе мышей с гепатомой 22а на 21-е сутки ее роста оба показателя были повышены по сравнению с контрольным уровнем (рис. 3, а, б). При этом оказалось, что прием сульфата цинка с питьевой водой не оказывал влияния на активность каталазы и Cu,Zn-СОД в тимусе мышей с гепатомой 22а (см. рис. 3, а, б).

Обсуждение

В настоящей работе впервые установлен факт торможения развития инволюции тимуса при росте перевиваемой опухоли путем перорального приема цинка. Было показано, что добавление 22 мкг/мл сульфата цинка в питьевую воду в течение 21 сут вызывает увеличение массы и клеточности тимуса у животных с перевиваемой гепатомой 22а.

Данные литературы о торможении развития инволюции тимуса при росте перевиваемых опухолей практически отсутствуют, за исключением одной работы, в которой исследовали состояние тимуса у мышей с карциномой Льюиса при введении тимулина, а действие цинка — специально не изучали [14]. Его исследовали только у мышей контрольной группы, поскольку тимулин представляет собой цинксодержащий препарат. Этим животным 3 раза в нед внутрибрюшинно вводили 1 нг хлорида цинка на мыш, начиная за 10 сут до инокуляции опухолевых клеток и затем в течение 17 сут после этого, и наблюдали увеличение массы тимуса по сравнению с животными, которым цинк не вводили.

В наших исследованиях показано, что восстановление тимуса под действием цинка происходило на фоне отсутствия влияния на размеры опу-

холей и выживаемость мышей, что предполагает существование независимого механизма действия цинка на тимус. В цитированной выше работе было также показано, что введение цинка не влияет на рост первоначальных опухолей, но при этом подавляет их дальнейшее метастазирование [14]. В нашей работе данный показатель не исследовали так, как гепатома 22а не метастазирует.

Тот факт, что прием цинка восстанавливал массу тимуса и также вызывал повышение концентрации эндогенного цинка в крови указывал на возможную связь между этими явлениями. Однако корреляционная связь между этими показателями в группе животных-опухоленосителей, получавших цинк, отсутствовала (коэффициент корреляции $\rho=0,07$; $n=18$, где n — число пар). Следовательно, восстановление массы тимуса не связано напрямую с повышением концентрации цинка в крови, и эти показатели изменяются независимо друг от друга.

Таким образом, поскольку мы получили данные о возможности коррекции тимуса с помощью дополнительного приема цинка, наша гипотеза о том, что развитие инволюции тимуса при опухолевом росте может быть связано с дефицитом цинка, получила подтверждение.

Поскольку одним из возможных положительных эффектов цинка является его участие в антиоксидантной защите, в тимусе животных с гепатомой 22а оценивали активность двух ферментов — СОД и каталазы, один из которых, а именно СОД, является цинк-зависимым ферментом. Из литературы известно, что его активность повышается в плазме крови и эритроцитах в результате приема цинка пожилыми людьми с дефицитом этого микроэлемента [15]. Другой фермент — каталаза, не является цинксодержащим ферментом, однако цинк может увеличивать его экспрессию в клетках через активацию транскрипционного фактора Sp1 [16].

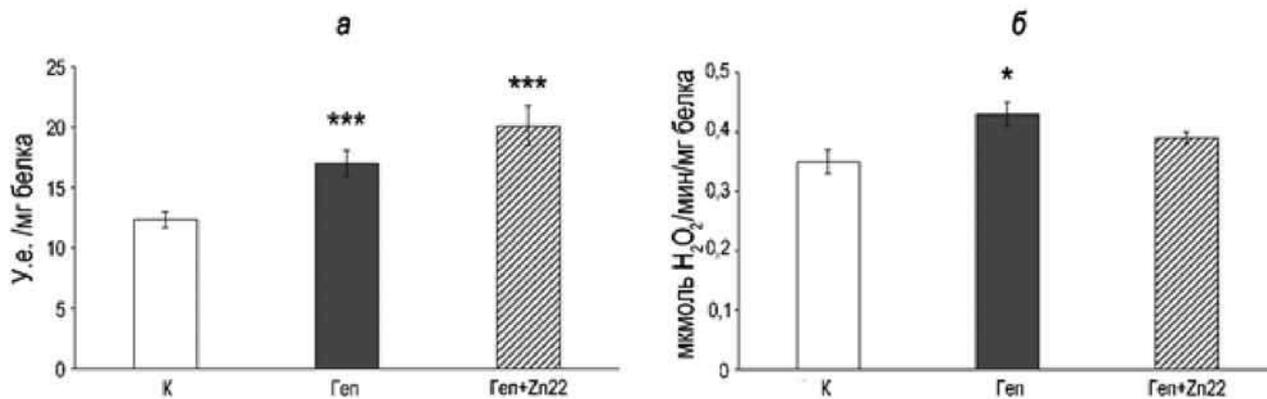


Рис. 3. Влияние приема цинка на активность ферментов СОД (а) и каталазы (б) в гомогенатах тимуса мышей на 21-е сутки роста гепатомы 22а.

По оси ординат: (а) активность СОД, у. е./мг белка, $M \pm m$; (б) активность каталазы, $\mu\text{M H}_2\text{O}_2/\text{мин}/\text{мг}$ белка, $M \pm m$. По оси абсцисс (а, б) группы животных ($n=10$): К — контроль; Геп — животные с гепатомой 22а; Геп+Zn22 — животные с гепатомой 22а, получавшие 22 мкг/мл сульфата цинка с питьевой водой. Показана достоверность различий по сравнению с контролем: * $P<0,05$, ** $P<0,01$, *** $P<0,001$.

Ферменты каталаза и СОД были исследованы в тимусе животных с опухолями впервые, и был установлен факт повышения активности антиоксидантных ферментов (каталазы и СОД) в тимусе мышей с перевиваемой опухолью, что может косвенно указывать на повышение окислительного стресса в данном органе при опухолевом росте. Однако причины этого явления требуют дополнительных исследований. Что же касается влияния цинка на активность этих ферментов в тимусе, то различия показателей в группах животных, принимавших и не принимавших сульфат цинка, не обнаружено. Следовательно, механизм положительного влияния цинка на тимус с этими ферментами не связан.

Заключение

Нами был разработан простой способ коррекции массы и клеточности тимуса с помощью перорального приема сульфата цинка у мышей с перевиваемой опухолью. Препараты солей цинка имеют длительную, почти 90-летнюю, историю применения для профилактики и лечения онкологических заболеваний [17]. Эти препараты и в настоящее время успешно используются для лечения синдрома усталости и повышения качества жизни у лиц, получающих химиотерапию [18]. Полученные данные указывают на то, что спектр применения солей цинка может быть расширен, и в дальнейшей перспективе они будут также применяться и по новому назначению — для восстановления функций тимуса у онкологических больных.

Благодарности

Авторы приносят благодарность д-ру биол. наук проф. Л.В. Пучковой и Ю.А. Орлову за ценные советы и помощь в определении цинка.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии в статье конфликта интересов.

Финансирование

Работа выполнена в рамках плановой темы НИР ФГБНУ «ИЭМ» №0557-2019-0006.

ЛИТЕРАТУРА

- Carrio R, Lopez DM. Insights into thymic involution in tumor-bearing mice // Immunologic Research. 2013;57(1-3):106-114. <https://doi.org/10.1007/s12026-013-8446-3>
- Heng TSP, Chidgey AP, Boyd RL. Getting back at nature: understanding thymic development and overcoming its atrophy // Current Opinion in Pharmacology. 2010;10(4):425-433. <https://doi.org/10.1016/j.coph.2010.04.006>
- Lepletier A, Alsharif A, Chidgey AP. Inflammation and thymus ageing // Frontiers of Hormone Research. 2017;48:19-36. <https://doi.org/10.1159/000452903>
- Dardenne M, Boukaiba N, Gagneraout M-C et al. Restoration of the thymus in ageing mice by in vivo zinc supplementation // Clinical Immunology and Immunopathology. 1993;66(2):127-135. <https://doi.org/10.1006/clin.1993.1016>
- Mocchegiani E, Santarelli L, Muzzioli M, Fabris N. Reversibility of the thymus involution and of age-related peripheral immune dysfunction by zinc supplementation in old mice // International Journal of Immunopharmacology. 1995;17(9):703-718. [https://doi.org/10.1016/0192-0561\(95\)00059-b](https://doi.org/10.1016/0192-0561(95)00059-b)
- Wong CP, Song Y, Elias VD et al. Zinc supplementation increases zinc status and thymopoiesis in aged mice // The Journal of nutrition. 2009;139(7):1393-1397. <https://doi.org/10.3945/jn.109.106021>
- Mocchegiani E, Santarelli L, Costarelli L et al. Plasticity of neuroendocrine-thymus interactions during ontogeny and ageing: role of zinc and arginine // Ageing research reviews. 2006;5(3):281-309. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2006.06.001>
- John E, Laskow TC, Buchser WJ et al. Zinc in innate and adaptive tumor immunity // Journal of Translational Medicine. 2010;8:118. <https://doi.org/10.1186/1479-5876-8-118>
- Romeu A, Arola L, Alemany M. Essential metals in tissues and tumor of inbred C57BL/6 mice during the infective cycle of Lewis lung carcinoma // Cancer Biochemistry Biophysics. 1986;9(1):53-66
- Eide DJ. The oxidative stress of zinc deficiency // Metallomics: integrated biometal science. 2011;3(11):1124-1129. <https://doi.org/10.1039/c1mt00064k>
- Hadwan MH, Ali SK. New spectrophotometric assay for assessments of catalase activity in biological samples // Analytical Biochemistry. 2018;542:29-33. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2017.11.013>
- Spitz DR, Oberley LW. An assay for superoxide dismutase activity in mammalian tissue homogenates // Analytical Biochemistry. 1989;179(1):8-18. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(89\)90192-9](https://doi.org/10.1016/0003-2697(89)90192-9)
- Samygina VR, Sokolov AV, Bourenkov G et al. Rat ceruloplasmin: new labile copper binding site and zinc/copper mosaic // Metallomics: integrated biometal science. 2017;9(12):1828-1838. <https://doi.org/10.1039/c7mt00157f>
- Kaiserlian D, Savino W, Hassid J, Dardenne M. Studies of the thymus in mice bearing the Lewis lung carcinoma. III. Possible mechanisms of tumor-induced thymic atrophy // Clinical Immunology and Immunopathology. 1984;32(3):316-325. [https://doi.org/10.1016/0090-1229\(84\)90275-7](https://doi.org/10.1016/0090-1229(84)90275-7)
- Mariani E, Mangialasche F, Feliziani FT et al. Effects of zinc supplementation on antioxidant enzyme activities in healthy old subjects // Experimental Gerontology. 2008;43(5):445-451. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2007.10.012>
- Tate DJ, Miceli MV, Newsome DA. Zinc induces catalase expression in cultured fetal human retinal pigment epithelial cells // Current Eye Research. 1997;16(10):1017-1023. <https://doi.org/10.1076/ceyr.16.10.1017.9011>
- Hoang BX, Han B, Shaw DG, Nimni M. Zinc as a possible preventive and therapeutic agent in pancreatic, prostate,

and breast cancer // *European Journal of Cancer Prevention*. 2016;25(5):457–461. <https://doi.org/10.1097/CEJ.0000000000000194>

18. Ribeiro SM, Braga CB, Peria FM. et al. Effects of zinc supplementation on fatigue and quality of life in patients with colorectal cancer // *Einstein*. 2017;15(1):24–28. <https://doi.org/10.1590/S1679-45082017AO3830>

Поступила в редакцию 12.02.2021

*E.A. Zelenskiy¹, K.V. Rutto¹, A.V. Sokolov¹,
E.P. Kisseleva^{1, 2}*

Zinc supplementation prevents the development of thymic involution induced by tumor growth in mice

¹ Federal State Budgetary Scientific Institution “Institute of Experimental Medicine”, Saint-Petersburg, Russia

² North-Western Medical University named after I.I. Mechnikov, Saint-Petersburg, Russia

Aim. The aim of this study was to investigate the influence of zinc supplementation on the development of thymic involution during the growth of transplantable tumor in mice.

Materials and methods. Inbred C3HA mice after subcutaneous syngeneic hepatoma 22a inoculation received zinc sulfate with drinking water. After 3 weeks of tumor growth animals were killed, and evaluated for zinc content in serum blood samples, thymus status and parameters of tumor growth.

Results. At the 21 day of tumor 22a growth weight and cellular content of the thymus were decreased by 3 times and endogenous zinc content in samples of blood serum was decreased by 1,9 times. Oral zinc sulfate supplementation at concentration of 22 mkg/ml in drinking water during 3 weeks, started from the first day after tumor inoculation, increased thymus weight and cellularity as well as serum zinc content. At the same time, it did not influence tumor size and survival rate of mice with hepatoma 22a. As a possible mechanism of zinc action, we studied the influence of zinc supplementation on the activity of two anti-oxidative defense enzymes: Cu,Zn-superoxide dismutase and catalase in the thymus. Zinc supplementation had no influence on these parameters, both remained at a higher level in tumor-bearing mice.

Conclusion. Oral zinc supplementation in hepatoma 22a bearing mice induced retards the development of thymic involution with no influence on the tumor growth per se. The study allows to suggest that oral zinc administration may be considered as a prospective strategy for thymus reconstitution in oncology patients.

Key words: thymus involution, zinc, hepatoma 22a, superoxide dismutase, catalase

