

ISSN 0507-3758

ЖУРНАЛ ВХОДИТ В ПЕРЕЧЕНЬ
РЕЦЕНЗИРУЕМЫХ НАУЧНЫХ ИЗДАНИЙ ВАК

ВОПРОСЫ ОНКОЛОГИИ

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

5-2021

TOM 67 VOL. 67

PROBLEMS
IN ONCOLOGY

VOPROSY ONKOLOGII

ВОПРОСЫ ОНКОЛОГИИ

ТОМ 67 – 2021

5

*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

5

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. Чойнзон (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: 613. Подписано в печать: 15.10.2021 г. Дата выхода в свет: 29.10.2021 г.

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

Рукописи принимаются на сайте журнала: <http://voprosyonkologii.ru>

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: 613. Signed to print: 15.10.2021. Published by: 29.10.2021.

The circulation is 160 copies. Free price. Distribution by subscription. The Catalog Agency «Ural-Press Okrug»'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 official website <http://voprosyonkologii.ru> 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

Янус Г.А., Лайдус Т.А., Мартьянов А.С.,
Алексахина С.Н., Кулигина Е.Ш., Имянитов Е.Н.
Жидкостная биопсия как универсальный метод
ранней ДНК-диагностики онкологических
заболеваний: проблемы, подходы, решения

Перегородиев И.Н., Бохан В.Ю.,
Делекторская В.В., Сафонова А.Б.
Современный взгляд на вопросы классификации
нейроэндокринных новообразований желудка

Раджабова З.А., Котов М.А., Середя О.А.,
Дадашева У.А., Пудина А.В., Чиж Г.А.
Оральные мукозиты как осложнение
противоопухолевого лечения у пациентов с
местно-распространённым раком головы и шеи:
обзор литературы

Банов С.М., Гудоров С.Л., Колядина И.В.,
Смолин А.В., Крюков Е.В., Голанов А.В.,
Ветлова Е.Р.
Рак молочной железы с метастазами в головной
мозг: современные возможности лечения

Новик В.И.
Организационные вопросы цитологического
скрининга рака шейки матки (обзор литературы)

Статистика

Мурашко Р.А., Шматкова А.М.
Динамика онкологической заболеваемости
населения Краснодарского края

Мерабишвили В.М.
Состояние онкологической помощи в России:
злокачественные новообразования кожи (С44).
Распространенность, достоверность учета,
локализационная и гистологическая структура.
Популяционное исследование на уровне
федерального округа

Мерабишвили В.М.
Состояние онкологической помощи в России:
злокачественные новообразования кожи (С44).
Погодичная летальность, медиана выживаемости,
наблюдаемая и относительная выживаемость
с учетом стадии заболевания. Популяционное
исследование на уровне федерального округа

Оригинальные статьи

А. Клинические исследования

Иевлева А.Г., Крамчанинов М.М., Алексахина С.Н.,
Соколова Т.Н., Соловьева Т.И., Косьмин А.В.,
Дмитриев В.Н., Петкау В.В., Моисеенко В.М.,
Имянитов Е.Н.
Предиктивная роль амплификаций генов CCND1,
FGFR1 и мутаций PIK3CA при гормонотерапии
первично-метастатического рака молочной железы

Reviews

593 Yanus G.A., Laidus T.A., Martianov A.S.,
Aleksakhina S.N., Kuligina E.S., Imyanitov E.N.
Liquid biopsy as the universal DNA-based method
for early cancer detection: problems, approaches,
solutions

600 Peregorodiev I.N., Bokhian V.Y., Delektorskaya V.V.,
Safonova A.B.
Modern view on the classification of neuroendocrine
neoplasms of stomach

606 Radzhabova Z.A., Kotov M.A., Sereda O.A.,
Dadasheva U.A., Pudina A.V., Chizh G.A.
Oral mucositis as a complication of antitumor
treatment in patients with local — advanced head
and neck cancer: narrative review

614 Banov S.M., Gutorov S.L., Kolyadina I.V., Smolin A.V.,
Kryukov E.V., Golanov A.V., Vetlova E.R.
Breast cancer with brain metastases: current
treatment options

624 Novik V.I.
Organizational issues in cytological screening
for cervical cancer (literature review)

Statistics

630 Murashko R.A., Shmatkova A.M.
Dynamics of oncological morbidity of the population
of the Krasnodar Territory

635 Merabishvili V.M.
The state of cancer care in Russia: malignant tumors
of the skin (C44). Prevalence, index of accuracy,
localization and histological structure. Population-
based research at the federal district level

640 Merabishvili V.M.
The state of cancer care in Russia: malignant
neoplasms of the skin (C44). Typical mortality,
median survival, observed and relative survival, taking
into account the stage of the disease. Population-
based research at the federal district level

Original research

A. Clinical research

646 Iyevleva A.G., Kramchaninov M.M., Aleksakhina S.N.,
Sokolova T.N., Solovieva T.I., Kosmin A.V.,
Dmitriev V.N., Petkau V.V., Moiseenko V.M.,
Imyanitov E.N.
Predictive role of CCND1, FGFR1 gene amplifications
and PIK3CA mutations for endocrine therapy of
primary metastatic breast cancer

<p>Алексахина С.Н., Иевлева А.Г., Соколенко А.П., Баскина С.В., Венина А.Р., Анисимова Е.И., Ахмедов Н.А., Иванцов А.О., Бельшева Я.В., Чернякова А.П., Имянитов Е.Н. Феномен потери гетерозиготности при CHEK2-ассоциированном раке молочной железы</p>	<p>658 Aleksakhina S.N., Iyevleva A.G., Sokolenko A.P., Baskina S.V., Venina A.R., Anisimova E.I., Akhmedov N.A., Ivantsov A.O., Belisheva Y.V., Cherniakova A.P., Imyanitov E.N. Loss of heterozygosity in CHEK2-associated breast cancer</p>
<p>Мартьянов А.С., Моисеенко Ф.В., Жабина А.С., Соколова Т.Н., Белухин С. А., Лайдус Т.А., Холматов М.М., Тюрин В.И., Волков Н.М., Кулигина Е.Ш., Янус Г.А. Изменения концентрации циркулирующей в плазме опухолевой ДНК в первые часы таргетной терапии позволяют прогнозировать ответ опухоли у пациентов с EGFR-зависимым раком легкого</p>	<p>665 Martianov A.S., Moiseenko F.V., Zhabina A.S., Sokolova T.N., Belukhin S.A., Laidus T.A., Kholmatov M.M., Turin V.I., Volkov N.M., Kuligina E.S., Yanus G.A. Changes in the concentration of EGFR-mutated plasma DNA in the first hours of anti-EGFR therapy allow the prediction of tumor response in patients with EGFR-driven lung cancer</p>
<p>Амелина И.Д., Шевкунов Л.Н., Карачун А.М., Муравцева А.Л., Михнин А.Е., Багненко С.С., Артемьева А.С. Компьютерно-томографическая пневмогастрография в определении клинической т-стадии и ут-стадии рака желудка</p>	<p>675 Amelina I.D., Shevkunov L.N., Karachun A.M., Muravtseva A.L., Mikhnin A.E., Bagnenko S.S., Artemieva A.S. Computed tomography pneumogastrography in determining clinical T-stage and yT-stage of gastric cancer</p>
<p>Кит О.И., Дерижанова И.С., Карнаухов Н.С., Новикова И.А., Трифанов В.С., Каминский Г.В. Особенности экспрессии соматостатиновых рецепторов в карциномах желудка в зависимости от доли нейроэндокринного компонента</p>	<p>683 Kit O.I., Derizhanova I.S., Karnaukhov N.S., Novikova I.A., Trifanov V.S., Kaminsky G.V. Features of expression of somatostatin receptors in gastric carcinomas, depending on the proportion of the neuroendocrine component</p>
<p>Сидорова А.Н., Клименко В.Н., Щербakov А.М., Ткаченко О.Б., Яйкова О.В., Гринкевич М.В., Петрик Ю.В., Ивко О.В., Муравцева А.Л. Эндоскопическая диссекция в подслизистом слое в лечении раннего рака толстой кишки</p>	<p>687 Sidorova A.N., Klimenko V.N., Sherbakov A.M., Tkachenko O.B., laikova O.V., Grinkevich M.V., Petrik Yu.V., Ivko O.V., Muravceva A.L. Endoscopic submucosal dissection for early colorectal cancer</p>
<p>Спирина Л.В., Юрмазов З.А., Усынин Е.А., Кондакова И.В. Экспрессия и содержание VHL в ткани рака почки, связь с клинико-морфологическими параметрами заболевания и транскрипционными и ростовыми факторами</p>	<p>694 Spirina L.V., Yurmazov Z.A., Usynin E.A., Kondakova I.V. Expression and content of VHL in kidney cancer tissue, relationship with clinical and morphological parameters of the disease, expression of transcriptional and growth factors</p>
<p>Хмелевский Е.В., Бычкова Н.М. Боль, как критерий радиочувствительности костных метастазов. Сравнительная эффективность лучевой терапии у больных с костными метастазами различной природы</p>	<p>699 Khmelevsky E.V., Bychkova N.M. Pain as the evaluation criterion for bone metastasis radiosensitivity. Comparative efficacy of radiation therapy in patients with bone metastases of various primary tumors</p>
<p>Клинический случай</p>	<p>Clinical practice</p>
<p>Двораковская И.В., Ильин А.А., Дзадзуа Д.В., Ариэль Б.М., Дворецкий С.Ю., Акопов А.Л. Доброкачественная лейомиома матки с поражением легких</p>	<p>707 Dvorakovskaya I.V., Ilin A.A., Dzadzua D.V., Ariel B.M., Dvorecky S.Yu., Akopov A.L. Benign uterine leiomyoma with lung lesions</p>
<p>Перминова А.А., Ханевич М.Д., Коханенко Н.Ю., Кашинцев А.А., Глебова А.В. Изолированный метастаз лейомиосаркомы матки в поджелудочную железу: клиническое наблюдение</p>	<p>713 Perminova A.A., Khanevich M.D., Kokhanenko N.Yu., Kashintsev A.A., Glebova A.V. Isolated metastasis of uterine leiomyosarcoma to the pancreas: clinical observation</p>
<p>Камаева И.А., Лысенко И.Б., Николаева Н.В., Капуза Е.А., Оськин С.В., Лазутин Ю.Н. Клиническое наблюдение течения первичной медиастинальной В-крупноклеточной лимфомой</p>	<p>718 Kamaeva I.A., Lysenko I.B., Nikolaeva N.V., Kapuza E.A., Lazutin Yu.N., Oskin S.V. Clinical report of a patient with primary mediastinal B-large cell lymphoma</p>
<p>Оригинальные статьи</p>	<p>Original research</p>
<p>Б. Экспериментальные исследования</p>	<p>В. Experimental research</p>
<p>Щербанюк А.В., Моисеев С.И., Бычкова Н.В., Германов Н.А., Голяндин С.Н., Улин В.П., Улин Н.В., Калмыкова Н.В. Клетки миеломной линии rpm18226 и нормальные клетки человека имеют разную чувствительность к наночастицам бисиликата серебра in vitro</p>	<p>724 Sherbanyuk A.V., Moiseev S.I., Bychkova N.V., Germanov N.A., Golyandin S.N., Ulin V.P., Ulin N.V., Kalmykova N.V. Human myeloma RPMI8226 cells and normal cells have different sensitivity to bisilicate silver nanoparticles in vitro</p>

Г.А. Янус^{1,2}, Т.А. Лайдус^{1,2}, А.С. Мартьянов^{1,2}, С.Н. Алексахина^{1,2}, Е.Ш. Кулигина^{1,2},
Е.Н. Имянитов^{1,2,3,4}

Жидкостная биопсия как универсальный метод ранней ДНК-диагностики онкологических заболеваний: проблемы, подходы, решения

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

² ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России

³ ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург

⁴ ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет»

До недавних пор создание универсального теста, который позволил бы по анализу крови, мочи или иной биологической жидкости выявить любое злокачественное новообразование на ранней стадии, представлялось задачей наподобие разработки «вечного двигателя». На этом пути лежат многочисленные препятствия, и прежде всего — сверхмалые концентрации тех потенциальных маркеров, которые клетки подобных опухолей высвобождают в кровь. Между тем, попытки создания такого теста оказались мощным двигателем прогресса методологии высокоточного ДНК-анализа, а за последние несколько лет на этом поле были достигнуты ошеломляющие практические успехи. Такие разработки, как тест CancerSEEK, уже достигли пороговых показателей, допускающих клиническое использование. Быстро развиваются методики, основанные на поиске различий в паттернах метилирования (тест Galleri, cfMeDIP-seq). Ряд исследований основан на весьма неожиданных подходах, например, анализе циркулирующих в плазме опухоль-ассоциированных вирусных или микробных последовательностей ДНК. Помимо попыток создания универсальных тестов, выявляющих любые или многочисленные разновидности неоплазм у лиц старшего возраста, развитие получили методы ранней ДНК-диагностики опухолей конкретных локализаций в прочих категориях высокого онкологического риска. В свете этих достижений перспективы внедрения жидкостной биопсии в число рутинных диспансерных методов обследования уже не выглядят делом далекого будущего.

Ключевые слова: жидкостная биопсия, рак, цоДНК, секвенирование нового поколения, молекулярные маркеры, ранняя диагностика

Введение

Концепция «жидкостной биопсии» подразумевает анализ биомаркеров, отражающих какие-либо существенные черты патологического процесса в биологических жидкостях организма, без изучения непосредственно образцов пораженного органа или ткани. Понимаемая широко, эта концепция никак не является новой или даже специфичной для онкологии: почти любой биохимический анализ крови делается именно с этой целью. Тем не менее, в связи с достижениями молекулярной и клеточной биологии, жидкостная биопсия переживает период бурного развития. Прежде всего, это касается онкологии, хотя отдельные интересные работы затрагивают, к примеру, раннюю диагностику отторжения трансплантата по циркулирующей в крови ДНК донора [1], а в такой области, как неинвазивная пренатальная ДНК-диагностика наследственных болезней, жидкостная биопсия давно достигла статуса рутинного метода исследования [2]. Некоторые приложения жидкостной биопсии также успели доказать свою клиническую значимость и в реальной онкологической практике. В частности, если в контексте метастатического рака толстой кишки (РТК), рака легкого (РЛ) или рака молочной железы (РМЖ) затруднено проведение традиционной биопсии, предиктивные молекулярные маркеры (активирующие мутации в генах *EGFR*, *KRAS*, *HER2*, *ESR1*) могут быть выявлены и в ДНК, свободно циркулирующей в плазме крови больного (цоДНК) [3, 4]. Более того, жидкостная биопсия зачастую оказывается более чувствительна к рецидивам болезни, чем традиционные методы наблюдения. Она помогает в режиме «реального времени» следить за эффективностью терапии, позволяя обнаружить экспансию резистентного опухолевого клона или исчезновение мутаций, обеспечивающих

резистентность к таргетной терапии [5]. Вероятно, количественное определение циркулирующей опухолевой ДНК (цоДНК) и/или циркулирующих опухолевых клеток (ЦОК) должно в ближайшем будущем стать необходимым компонентом стадирования, наряду с традиционными T, N и M [Yang и соавт., 2018]. В самом деле, выявление цоДНК/ЦОК — независимый от прочих параметров негативный прогностический фактор, причем появляются первые свидетельства эффективности интенсификации терапии у больных, демонстрирующих циркуляцию опухолевых маркеров [6, 7]. И в то же время, несмотря на очевидные и значительные достижения, наиболее амбициозная цель жидкостной биопсии — превращение в средство универсального онкологического скрининга для раннего выявления новообразований — до недавнего времени казалась недостижимой.

Жидкостная биопсия как биологическая проблема

Спектр категорий биомаркеров, которые предлагается использовать в рамках жидкостной биопсии, широк и разнороден: цоДНК; циркулирующие микроРНК; циркулирующие мРНК; ЦОК; внеклеточные везикулы; тромбоциты, поглощающие циркулирующие в сосудистом русле опухолевые транскрипты; различные метаболиты и т. д. В качестве биологических жидкостей может выступать как кровь, так и моча, слюна, кал, спинномозговая жидкость, водянистая влага глаза и т. д. [8]. Все же, поиск цоДНК в плазме крови используется значительно чаще иных модальностей жидкостной биопсии.

ЦоДНК необходимо выявить на фоне фрагментов ДНК, попадающих в кровяное русло при разрушении неизмененных, нормальных клеточных популяций организма, главным образом, гемопоэтического происхождения. Рост крупной, особенно метастатической опухоли, как правило, не обходится без гибели части опухолевых клеток и сопряжен с высвобождением в кровяное русло значительных количеств фрагментированной опухолевой ДНК. В то же время, экстраполяция существующих оценок зависимости концентрации цоДНК от объема опухоли хорошо очерчивает сложность ранней диагностики при помощи этой методики. Согласно таким подсчетам, опухоль объемом в $0,5 \text{ см}^3$ обеспечит концентрацию цоДНК в $0,005\%$ от всей циркулирующей ДНК, а объем в 1 мм^3 будет соответствовать всего один опухолевый геном на всю плазму крови организма. В большинстве случаев, стандартный забор крови в 10 мл не будет содержать ни одного полного генома опухоли, если ее объем состав-

ляет менее 1 см^3 [9]. Здесь следует отметить, что к подобным пессимистическим расчетам следует относиться с осторожностью. Для концентрации цоДНК в крови характерна высокая степень вариабельности, при этом надежно установленных закономерностей, связи концентрации цоДНК с физиологическими процессами, циркадианными ритмами и т.д. выявлено не было [10]. Известно, что период полужизни цоДНК измеряется минутами или часами, однако насколько изменчива скорость элиминации цоДНК, и какой вклад эта изменчивость вносит в количественную динамику цоДНК у больных, неясно [11]. Таким образом, подсчеты Diamandis и Fiala [9] носят весьма ориентировочный характер. Кроме того, опухоли различной локализации разительно не схожи друг с другом по концентрации выделяемой ими цоДНК: к примеру, мелкоклеточный рак легкого даже при малом размере первичного очага выделяет огромные количества цоДНК, а опухоли мозга и светлоклеточный рак почки — малые [12]. Более того, даже в пределах одной и той же локализации, различные молекулярные подтипы новообразований отличаются разной зависимостью выделения циркулирующих нуклеиновых кислот в кровь от объема опухоли [13]. Возможно, если и не придется говорить о поистине универсальном раннем скрининге, жидкостная биопсия окажется полезна в определенных частных случаях групп высокого риска опухолей конкретных локализаций и подтипов. Наконец, насколько необходимо выявлять медленно растущие новообразования сверхмалых размеров, почти не выделяющие в кровь содержимое опухолевых клеток — спорный вопрос, ведь многие подобные неоплазмы в течение человеческой жизни остаются индолентными [14]. В то же время, основываясь на статистических данных регистра SEER (США), в недавней эпидемиологической работе было показано, что даже если бы все опухоли, выявленные на IV стадии, диагностировали хотя бы на III, уже и это снизило бы смертность от онкологических заболеваний на 15% [15].

Малая представленность циркулирующих опухолевых биомаркеров в биологических жидкостях и сложность их экстракции диктует необходимость применения не только высокочувствительных, но и широкоформатных, а в идеале и мультимодальных тестовых платформ, которые смогут выявить следовые количества различных категорий и разновидностей маркеров в одном и том же образце. Этот аспект более значим в связи с тем, что генетическая композиция детектируемой опухоли заранее неизвестна — есть лишь перечень aberrаций, в большей или в меньшей степени характерных для той или иной локализации — их выявление сможет

указать и магистральное направление дальнейшего диагностического поиска в «положительных» случаях. Поэтому для универсальных тестов нельзя опираться на экономически необременительные высокочувствительные методики, хорошо себя зарекомендовавшие для решения таких прикладных задач как оценка предиктивно-значимых маркеров в цДНК, но нацеленных на конкретные соматические мутации (например, «цифровая капельная» ПЦР); для первичного мониторинга, как правило, используются особые сверхточные разновидности высокопроизводительного секвенирования.

Жидкостная биопсия в качестве универсального онкологического скрининга

Одним из ранних примеров подобных широкоформатных тестов являлась методика CAPP-seq, основанная на «глубоком» таргетном секвенировании регионов генома, часто затрагиваемых мутациями, оптимизированной пробоподготовке и нестандартной биоинформатической обработке результатов. За счет этого удалось добиться выявления 50% случаев РЛ I стадии с 96% специфичностью и 0,02% порогом чувствительности в отношении отдельных вариантов [16]. Для борьбы с артефактами таргетного/экзомного секвенирования, возникающими на этапе обогащения секвенируемого образца «целевыми» регионами генома, был предложен ряд подходов. В частности, это т. н. «дуплексное секвенирование» — независимое секвенирование двух антипараллельных нитей ДНК и учет лишь тех генетических вариантов, которые обнаруживаются в обеих нитях, а также «молекулярное штрих-кодирование» — мечение молекул ДНК, выделенных из образца плазмы, и гибридизовавшихся с молекулярными зондами к целевым областям генома, уникальными идентификаторами перед дальнейшим обогащением [17, 18]. Внедрение одной из стратегий «штрих-кодирования» и особого алгоритма обработки данных для элиминации частых артефактов, неустранимых даже «штрих-кодированием» (integrated digital error suppression, iDES), позволило усовершенствовать аналитические показатели CAPP-seq примерно в десять раз [19].

Таргетное секвенирование панелью из 58 «раковых» генов (TEC-seq), высокая точность которого обеспечивалась методологией, крайне сходной в общих чертах с iDES-CAPP-seq, выявляло опухоли легкого, толстой кишки, молочной железы и яичников I-II стадии с чувствительностью 59–71% [20]. При тестировании 44 здоровых доноров ложноположительные результаты выявлены не были. Повторный анализ получен-

ных данных при помощи методики Newman и соавт. [19], iDES, привел к выявлению ряда артефактов. Существенной новизной TEC-seq являлись усилия, направленные на исключение неправильной интерпретации редких наследственных генетических вариантов и мозаичных вариантов в циркулирующей ДНК, происходящей из клеток крови. Действительно, помимо технических артефактов, при проведении секвенирования цДНК могут встретиться мутации ДНК гематогенного происхождения, обязанные своим возникновением клональному гемопоэзу, феномену, особенно частому у пожилых пациентов [21].

Одной из вершин достижений в области сверхчувствительной жидкостной биопсии является мультимодальный тест CancerSEEK, направленный на раннюю диагностику опухолей 8 различных локализаций. В рамках этого теста предполагается таргетное секвенирование небольшой тщательно отобранной ампликонной панели размером чуть менее 2000 нуклеотидов, затрагивающей наиболее часто мутирующие регионы 16 «раковых» генов. Используется «штрих-кодирование», особая биоинформатическая обработка и проверка негематогенного/ненаследственного происхождения мутаций в сомнительных случаях. В дополнение к ДНК-анализу оценивается уровень восьми белковых маркеров, как широко распространенных (CA-125, РЭА), так и не столь часто используемых (OPN, TIMP-1). Интегральный анализ результатов теста включает сложную систему придания различного «веса» разным маркерам. Анализ крупной когорты пациентов I–III стадии (n=1005) показал, что при специфичности, превышающей 99%, чувствительность CancerSEEK варьировала от 33% (РМЖ) до 98% (рак яичников, РЯ). При рассмотрении подгруппы опухолей I стадии (n=199) CancerSEEK продемонстрировал очень высокую чувствительность в отношении ранней детекции рака печени (100%) и низкую — в отношении рака пищевода (20%) [22].

Недавно было завершено проспективное исследование DETECT-A, включавшее почти 10 000 женщин в возрасте 65–75 лет. Помимо стандартного плана рутинных диспансерных обследований, участникам испытания проводился тест CancerSEEK — 4,9% продемонстрировали позитивный результат. Положительные результаты подтверждались повторным анализом, в ходе которого секвенировали также лейкоциты для исключения клонального гемопоэза — было подтверждено 1,35% случаев. 95% из «дважды-позитивных» участников (n=127) проходили ПЭТ-КТ или иные лучевые методы обследования, выявившие подозрительную рентгенологическую картину в 64 (50%) случаях. Наконец,

в 26 случаях был подтвержден диагноз онкологического заболевания (в том числе, 9 РЛ, 6 РЯ и 2 РТК), в дополнение к 24 случаям, выявленным у участников в рамках рутинных плановых диагностических процедур. Еще 46 случаев были пропущены двумя скрининговыми алгоритмами и выявлены благодаря появившимся симптомам. Авторы исследования резонно отмечают, что, хотя в большинстве случаев CancerSEEK корректно указал на происхождение опухоли, без применения ПЭТ-КТ не только резко снижалась специфичность диагностического алгоритма, но неприемлемо высоким оставался и риск неверного диагноза конкретной локализации [23]. В целом, результаты исследования представляются обнадеживающими, тест получил частичное одобрение FDA в отношении РЯ и рака поджелудочной железы (РПЖ), ведутся новые клинические испытания.

Биоинформационная обработка результатов CancerSEEK во время испытания DETECT-A велась менее совершенными методами, чем впоследствии, в работе Cohen и соавт. [22]. Более того, в настоящее время в дизайн CancerSEEK предполагается интегрировать остроумную методику детекции аномалий копийности (copy number variations — CNV), основанную на амплификации одной парой низкоспецифичных праймеров сотен тысяч похожих, но неидентичных коротких последовательностей, равномерно рассыпанных по всему геному. Их можно секвенировать вместе с остальной ДНК-частью панели CancerSEEK и частично картировать — биоинформационная обработка результатов позволяет выявить CNV. Это дополнение почти не снижает специфичности (99%) и увеличивает чувствительность до 38%, в случае РМЖ — 97%; особенно выражено повышение чувствительности в когорте опухолей ранних стадий. Себестоимость такого дополненного анализом CNV теста повышается приблизительно на сотню долларов [24]. Клиническая апробация модифицированного CancerSEEK пока не завершена.

Неожиданно высокими оказались также аналитические показатели тестов, основанных на определении опухолеспецифических паттернов метилирования ДНК. Метилирование цитозинов, локализованных в регуляторных промоторных областях генов — один из основных способов разметки, функционирующих и «молчащих» кодирующих последовательностей генома. Паттерн метилирования многих участков генома высокоспецифичен для различных разновидностей клеток организма, а также для различных «режимов» их существования. Наиболее близким к практическому применению оказался тест Galleri, созданный командой ученых в сотрудничестве с компанией GRAIL (<https://grail.com>).

Он включает в себя бисульфитную обработку ДНК плазмы — при этом осуществляется конверсия метилцитозинов в тимин, с последующим высокопроизводительным секвенированием > 100 000 локусов генома и биоинформационной обработкой результатов для определения наличия онкологического заболевания и его локализации. В исследование вошло 2482 пациентов, у которых был диагностирован рак одной из 50 различных локализаций, а также 4207 онкологически здоровых доноров. При анализе валидационной подгруппы тест Galleri продемонстрировал чувствительность от 18% для опухолей I стадии (n=185) до 81% для опухолей III стадии (n=134). Специфичность теста составила 99,3%. Следует отметить, что на ранних стадиях чувствительность резко различалась между локализациями: очень низкая для РМЖ или рака предстательной железы, она составила 63% для опухолей поджелудочной железы — фатального заболевания, которое почти никогда не удается выявить рано в рамках рутинных диспансерных обследований [25]. Ведутся работы по доработке дизайна теста, запланирован целый ряд клинических испытаний по его апробации. Ряд специалистов выражает скепсис в отношении перспектив практического внедрения теста Galleri, в связи с низкой чувствительностью/положительной предсказательной ценностью метода в отношении детекции опухолей I–II стадии [26]. Тем не менее, эпидемиологические модели, экстраполирующие опубликованные результаты клинических исследований, предсказывают, что внедрение ежегодного прохождения теста в его нынешнем виде в контексте рутинного онкологического скрининга (США) позволит снизить онкологическую смертность на 19–26% [27].

Разработанный независимо от Galleri тест PanSeer обходится меньшим числом оцениваемых локусов — приблизительно 10 000 сайтов метилирования, собранных в 477 локусах генома. Тест оценивался при помощи образцов плазмы из уникального биобанка, собранного в ходе крупного многолетнего популяционного исследования населения г. Taizhou. Тест разрабатывался для детекции наиболее частых новообразований в данном регионе (рак желудка, рак пищевода, рак печени, РЛ, РТК). Аналитические показатели теста оказались субоптимальны (специфичность 95–96%), однако примечательно, что высокая чувствительность — 84–96% сохранялась даже при анализе образцов плазмы, взятых за 4 года до клинического диагноза рака [28].

Бисульфитная обработка ДНК, используемая Galleri и PanSeer, приводит к деградации ДНК и, как следствие, снижению чувствительности. Это препятствие можно обойти, если для отбора метилированных участков генома использовать

иммунопреципитацию антителами к метилированной ДНК. Подобный подход уже нашел практическое применение в области пренатальной диагностики хромосомных болезней [29]. Метод cfMeDIP-seq, использующий иммунопреципитацию целевых областей генома, по-разному метилированных в опухолях и нормальных тканях, продемонстрировал высочайшие аналитические показатели при выявлении опухолей почки и ЦНС, выделяющих в системный кровоток чрезвычайно малые количества ДНК [30]. Ценной представляется и возможность дискриминации между различными разновидностями опухолей ЦНС по результатам cfMeDIP-seq [30]. Другой перспективный, но недостаточно разработанный подход — использование различий в размерах и представленности фрагментов цоДНК и фрагментов ДНК, циркулирующих в плазме у здоровых лиц. В самом деле, в плазме могут персистировать молекулы ДНК, ассоциированные с гистоновыми белками и факторами транскрипции — эти белковые молекулы защищают ДНК от разрезания нуклеазами. В то же время, взаимодействия таких белков с ДНК специфичны для различных тканей, а также опухолевых клеток — фракцию цоДНК отличает от нормальной ДНК, циркулирующей в плазме, меньший размер и обогащение фрагментами, в последовательности которых присутствуют сайты связывания с определенными транскрипционными факторами. Есть ряд работ, в которых выявление цоДНК базируется на обнаружении подобных различий, аналитические показатели подобных методик высоки, однако для целей ранней диагностики рака они остаются малоприменимыми [31].

Такие тесты, как CancerSEEK и Galleri демонстрируют очень высокую специфичность — это одно из условий, принципиально позволяющих использовать их для массового скрининга. Все же, не во всех группах населения их применение принесет сопоставимую пользу: среди людей среднего и молодого возраста онкологические заболевания сравнительно редки и доля ложнопозитивных ошибочных результатов вырастает до неприемлемо высокого уровня даже с учетом высокой специфичности теста. Однако, пожилой возраст — неявное ограничение «универсальности» подобных методов диагностики — самый значимый, но не единственный сильный фактор риска онкологических заболеваний.

Жидкостная биопсия для «таргетной» ранней диагностики в группах высокого риска

Одной из основных категорий лиц повышенного онкологического риска являются пациенты, страдающие наследственными опухолевыми

синдромами. По определению, для них характерен крайне высокий риск развития новообразований одной или нескольких локализаций, вместе с тем, существующие методы ранней диагностики зачастую оставляют желать лучшего. Можно указать на работы, посвященные жидкостной биопсии водянистой влаги глаза при подозрении на ретинобластому: гистологическая верификация в такой ситуации невозможна [32]. Разработка или клиническая валидация подобных тестов, основанных на жидкостной биопсии, часто наталкивается на препятствия, связанные с редкостью синдромов, в которых раннее выявление играло бы особенно важную роль, например, выявление РПЖ у больных синдромом Пейтца–Йегерса, наследственным панкреатитом и т. д. Нужно учитывать, что наследственные разновидности раков могут иметь биологические особенности, отличающие их от спорадических опухолей тех же локализаций: к примеру, наследственный РПЖ нередко лишен мутаций в гене *KRAS* [33]. Учет подобных особенностей помогает оптимизировать методики жидкостной биопсии: например, в случае синдрома Линча предлагается детектировать в цоДНК микросателлитную нестабильность [34].

Другая подобная категория — лица с хроническими воспалительными заболеваниями, предрасполагающими к раку, или люди, постоянно сталкивающиеся с воздействием канцерогенов (например, заядлые курильщики). В частности, низкодозная КТ — единственный метод скрининга РЛ у курильщиков и/или больных хроническими обструктивными заболеваниями легких. Существует много работ, в которых оценивается способность тестов, основанных на анализе цоДНК, профиля ее метилирования, или же паттерна экспрессии микроРНК, расценить потенциал злокачественности выявляемых на КТ подозрительных очагов [35]. В целом, они помогают снизить число ненужных биопсий, хотя полноценного внедрения в клинику эти тесты не достигли. Другой пример — жидкостная биопсия, как вспомогательный метод ранней диагностики рака у пациентов, страдающих воспалительными заболеваниями кишки [36].

Наконец, очень перспективной представляется жидкостная биопсия как метод раннего выявления вирус-ассоциированных опухолей. Целый ряд исследований, включая недавние клинические испытания, говорит о возможности раннего выявления опухолей, ассоциированных с вирусом Эпштейн-Барр, ВПЧ и т. д. [37]. Интересно, что не только персистенция вирусной ДНК в крови, но и особенности метилирования и фрагментации вирусных последовательностей отличают вирусную цоДНК от транзитной виремии [38]. Недавнее систематическое

исследование опухолевого микробиома показало, что циркуляция вирусных или бактериальных последовательностей оказалась неожиданно широко распространена при различных онкологических заболеваниях, включая РЛ или рак предстательной железы, и способна помочь выявить эти злокачественные новообразования [39].

Заключение

Хотя еще несколько лет назад ранняя детекция новообразований при помощи жидкостной биопсии казалась несбыточной, ситуация быстро меняется. Некоторые тесты, такие как CancerSEEK, достигли показателей, которые позволяют рассматривать их внедрение в реальную практику. За рамками данной работы остаются многие достижения в области использования маркеров, не основанных на ДНК-анализе. Один из многочисленных примеров неожиданных решений — работы, в которых осуществлялась неинвазивная детекция ЦОК фотоакустическим методом. За счет просвечивания поверхностного капилляра кожи лазером и применения УЗИ удастся произвольно менять скорость кровотока и даже манипулировать отдельными форменными элементами, превращая собственный кровеносный сосуд пациента в своего рода проточный цитометр [40]. Эта остроумная идея позволяет без применения афереза обойти важнейшее ограничение — скудость циркулирующих маркеров в объеме крови, который можно взять для анализа. Бурный методологический прогресс и возможность сочетания разных модальностей диагностики позволяет надеяться на решение одной из основополагающих проблем практической онкологии.

Финансирование

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 18-75-10070

ЛИТЕРАТУРА

- Garg N, Hidalgo LG, Aziz F et al. Use of Donor-Derived Cell-Free DNA for Assessment of Allograft Injury in Kidney Transplant Recipients During the Time of the Coronavirus Disease 2019 Pandemic // *Transplant Proc.* 2020;52:2592–2595.
- Fan HC, Blumenfeld YJ, Chitkara U et al. Noninvasive diagnosis of fetal aneuploidy by shotgun sequencing DNA from maternal blood // *Proc Natl Acad Sci USA.* 2008;105:16266–16271.
- van 't Erve I, Greuter MJE, Bolhuis K et al. Diagnostic Strategies toward Clinical Implementation of Liquid Biopsy RAS/BRAF Circulating Tumor DNA Analyses in Patients with Metastatic Colorectal Cancer // *J Mol Diagn.* 2020;22:1430–1437.
- Turner NC, Kingston B, Kilburn LS et al. Circulating tumour DNA analysis to direct therapy in advanced breast cancer (plasmaMATCH): a multicentre, multicohort, phase 2a, platform trial // *Lancet Oncol.* 2020;21:1296–1308.
- Moati E, Blons H, Taly V et al. Plasma clearance of RAS mutation under therapeutic pressure is a rare event in metastatic colorectal cancer // *Int J Cancer.* 2020;147:1185–1189.
- Hall CS, Karhade MG, Bowman Bauldry JB et al. Prognostic Value of Circulating Tumor Cells Identified Before Surgical Resection in Nonmetastatic Breast Cancer Patients // *J Am Coll Surg.* 2016;223:20–29.
- Naidoo M, Gibbs P, Tie J. ctDNA and Adjuvant Therapy for Colorectal Cancer: Time to Re-Invent Our Treatment Paradigm // *Cancers (Basel).* 2021;13:346.
- Alix-Panabières C, Pantel K. Liquid Biopsy: From Discovery to Clinical Application // *Cancer Discov.* 2021;11:858–873.
- Diamandis EP, Fiala C. Can circulating tumor DNA be used for direct and early stage cancer detection? // *F1000Res.* 2017;6:2129.
- Ungerer V, Bronkhorst AJ, Holdenrieder S. Preanalytical variables that affect the outcome of cell-free DNA measurements // *Crit Rev Clin Lab Sci.* 2020;57:484–507.
- Yao W, Mei C, Nan X, Hui L. Evaluation and comparison of in vitro degradation kinetics of DNA in serum, urine and saliva: A qualitative study // *Gene.* 2016;590:142–148.
- Zill OA, Banks KC, Fairclough SR et al. The Landscape of Actionable Genomic Alterations in Cell-Free Circulating Tumor DNA from 21,807 Advanced Cancer Patients // *Clin Cancer Res.* 2018;24:3528–3538.
- Lam VK, Zhang J, Wu CC et al. Genotype-Specific Differences in Circulating Tumor DNA Levels in Advanced NSCLC // *J Thorac Oncol.* 2021;16:601–609.
- Ho AS, Daskivich TJ, Sacks WL, Zumsteg ZS. Parallels Between Low-Risk Prostate Cancer and Thyroid Cancer: A Review // *JAMA Oncol.* 2019;5:556–564.
- Clarke CA, Hubbell E, Kurian AW et al. Projected Reductions in Absolute Cancer-Related Deaths from Diagnosing Cancers Before Metastasis, 2006–2015 // *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2020;29:895–902.
- Newman AM, Bratman SV, To J et al. An ultrasensitive method for quantitating circulating tumor DNA with broad patient coverage // *Nat Med.* 2014;20:548–554.
- Schmitt MW, Kennedy SR, Salk JJ et al. Detection of ultra-rare mutations by next-generation sequencing // *Proc Natl Acad Sci USA.* 2012;109:14508–14513.
- Shiroguchi K, Jia TZ, Sims PA, Xie XS. Digital RNA sequencing minimizes sequence-dependent bias and amplification noise with optimized single-molecule barcodes // *Proc Natl Acad Sci USA.* 2012;109:1347–1352.
- Newman AM, Lovejoy AF, Klass DM et al. Integrated digital error suppression for improved detection of circulating tumor DNA // *Nat Biotechnol.* 2016;34:547–555.
- Phallen J, Sausen M, Adleff V et al. Direct detection of early-stage cancers using circulating tumor DNA // *Sci Transl Med.* 2017;9:eaan2415.
- Razavi P, Li BT, Brown DN et al. High-intensity sequencing reveals the sources of plasma circulating cell-free DNA variants // *Nat Med.* 2019;25:1928–1937.
- Cohen JD, Li L, Wang Y et al. Detection and localization of surgically resectable cancers with a multi-analyte blood test // *Science.* 2018;359:926–930.
- Lennon AM, Buchanan AH, Kinde I et al. Feasibility of blood testing combined with PET-CT to screen for cancer and guide intervention // *Science.* 2020;369:eabb9601.

24. Douville C, Cohen JD, Ptak J et al. Assessing aneuploidy with repetitive element sequencing // *Proc Natl Acad Sci USA*. 2020;117:4858–4863.
25. Liu X, Lang J, Li S et al. Fragment Enrichment of Circulating Tumor DNA With Low-Frequency Mutations // *Front Genet*. 2020;11:147.
26. Taylor WC. Comment on 'Sensitive and specific multi-cancer detection and localization using methylation signatures in cell-free DNA' by MC. Liu et al. // *Ann Oncol*. 2020;31:1266–1267.
27. Hubbell E, Clarke CA, Aravanis AM, Berg CD. Modeled Reductions in Late-stage Cancer with a Multi-Cancer Early Detection Test // *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2021;30:460–468.
28. Chen X, Gole J, Gore A et al. Non-invasive early detection of cancer four years before conventional diagnosis using a blood test // *Nat Commun*. 2020;11:3475.
29. Papageorgiou EA, Karagrigroriou A, Tsaliki E et al. Fetal-specific DNA methylation ratio permits noninvasive prenatal diagnosis of trisomy 21 // *Nat Med*. 2011;17:510–513.
30. Nassiri F, Chakravarthy A, Feng S et al. Detection and discrimination of intracranial tumors using plasma cell-free DNA methylomes // *Nat Med*. 2020;26:1044–1047.
31. Moulriere F, Chandrananda D, Piskorz AM et al. Enhanced detection of circulating tumor DNA by fragment size analysis // *Sci Transl Med*. 2018;10:eaat4921.
32. Xu L, Shen L, Polski A et al. Simultaneous identification of clinically relevant *RB1* mutations and copy number alterations in aqueous humor of retinoblastoma eyes // *Ophthalmic Genet*. 2020;41:526–532.
33. Earl J, Barreto E, Castillo ME et al. Somatic Mutation Profiling in the Liquid Biopsy and Clinical Analysis of Hereditary and Familial Pancreatic Cancer Cases Reveals KRAS Negativity and a Longer Overall Survival // *Cancers (Basel)*. 2021;13:1612.
34. Gilson P, Merlin JL, Harlé A. Detection of Microsatellite Instability: State of the Art and Future Applications in Circulating Tumour DNA (ctDNA) // *Cancers (Basel)*. 2021;13:1491.
35. Liang W, Liu D, Li M et al. Evaluating the diagnostic accuracy of a ctDNA methylation classifier for incidental lung nodules: protocol for a prospective, observational, and multicenter clinical trial of 10,560 cases // *Transl Lung Cancer Res*. 2020;9:2016–2026.
36. Kinugasa H, Hiraoka S, Nouse K et al. Liquid biopsy for patients with IBD-associated neoplasia // *BMC Cancer*. 2020;20:1188.
37. Chan KCA, Woo JKS, King A et al. Analysis of Plasma Epstein-Barr Virus DNA to Screen for Nasopharyngeal Cancer // *N Engl J Med*. 2017;377:513–522.
38. Lam WKJ, Jiang P, Chan KCA et al. Methylation analysis of plasma DNA informs etiologies of Epstein-Barr virus-associated diseases // *Nat Commun*. 2019;10:3256.
39. Poore GD, Kopylova E, Zhu Q et al. Microbiome analyses of blood and tissues suggest cancer diagnostic approach // *Nature*. 2020;579:567–574.
40. Galanzha EI, Menyayev YA, Yadem AC et al. In vivo liquid biopsy using Cytophone platform for photoacoustic detection of circulating tumor cells in patients with melanoma // *Sci Transl Med*. 2019;11:eaat5857.

Поступила в редакцию 30.04.2021 г.

G.A. Yanus^{1,2}, *T.A. Laidus*^{1,2}, *A.S. Martianov*^{1,2},
S.N. Aleksakhina^{1,2}, *E.S. Kuligina*^{1,2}, *E.N. Imyanitov*^{1,2,3,4}

Liquid biopsy as the universal DNA-based method for early cancer detection: problems, approaches, solutions

¹ N.N. Petrov Institute of Oncology, St. Petersburg, Russia

² St. Petersburg Pediatric Medical University, Russia

³ I.I. Mechnikov North-Western Medical University, St. Petersburg, Russia

⁴ St. Petersburg State University, Russia

Until recently, the establishment of a universal test, allowing the early cancer detection by the analysis of blood, urine or other biological fluids seemed as realistic as the development of «perpetuum mobile». There are numerous obstacles on this road: above all being the ultra-low concentrations of biomarkers shed by such tumors in the bloodstream. Meanwhile, in attempts to create such a test the methodology of ultrasensitive DNA analysis has emerged, and stunning practical successes have been achieved in this field over the past few years. The performance of the CancerSEEK test has already reached threshold for clinical utility of its practical implementation. Techniques based on the analysis of methylation patterns (Galleri test, cfMeDIP-seq) are also rapidly developing. A number of promising studies are based on quite unconventional approaches, for example, the analysis of tumor-associated viral or microbial DNA sequences circulating in plasma. In addition to universal tests aiming at the detection of any or many types of neoplasms in older people, the methods for early DNA-based detection of certain cancer types in selected high-risk groups are being developed. These advances finally make the prospects for introducing liquid biopsy into routine cancer screening look like a matter of near future.

Key words: liquid biopsy, cancer, ctDNA, NGS, molecular markers, early diagnostics

И.Н. Перегородиев, В.Ю. Бохян, В.В. Делекторская, А.Б. Сафонова

Современный взгляд на вопросы классификации нейроэндокринных новообразований желудка

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

Нейроэндокринные новообразования (НЭН) желудка включают в себя гетерогенную группу неоплазий, характеризующихся разными патогенетическими механизмами, метастатическим потенциалом и прогнозом. Встречаемость НЭН желудка за последние несколько десятилетий увеличилась в 15 раз. Необходимо чётко различать высокодифференцированные нейроэндокринные новообразования (НЭО) желудка и нейроэндокринный рак (НЭР) желудка, а также смешанные нейроэндокринные-ненейроэндокринные неоплазии.

На сегодняшний день существуют три классификации, активно применяемые в клинической практике: клинико-морфологическая классификация, классификация ВОЗ, классификация TNM. Необходимо отметить, что за прошедшие 5 лет данные классификации претерпели важные изменения. В клинико-морфологической классификации, в дополнение к существующим трем типам, рядом авторов предложено добавить 4-й тип (развивающийся на фоне неадекватного функционирования протонной помпы) и 5-й тип (развивающийся у пациентов, длительно получающих терапию ингибиторами протонной помпы). В классификации ВОЗ 2019 г. важным изменением является принятие того, что высокодифференцированные НЭО могут иметь высокую степень злокачественности (Grade) — Grade III. Основные изменения в 8-й редакции классификации TNM, (2017 г.) коснулись дифференцировки символа M.

Таким образом, на сегодняшний день классификации НЭН желудка позволяют достаточно точно характеризовать степень распространённости опухолевого процесса, патогенез, лежащий в основе их развития, характер течения заболевания и его прогноз. Они ложатся в основу выбора адекватной лечебной тактики, дающей возможность добиться наиболее благоприятного результата.

Ключевые слова: обзор, нейроэндокринные новообразования желудка, карциноид, нейроэндокринный рак, желудок

Введение

Нейроэндокринные новообразования (НЭН) желудка представляют собой гетерогенную группу неоплазий, характеризующихся разными патогенетическими механизмами, а также различным метастатическим потенциалом и прогнозом. Встречаемость НЭН желудка увеличилась в 15 раз за последние несколько десятилетий и продолжает расти, на сегодняшний день это определение часто используется в рутинной врачебной практике [1]. Необходимо чётко различать высокодифференцированные нейроэндокринные новообразования (НЭО) желудка и нейроэндокринный рак (НЭР) желудка, а также смешанные нейроэндокринные-ненейроэндокринные неоплазии. Две последние группы опухолей, хотя и имеют нейроэндокринный фенотип, отличаются по молекулярным особенностям, патогенезу, морфологической картине, ответу на лекарственное лечение и прогнозу [2, 3].

На сегодняшний день существуют три классификации, активно применяемые в клинической практике. Основной их задачей является отражения клинико-морфологических особенностей, распространённости опухолевого процесса, а также прогноза заболевания. Необходимо отметить, что за прошедшие 5 лет данные классификации претерпели важные изменения [4].

Клинико-морфологическая классификация

В 1993 г. Rindi, опираясь в том числе на работы Carney [5], выделил 3 клинико-морфологических типа НЭО желудка [6]. Первый и второй тип относятся к опухолям, возникающим из энтерохромафинноподобных (ECL) клеток в условиях длительной гипергастринемии и, как следствие, гиперплазии ECL-клеток [6–8]. Первый тип опухолей развивается на фоне хронического атрофического гастрита, который является следствием аутоиммунного метапластического атрофического гастрита (АМАГ) [6–11]. Второй тип диагностируется у пациентов в рамках синдрома множественной эндокринной неоплазии (МЭН) I типа или синдрома Золлингера–Эллисона [6–8, 12]. Опухоли III типа в отличие от двух преды-

душих являются спорадическими и не ассоциированы с хронической гипергастринемией [6–8]. Относятся к наиболее агрессивным среди трёх типов опухолей, 5-летняя выживаемость пациентов с данным заболеванием не превышает 50%, в то время как для первого типа опухолей она составляет более 95% и 60–90% — для опухолей второго типа [6, 13–17]. Спустя почти тридцать лет после того, как данная классификация была предложена, она активно используется и упоминается во всех ведущих мировых клинических рекомендациях [18, 19].

На сегодняшний день приходит чёткое понимание того, что самой по себе гипергастринемии недостаточно для развития гастрин-зависимых НЭО желудка. В частности, в НЭО первого типа стимуляция ECL-клеток гастрином происходит совместно с факторами роста, такими как трансформирующий фактор роста альфа и основной фактор роста фибробластов. А для НЭО второго типа повышенная чувствительность ECL-клеток к стимуляции гастрином, возможно, связана с нарушениями в гене *MEN 1* [20].

В дополнение к НЭО первого и второго типа, были описаны редкие ECL-клеточные НЭО, ассоциированные с гипергастринемией, ахлоргидрией, гиперплазией париетальных клеток, но при этом без гастриномы и синдрома МЭН первого типа [21, 22]. Данная категория НЭО желудка была охарактеризована как НЭО желудка четвёртого типа [20]. В основе патогенеза данного типа НЭО лежит, по всей видимости, вторичная гипергастринемия, развивающаяся вследствие некорректной секреции кислоты париетальными клетками, которая происходит в результате неадекватного функционирования протонной помпы. Последнее, в свою очередь, по всей видимости определяется инактивирующей мутацией *ATP4A*, кодирующей альфа-субъединицу протонной помпы желудка [22, 23].

Впоследствии Trinh в своей статье выделил ещё один тип ECL-клеточных НЭО желудка — 5-й тип [24], развивающийся у пациентов длительно получающих терапию ингибиторами протонной помпы (ИПП), а также в условиях отсутствия атрофии слизистой оболочки дна и тела желудка и невыраженной гипергастринемии. Ввиду широкого распространения ИПП данный тип НЭО желудка может нередко встречаться в клинической практике и иметь важное клиническое значение. Как показывает автор, данный тип опухолей имеет хороший прогноз (за период наблюдения в течение 49 мес не было зарегистрировано ни одной смерти и случаев прогрессирования в виде отдалённого метастазирования) и не требует агрессивного хирургического подхода в лечении. Опухоли 5-го типа ассоциированы с нормальной или слегка гипертрофированной пограничной слизистой оболочкой дна и тела желудка, поэтому их легко спутать с НЭО 3-го типа, от которых они должны быть чётко дифференцированы ввиду принципиально разных подходов в лечении.

В свете представленной информации спектр НЭО желудка на сегодняшний день, вероятно, шире, чем предложенный Rindi в 1993 г., когда длительное применение ИПП еще не было так распространено [6]. С клинической и прогностической точек зрения НЭО желудка, возникающие в области дна и тела желудка могут быть разделены на две категории: опухоли, не ассоциированные с гипергастринемией (НЭО 3-го типа), которые представлены потенциально агрессивными новообразованиями [25], и разнородной группой ECL-клеточных НЭО, возникающих на фоне гипергастринемии, играющей принципиальную роль в патогенезе (табл. 1). Вторая группа опухолей имеет специфические клинико-морфологические признаки и характеризуется индолентным течением, как правило, не требующим агрессивного лечебного подхода [26].

Таблица 1. Клинико-морфологическая характеристика ECL-клеточных НЭО желудка

Тип	Муж/Жен	%	Гипергастринемия	Секреция соляной кислоты	Слизистая оболочка вне опухоли	Пролиферация ECL-клеток	Grade	Мтс*, %	ОПВ*, %
1	1:2.5	80–90	Есть	Снижена/отсутствует	Атрофический гастрит	Есть	G1	1–3	~100
							G2, редко		
							G3, очень редко		
2	1:1	5–7	Есть	Высокая	Гипертрофия слизистой оболочки	Есть	G1	10–30	60–90
							G2, редко		
3	2.8:1	10–15	Нет	Нормальная	Нет специфических изменений	Нет	G1, редко	50	<50
							G2		
							G3, редко		
4	Нет данных	Редко	Есть	Снижена/отсутствует	Гипертрофия париетальных клеток	Есть	Нет данных	Нет данных	Нет данных
5	1.7:1	Нет данных	Есть	Нет данных	Изменения, связанные с воздействием ИПП*	Есть	G1	15–17	~100
							G2		
							G3, редко		

Примечание. *ОПВ — общая 5-летняя выживаемость; *ИПП — ингибиторы протонной помпы; *Мтс — регионарные метастазы.



Схема. Алгоритм диагностики НЭО желудка

Классификация ВОЗ 2019 г.

Классификация опухолей желудочно-кишечного тракта, предложенная ВОЗ в 2019 г. (5-е издание [27]), является значимым достижением в понимании природы опухолевого процесса. В частности, впервые тип опухоли определяется как гистологическими характеристиками, так и молекулярным фенотипом.

В ноябре 2017 г. группа экспертов встретилась в рамках конференции the International Agency for Research on Cancer (IARC). Результатом мероприятия стала публикация работы, в которой было предложено различать высокодифференцированные НЭО и низкодифференцированные НЭР для всех локализаций НЭН [28]. И если в классификации ВОЗ 2010 г. [29] в основе этого разделения лежали индекс пролиферативной активности и митотический индекс, то сегодня, в том числе, молекулярные различия. Для высокодифференцированных НЭО характерны мутации в генах *MEN1*, *DAXX*, и *ATRX*, в то время как НЭР отличаются мутации в генах *TP53* и *RBI*. В некоторых случаях эти мутации могут быть полезны при установлении диагноза. Накопленные данные по генетике НЭН также привели к изменению классификации смешанных НЭН, которые се-

годня объединяются в концептуальную группу нейроэндокринных-ненейроэндокринных неоплазий (MiNENs). Они демонстрируют геномные изменения, характерные для аденокарцином или НЭР, а не НЭО, что в свою очередь отражает клональную эволюцию опухолей.

Другим важным изменением является принятие того, что высокодифференцированные НЭО могут иметь высокую степень злокачественности (Grade) — Grade III (индекс пролиферативной активности Ki67 >20%, митотический индекс >20 митозов в 10 полях зрения при большом увеличении или в 2 мм². Эти новообразования имеют генетические характеристики, которые свойственны высокодифференцированным НЭО, и отличают их от низкодифференцированных НЭР. Термин НЭО Grade III впервые был предложен для НЭО поджелудочной железы, но сейчас стало понятно, что он может быть использован для всех локализаций ЖКТ. Таким образом, на сегодняшний день классификация ВОЗ для высокодифференцированных НЭО включает три степени злокачественности (Grade I, Grade II, Grade III). НЭР считаются высокозлокачественными по определению и не нуждаются в уточнении Grade, а классифицируются далее на крупно- и мелкоклеточные типы [8] (ККР, МКР) (табл. 2).

Таблица 2. Классификация ВОЗ 2019 г.

	Дифференцировка	Степень злокачественности	Митозы/ 2мм ²	Ki-67
НЭО Grade I	Высокодифференцированные	Низкая	<2	<3%
НЭО Grade II		Промежуточная	2–20	3–20%
НЭО Grade III		Высокая	>20	>20%
НЭР, мелкоклеточный тип (МКР)	Низкодифференцированные	Высокая	>20	>20%
НЭР, крупноклеточный тип (ККР)			>20	>20 %
Смешанная нейроэндокринная и нейроэпителиальная неоплазия (MINEN)	Высоко- или низкодифференцированные ¹	Различная ¹	Различное число	Различный

Примечание. ¹ В большинстве MINENs и нейроэндокринный, и ненейроэндокринный компоненты являются низкодифференцированными. Нейроэндокринный компонент имеет Ki67 аналогичный НЭР. В некоторых случаях один или оба компонента в этих опухолях могут быть высокодифференцированными, поэтому каждый компонент должен оцениваться отдельно.

Таблица 3. Классификация высокодифференцированных НЭО желудка (TNM 8-я редакция, 2017 г.)

	T-первичная опухоль
Tx	Первичная опухоль не может быть оценена
T0	Первичная опухоль не определяется
T1	Опухоль инфильтрирует собственную пластинку слизистой оболочки или подслизистый слой и ее размеры <1 см
T2	Опухоль инфильтрирует мышечную оболочку или субсерозный слой и ее размеры >1 см
T3	Опухоль инфильтрирует серозную оболочку
T4	Опухоль прорастает серозную или распространяется на соседние структуры или органы
	Для любого T необходимо добавлять (m) при множественном поражении
	N — состояние регионарных лимфатических узлов
Nx	Регионарные лимфатические узлы не могут быть оценены
N0	Нет признаков поражения лимфатических узлов
N1	Регионарные лимфатические узлы поражены
	M — отдаленные метастазы
M0	Отдаленных метастазов нет
M1	Отдаленные метастазы
M1a	Метастазы только в печени
M1b	Внепеченочные метастазы
M1c	Печеночные и внепеченочные метастазы

Стадирование

I стадия	T1	N0	M0
II стадия	T2,3	N0	M0
III стадия	T4	N0	M0
	Любая T	N1	M0
IV стадия	Любая T	Любая N	M1

Классификация TNM, 8-я редакция (2017 г.)

Для стадирования высокодифференцированных НЭО желудка используется классификация TNM, претерпевшая некоторые изменения в 8-й редакции (табл. 3). Нейроэндокринные карциномы (НЭР) желудка стадируются по TNM-системе как аденокарциномы.

Заключение

На сегодняшний день классификации нейроэндокринных новообразований желудка позволяют достаточно точно характеризовать степень

распространённости опухолевого процесса, патогенез, лежащий в основе их развития, характер течения заболевания и его прогноз. Они ложатся в основу выбора адекватной лечебной тактики, дающей возможность добиться наиболее благоприятного результата. В то же время, остаются нерешённые вопросы, в частности, всестороннего анализа молекулярно-генетических особенностей данной категории нейроэндокринных неоплазий и, как следствие, введение новой молекулярно-генетической классификаций, дающей возможность более точно определять прогноз заболевания и подбирать модели лечебного воздействия.

Вклад авторов:

Перегородиев И.Н. — обзор публикаций по теме статьи, анализ полученных данных, написание текста рукописи;

Бохян В.Ю. — обзор публикаций по теме статьи, анализ полученных данных;

Делекторская В.В. — обзор публикаций по теме статьи, анализ полученных данных;

Сафонова А.Б. — написание текста рукописи.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии в статье конфликта интересов.

Финансирование

Работа выполнена без спонсорской поддержки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Dasari A, Shen C, Halperin D et al. Trends in the Incidence, Prevalence, and Survival Outcomes in Patients With Neuroendocrine Tumors in the United States // *JAMA Oncol.* 2017;3(10):1335–1342. <https://doi:10.1001/jama-oncol.2017.0589>
2. Jesinghaus M, Konukiewicz B, Keller G et al. Colorectal mixed adenoneuroendocrine carcinomas and neuroendocrine carcinomas are genetically closely related to colorectal adenocarcinomas // *Mod Pathol.* 2017;30(4):610–619. <https://doi:10.1038/modpathol.2016.220>
3. Uccella S, La Rosa S. Looking into digestive mixed neuroendocrine — nonneuroendocrine neoplasms: subtypes, prognosis, and predictive factors // *Histopathology.* 2020;77(5):700–717. <https://doi:10.1111/his.14178>
4. Перегородиев И.Н., Бохян В.Ю., Делекторская В.В., Стилиди И.С. Нейроэндокринные опухоли желудка. Современная классификация // *Российский онкологический журнал.* 2016;21:81–85. <https://doi:10.18821/1028-9984-2016-21-1-81-85> [Peregrodiev I.N., Bokhian V.Y., Delektorskaya V.V., Stilidi I.S. Neuroendocrine tumors of stomach. Modern classification // *Russian Journal of Oncology.* 2016;21:81–85 (in Russ.)]. <https://doi:10.18821/1028-9984-2016-21-1-81-85>
5. Carney JA, Go VL, Fairbanks VF et al. The syndrome of gastric argyrophil carcinoid tumors and nonantral gastric atrophy // *Ann Intern Med.* 1983;99(6):761–766 <https://doi:10.7326/0003-4819-99-6-761>
6. Rindi G, Luinetti O, Cornaggia M et al. Three subtypes of gastric argyrophil carcinoid and the gastric neuroendocrine carcinoma: a clinicopathologic study // *Gastroenterology.* 1993;104(4):994–1006. [https://doi:10.1016/0016-5085\(93\)90266-f](https://doi:10.1016/0016-5085(93)90266-f)
7. Bordi C. Neuroendocrine pathology of the stomach: the Parma contribution // *Endocr Pathol.* 2014;25(2):171–180. <https://doi:10.1007/s12022-014-9315-x>
8. La Rosa S, Rindi G, Solcia E, Tang L. Gastric neuroendocrine neoplasms. WHO classification of tumors digestive system tumors. 5th ed. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer (IARC), 2019:104–109.
9. Bordi C, Yu JY, Baggi MT et al. Gastric carcinoids and their precursor lesions. A histologic and immunohistochemical study of 23 cases // *Cancer.* 1991;67(3):663–672. [https://doi:10.1002/1097-0142\(19910201\)67:3<663::aid-cnrcr2820670323>3.0.co;2-1](https://doi:10.1002/1097-0142(19910201)67:3<663::aid-cnrcr2820670323>3.0.co;2-1)
10. Oksanen A, Sipponen P, Karttunen R et al. Atrophic gastritis and Helicobacter pylori infection in outpatients referred for gastroscopy // *Gut.* 2000;46(4):460–463. <https://doi:10.1136/gut.46.4.460>
11. Sato Y, Iwafuchi M, Ueki J et al. Gastric carcinoma tumors without autoimmune gastritis in Japan: a relationship with Helicobacter pylori infection // *Dig Dis Sci.* 2002;47(3):579–585. <https://doi:10.1023/a:1017972204219>
12. Berna MJ, Annibale B, Marignani M et al. A prospective study of gastric carcinoids and enterochromaffin-like cell changes in multiple endocrine neoplasia type 1 and Zollinger-Ellison syndrome: identification of risk factors // *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93(5):1582–1591. <https://doi:10.1210/jc.2007-2279>
13. Borch K, Ahrén B, Ahlman H et al. Gastric carcinoids: biologic behavior and prognosis after differentiated treatment in relation to type // *Ann Surg.* 2005;242(1):64–73. <https://doi:10.1097/01.sla.0000167862.52309.7d>
14. La Rosa S, Inzani F, Vanoli A et al. Histologic characterization and improved prognostic evaluation of 209 gastric neuroendocrine neoplasms // *Hum Pathol.* 2011;42(10):1373–1384. <https://doi:10.1016/j.humpath.2011.01.018>
15. Rappel S, Altendorf-Hofmann A, Stolte M. Prognosis of gastric carcinoid tumours // *Digestion.* 1995;56(6):455–462. <https://doi:10.1159/000201276>
16. Rindi G, Azzoni C, La Rosa S et al. ECL cell tumor and poorly differentiated endocrine carcinoma of the stomach: prognostic evaluation by pathologic analysis // *Gastroenterology.* 1999;116(3):532–542. [https://doi:10.1016/S0016-5085\(99\)70174-5](https://doi:10.1016/S0016-5085(99)70174-5)
17. Vanoli A, La Rosa S, Miceli E et al. Prognostic Evaluations Tailored to Specific Gastric Neuroendocrine Neoplasms: Analysis Of 200 Cases with Extended Follow-Up // *Neuroendocrinology.* 2018;107(2):114–126. <https://doi:10.1159/000489902>
18. https://doi:www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/neuroendocrine.pdf Delle Fave GF, O'Toole D, Sundin A, Taal B, Ferolla P, Ramage J, Ferone D, Ito T, Weber W, Zheng-Pei Z, De Herder WW, Pascher A, Ruzsniwski P; all other Vienna Consensus Conference participants.
19. [https://doi:www.annalsofoncology.org/article/S0923-7534\(20\)36394-8/fulltext](https://doi:www.annalsofoncology.org/article/S0923-7534(20)36394-8/fulltext)
20. La Rosa S, Vanoli A. Gastric neuroendocrine neoplasms and related precursor lesions // *J Clin Pathol.* 2014;67(11):938–948. <https://doi:10.1136/jclinpath-2014-202515>
21. Ooi A, Ota M, Katsuda S et al. An Unusual Case of Multiple Gastric Carcinoids Associated with Diffuse Endocrine Cell Hyperplasia and Parietal Cell Hypertrophy // *Endocr Pathol.* 1995;6(3):229–237. <https://doi:10.1007/BF02739887>
22. Abraham SC, Carney JA, Ooi A et al. Achlorhydria, parietal cell hyperplasia, and multiple gastric carcinoids: a new disorder // *Am J Surg Pathol.* 2005;29(7):969–975. <https://doi:10.1097/01.pas.0000163363.86099.9f>
23. Fossmark R, Calvete O, Mjønes P et al. ECL-cell carcinoids and carcinoma in patients homozygous for an

- inactivating mutation in the gastric H(+) K(+) ATPase alpha subunit // *APMIS*. 2016;124(7):561–566. <https://doi:10.1111/apm.12546>
24. Trinh VQ, Shi C, Ma C. Gastric neuroendocrine tumours from long-term proton pump inhibitor users are indolent tumours with good prognosis // *Histopathology*. 2020;77(6):865–876. <https://doi:10.1111/his.14220>
 25. Lee HE, Mounajjed T, Erickson LA, Wu TT. Sporadic Gastric Well-Differentiated Neuroendocrine Tumors Have a Higher Ki-67 Proliferative Index // *Endocr Pathol*. 2016;27(3):259–267. <https://doi:10.1007/s12022-016-9443-6>
 26. La Rosa S, Solcia E. New insights into the classification of gastric neuroendocrine tumours, expanding the spectrum of ECL-cell tumours related to hypergastrinaemia // *Histopathology*. 2020;77(6):862–864. <https://doi:10.1111/his.14226>
 27. WHO Classification of Tumours Editorial Board, eds. *WHO Classification of Tumors: Digestive System Tumours*. 5th ed. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer (IARC); 2019. World Health Organization Classification of Tumours; vol 1.
 28. Rindi G, Klimstra DS, Abedi-Ardekani B et al. A common classification framework for neuroendocrine neoplasms: an International Agency for Research on Cancer (IARC) and World Health Organization (WHO) expert consensus proposal // *Mod Pathol*. 2018;31(12):1770–1786. <https://doi:10.1038/s41379-018-0110-y>
 29. Rindi G, Arnold R, Bosman FT et al. Nomenclature and classification of neuroendocrine neoplasms of the digestive system. In: Bosman F.T. et al. *WHO Classification of Tumours of the Digestive System*. Lyon: IARC Press, 2010:13–4.

Поступила в редакцию 25.05.2021 г.

I.N. Peregorodiev, V.Y. Bokhian, V.V. Delektorskaya, A.B. Safonova

Modern view on the classification of neuroendocrine neoplasms of stomach

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

Neuroendocrine neoplasms (NEN) of the stomach include a heterogeneous group of neoplasms characterized by different pathogenetic mechanisms, metastatic potential, and prognosis. The incidence of gastric NAN has increased 15-fold over the past few decades. It is necessary to clearly distinguish between well-differentiated neuroendocrine neoplasms (NETs) of the stomach and neuroendocrine cancer (NECs) of the stomach, as well as mixed neuroendocrine-non-neuroendocrine neoplasms.

To date, there are three classifications that are used in clinical practice: clinicopathological classification, WHO classification, and UICC TNM classification. It should be noted that over the past five years, these classifications have undergone important changes. In the clinicopathological classification, in addition to the existing three types, a number of authors proposed to add the 4th type (developing as a result of inadequate functioning of the proton pump) and the 5th type (developing in patients who receive long-term therapy with proton pump inhibitors). In the 2019 WHO classification, an important change is the acceptance that well-differentiated NETs can have a high degree of malignancy — Grade III. The main changes in the 8th edition of the TNM classification concerned the differentiation of the M symbol.

Thus, to date, the classification of gastric NENs allows us to accurately characterize tumor staging, the pathogenesis underlying their development, and prognosis. They form the basis for choosing an adequate treatment strategy that makes possible to achieve the most favourable result.

Key words: review; neuroendocrine neoplasms of the stomach; carcinoid; neuroendocrine cancer, stomach, NET

З.А. Раджабова, М.А. Котов, О.А. Серeda, У.А. Дадашева, А.В. Пудина, Г.А. Чиж

Оральные мукозиты как осложнение противоопухолевого лечения у пациентов с местно-распространённым раком головы и шеи: обзор литературы

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

Несмотря на понимание причин и механизмов возникновения орального мукозита, он остается серьёзной проблемой для пациентов, получающих лечение местнораспространённого рака головы и шеи. Оральный мукозит, ассоциированный с лечением у таких пациентов, снижает качество жизни пациентов и повышает риск жизнеугрожающих осложнений.

Наша цель — оценить эффективность существующих терапевтических опций для лечения оральных мукозитов, связанных с лечением рака головы и шеи. В нашем исследовании мы использовали базы данных Scopus, Google Scholar, PubMed, для анализа данных о этиологии, патогенезе, клинической картине, профилактике и лечении оральных мукозитов. В ряде случаев, применение существующих методов лечения снижает риск оральных мукозитов тяжелой степени и улучшают качество жизни пациентов, однако большинство из них носит симптоматический и паллиативный характер. Необходим дальнейший поиск новых методов лечения.

Для принятия решения о методе лечения при оральных мукозитах, необходима оценка степени тяжести у конкретного пациента, которая определяется возможностью говорить и принимать пищу через рот. Методы профилактики и лечения направлены на повышение переносимости пациентами проводимого лечения и снижения риска осложнений, связанных с лечением.

Ключевые слова: оральный мукозит, противоопухолевое лечение, симптоматическая терапия

Введение

Мукозит слизистой оболочки полости рта как потенциально угрожающее жизни осложнение противоопухолевой терапии до сих пор остаётся серьёзной проблемой при лечении опухолей головы и шеи, которое снижает качество жизни и эффективность лечения. Несмотря на достижения последних лет в этой области, лечение мукозита полости рта остается сложным, и в

основном, представлено комплексом паллиативных мер. В ходе исследований был установлен целый ряд перспективных биологических мишеней, воздействие на которые позволяет уменьшить или даже предотвратить токсические эффекты ионизирующего излучения или цитостатических противоопухолевых препаратов на слизистые оболочки полости рта.

Мукозит — это повреждение слизистой оболочки верхних и нижних отделов желудочно-кишечного тракта, которое часто является осложнением как лучевой терапии, так и химиотерапии рака. Он может локализоваться в любом отделе желудочно-кишечного тракта, однако, в этом обзоре основное внимание будет уделено оральному мукозиту, как распространенному осложнению цитотоксического лечения солидных опухолей головы и шеи, включая анатомические области ротоглотки, ротовой полости, носоглотки, гортани, гортаноглотки и слюнных желез.

Распространенность мукозита при лечении рака головы и шеи

Заболеваемость оральным мукозитом (ОМ) варьирует по данным различных исследований по причине отсутствия единых критериев оценки. Оральный мукозит встречается у 40% онкологических больных, получающих химиотерапию, и практически всегда проявляет себя клинически у пациентов, получающих одновременно химиолучевую терапию при лечении опухолей головы и шеи [1–2].

Тяжесть мукозита сильно варьирует и зависит от используемых методов лечения (суммарная доза излучения, объем и область облучения, режим фракционирования, использование химиотерапии), так и от факторов риска, связанных с пациентом (пол, возраст, образ жизни, наличие кариозных зубов, сопутствующие заболевания, эпигенетическая и генетическая восприимчивость) [3–7]. Тем не менее, распространенность орального мукозита 3 и 4 степени среди пациентов, получающих химиотерапию или лучевую терапию как метод лечения опухолей головы и шеи, может достигать 66–85% [1, 8].

Факторы риска возникновения мукозитов

Среди факторов высокого риска развития орального мукозита можно выделить несколько групп. Первая из них включает факторы, ассоциированные с состоянием онкологического пациента до начала лечения: кахексия, тяжелые сопутствующие заболевания, пожилой возраст, травмы слизистых оболочек полости рта и глотки, отсутствие санации полости рта до начала лечения основного заболевания (наличие у пациента кариозных зубов) [9–12].

Вторая группа факторов высокого риска связана с характеристиками опухолевого процесса — локализацией злокачественного образования в полости рта и глотке, значительным местным распространением опухоли [13, 14].

К третьей группе факторов высокого риска относят параметры противоопухолевого лечения, в частности, применение высоких суммарных доз ионизирующего излучения (СОД 50 Гр и более), использование нетрадиционных режимов фракционирования с интенсивным подведением доз, проведение химиолучевой терапии [15]. Кроме этого, частота возникновения радиоиндуцированного орального мукозита прямо пропорциональна объему облучаемых тканей.

Патогенез

Исторически считалось, что оральный мукозит является следствием прямого токсического воздействия химиотерапевтических агентов или лучевой терапии на активно пролиферирующие эпителиальные клетки слизистой оболочки полости рта. Эпителий данной локализации имеет быструю скорость обновления, составляющую в среднем от 7 до 14 дней, что позволяет объяснить его высокую восприимчивость к апоптозу от цитотоксической терапии. Как результат, оральный мукозит клинически проявляется примерно через 1–2 нед от начала лучевой терапии или введения химиотерапевтических препаратов [4, 6]. Однако в последние годы, в ряде исследований продемонстрировано, что патогенез мукозита полости рта является более сложным, чем считалось ранее, и включает несколько этапов. Биологическая модель развития орального мукозита, вызванного химиотерапией или лучевой терапией, разработанная S. Sonis, описывает 5 фаз: инициирование повреждения, усиление воспаления, выработка и индуцирование передачи сигналов, изъязвление и заживление [2, 3, 16–18].

Инициирование повреждения ткани. Цитостатики и лучевая терапия оказывают прямой токсический эффект на базальные эпителиальные клетки, приводя к их гибели. Кроме этого, определенную роль в инициации повреждения

слизистой оболочки играет высвобождение свободных радикалов, оказывающих прямое повреждающее действие на клетки эпителия.

Усиление регуляции воспаления путем генерации сигналов мессенджеров. Помимо прямой гибели клеток, свободные радикалы активируют вторичные мессенджеры, которые передают сигналы от поверхностных рецепторов внутрь клетки. Это приводит к усилению высвобождения провоспалительных цитокинов, в частности TNF- α , IL1 β , IL6, повреждению тканей и гибели клеток. В этой фазе снижается скорость обновления эпителия, что ведёт к атрофии слизистой оболочки и подслизистого слоя.

Выработка и индуцирование передачи сигналов. Повышенное высвобождение провоспалительных цитокинов, в числе которых фактор некроза опухоли альфа (TNF- α), продуцируемый, в основном, макрофагами, вызывает повреждение клеток слизистой оболочки, а также активирует молекулярные пути, усиливающие повреждение тканей. Существует множество механизмов обратной связи, которые вызывают усиление сигнала и сохранение воспаления и иммунного ответа (пути керамидов, пути матричных металлопротеиназ), что, в конечном итоге, приводит к истончению слизистой оболочки и фазе изъязвления.

Изъязвление. На поврежденной эпителиальной выстилке ротовой полости формируются эрозии и язвы, которые являются фокусами бактериальной колонизации с развитием вторичной инфекции. Побочные продукты метаболизма колонизирующей микрофлоры полости рта стимулируют очередной выброс провоспалительных цитокинов. На фоне выраженной нейтропении, как побочного эффекта проводимого системного лечения, бактерии могут вторгаться в подлежащие слои и вызывать бактериемию или сепсис.

Восстановление. Фаза восстановления характеризуется нормализацией процессов пролиферации и клеточной и тканевой дифференцировки эпителия, реэпителизацией и восстановлением пораженной слизистой оболочки [2, 3, 16–18].

Классификация

На сегодняшний день доступны несколько шкал для оценки степени выраженности орального мукозита. Стадирование по версии Radiation Therapy Oncology Group (RTOG) производится по шкале от I до IV. Первая степень включает мукозит, вызывающий легкую боль и не требующий применения анальгетиков. Степень II типична для развития очагового мукозита или мукозита, требующего применения анальгетиков. Мукозит III степени протекает в виде сливного мукозита или сопровождается болевым синдромом, требующим наркотических анальгетиков.

IV степень характеризуется формированием язв, участков некроза или кровотечения [19, 20]. Шкала орального мукозита Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) часто используется в клинической практике и включает в себя как визуальные проявления (эритема, язвы), так и функциональные симптомы (способность есть). Это шкала от 0 (без изменений) до 4 (мукозит, исключающий возможность самостоятельного питания пациента) [20].

Классификация нежелательных явлений The National Cancer Institute Common Terminology Criteria for Adverse Events (NCI-CTCAE, последняя версия 5.03) часто используются в клинических испытаниях для документирования побочных эффектов, вызванных противоопухолевой терапией [3, 20, 21]. Эта шкала оценивает тяжесть мукозитов по шкале от 1 до 5 и основана на степени тяжести боли и функциональных изменениях (способности принимать пищу через рот): 1 степень — легкие симптомы или их отсутствие, 2-я степень — умеренная боль или язвы, не мешающие пероральному приему пищи, степень 3 — сильная боль, мешающая пероральному питанию, 4 степень — симптомы, угрожающие жизни, и степень 5 — смерть [21]. Другая шкала, Oral Mucositis Daily Questionnaire (OMDQ), была создана для ежедневной оценки пациентом выраженности симптомов мукозита и часто используется в современных исследованиях [8].

Профилактика и лечение

Профилактика мукозитов. Наиболее эффективный способ минимизировать риск возникновения орального мукозита — попытка ограничить объем облучения слизистой оболочки полости рта. Группа по изучению мукозита Многонациональной ассоциации поддерживающей терапии при раке и Международного общества онкологии полости рта (MASCC/ISOO) опубликовала клинические практические рекомендации по профилактике мукозита на фоне терапии рака [22]. В рекомендациях MASCC/ISOO сообщается о преимуществах стандартизированного протокола ухода за полостью рта, включая чистку мягкой зубной щеткой, использование зубной нити и использование немедикаментозных полосканий (полоскание полости рта физиологическим раствором или бикарбонатом натрия) для поддержания гигиены ротовой полости во время лечения [22].

Лечение мукозитов на фоне проводимой лучевой терапии

Терапия оральных мукозитов представляет собой симптоматическое лечение, однако, даже

при назначении адекватной анальгетической терапии может достигаться недостаточный контроль боли [21].

Симптоматическое лечение. Симптоматическая терапия включает тщательное соблюдение гигиены полости рта во время лечения, коррекцию диеты, лечение любых вторичных инфекций и применение анальгетиков. Лечение орального мукозита требует междисциплинарного подхода с участием диетологов, стоматологов, медсестер, а также специалистов по лечению боли. Как упоминалось ранее, режим ухода за полостью рта одобрен клиническими рекомендациями MASCC/ISOO [22]. Пациенты должны получать профессиональный уход за полостью рта у стоматолога-гигиениста не реже одного раза в неделю до завершения лучевой терапии [23]. Методы ухода за полостью рта обычно включают удаление зубного налета с помощью профессиональных механических методов чистки зубов и мягкое удаление остатков пищи и налета со слизистой оболочки ротовой полости с помощью влажной губки. Для предотвращения сухости во рту рекомендуется пить воду по мере необходимости [24]. С этой же целью можно использовать искусственную слюну. Кроме перечисленного выше, рекомендованы полоскания рта специальными санитизирующими растворами. Нет единых рекомендаций по использованию конкретных составов в качестве ополаскивателей для полости рта, однако имеются данные, свидетельствующие о том, что не следует использовать жидкости для полоскания рта, имеющие в составе хлоргексидин [22]. Поскольку пациенту проводят лучевую терапию с лечебной целью, необходимо предусмотреть проведение поддерживающего лечения, которое включает рациональное питание, гидратацию и электролитную поддержку, так как пациент в таком случае подвержен чрезвычайному риску истощения питательных веществ, кахексии, дисфагии, одинофагии и, в ряде случаев, синдрома возобновления питания [25].

Обезболивание играет важную роль в улучшении качества жизни во время лечения опухолей головы и шеи. В последних рекомендациях MASCC/ISOO контролируемая пациентом анальгезия морфином рекомендуется только при симптоматическом лечении орального мукозита у пациентов, перенесших трансплантацию гемопоэтических стволовых клеток [22]. Однако анальгетическая терапия может быть проведена другими доступными препаратами: противовоспалительными средствами, опиоидами короткого и длительного действия и трансдермальным фентанилом. Выбор лекарственного вещества определяется в зависимости от индивидуальных

потребностей пациента и должен проводиться мультидисциплинарной командой специалистов [19, 20, 25].

Местное лечение

Целью местного лечения оральных мукозитов во время проведения лучевой терапии является предотвращение развития тяжелых мукозитов полости рта и связанных с ними вторичных инфекций, а также контроль боли и сохранение возможности самостоятельного приема пищи.

Доксепин — традиционный трициклический антидепрессант с обезболивающими свойствами для местного применения. В одном исследовании было показано, что полоскание для полости рта 5 мл раствора доксепина (5 мг/мл) снижает тяжесть и частоту ОМ у пациентов с опухолями головы и шеи [26]. Эти результаты были подтверждены в многоцентровом рандомизированном двойном слепом плацебо-контролируемом исследовании, в котором оценивали 155 пациентов, проходящих лучевую терапию по поводу опухолей головы и шеи, до запланированной минимальной дозы 50 Гр (с одновременной химиотерапией или без нее) [27]. Пациентам вводили однократную дозу доксепина (25 мг в 5 мл) или раствор плацебо. Лечение доксепином значительно уменьшило боль, вызванную мукозитом. Лечение доксепином также сопровождалось повышенной сонливостью и неприятным вкусом, но, тем не менее, пациенты предпочли продолжить применение этого препарата [27].

Клонидин Лауриад — мукоадгезивная буккальная таблетка, которая снижает активацию NF-κB и снижает последующую активацию провоспалительных цитокинов. В многоцентровом исследовании фазы 2 клонидин лауриад наносили на десну за 1–3 дня до лучевой терапии и продолжали один раз в день на протяжении всего курса [28]. Тяжелый оральный мукозит (степень 3 или 4 по классификации ВОЗ) развивался у 45,3% пациентов в группе клонидина и у 60% пациентов в группе плацебо ($p=0,064$). Средняя доза облучения при развитии тяжелой формы мукозита составляла 60 Гр для группы клонидина и 48 Гр для группы плацебо ($HR=0,754$ [0,484; 1,175]; $p=0,211$) [28].

Использование *натуральных лечебных трав* для лечения осложнений и побочных эффектов терапии рака приобрело силу в последние несколько десятилетий и стало новой областью исследований. В контексте симптоматической терапии радиоиндуцированного мукозита в настоящее время изучается эффективность применения экстракта ромашки, алоэ вера, мёда, мануки, витамина А, глутамина [29].

Системное лечение

Палифермин — рекомбинантный фактор роста кератиноцитов человека, способствующий пролиферации и восстановлению эпителиальных клеток слизистых оболочек полости рта и желудочно-кишечного тракта. Он остается единственным препаратом, одобренным FDA, для профилактики орального мукозита [30]. Основным его недостатком является чрезвычайно высокая стоимость. Кроме того, есть опасения, что данный класс лекарств может усиливать рост опухоли и снижать эффективность лечения рака.

Дускетид — регулятор врожденной защиты, который связывается с белком р62 и способен модулировать врожденный иммунный ответ. Была выдвинута гипотеза, что дускетид помогает предотвратить развитие орального мукозита за счет уменьшения провоспалительного ответа и усиления сигнала врожденной иммунной системы [31]. Примечательно, что терапия этим препаратом также уменьшала развитие негрибковых инфекций [31]. Эти результаты были подтверждены более длительным наблюдением в течение 12 мес. Установлено также, что введение дускетиды, возможно, коррелировало с ускоренным разрешением опухоли. Однако необходимы дальнейшие исследования, включающие большее количество пациентов, чтобы подтвердить его потенциальное противоопухолевое действие [32].

GC4419 — это низкомолекулярная молекула на основе марганца, которая имитирует активность ферментов супероксиддисмутазы. В многоцентровом исследовании GC4419 фазы 1b/2a максимальная переносимая доза не была достигнута, и наблюдались только два дозолимитирующих фактора токсичности: гастроэнтерит 3 степени и рвота с гипонатриемией при максимальной дозе препарата [26].

Бензидамин — нестероидный противовоспалительный препарат, который ингибирует провоспалительные цитокины, включая TNF-α. В двойном слепом исследовании 145 пациентам, получавшим кумулятивные дозы облучения до 50 Гр, случайным образом были назначены полоскания для перорального применения бензидамином 0,15% 4–8 раз в день или плацебо [28]. Использование бензидамина для промывания полости рта уменьшило эритему и изъязвление на 30% ($p=0,006$), а также значительно отсрочило использование системных анальгетиков ($p=0,05$). Однако бензидамин не был эффективен при повышенных дозах облучения (2,2 Гр/день) [28]. Аналогичным образом, в другом двойном слепом исследовании, оценивающем использование бензидамина для профилактики радиационно-индуцированного ОМ при лечении

пациентов по поводу рака головы и шеи, был обнаружен положительный эффект применения бензидамина. Частота тяжелого мукозита (≥ 3 степени) составила 43,6% в группе бензидамина и 78,6% в группе плацебо ($p=0,001$), а тяжелый мукозит был в 2,6 раза более вероятен в группе плацебо [29].

Рекомендации MASCC/ISOO рекомендуют использование бензидамина у пациентов, получающих лучевую терапию в умеренных дозах (до 50 Гр) без сопутствующей химиотерапии [19, 28, 29]. Эти исследования подтверждают профилактическое использование бензидамина.

Пилокарпина гидрохлорид — парасимпатомиметическое средство, которое действует, главным образом, как мускариновый агонист, вызывая фармакологическую стимуляцию экзокринных желез у человека, что приводит к слюноотделению [36]. Пилокарпина гидрохлорид более эффективен, чем плацебо, и, по крайней мере, так же эффективен, как искусственная слюна [37]; частота ответа колеблется от 42% до 51% со временем до ответа до 12 нед. Побочные эффекты обычно возникают в результате генерализованной парасимпатомиметической стимуляции и включают потливость, головные боли, учащение мочеиспускания и расширение сосудов. Стоит отметить, что побочные эффекты были основной причиной отмены препарата (6–15% участников, принимавших 5 мг пилокарпина гидрохлорида трижды в день, были вынуждены отказаться). Дозозависимость отмечена не в частоте ответов, а в частоте побочных эффектов. Исследуемым пациентам с побочными эффектами вводили дозу 2,5 мг 4 раза в день [38].

Прочее лечение

Лазерная терапия низкого уровня

Низкоуровневая лазерная терапия (НУЛТ) — это местное применение монохроматического узкополосного источника света. Хотя ее механизм в значительной степени неизвестен, исследования на животных моделях показывают, что она способствует заживлению ран и оказывает противовоспалительное действие. Руководящие принципы MASCC/ISOO, таким образом, рекомендуют использование низкоуровневой лазерной терапией для профилактики орального мукозита в условиях режимов кондиционирования гемопоэтических стволовых клеток, а НУЛТ рекомендуется использовать для профилактики ОМ у пациентов, получающих ГНК без сопутствующей химиотерапии [22]. Однако, возможное влияние на опухолевые клетки пока неизвестно, поскольку результаты исследований *in vitro* показали неоднозначное действие низкоуровневого лазера на злокачественные клетки [31, 35].

НУЛТ доставляли ежедневно в шесть участков полости рта (за исключением участка рака) до облучения в течение 45 дней. НУЛТ снизила частоту мукозита 3 или 4 степени в конце СРТ (23% против 69%). Лазерная терапия также снизила средние показатели боли, использование анальгетиков и потребность в полном парентеральном питании (ПП) [33, 32]. Кроме того, в нескольких исследованиях было обнаружено, что предварительное лечение с помощью лазерной терапии помогает предотвратить, а также уменьшить тяжесть ОМ. Систематический обзор с мета-анализом влияния НУЛТ на ОМ, вызванный лечением рака, также показал, что НУЛТ значительно снижает риск развития ОМ и уменьшает боль [43].

Подготовка спейсеров (прокладок) для предотвращения серьезного мукозита полости рта

Лучевая терапия при раке головы и шеи подразделяется на два типа: внешнее облучение и брахитерапия. Чаще всего используется внешнее облучение с использованием линейных ускорителей. Любые существующие стоматологические металлы производят обратное электронное рассеивание, которое может повредить окружающие мягкие ткани [44]. Эффекты обратного рассеивания на поверхности стоматологических материалов вызывают увеличение дозы облучения до 170%, измеренной без материалов. Также сообщалось, что степень эффекта обратного рассеивания достигает максимальных уровней на расстоянии 4 мм. Поэтому, в некоторых случаях, прокладочный фиксатор размещается соответствующим образом. Толщина прокладок обычно составляет 3 мм, достигая 5 мм для случаев с металлическими реставрациями [45].

Применение лучевой терапии с модуляцией интенсивности (IMRT)

В последнее время широко используется высокоточная лучевая терапия, такая как лучевая терапия с модуляцией интенсивности (IMRT). IMRT имеет более высокую эффективность в предотвращении побочных эффектов по сравнению с трехмерной конформной лучевой терапией (3D-CRT). Преимущество IMRT состоит в том, что она позволяет осуществить более точную доставку дозы к месту опухоли, одновременно снижая воздействие радиации на нормальные ткани. Следовательно, более точная фиксация пациента значительно важнее при IMRT, чем при 3D-CRT.

В планах лучевой терапии целевые объемы, подлежащие облучению, четко определены как общий объем опухоли (GTV), клинический целевой объем (CTV) и планируемый целевой объем (PTV). GTV — это объем опухоли, который

обычно определяется с помощью диагностических изображений, осмотра и/или пальпации как первичных, так и метастатических поражений. CTV — это объем ткани, который охватывает GTV и любые области субклинического заболевания, включая области лимфатических узлов, предназначенные для профилактического облучения. При лучевой терапии рака головы и шеи обычно добавляется 5-10 мм (или больше) запаса вокруг GTV. Принимая во внимание движение внутренних органов и различия в ежедневной укладке, PTV расширяется от 5 до 10 мм вокруг CTV. В высокоточной лучевой терапии, такой как IMRT, важно уменьшить величину PTV с учетом движения органов и погрешностей укладки.

Нутритивная поддержка

Борьба с ятрогенной нутритивной недостаточностью как проявлением тяжелого радиоиндуцированного орального мукозита является важной задачей в рамках успешного лечения больных с опухолями головы и шеи. Нутритивная терапия должна начинаться сразу при выявлении нутритивной недостаточности или при отсутствии достаточного питания через рот в течение 7 дней.

В настоящее время применяется несколько способов нутритивной поддержки:

- 1) сипинг,
- 2) энтеральное питание через зонд или гастростому,
- 3) парентеральное питание.

У пациентов без выраженной дисфагии, получающих лучевое и химиолучевое лечение, методом выбора является пероральное энтеральное питание.

Сипинг представляет собой пероральный прием питательных смесей мелкими глотками. Этот метод предпочтителен, так как наиболее физиологичен, способствует сохранению нормального акта глотания и ранней реабилитации пациентов. Суть перорального использования энтеральных смесей заключается в употреблении гиперкалорической энтеральной смеси на фоне повышенных потребностей в белковых и энергетических субстратах, когда сохранена возможность самостоятельного питания через рот [46, 47].

Энтеральное питание через зонд или гастростому назначается в случае неадекватного перорального приема пищи (дисфагия, выраженный болевой синдром). Следует помнить, что применение назогастрального или назоинтестинального зонда не является оптимальным в связи с травмированием самим зондом облучаемых слизистых. Гастростомия позволяет доставлять

питание в желудочно-кишечный тракт в обход объема облучения.

Парентеральное питание играет меньшую роль, чем энтеральное, поскольку усвоение питательных веществ естественным путем более эффективно и сохраняет функцию желудочно-кишечного тракта [48]. Парентеральное питание включает введение донаторов энергии (к ним относятся растворы углеводов и жировые эмульсии) и донаторов пластического материала для синтеза белка (растворы аминокислот). В ряде случаев оптимальным является назначение смешанного варианта в виде комбинации лечебного энтерального и парентерального питания.

При дисфагии обязательны контроль проявлений вторичной инфекции и специальное обучение пациента профилактике аспирации. Присоединение оппортунистической инфекции в полости рта и глотке, будь то грибковая инвазия или бактериальная инфекция, требует своевременного назначения антибиотической терапии. В постлучевом периоде нормальные ткани, подвергшиеся облучению, очень ранимы, поэтому к ним нужно относиться бережно. [49]. Травмы, алкоголь, курение, раздражающая пища легко вызывают изъязвление слизистой оболочки, что нередко сопровождается обнажением кости нижней челюсти с последующим развитием остеомиелита. Пациенту следует рекомендовать продолжать контролировать массу тела. Проводится оценка нутритивного статуса и степени нутритивной недостаточности при каждом контрольном обследовании.

Заключение

Оральный мукозит, являющийся нежелательным явлением противоопухолевой терапии опухолей головы и шеи, по-прежнему представляет собой серьезную проблему. Его лечение осуществляется с акцентом на паллиативную помощь и контроль симптомов [8]. Однако, симптоматическая терапия не всегда позволяет добиться адекватного контроля боли, что только подчеркивает важность разработки новых стратегий лечения. Некоторые из них обсуждались в данной статье, и многие другие целевые агенты находятся на ранних стадиях клинических исследований. Появление таких препаратов дает надежду на осуществление эффективной профилактики развития тяжелых симптомов и снижение заболеваемости оральным мукозитом.

Важно отметить, что снижение заболеваемости может позитивно повлиять на переносимость лечения, соблюдение режима терапии и качество жизни пациентов. Дизайн будущих испытаний также будет включать более объективный и, возможно, более частый мониторинг симптомов орального мукозита.

ЛИТЕРАТУРА

1. Elting LS, Cooksley CD, Chambers MS, Garden AS. Risk, outcomes, and costs of radiation-induced oral mucositis among patients with head-and-neck malignancies // *J Radiat Oncol Biol Phys*. 2007;68:1110-1120. <https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2007.01.053>
2. Sonis ST. Oral mucositis in head and neck cancer: risk, biology, and management // *Am Soc Clin Oncol Educ Book*. 2013;3:e236-e240. https://doi.org/10.1200/EdBook_AM.2013.33.e236
3. Sonis ST. Oral mucositis *Anticancer Drugs*. 2011;22:607-612. <https://doi.org/10.1097/CAD.0b013e3283462086>
4. Raber-Durlacher JE, Elad S, Barasch A. Oral mucositis // *Oral Oncol*. 2010;46:452-456. <https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2010.03.012>
5. Cinausero M, Aprile G, Ermacora P et al. New frontiers in the pathobiology and treatment of cancer regimen-related mucosal injury // *Front Pharmacol*. 2017;8:262-316. <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00354>
6. Lockhart PB, Sonis ST. Alterations in the oral mucosa caused by chemotherapeutic agents. A histologic study // *J Dermatol Surg Oncol*. 1981;7:1019-1025. <https://doi.org/10.1111/j.1524-4725.1981.tb00208.x>
7. Al-Ansari S, Zecha JAEM, Barasch A et al. Oral mucositis induced by anticancer therapies // *Curr Oral Health Rep*. 2015;2:202-211. <https://doi.org/10.1007/s40496-015-0069-4>
8. Elting LS, Keefe DM, Sonis ST et al. Patient-reported measurements of oral mucositis in head and neck cancer patients treated with radiotherapy with or without chemotherapy // *Cancer*. 2008;113:2704-2713. <https://doi.org/10.1002/cncr.23898>
9. Bensinger W. NCCN Task Force Report prevention and management of mucositis in cancer care // *Natl Compr Canc Netw*. 2008;6(1):22-421.
10. Campos MI, Campos CN, Aarestrup FM, Aarestrup BJ. Oral mucositis in cancer treatment: natural history, prevention and treatment // *Mol Clin Oncol*. 2014;2:337-402. <https://doi.org/10.3892/mco.2014.253>
11. Galloway T, Amdur R, Posner M et al. Management and prevention of complications during treatment of head and neck cancer // *Up To Date*, Waltham, MA. 2014;64:12.
12. Rosenthal DI, Trotti A. Strategies for managing radiation-induced mucositis in head and neck cancer // *Semin Radiat Oncol*. 2009;19:29-34. <https://doi.org/10.1016/j.semradonc.2008.09.006>
13. Mortensen HR. Factors associated with acute and late dysphagia in the DAHANCA 6&7 randomized trial with accelerated radiotherapy for head and neck cancer // *Acta Oncol*. 2013;52:1535-1542. <https://doi.org/10.3109/0284186X.2013.824609>
14. Vera-Llonch M. Oral mucositis in patients undergoing radiation treatment for head and neck carcinoma // *Cancer*. 2006;106:329-362. <https://doi.org/10.1002/cncr.21622>
15. Геворков А.Р. Основные принципы ведения пациентов с мукозитом и дерматитом при лучевом лечении с лекарственной модификацией больных плоскоклеточным раком орофарингеальной области // *Опухоли головы и шеи*. 2016(3):12-21. <https://doi.org/10.17650/2222-1468-2016-6-3-12-21>
16. Sonis ST The pathobiology of mucositis // *Nat Rev Cancer*. 2004;4:277-284. [10.1038/nrc1318](https://doi.org/10.1038/nrc1318) <https://doi.org/10.1038/nrc1318>
17. ST Sonis New thoughts on the initiation of mucositis // *Oral Dis*. 16 (2010):597-600. <https://doi.org/10.1111/j.1601-0825.2010.01681.x>
18. Al-Dasooqi N, Sonis ST, Bowen JM et al. Emerging evidence on the pathobiology of mucositis // *Support Care Cancer*. 2013;21:2075-2083. <https://doi.org/10.1007/s00520-013-1810-y>
19. Mallick S, Benson R, Rath GK. Radiation induced oral mucositis: a review of current literature on prevention and management // *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2015;273:2285-2293. <https://doi.org/10.1007/s00405-015-3694-6>
20. Maria OM, Eliopoulos N, Muanza T. Radiation-induced oral mucositis // *Front Oncol*. 2017;7:5121-5123. <https://doi.org/10.3389/fonc.2017.00089>
21. National Cancer Institute. Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE). 2018:1-147.
22. Lalla RV, Bowen J, Barasch A et al. MASCC/ISOO clinical practice guidelines for the management of mucositis secondary to cancer therapy // *Cancer*. 2014;120:1453-1461. <https://doi.org/10.1002/cncr.28592>
23. Kawashita Y, Hayashida S, Funahara M et al. Prophylactic bundle for radiation-induced oral mucositis in oral or oropharyngeal cancer patients // *J Cancer Res Ther*. 2014;2:9-13 <https://doi.org/10.14312/2052-4994.2014-2>
24. Lalla RV, Sonis ST, Peterson DE. Management of oral mucositis in patients who have cancer // *Dent Clin North Am*. 2008;52:61-77. <https://doi.org/10.1016/j.cden.2007.10.002>
25. Bonomi M, Batt K. Supportive management of mucositis and metabolic derangements in head and neck cancer patients // *Cancers*. 2015;7:1743-1757. <https://doi.org/10.3390/cancers7030862>
26. Epstein JB, Epstein JD, Epstein MS et al. Oral doxepin rinse: the analgesic effect and duration of pain reduction in patients with oral mucositis due to cancer therapy // *Anesth Analg*. 2006;103:465-470. <https://doi.org/10.1213/01.ane.0000223661.60471.78>
27. Leenstra JL, Miller RC, Qin R et al. Doxepin rinse versus placebo in the treatment of acute oral mucositis pain in patients receiving head and neck radiotherapy with or without chemotherapy: a Phase III, randomized, double-blind trial (NCCTG-N09C6 [Alliance]) // *Jco*. 2014;32:1571-1577. <https://doi.org/10.1200/JCO.2013.53.2630>
28. Giralt J, Tao Y, Bensadoun RJ, Lalla RV, Ozsahin EM. Mucoadhesive clonidine (Clonidine Lauriad) in the prevention of severe radiomucositis in head and neck cancer patients: a phase II randomized trial. 2015. https://doi.org/10.1200/jco.2015.33.15_suppl.6058
29. Nagi R, Patil DJ, Rakesh N et al. Natural agents in the management of oral mucositis in cancer patients-systematic review // *J Oral Biol Craniofacial Res*. 2018;8:245-254. <https://doi.org/10.1016/j.jobcr.2017.12.003>
30. Spielberger R, Stiff P, Bensinger W et al. Palifermin for oral mucositis after intensive therapy for hematologic cancers // *N Engl J Med*. 2004;351:2590-2598. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa040125>
31. Kudrimoti M, Curtis A, Azawi S et al. Dusquetide: a novel innate defense regulator demonstrating a significant and consistent reduction in the duration of oral mucositis in preclinical data and a randomized, placebo-controlled phase 2a clinical study // *J Biotechnol*. 2016;239:115-125. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2016.10.010>
32. Kudrimoti M, Curtis A, Azawi S et al. Dusquetide Reduction in oral mucositis associated with enduring ancillary

- benefits in tumor resolution and decreased mortality in head and neck cancer patients // *Biotechnol Rep*. 2017;15:24-26. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2017.05.002>
33. Anderson CM, Sonis ST, Lee CM et al. Phase 1b/2a trial of the superoxide dismutase mimetic GC4419 to reduce chemoradiotherapy-induced oral mucositis in patients with oral cavity or oropharyngeal carcinoma // *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2018;100:427-435. <https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2017.10.019>
 34. Epstein JB, Silverman S, Paggiarino DA et al. BenzylamineHCl for prophylaxis of radiation-induced oral mucositis: results from a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial // *Cancer*. 2001;92:875-885. [https://doi.org/10.1002/1097-0142\(20010815\)92:4<875::aid-cnrc1396>3.0.co;2-1](https://doi.org/10.1002/1097-0142(20010815)92:4<875::aid-cnrc1396>3.0.co;2-1)
 35. Kazemian A, Kamian S, Aghili M et al. Benzylamine for prophylaxis of radiation-induced oral mucositis in head and neck cancers: a double-blind placebo-controlled randomized clinical trial // *Eur J Cancer Care (Engl)*. 2009;18:174-178. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2354.2008.00943.x>
 36. Johnson JT, Ferretti GA, Nethery WJ et al. Oral pilocarpine for post-irradiation xerostomia in patients with head and neck cancer // *N Engl J Med*. 1993;329:390-395. <https://doi.org/10.1056/NEJM199308053290603>
 37. Davies AN, Thompson J. Parasympathomimetic drugs for the treatment of salivary gland dysfunction due to radiotherapy // *Cochrane Database Syst Rev*. 2015;10. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD003782.pub3>
 38. Iwabuchi H, Iwabuchi E, Uchiyama K, Fujibayashi T. Study on reducing adverse reactions to pilocarpine hydrochloride -possibility of reducing sweating by adoption of multiple divided low-dose treatment // *J Jpn Soc Oral Mucous Membr*. 2010;16:17-23.
 39. Bamps M, Dok R, Nuyts S. Low-level laser therapy stimulates proliferation in head and neck squamous cell carcinoma cells // *Front Oncol*. 2018;8:253-256. <https://doi.org/10.3389/fonc.2018.00343>
 40. Lopes NNF, Plapler H, Chavantes MC et al. Cyclooxygenase-2 and vascular endothelial growth factor expression in 5-fluorouracil-induced oral mucositis in hamsters: evaluation of two low-intensity laser protocols // *Support Care Cancer*. 2009;17:1409-1415. <https://doi.org/10.1007/s00520-009-0603-9>
 41. Gautam AP, Fernandes DJ, Vidyasagar MS et al. Low level laser therapy for concurrent chemoradiotherapy induced oral mucositis in head and neck cancer patients — a triple blinded randomized controlled trial // *Radiother Oncol*. 2012;104:349-354. <https://doi.org/10.1016/j.radonc.2012.06.011>
 42. Lopes NNF, Plapler H, Lalla RV et al. Effects of low-level laser therapy on collagen expression and neutrophil infiltrate in 5-fluorouracil-induced oral mucositis in hamsters // *Lasers Surg Med*. 2010;42:546-552. <https://doi.org/10.1002/lsm.20920>
 43. Bjordal JM, Bensadoun R-J, Tuner J et al. A systematic review with meta-analysis of the effect of low-level laser therapy (LLLT) in cancer therapy-induced oral mucositis // *Support Care Cancer*. 2011;19:1069-1077. <https://doi.org/10.1007/s00520-011-1202-0>
 44. Reitemeier B, Reitemeier G, Schmidt A et al. Evaluation of a device for attenuation of electron release from dental restorations in a therapeutic radiation field // *J Prosthet Dent*. 2002;87:323-327.
 45. Kawashita Y, Hayashida S, Funahara M et al. Prophylactic bundle for radiation-induced oral mucositis in oral or oropharyngeal cancer patients // *J Cancer Res Ther*. 2014;2:9-13. <https://doi.org/10.14312/2052-4994.2014-2>
 46. Sánchez Alvarez C, Nuñez Ruiz R, MoránGarcía V. Nutritional support in the patient with GI malignancy // *Nutr Hosp*. 2005;20(2):38-40. PMID: 15981849
 47. Луфт В.М., Луфт А.В. Нутриционная поддержка онкологических больных: возможности и противоречия // *Вестник интенсивной терапии*. 2008;2:43-50. [Luft VM, Luft AV. Nutritional support of oncological patients: Possibilities and challenges. *Vestnik intensivnoyterapii* // *Vestnik intensivnoy terapii*. 2008;2:43-50. (In Russ.)].
 48. Scully C., Epstein J, Sonis S. Oral mucositis: a challenging complication of radiotherapy, chemotherapy and radiochemotherapy. Part 2: diagnosis and management of mucositis // *Head Neck*. 2004;26(1):77-84. <https://doi.org/10.1002/hed.10326>. PMID: 14724910
 49. Pauloski BR. Rehabilitation of dysphagia following head and neck cancer // *Phys Med Rehabil Clin N Am*. 2008;9:889-928. <https://doi.org/10.1016/j.pmr.2008.05.010>

Поступила в редакцию 07.05.2021 г.

*Z.A. Radzhabova, M.A. Kotov, O.A. Sereda,
U.A. Dadasheva, A.V. Pudina, G.A. Chizh*

Oral mucositis as a complication of antitumor treatment in patients with local — advanced head and neck cancer: narrative review

N.N. Petrov National Medical Research Center for Oncology Russia Ministry of Health, St Petersburg

Despite the understanding of the causes and mechanisms of oral mucositis, it remains a serious problem for patients receiving treatment for locally advanced head and neck cancer. Oral mucositis associated with cancer treatment in such patients reduces the quality of life and increases the risk of life-threatening complications.

Aim of this article is to evaluate the effectiveness of existing therapeutic options for the treatment of oral mucositis associated with the treatment of head and neck cancer. In our study, we used the databases Scopus, Google Scholar, PubMed, to analyze data on the etiology, pathogenesis, clinical features, prevention and treatment of oral mucositis. In some cases, the use of existing treatment methods reduces the risk of severe oral mucositis and improves the quality of life of patients, but most of them are symptomatic and palliative in nature. Further search for new methods of treatment is necessary.

To make a decision on treatment for oral mucositis, it is necessary to assess the severity of individual patient, which is determined by the ability to speak and take food through the mouth. Methods of prevention and treatment are aimed at increasing the tolerability of the treatment performed by patients and reducing the risk of complications associated with treatment.

Key words: oral mucositis, antitumor treatment, symptomatic treatment

*С.М. Банов¹, С.Л. Гуторов², И.В. Колядина³, А.В. Смолин¹, Е.В. Крюков⁴,
А.В. Голанов¹, Е.Р. Ветлова¹*

Рак молочной железы с метастазами в головной мозг: современные возможности лечения

¹ ФГАУ «НМИЦ Нейрохирургии им. акад. Н.Н. Бурденко»; Центр «Гамма-нож», Москва

² ФГБУ «НМИЦ РОНЦ им. Н.Н. Блохина», Москва

³ ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, Москва

⁴ ФГБВОУ «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова», Санкт-Петербург

Рак молочной железы — основная причина метастазов в головной мозг у женщин. Частота метастазов рака молочной железы в мозг продолжает расти, что, главным образом, связано с улучшением системной терапии, которая обеспечивает контроль экстракраниальных метастазов и увеличение выживаемости. Лечение метастазов рака молочной железы в головной мозг остается сложной задачей, несмотря на постоянное совершенствование локальных и системных методов лечения. В этом обзоре научной литературы представлены последние данные клинических исследований локального и системного лечения пациентов с метастазами рака молочной железы в головной мозг.

Ключевые слова: рак молочной железы, метастазы в головной мозг, обзор

Введение

Рак молочной железы является наиболее распространенным злокачественным новообразованием у женщин. Пятилетняя выживаемость при локальном, местно-распространённом и метастатическом РМЖ составляет 99, 86 и 27% соответственно [1]. В случае метастатического поражения головного мозга у пациентов с РМЖ показатель общей выживаемости на сроке 24 мес составляет 42% [2].

В последние годы смертность от РМЖ значительно снизилась, что является результатом раннего выявления болезни, совершенствования локального и системного компонентов лечения. Вместе с увеличением показателей общей выживаемости (ОВ) вовлеченность в метастатический процесс головного мозга возрастает [1].

РМЖ является системным заболеванием, при котором результаты лечения определяются эффективностью противоопухолевой лекарственной терапии. Однако, метастатические клетки РМЖ используют ткань головного мозга и нормально функционирующий гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) как средство защиты от

агрессивного противоопухолевого лекарственного лечения [3].

В практическом аспекте улучшение ОВ пациентов с диагнозом РМЖ позволило определить центральную нервную систему как место позднего метастазирования, что обусловило разработку методов нейровизуализации и локального лечения МГМ. Совершенствование технологий нейровизуализации, нейрохирургических и радиотерапевтических методов лечения способствовало внедрению в клиническую практику безопасных, малоинвазивных и эффективных методов локального лечения МГМ. Результаты генетического анализа РМЖ позволили установить наличие различных подтипов опухоли, характеризующихся как своеобразием молекулярно-генетического профиля, так и существенными различиями в течении болезни и прогноза лечения.

В статье будут рассмотрены последние достижения, которые являются основополагающими для современного уровня диагностики и лечения пациентов с метастазами РМЖ в головной мозг.

Частота метастазирования РМЖ в головной мозг

У пациентов с ранними стадиями заболевания выполнение скрининговой МРТ головного мозга позволяет выявлять бессимптомные МГМ у 0,1–3,2% больных, ввиду чего скрининг метастатического поражения головного мозга в этой когорте пациентов нецелесообразен даже среди женщин с HER2 позитивным и тройным негативным подтипами (ТНП) РМЖ. Однако, в случае генерализации болезни в указанных выше подтипах 1-летняя кумулятивная встречаемость МГМ колеблется от 10% до 30%, что уже может оправдать скрининг бессимптомных МГМ [4].

В текущих проспективных исследованиях изучается роль магнитно-резонансной томографии (МРТ) головного мозга при РМЖ различных подтипов. В проспективном исследовании (иден-

тификатор [clinicaltrials.gov: NCT03881605](https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT03881605)) планируется рандомизация пациентов с метастатическим HER2 позитивным и тройным негативным подтипами РМЖ без визуализируемых МГМ в группы проведения МРТ-скрининга головного мозга и клинического наблюдения до момента развития симптоматических МГМ. Задача исследования заключается в анализе генетической структуры метастазирующих в головной мозг опухолей и оценки диагностической ценности функциональной МРТ, которая способна выявлять аномальный метаболизм в головном мозге на ранних этапах его формирования. В случае положительных результатов исследования планируется проведение большого многоцентрового рандомизированного исследования для того, чтобы определить, может ли раннее выявление МГМ улучшить результаты лечения этой когорты больных.

В другом клиническом исследовании II фазы (идентификатор [clinicaltrials.gov: NCT04030507](https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT04030507)) планируется изучить эффективность МРТ у пациентов, где МРТ головного мозга с целью раннего выявления МГМ в настоящее время не рекомендуются или не проводятся систематически. В исследовании планируется изучить диагностическую ценность МРТ головного мозга у пациентов с различными подтипами РМЖ. Окончание исследования ожидается в июле 2023 г.

Прогноз общей выживаемости у пациентов с метастазами РМЖ в головной мозг

Учитывая, что медиана ОВ для пациентов с метастазами РМЖ в головной мозг варьирует в широких пределах, были проведены исследования для определения факторов прогноза ОВ. Функциональный статус и генетический подтип опухоли являются доминирующими прогностическими факторами общей выживаемости. Классификационный прогностический анализ (RTOG Graded Prognostic Analysis- GPA) является основным инструментом прогноза ОВ пациентов с метастазами РМЖ в головной мозг. В этом инструменте возраст оказывает сравнительно небольшое влияние на прогноз, а количество МГМ и экстракраниальный статус болезни не являются прогностическими факторами [5].

В исследовании из MD Anderson cancer center (MDACC) представлена модификация прогностического инструмента (Modified Breast-GPA Index), в котором показано, что число МГМ и возраст, наряду с генетическим подтипом и функциональным статусом, являются значимым прогностическими факторами ОВ у пациентов с метастазами РМЖ в головной мозг [6].

В обновленный GPA-РМЖ индекс прогноза ОВ для пациентов с метастазами РМЖ в

головной мозг (онлайн-калькулятор на сайте brainmetgra.com) были включены: генетический подтип опухоли, функциональный статус (индекс Карновского), возраст, количество МГМ и экстракраниальный статус болезни.

В целом можно сказать, что подтип опухоли и функциональный статус пациентов оказывают гораздо большее влияние на прогноз, чем число МГМ. Истинное прогностическое значение числа МГМ остается не ясным, и его влияние на выживаемость пациентов в зависимости от подтипа РМЖ неизвестно.

Лечение пациентов с метастазами РМЖ в головной мозг

Варианты лечения пациентов с метастазами РМЖ в головной мозг традиционно основывались на преимущественном применении нейрохирургии и радиотерапии (облучение всего головного мозга и стереотаксическая радиотерапия). Нейрохирургическое лечение может улучшить выживаемость у пациентов с высоким функциональным статусом и ограниченным (1–4 очага) метастатическим поражением головного мозга, при наличии крупных или симптоматических МГМ [7].

Пациентам с небольшими по размеру МГМ и наличием ограниченного метастатического поражения головного мозга, как правило, проводится радиохирургия, в то время как пациенты с множественными МГМ обычно получают облучение всего головного мозга (ОВГМ). Традиционно, роль системной терапии для пациентов с метастазами РМЖ в головной мозг была ограничена из-за низкого проникновения препаратов через ГЭБ [8].

Тем не менее, роль противоопухолевой лекарственной терапии у пациентов с метастазами РМЖ в головной мозг значительно увеличилась после получения результатов клинических исследований эффективности анти-Her2-терапии в соответствующих когортах пациентов.

Нейрохирургическое лечение

Нейрохирургическое лечение и стереотаксическая радиотерапия являются эффективными инструментами локального контроля МГМ [9, 10].

Современные достижения в области малоинвазивных методик нейрохирургии, развитие нейронавигации под контролем интраоперационной визуализации и картирования мозга, обеспечили возможность выполнения безопасной резекции метастатических очагов, локализованных в глубинных или функциональных зонах мозга. Методики нейрохирургии быстро развиваются

и ожидается, что они станут важной частью глобального лечения пациентов с метастазами РМЖ в головной мозг. Новым аспектом применения нейрохирургии является ликвидация симптоматического масс-эффекта у пациентов с резистентным к проводимой терапии симптоматическим радионекрозом. Кроме того, локальный рецидив после серии сеансов радиохирургии так же является предметом нейрохирургического лечения. Другая роль нейрохирургии связана с тем, что генетический профиль метастазов РМЖ в головной мозг отличается от аналогичного профиля первичной опухоли или экстракраниальных метастазов. Следовательно, резекция или биопсия МГМ могут предоставить новые данные для выбора индивидуальной терапии [7].

Радиотерапия

Исторически ОВГМ было стандартным лечением для пациентов с метастазами в мозг. Роль ОВГМ уменьшилась в последние годы из-за связанных с этим лечением когнитивных нарушений, что привело к применению ОВГМ только у пациентов с множественными МГМ.

Роль радиохирургии в лечении МГМ расширяется из-за высокой конформности, которая позволяет сохранить значительный объем здоровой мозговой ткани и обеспечить высокие показатели локального контроля.

Радиохирургия может быть предпочтительным вариантом локального лечения для большинства пациентов с бессимптомными МГМ при отсутствии показаний к нейрохирургии; для очагов, локализованных в глубинных и функциональных областях мозга; с множественными МГМ, при условии, что их суммарный объем и количество позволяют обеспечить эффективную и безопасную доставку ионизирующего излучения к метастатическим очагам.

В серии проведенных исследований D. Kondziolka и соавт. [11], D. Andrews и соавт. [12], H. Aoyama и соавт. [13], E. Chang и соавт. [14] и M. Kocher и соавт. [15], было показано, что добавление к радиохирургии ОВГМ у пациентов с ограниченным метастатическим поражением головного мозга не обеспечивает увеличение ОВ, увеличивает риск когнитивных расстройств, снижает качество жизни пациентов, но достоверно снижает риск интракраниальной прогрессии и, соответственно, снижает потребность в применении «salvage»-терапии.

Проведенный A. Sahgal и соавт. [16] метаанализ результатов исследований H. Aoyama и соавт., E. Chang и соавт. и M. Kocher и соавт. показал, что для пациентов в возрасте ≤ 50 лет добавление ОВГМ к радиохирургии не влияло на риск интракраниальной прогрессии, но до-

стоверно ухудшало ОВ пациентов, в то время как у пациентов ≥ 50 лет применение ОВГМ снижало риск интракраниальной прогрессии, но не увеличило ОВ. В настоящее время ОВГМ резервируется у пациентов с множественными МГМ. Однако результаты многоцентрового проспективного исследования M. Yamamoto [17] показали, что радиохирургия может безопасно и эффективно применяться в тщательно отобранной группе пациентов с множественными метастазами в головной мозг.

У пациентов с метастазами РМЖ в головной мозг применение ОВГМ обеспечивает ограниченный локальный контроль с интракраниальной прогрессией у 42% пациентов, в среднем, через 3–5 мес [18]. Проведение радиохирургии в случае развития интракраниального рецидива после выполнения ОВГМ обеспечивает увеличение медианы выживаемости до 10,3–14 мес [19].

Наличие метастазов ТНП РМЖ в головной мозг обуславливает плохой прогноз общей выживаемости после радиохирургии с медианой ОВ 6 мес в сравнении с 16 мес при наличии других подтипов РМЖ [20].

В исследовании MD Anderson Cancer Center была проведена оценка эффективности локального лечения (нейрохирургия, радиохирургия и ОВГМ) у 873 пациентов с метастазами РМЖ в головной мозг. Проведение ОВГМ увеличило выживаемость только в группе пациентов с множественными МГМ ($p=0,004$) [21].

Из-за недостаточной эффективности ОВГМ и высокого риска когнитивных расстройств в последних руководствах по лечению пациентов с МГМ не рекомендуют проведение ОВГМ как адьюванта после нейрохирургического или радиохирургического лечения, склоняясь в сторону проведения МРТ-контроля головного мозга и проведения повторного локального лечения у пациентов с ограниченными МГМ [22].

Противоопухолевая лекарственная терапия

Имеющиеся клинические данные применения противоопухолевой лекарственной терапии у пациентов с МГМ ограничены. Имеются несколько неконтролируемых исследований, небольшие исследования II фазы, вторичные ретроспективные выборочные анализы серий из больших исследований III фазы, которые показали, что отдельные противоопухолевые препараты обладают активностью в отношении метастазов РМЖ в головном мозге.

HER2-положительный подтип РМЖ

Наиболее полноценно изучены лекарственные методы лечения пациентов с HER2-

положительным подтипом РМЖ. Анти-HER2 препараты могут быть классифицированы на моноклональные антитела (трастузумаб, пертузумаб), конъюгаты антитело и лекарственное средство (T-DM1), и низкомолекулярные ингибиторы тирозинкиназы (лапатиниб, нератиниб). Несмотря на то, что большинство анти-HER2 препаратов имеют ограниченное проникновение в ЦНС, их применение значительно улучшило ОВ и выживаемость без прогрессии у пациентов с метастазами РМЖ в головной мозг [23].

Трастузумаб содержащие режимы

Трастузумаб. Терапия трастузумабом после развития МГМ у пациентов с HER2-позитивным подтипом РМЖ обеспечила улучшение ОВ. В исследовании R. Le Scodan и соавт. [24] после проведения анализа результатов лечения 130 пациентов с прогрессирующими, после проведения ОВГМ, метастазами РМЖ в головной мозг, было отмечено значительное увеличение медианы ОВ в группе с Her2-позитивным подтипом и терапией трастузумабом, в сравнении с пациентами с Her2-позитивным подтипом без терапии трастузумабом или с группой пациентов с Her2-негативным подтипом РМЖ ($p < 0,004$).

В систематическом обзоре P. Larsen и соавт. [25] представлены результаты 18 клинических исследований оценки эффективности трастузумаба у пациентов с метастазами РМЖ в головной мозг. Во всех исследованиях показано преимущество в отношении общей выживаемости в случае продолжения терапии трастузумабом после диагностики МГМ.

Аналогичные результаты представлены в исследовании M.D. Anderson cancer center [26]. У пациентов, получавших трастузумаб до развития МГМ, с дальнейшим продолжением анти-HER2 терапии было отмечено увеличение ОВ ($p = 0,005$) и времени до интракраниальной прогрессии ($p = 0,003$). Смена режима лекарственной терапии с трастузумаба на другие анти-HER2-препараты не обеспечила дальнейшее увеличение ОВ в сравнении с продолжением терапии трастузумабом. Улучшение выживаемости пациентов в указанных исследованиях, скорее всего, было связано с эффективным контролем экстракраниальных метастазов, а не с прямым влиянием трастузумаба на МГМ.

Пертузумаб. Результаты исследования III фазы CLEOPATRA (идентификатор [clinicaltrials.gov: NCT00567190](https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT00567190)) продемонстрировали значительные улучшения выживаемости без прогрессирования и увеличение ОВ в группе терапии пертузумабом, в сравнении с плацебо на фоне применения трастузумаба и доцетаксела в обеих группах.

Повторный анализ результатов исследования показал, что частота интракраниальной прогрессии была одинаковой в группах пертузумаба и плацебо, однако среднее время до развития МГМ, как первого места прогрессирования заболевания было 11,9 мес в группе плацебо и 15,0 мес в группе пертузумаба ($p = 0,0049$) с тенденцией к увеличению общей выживаемости пациентов в группе пертузумаба ($p = 0,0449$) [27].

Результаты исследования показали принципиальную возможность лекарственной терапии снижать частоту интракраниальной прогрессии и увеличивать время как до развития интракраниальной прогрессии, так и до появления симптомов МГМ, требующих локального лечения.

Трастузумаб эмтанзин (T-DM1). T-DM1 для лечения метастатического РМЖ был одобрен на основе публикации окончательных результатов рандомизированного исследования III фазы EMILIA (идентификатор [clinicaltrials.gov: NCT00829166](https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT00829166)). В это исследование были включены пациенты с прогрессирующим, после терапии трастузумабом и таксанами, Her2-позитивным РМЖ. В исследовании изучили эффективность комбинации лапатиниба и капецитабина в сравнении с терапией T-DM1. Терапия T-DM1 значительно увеличила ОВ и выживаемость без прогрессирования с меньшей токсичностью, чем комбинация лапатиниба и капецитабина.

В этом исследовании у 95 (9,6%) из 991 пациентов, на момент включения в исследование, были стабильные и бессимптомные МГМ. В этой когорте пациентов было отмечено значительное улучшение общей выживаемости в группе терапии T-DM1 по сравнению с группой терапии капецитабином и лапатинибом ($p = 0,0081$) при одинаковой медиане выживаемости без интракраниальной прогрессии. Таким образом у пациентов с бессимптомными метастазами РМЖ в головной мозг терапия T-DM1 ассоциировалась с увеличением ОВ в сравнении с терапией лапатинибом и капецитабином, которое так же объясняется улучшением контроля экстракраниальных метастазов [28].

Однако, появляются клинические данные, показывающие объективный ответ МГМ на терапию T-DM1 у пациентов с лептоменингеальной прогрессией [29] и очаговыми МГМ [30].

Трастузумаб дерукстекал (T-DXd). Эффективность T-DXd была изучена в исследовании DESTINY-Breast01 (идентификатор [clinicaltrials.gov: NCT03248492](https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT03248492)). В исследование включены 184 пациента, которые, в среднем, получили шесть линий лекарственного лечения, включая анти-HER2 терапию трастузумабом и T-DM1. Клиническая эффективность препарата была за-

регистрована у 112 (60,9%) пациентов. Медиана выживаемости без прогрессии составила 16,4 мес в целом по группе и 18,1 мес у пациентов с бессимптомными МГМ с частотой объективного ответа со стороны МГМ у 14 (58,3%) из 24 пациентов. T-DXd показал стойкую противоопухолевую активность у пациентов с экстракраниальной прогрессией на фоне нескольких линий лекарственной терапии и стабильными МГМ.

Ингибиторы тирозинкиназы

Лапатиниб. В исследовании CEREBEL (идентификатор [clinicaltrials.gov: NCT00820222](https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT00820222)) сравнили частоту метастазирования в головной мозг как первого места прогрессирования у пациентов с Her2-позитивным РМЖ, получающих терапию лапатинибом или трастузумабом на фоне терапии капецитабином в обеих группах. Частота метастазирования в головной мозг была одинаковой в обеих группах ($p=0,360$). ОВ и выживаемость без прогрессии были лучше в группе применения трастузумаба в сравнении с группой лапатиниба. Исследование не дает окончательного результата о преимуществе терапии трастузумабом, поскольку на эффективность лапатиниба могло повлиять предшествующее назначение трастузумаба и/или назначение лапатиниба как в первой, так и в последующих линиях прогрессирующего РМЖ.

В многоцентровом исследовании II фазы LANDSCAPE (идентификатор [clinicaltrials.gov: NCT00967031](https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT00967031)) лапатиниб применяли у пациентов с HER2-позитивным РМЖ с метастазами в головной мозг, ранее не получавших ОВГМ, капецитабин или лапатиниб. Результаты показали, что у 29 пациентов был достигнут объективный ответ в головном мозге (65,9%), во всех случаях — частичный. У 49% пациентов были побочные эффекты 3–4 степени, связанные с лечением [31].

Нератиниб. Доклинические данные показали, что нератиниб, являясь необратимым ингибитором рецепторов HER2, HER4 и EGFR, может проникать через ГЭБ и преодолевать резистентность к трастузумабу или лапатинибу.

В многоцентровом открытом исследовании II фазы TBCRC 022 [32] пациенты с измеримыми метастазами в головном мозге прогрессирующего HER2-позитивного РМЖ (у 92% пациентов была интракраниальная прогрессия после проведения нейрохирургии или радиотерапии) получали нератиниб и капецитабин. В исследование были включены пациенты ранее получавшие ($n=12$) и не получавшие ($n=37$) лапатиниб. Частота объективного ответа МГМ в группе без терапии лапатинибом в анамнезе

составила 49%, а в группе с проведенной ранее терапией лапатинибом — 33%. Медиана выживаемости без прогрессирования составила 5,5 и 3,1 мес, а медиана общей выживаемости — 13,3 и 15,1 мес соответственно. Результаты исследования показали, что комбинация нератиниба и капецитабина активна в отношении резистентных к анти-HER2-терапии метастазов РМЖ в головной мозг.

В рандомизированном исследовании NEfERT-T [33] 479 пациентов с Her2-позитивным подтипом РМЖ были распределены в группы терапии нератинибом или трастузумабом, каждый из которых комбинировался с паклитаксолом. Результаты исследования показали, что при Her2-позитивном метастатическом РМЖ в первой линии терапии нератиниб не превосходил трастузумаб с точки зрения выживаемости без прогрессирования ($p=0,89$). Однако, несмотря на схожую общую эффективность, нератиниб снижает частоту ($p=0,002$) и увеличивает время ($p=0,004$) до интракраниальной прогрессии в сравнении с терапией трастузумабом.

В многоцентровом рандомизированном исследовании NALA (идентификатор [clinicaltrials.gov: NCT01808573](https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT01808573)) проведено сравнение эффективности нератиниба и лапатиниба, каждый из которых комбинировался с капецитабином у пациентов с HER2 позитивным подтипом метастатического рака молочной железы, которые ранее получали 2 и более линий анти-HER2-терапии. Нератиниб значительно улучшил выживаемость без прогрессии ($p=0,006$) с тенденцией к улучшению ОВ ($p=0,2086$) в сравнении с лапатинибом и обеспечил увеличение времени до локального лечения у пациентов с симптоматическими МГМ ($p=0,043$).

Данные клинических исследований TBCRC 022, NEfERT-T и NALA свидетельствуют об эффективности применения нератиниба у пациентов с метастазами HER2 позитивного подтипа РМЖ в головной мозг. В исследовании А. Awada и соавт. [34] проведён анализ результатов этих трех исследований с акцентом на объективный ответ МГМ, выживаемости без интракраниальной прогрессии и времени до локального лечения по поводу симптоматических МГМ. Нератиниб продемонстрировал отчетливую активность в отношении МГМ у пациентов с HER2-позитивным подтипом РМЖ в двух независимых исследованиях II фазы (TBCRC 022, NEfERT-T) и одном исследовании III фазы (NALA). Имеются клинические данные преимущества нератиниба в отношении снижения риска развития МГМ, показанные в исследовании NEfERT-T и воспроизведенные в исследовании NALA. Наличие объективного ответа МГМ на терапию

нератинибом ассоциировалось с увеличением ОВ и выживаемости без интракраниальной прогрессии, в сравнении с аналогичными показателями у пациентов без объективных ответов со стороны МГМ.

Тукатиниб. Исследование HER2CLIMB (идентификатор [clintrials.gov: NCT02614794](https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT02614794)). Было первым рандомизированным исследованием эффективности тукатиниба, в которое были включены пациенты с прогрессированием болезни после терапии трастузумабом, пертузумабом и T-DM1. Применение тукатиниба в комбинации с трастузумабом и капецитабином значительно улучшило общую выживаемость ($p=0,0048$) и выживаемость без прогрессирования ($p<0,00001$) с приемлемыми профилем безопасности и частотой прекращения лечения в сравнении с группой плацебо. У пациентов со стабильными или прогрессирующими метастазами РМЖ в головной мозг выживаемость без интракраниальной прогрессии на сроке 12 мес составила 24,9% в группе тукатиниба, в сравнении с 0% в группе плацебо ($p<0,001$). Таким образом, этот режим может стать новым стандартом лечения пациентов с метастазами Her2-позитивного РМЖ в головной мозг.

Гормон-положительные подтипы РМЖ

Эффективность эндокринной терапии в отношении гормон-положительных метастазов РМЖ в головной мозг недостаточно изучена, однако нельзя исключать её эффективность при обнаружении МГМ [35].

Вероятность развития метастазов в головной мозг ниже у пациентов с гормон-положительным РМЖ, чем у пациентов с другими подтипами РМЖ [36].

Эндокринная терапия может быть эффективной при экстракраниальных метастазах, но у большинства пациентов к тому времени, когда у них развиваются МГМ, наблюдается эндокринно-рефрактерное заболевание. В доклинических исследованиях показано, что среди доступных ингибиторов CDK 4/6 абемациклиб лучше проникает в головной мозг, чем палбоциклиб [37].

К настоящему времени было проведено только одно исследование эффективности абемациклиба (JPVO) у пациентов с метастазами Lum A подтипа РМЖ в головной мозг [38]. Из 52 пациентов, включенных в исследование, частота общего ответа МГМ, сохраняющаяся в течение 6 и более месяцев составила 25%. Медиана выживаемости без интракраниальной прогрессии составила 4,4 мес. Эффективность ингибиторов CDK4/6 при метастазах в головной мозг еще предстоит изучить в будущих клинических исследованиях.

Тройной негативный подтип РМЖ

Системный подход в лечении пациентов с метастазами ТНП РМЖ в головной мозг заключается в проведении тех же режимов химиотерапии, которые применяются при лечении экстракраниальных метастазов. Следовательно, для пациентов этой подгруппы функционирование ГЭБ имеет решающее значение в обеспечении доставки противоопухолевых лекарств к метастатическому очагу в мозге.

Частота объективного ответа МГМ на стандартные комбинации химиотерапии колеблется от 0 до 55% [39]. В частности, полный и частичный ответ метастазов РМЖ в головной мозг после проведения химиотерапии цисплатином и этопозидом составил 13 и 25% соответственно [40].

Бевацизумаб. Предварительные результаты двух проспективных исследований II фазы показали благоприятный профиль безопасности и эффективность добавления бевацизумаба к цисплатину и этопозиду [41] и карбоплатину [42] у пациентов с метастазами РМЖ в головной мозг.

В проспективном исследовании Y. Lu и соавт. [41] было включено 35 пациентов с прогрессирующими метастазами РМЖ в головной мозг после проведения ОВГМ. Бевацизумаб вводили за сутки до введения этопозидом и цисплатина. У 27 пациентов (77,1%) указанный режим позволил достичь объективного ответа МГМ, включая 13 пациентов (37,1%) с уменьшением объема метастатических очагов в головном мозге на 80% и больше. При среднем сроке наблюдения 16,1 мес, медианы выживаемости без интракраниальной прогрессии и общей выживаемости составляли 7,3 и 10,5 мес соответственно.

Эрибулин. В многоцентровом проспективном наблюдательном исследовании VESPRY [43] оценили эффективность и переносимость эрибулина в качестве третьей линии терапии. Из 118 пациентов, включенных в исследование, у 21 (20,4%) был ТНП РМЖ и у 12 пациентов были МГМ. Стабилизация, частичный ответ и прогрессия МГМ были зарегистрированы в 4 (16%), 17 (68%) и 4 (16%) из 25 метастатических очагов в головном мозге, соответственно.

В российское исследование оценки эффективности эрибулина были включены 35 пациентов с метастатическим поражением головного мозга, из которых у 24 пациентов МГМ прогрессировали после ранее проведенной радиотерапии. У 32,4% включенных в исследование пациентов был ТНП РМЖ. Клиническая эффективность (частота объективных ответов МГМ и интракраниальная стабилизация более 6 мес) составила 48,6% [44].

Аналогичные результаты показаны в исследовании M. Sirven и соавт. [45], в котором проведена оценка эффективности эрибулина у 95 пациентов с Her2-негативным РМЖ, из которых у 20 (21%) пациентов были МГМ. Клиническая эффективность в отношении МГМ на сроке более 6 мес была достигнута у 9 (45%) пациентов. Эрибулин в качестве препарата третьей линии показывает приемлемый профиль безопасности и противоопухолевую активность при лечении метастазов РМЖ в головной мозг.

Этиринотекан. В исследовании III фазы BEACON (идентификатор [clinicaltrials.gov: NCT02915744](https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT02915744)) этиринотекан (Etirinotecan pegol) — новый, пегилированный ингибитор топоизомеразы-1 длительного действия, продемонстрировал улучшение ОВ у пациентов с РМЖ в сравнении с группой «терапия по выбору врача». В подгрупповой анализ включены 67 пациентов с метастазами РМЖ в головной мозг: в группу этиринотекана — 36 пациентов; в группу «терапия по выбору врача» — 31 пациент. У 89,2% пациентов были HER2-отрицательные подтипы, из них у 26,8% пациентов — ТНП. Применение этиринотекана было связано со значительным снижением риска смерти ($p=0,01$) по сравнению с группой «терапия по выбору врача». Значительное улучшение выживаемости предоставляет обнадеживающие клинические данные для применения этиринотекана в этой сложной для лечения подгруппе пациентов [46]. В настоящее время проводится подтверждающее исследование III фазы ATTAIN (идентификатор [clinicaltrials.gov: NCT02915744](https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT02915744)). Исследование позволит уточнить эффективность этиринотекана у пациентов со стабильными метастазами РМЖ в головной мозг.

ANG1005. Препарат ANG1005 состоит из 3 молекул паклитаксела ковалентно связанных с ангиопептидом-2, предназначенным для проникновения через ГЭБ используя транспортную систему LRP1. Получены доклинические и клинические доказательства эффективности с ANG1005 при метастатическом поражении головного мозга. Стабилизация или регрессия интракраниальных метастатических очагов наблюдалась у 77% пациентов с медианой общей выживаемости 8 мес [47].

Клинические исследования эффективности лекарственной терапии пациентов с МГМ продолжаются.

Заключение

Значительная неоднородность результатов клинических исследований у пациентов с метастазами РМЖ в головной мозг обуславливает необходимость оптимизации стратегии лечебных

подходов в этой когорте пациентов, что включает раннее выявление МГМ, совершенствование методов нейрохирургии и доставки дозы ионизирующего излучения к метастатическому очагу, изучение биологии метастазов в головном мозге для улучшения результатов системного лечения.

Важным аспектом улучшения результатов лечения этой когорты пациентов является мультидисциплинарный подход, с учетом интра- и экстракраниальной распространенности болезни, рисков и преимуществ каждого лечебного метода, состояния пациентов и наличием доступных резервов лекарственной терапии.

Локальное лечение пациентов с метастазами РМЖ в головной мозг остается основным методом лечения в большинстве клинических ситуаций. Выбор метода локального лечения зависит от рентгенологической картины метастатического поражения головного мозга, степени выраженности неврологической симптоматики, функционального статуса и активности экстракраниальных метастазов.

При изолированном метастатическом поражении головного мозга или контролируемом экстракраниальном опухолевом процессе, а также в случае экстракраниальной прогрессии и наличии доступных резервов эффективного системного лечения, рекомендуется проведение высокоточных методик локального лечения: микро-нейрохирургии и/или стереотаксической радиотерапии в режиме радиохирургии или гипофракционирования.

У пациентов с неконтролируемой экстракраниальной прогрессией и отсутствием резервов эффективной противоопухолевой лекарственной терапии методом выбора локального лечения является ОБГМ в самостоятельном варианте лечения или в комбинации с радиохирургией или нейрохирургией.

Результаты проведенных исследований продемонстрировали значительный интерес к лекарственной терапии пациентов с метастазами РМЖ в головной мозг. Однако необходимо отметить, что несмотря на появляющиеся клинические данные, показывающие эффективность лекарственной терапии в отношении снижения риска интракраниальной прогрессии или регрессии МГМ, пока недостаточно клинических доказательств, чтобы рекомендовать какую-либо лекарственную комбинацию для отсрочки локального лечения первично диагностированных МГМ у пациентов, ранее не получавших интракраниальную радиотерапию [48].

На данный момент противоопухолевая лекарственная терапия является вариантом лечения пациентов с интракраниальной прогрессией после проведения локального лечения. Проводятся новые клинические исследования (таблица)

с целью поиска новых лекарственных препаратов, которые позволят существенно изменить результаты лечения пациентов с метастазами РМЖ в головной мозг.

ЛИТЕРАТУРА

- American Cancer Society. Cancer Facts & Figures. 2020. <https://doi.org/www.cancer.org/content/dam/cancer-org/research/cancer-facts-and-statistics/annual-cancer-facts-and-figures/2020/cancer-facts-and-figures-2020.pdf>
- Банов С.М., Голанов А.В., Ветлова Е.Р. и др. Результаты радиохирургического лечения пациентов с метастатическим поражением головного мозга // Вопросы онкологии. 2017;63:52–61.
- Gavrilovic IT, Posner JB. Brain metastases: epidemiology and pathophysiology // *J Neurooncol*. 2005;75:5–14. <https://doi.org/10.1007/s11060-004-8093-6>
- Komorowski AS, Warner E, MacKay HJ et al. Incidence of Brain Metastases in Nonmetastatic and Metastatic Breast Cancer: Is There a Role for Screening? // *Clin Breast Cancer*. 2020;20: e54–e64. <https://doi.org/10.1016/j.clbc.2019.06.007>
- Sperduto PW, Kased N, Roberge D et al. The effect of tumor subtype on the time from primary diagnosis to development of brain metastases and survival in patients with breast cancer // *J Neurooncol*. 2013;112:467–72. <https://doi.org/10.1007/s11060-013-1083-9>
- Subbiah IM, Lei X, Weinberg JS et al. Validation and Development of a Modified Breast Graded Prognostic Assessment as a Tool for Survival in Patients With Breast Cancer and Brain Metastases // *JCO*. 2015;33:2239–45. <https://doi.org/10.1200/JCO.2014.58.8517>
- Jandial R, Hoshide R, Waters JD, Somlo G. Operative and Therapeutic Advancements in Breast Cancer Metastases to the Brain // *Clin Breast Cancer*. 2018;18:e455–e467. <https://doi.org/10.1016/j.clbc.2017.10.002>
- Lockman PR, Mittapalli RK, Taskar KS et al. Heterogeneous blood-tumor barrier permeability determines drug efficacy in experimental brain metastases of breast cancer // *Clin Cancer Res*. 2010;16:5664–78. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-10-1564>
- Muacevic A, Wowra B, Siefert A et al. Microsurgery plus whole brain irradiation versus Gamma Knife surgery alone for treatment of single metastases to the brain: a randomized controlled multicentre phase III trial // *J Neurooncol*. 2008;87:299–307. <https://doi.org/10.1007/s11060-007-9510-4>
- Roos DE, Smith JG, Stephens SW. Radiosurgery versus surgery, both with adjuvant whole brain radiotherapy, for solitary brain metastases: a randomised controlled trial // *Clin Oncol (R Coll Radiol)*. 2011;23:646–51. <https://doi.org/10.1016/j.clon.2011.04.009>
- Kondziolka D, Patel A, Lunsford L, Kassam A, Flickinger JC. Stereotactic radiosurgery plus whole brain radiotherapy versus radiotherapy alone for patients with multiple brain metastases // *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics*. 1999;45:427–34. [https://doi.org/10.1016/S0360-3016\(99\)00198-4](https://doi.org/10.1016/S0360-3016(99)00198-4)
- Andrews DW, Scott CB, Sperduto PW et al. Whole brain radiation therapy with or without stereotactic radiosurgery boost for patients with one to three brain metastases: phase III results of the RTOG 9508 randomised trial // *The Lancet*. 2004;363:1665–72. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(04\)16250-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(04)16250-8)
- Aoyama H, Shirato H, Tago M et al. Stereotactic radiosurgery plus whole-brain radiation therapy vs stereotactic radiosurgery alone for treatment of brain metastases: a randomized controlled trial // *JAMA*. 2006;295:2483–91. <https://doi.org/10.1001/jama.295.21.2483>
- Chang EL, Wefel JS, Hess KR et al. Neurocognition in patients with brain metastases treated with radiosurgery or radiosurgery plus whole-brain irradiation: a randomised controlled trial // *The Lancet Oncology*. 2009;10:1037–44. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(09\)70263-3](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(09)70263-3)
- Kocher M, Soffiatti R, Abacioglu U et al. Adjuvant whole-brain radiotherapy versus observation after radiosurgery or surgical resection of one to three cerebral metastases: results of the EORTC 22952-26001 study // *J Clin Oncol*. 2011;29:134–41. <https://doi.org/10.1200/JCO.2010.30.1655>
- Sahgal A, Aoyama H, Kocher M et al. Phase 3 trials of stereotactic radiosurgery with or without whole-brain radiation therapy for 1 to 4 brain metastases: individual patient data meta-analysis // *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2015;91:710–7. <https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2014.10.024>
- Yamamoto M, Serizawa T, Shuto T et al. Stereotactic radiosurgery for patients with multiple brain metastases (JL GK0901): a multi-institutional prospective observational study // *Lancet Oncol*. 2014;15:387–95. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(14\)70061-0](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(14)70061-0)
- Ogura M, Mitsumori M, Okumura S et al. Radiation therapy for brain metastases from breast cancer // *Breast Cancer*. 2003;10:349–55. <https://doi.org/10.1007/BF02967656>
- Kondziolka D, Kano H, Harrison GL et al. Stereotactic radiosurgery as primary and salvage treatment for brain metastases from breast cancer. Clinical article // *J Neurosurg*. 2011;114:792–800. <https://doi.org/10.3171/2010.8.JNS10461>
- Xu Z, Schlesinger D, Toulmin S, Rich T, Sheehan J. Impact of triple-negative phenotype on prognosis of patients with breast cancer brain metastases // *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2012;84:612–8. <https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2011.12.054>
- Gao C, Wang F, Suki D et al. Effects of systemic therapy and local therapy on outcomes of 873 breast cancer patients with metastatic breast cancer to brain: MD Anderson Cancer Center experience // *Int J Cancer*. 2020;1:1–10. <https://doi.org/10.1002/ijc.33243>
- Soffiatti R, Abacioglu U, Baumert B et al. Diagnosis and treatment of brain metastases from solid tumors: guidelines from the European Association of Neuro-Oncology (EANO) // *Neuro-oncology*. 2017;19:162–74. <https://doi.org/10.1093/neuonc/now241>
- Дашян Г.А., Семиглазов В.Ф., Криворотько П.В. и др. Роль таргетной терапии в лечении метастатического HER-2-положительного рака молочной железы с поражением головного мозга // *Опухоли женской репродуктивной системы*. 2016;12:46–51.
- Romuald Le Scodan, Ludivine Jouanneau, Christophe Massard et al. Brain metastases from breast cancer: prognostic significance of HER-2 overexpression, effect of trastuzumab and cause of death // *BMC Cancer*. 2011;11:395.
- Larsen PB, Kümler I, Nielsen DL. A systematic review of trastuzumab and lapatinib in the treatment of women with brain metastases from HER2-positive breast cancer //

- Cancer Treat Rev. 2013;39:720–7. <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2013.01.006>
26. Park YH, Park MJ, Ji SH et al. Trastuzumab treatment improves brain metastasis outcomes through control and durable prolongation of systemic extracranial disease in HER2-overexpressing breast cancer patients // *Br J Cancer*. 2009;100:894–900. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6604941>
 27. Swain SM, Baselga J, Miles D et al. Incidence of central nervous system metastases in patients with HER2-positive metastatic breast cancer treated with pertuzumab, trastuzumab, and docetaxel: results from the randomized phase III study CLEOPATRA // *Ann Oncol*. 2014;25:1116–21. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdu133>
 28. Krop IE, Lin NU, Blackwell K et al. Trastuzumab emtansine (T-DM1) versus lapatinib plus capecitabine in patients with HER2-positive metastatic breast cancer and central nervous system metastases: a retrospective, exploratory analysis in EMILIA // *Ann Oncol*. 2015;26:113–9. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdu486>
 29. Ricciardi GRR, Russo A, Franchina T et al. Efficacy of T-DM1 for leptomeningeal and brain metastases in a HER2 positive metastatic breast cancer patient: new directions for systemic therapy — a case report and literature review // *BMC Cancer*. 2018;18:97. <https://doi.org/10.1186/s12885-018-3994-5>
 30. Jacot W, Pons E, Frenel J-S et al. Efficacy and safety of trastuzumab emtansine (T-DM1) in patients with HER2-positive breast cancer with brain metastases // *Breast Cancer Res Treat*. 2016;157:307–18. <https://doi.org/10.1007/s10549-016-3828-6>
 31. Bachelot T, Romieu G, Campone M et al. Lapatinib plus capecitabine in patients with previously untreated brain metastases from HER2-positive metastatic breast cancer (LANDSCAPE): a single-group phase 2 study // *The Lancet Oncology*. 2013;14:64–71. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(12\)70432-1](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(12)70432-1)
 32. Freedman RA, Gelman RS, Anders CK et al. TBCRC 022: A Phase II Trial of Neratinib and Capecitabine for Patients with Human Epidermal Growth Factor Receptor 2-Positive Breast Cancer and Brain Metastases // *J Clin Oncol*. 2019;37:1081–9. <https://doi.org/10.1200/JCO.2018.01511>
 33. Awada A, Colomer R, Inoue K et al. Neratinib Plus Paclitaxel vs Trastuzumab Plus Paclitaxel in Previously Untreated Metastatic ERBB2-Positive Breast Cancer: The NEfERT-T Randomized Clinical Trial // *JAMA Oncol*. 2016;2:1557–64. <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2016.0237>
 34. Awada A, Brufsky A, Saura C et al. Impact of neratinib on development and progression of central nervous system metastases in patients with HER2-positive metastatic breast cancer: Findings from the NALA, NEfERT-T, and TBCRC 022 trials. https://www.pumabiotechnology.com/docs/1_21219_Awada_CNS_SABCS_2019_poster_10_Dec_2019_FINAL.pdf
 35. Colomer R, Cosos D, Del Campo JM et al. Brain metastases from breast cancer may respond to endocrine therapy // *Breast Cancer Res Treat*. 1988;12:83–6. <https://doi.org/10.1007/BF01805745>
 36. Kennecke H, Yerushalmi R, Woods R et al. Metastatic behavior of breast cancer subtypes // *J Clin Oncol*. 2010;28:3271–7. <https://doi.org/10.1200/JCO.2009.25.9820>
 37. Raub TJ, Wishart GN, Kulanthaivel P et al. Brain Exposure of Two Selective Dual CDK4 and CDK6 Inhibitors and the Antitumor Activity of CDK4 and CDK6 Inhibition in Combination with Temozolomide in an Intracranial Glioblastoma Xenograft // *Drug Metab Dispos*. 2015;43:1360–71. <https://doi.org/10.1124/dmd.114.062745>
 38. Anders CK, Le Rhun E, Bachelot TD et al. A phase II study of abemaciclib in patients (pts) with brain metastases (BM) secondary to HR+, HER2- metastatic breast cancer (MBC) // *JCO*. 2019;37:1017. https://doi.org/10.1200/JCO.2019.37.15_suppl.1017
 39. Boogerd W, Dalesio O, Bais EM, van der Sande JJ. Response of brain metastases from breast cancer to systemic chemotherapy // *Cancer*. 1992;69:972–80. [https://doi.org/10.1002/1097-0142\(19920215\)69:4<972::AID-CNCR2820690423>3.0.CO;2-P](https://doi.org/10.1002/1097-0142(19920215)69:4<972::AID-CNCR2820690423>3.0.CO;2-P)
 40. Franciosi V, Cocconi G, Michiara M et al. Front-line chemotherapy with cisplatin and etoposide for patients with brain metastases from breast carcinoma, nonsmall cell lung carcinoma, or malignant melanoma // *Cancer*. 1999;85:1599–605. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0142\(19990401\)85:7<1599::AID-CNCR23>3.0.CO;2-#](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0142(19990401)85:7<1599::AID-CNCR23>3.0.CO;2-#)
 41. Lu Y-S, Chen TW-W, Lin C-H et al. Bevacizumab preconditioning followed by Etoposide and Cisplatin is highly effective in treating brain metastases of breast cancer progressing from whole-brain radiotherapy // *Clin Cancer Res*. 2015;21:1851–8. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-14-2075>
 42. Lin NU, Gelman RS, Younger WJ et al. Phase II trial of carboplatin © and bevacizumab (BEV) in patients (pts) with breast cancer brain metastases (BCBM) // *JCO*. 2013;31:513. https://doi.org/10.1200/jco.2013.31.15_suppl.513
 43. Adamo V, Ricciardi GRR, Giuffrida D et al. Eribulin mesylate use as third-line therapy in patients with metastatic breast cancer (VESPRY): a prospective, multicentre, observational study // *Ther Adv Med Oncol*. 2019;11:1758835919895755. <https://doi.org/10.1177/1758835919895755>
 44. Колядина И.В., Булавина И.С., Петкау В.В. и др. Потенциал использования эрибулина при метастатическом поражении головного мозга у больных раком молочной железы: научные предпосылки и российский клинический опыт // *Современная онкология*. 2019;21:17–24. <https://doi.org/10.26442/18151434.2019.2.190395>
 45. Sirv n MB, Fernandez-Ortega A, Stradella A et al. Real-world efficacy and safety of eribulin in advanced and pretreated HER2-negative breast cancer in a Spanish comprehensive cancer center // *BMC Pharmacol Toxicol*. 2019;20:68. <https://doi.org/10.1186/s40360-019-0367-x>
 46. Cort s J, Rugo HS, Awada A et al. Prolonged survival in patients with breast cancer and a history of brain metastases: results of a preplanned subgroup analysis from the randomized phase III BEACON trial // *Breast Cancer Res Treat*. 2017;165:329–41. <https://doi.org/10.1007/s10549-017-4304-7>
 47. Kumthekar P, Tang S-C, Brenner AJ et al. ANG1005, a brain penetrating peptide-drug conjugate, shows activity in patients with breast cancer with leptomeningeal carcinomatosis and recurrent brain metastases // *Clin Cancer Res*. 2020. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-19-3258>
 48. Chamberlain MC, Baik CS, Gadi VK et al. Systemic therapy of brain metastases: non-small cell lung cancer, breast cancer, and melanoma // *Neuro-oncology*. 2017;19: i1-i24. <https://doi.org/10.1093/neuonc/now197>

Поступила в редакцию 11.03.2021 г.

*S.M.Banov¹, S.L. Gutorov², I.V.Kolyadina³, A.V.Smolin¹,
E.V.Kryukov⁴, A.V.Golanov¹, E.R.Vetlova¹*

**Breast cancer with brain metastases: current
treatment options**

¹ Federal State Autonomous Institution «N.N. Burdenko
National Medical Research Center of Neurosurgery»
of the Ministry of Health of the Russian Federation

² Federal State Budgetary Institution «N.N. Blokhin
National Medical Research Center of Oncology»
of the Ministry of Health of the Russian Federation

³ Russian Medical Academy of Continuing Professional
Education of the Ministry of Health
of the Russian Federation

⁴ Federal State Budgetary Institution "S.M. Kirov Military
Medical Academy", St Petersburg

Breast cancer is the main cause of brain metastases in women. The incidence of brain metastases in breast cancer continues to increase, which is mainly associated with improved systemic therapy, which ensures the control of extracranial metastases and an increase in survival. The management brain metastases of breast cancer remain a challenge, despite the constant improvement of local and systemic therapies. This review of the scientific literature presents the latest data from clinical trials of local and systemic treatment of patients with brain metastatic of breast cancer.

Key words: breast cancer, brain metastases, review

В.И. Новик

Организационные вопросы цитологического скрининга рака шейки матки (обзор литературы)

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

В статье обсуждаются вопросы связанные с повышением эффективности цитологического скрининга рака шейки матки: жидкостная цитология, дополнительное использование определения вируса папилломы человека высокого риска, а также необходимость трансформации оппортунистического скрининга в нашей стране в популяционный организованный цитологический скрининг. Особое внимание уделяется подготовке квалифицированных кадров.

Ключевые слова: рак шейки матки, цитологический скрининг, организация популяционного скрининга

Организованный популяционный скрининг предрака и рака шейки матки, проводимый в ряде развитых стран Западной Европы и Америки показал высокую эффективность в снижении заболеваемости и смертности от рака шейки матки. Он способствовал снижению заболеваемости и смертности от инвазивного рака шейки матки (РШМ) на 60–80% через 20–30 лет от начала проведения скрининга. Подобные результаты были получены в СССР при проведении пилотных проектов организованного цитологического скрининга в Ленинградской области, в г. Калинин (Тверь) и на Октябрьской железной дороге, которые проводились в 60–80-е годы прошлого века [1, 2].

Внедрение цитологического скрининга предрака и рака шейки матки в существующую систему здравоохранения ряда стран, в том числе и СССР, происходило в 80-х годах прошлого века с утратой основных принципиальных организационных положений популяционного скрининга. Скрининг стал спонтанным, выборочным, неконтролируемым («оппортунистическим»). Экспертами ВОЗ отмечена существенно более низкая эффективность такого скрининга по сравнению с организованным популяционным скринингом. Сравнение различных скрининговых программ показало, что эффективность цитологического скрининга предрака и рака шейки матки прямо пропорциональна проценту охвата скринингом женского населения определенных возрастных групп и мало зависит от периодич-

ности проведения скрининга [3]. В странах с организованным популяционным скринингом осуществляется компьютерный учет контингента женщин, подлежащих скринингу, контроль за процентом охвата скринингом женщин целевой группы, контроль за углубленным обследованием выявленных больных, контроль качества работы цитологических лабораторий и обучения персонала, производится издание брошюр и других печатных материалов, проводится разъяснительная работа среди населения о значении цитологического скрининга, рассылаются письма женщинам, не явившимся на скрининг, осуществляются телефонные звонки и пр. [4]. В результате широта охвата возрастными группами женского населения, подлежащих скринингу, составляет 70–90%. В странах с неорганизованным неконтролируемым скринингом, где он включен в существующую систему диспансеризации и массовых профилактических осмотров, трудно подсчитать процент охвата скринингом женского населения, по оценочным данным он не превышает 30–40%. Следовательно, большая часть женского населения не принимает участия в цитологическом скрининге. Это является основной причиной низкой эффективности скрининга в снижении заболеваемости и смертности от инвазивного РШМ.

В таблице представлены результаты цитологического скрининга РШМ по данным шести централизованных цитологических лабораторий (ЦЦЛ) Санкт-Петербурга за 1997 и 1998 гг., когда по приказу Минздрава России цитологический скрининг РШМ производился ежегодно. Как видно из полученных данных, процент охвата скринингом женщин составил около 30% (точный пофамильный учет не производился). Количество женщин, нуждающихся в углубленном обследовании, составило 0,12% [5].

Анализ отчетов 2 крупных ЦЦЛ, выполняющих более половины всех скрининговых цитологических исследований в СПб, произведенный нами в 2010 г., показал, что ситуация с цитологическим скринингом мало изменилась. Охват женщин скринингом составил около 33%, выявляемость CIN 3 и рака шейки матки — около 0,2%.

Результаты цитологического скрининга РШМ в Санкт-Петербурге (по данным 6 ЦЦЛ)

Показатели	Год	
	1997	1998
Количество обследованных женщин	463 142	490 170
Цитологически выявлены:		
подозрение на рак шейки матки	67	54
карцинома in situ	80	54
рак шейки матки	163	199
Итого	310 (0,07%)	307 (0,06%)
Выраженная дисплазия	278	269
Количество женщин, нуждающихся в углубленном обследовании	588 (0,12%)	576 (0,12%)
Популяция женщин, подлежащих скринингу (25–65 лет)	1 500 000	

В данном примере низкий процент охвата женщин цитологическим скринингом РШМ обусловил и его низкую эффективность. Если бы можно было добавить организационную составляющую скрининга (пофамильный компьютерный учет женщин, подлежащих скринингу, скрининг один раз в 3 года, обеспечение сменяемости контингента женщин), то за 3 года охват женщин можно было бы увеличить до 80–90%, а эффективность скрининга увеличить в 3 раза без существенных финансовых затрат.

В настоящее время в нашей стране в связи с все более широким внедрением компьютерных технологий в практику здравоохранения назрела необходимость и появилась возможность перехода от оппортунистического скрининга РШМ к популяционному скринингу, обеспечивающему охват скринингом женщин целевой группы до 70–80% и более. Без решения этих вопросов никакой прогресс в деле профилактики РШМ невозможен.

Между тем, значение организационных вопросов цитологического скрининга РШМ в нашей стране недооценено, эти вопросы не обсуждаются и не решаются. Недостаточную эффективность цитологического скрининга связывают, в основном, с низкой чувствительностью цитологического исследования в некоторых лабораториях. По данным разных авторов она составляет от 66 до 83%. В большинстве случаев (70–90%) причиной ложноотрицательных цитологических ответов является плохой забор материала для цитологического исследования, в других случаях (10–30%) — ошибочная интерпретация цитологических данных [6]. Для увеличения информативности цитологического материала предлагают использовать жидкостную цитологию, для повышения чувствительности исследования — дополнить цитологическое исследование определением вируса папилломы человека высокого риска (ВПЧ-ВР) или вообще заменить цитологическое исследование на определение ВПЧ-ВР.

Метод жидкостной цитологии (ЖЦ) начал использоваться при цитологическом скрининге в различных странах мира, в том числе в России, с начала 2000-х годов. В ряде работ приводились данные о том, что при использовании ЖЦ в 3–10 раз сокращается количество неинформативных мазков по сравнению с традиционным цитологическим исследованием (ТЦ) [7–11], при этом повышается выявляемость атипичических клеточных изменений. Объясняют это тем, что при традиционном нанесении мазка на предметное стекло на нем оказывается только небольшая часть цитологического материала, тогда как при ЖЦ весь материал с наконечником цитощетки помещается в вialу с фиксирующей транспортной средой и доставляется в лабораторию. Однако при использовании одинаковых инструментов для получения материала при ТЦ и ЖЦ различий в информативности цитологических препаратов не отмечено [12, 13]. Было установлено, что информативность материала зависит от способа его получения и от опыта персонала, производящего взятие материала. Наиболее информативный материал получают при отдельном сборе материала с экзо- и эндоцервикса с помощью шпателя и щетки Cyto-Brush с нанесением биологического материала на разные стекла (совпадение результатов цитологического метода с гистологическим составляет 96%), менее информативный материал — с помощью щеток Cervex-Brush и Cervex-Brush Combi (70%) [14].

Во многих исследованиях не отмечено существенных различий в чувствительности и специфичности цитологического метода при использовании ТЦ и ЖЦ [7, 9, 11–13, 15–17]. По данным некоторых авторов по сравнению с ТЦ при использовании ЖЦ отмечается большая чувствительность в выявлении поражений с низкой степенью атипии, но не с высокой степенью атипии, и более низкое предсказательное значение в связи с увеличением случаев с неясной цитологической атипией (ASCUS) [18]. Отмечается

также высокая частота (32%) ложноположительных цитологических заключений [19].

Приведенные выше данные свидетельствуют о том, что ЖЦ не имеет существенных преимуществ по сравнению с ТЦ. Эксперты влиятельной американской организации U.S. Preventive Services Task Force (USPSTF) в обновленных рекомендациях по скринингу РШМ (2018 г.) также констатируют, что нет значимых клинических различий между ТЦ и ЖЦ [20].

К недостаткам ЖЦ следует отнести необходимость приобретения громоздкого дорогостоящего оборудования, увеличение стоимости расходных материалов, увеличение площади для хранения расходных материалов, пробирок и виал с образцами, необходимость их утилизации, увеличение времени подготовки препарата, более трудоемкий скрининг [8]. По данным некоторых авторов [21] при сравнении расчетной стоимости проведения скрининга в Московской области с помощью ТЦ и ЖЦ (BD SurePath без BD FocalPoint) оказалось, что скрининг с использованием ЖЦ обойдется в 10 раз дороже чем обычный традиционный скрининг. На практике при проведении в Московской области скрининга на базе ЖЦ за 2,5 года выделенных средств хватило для охвата лишь 3% женщин, подлежащих скринингу.

Низкая чувствительность цитологического исследования послужила поводом для дополнения цитологического скрининга параллельным выявлением у обследуемых женщин вируса папилломы человека высокого онкогенного риска (ВПЧ-ВР) в режиме котестирования или первичного скрининга ВПЧ-ВР с последующим цитологическим исследованием женщин с положительным тестом на ВПЧ-ВР. Такие экспериментальные исследования, проведенные в течение ряда лет в некоторых странах Европы и Северной Америки параллельно с популяционным цитологическим скринингом, показали, что первичный ВПЧ-скрининг имеет большую чувствительность в выявлении женщин с CIN2+ и CIN3+, но меньшую специфичность, особенно для женщин в возрасте до 35 лет, по сравнению с цитологическим скринингом [22–25]. При этом затраты на проведение такого двойного скрининга существенно возрастают.

Более экономичным может быть первичный скрининг ВПЧ-ВР, в том числе с использованием специальных инструментов для самообследования женщин [26, 27], с последующим цитологическим исследованием при положительной пробе или даже без него с применением кольпоскопии и биопсии. У женщин с отрицательным тестом на ВПЧ-ВР межскрининговый интервал может быть увеличен до 5 лет. Однако, при таком первичном скрининге не исключается

возможность не выявления ВПЧ-отрицательных РШМ, частота которых оценивается разными авторами от 5 до 30% всех РШМ [28–30].

Следует отметить, что первичный скрининг ВПЧ-ВР имеет лишь косвенное отношение к скринингу РШМ, так как хотя ВПЧ-ВР и является этиологическим фактором, но далеко не всегда приводит к развитию РШМ. Поэтому тест на ВПЧ-ВР при высокой чувствительности имеет низкую специфичность, и многие женщины будут подвергаться дополнительному обследованию и лечению, которое им не показано [31]. Цитологический скрининг имеет другое качественное содержание, так как непосредственно способствует выявлению различных стадий предопухолевых процессов и РШМ. Более того, на этапе углубленного обследования выявленных при скрининге больных, цитологическое исследование может существенно дополнить результаты гистологического исследования биопсийного и операционного материала при диагностике цервикальной интраэпителиальной неоплазии (ЦИН). По существу, цитологическое исследование является морфологическим методом исследования микробиопсий с помощью мазковой техники. На нашем материале при использовании денситоморфометрических исследований было установлено, что в 56 (12%) наблюдениях из 468 не подтверждение цитологического диагноза карциномы *in situ* шейки матки при гистологическом исследовании было связано не с ложноположительными цитологическими заключениями, а с установлением гистологического диагноза по неинформативному материалу [32]. Поэтому при установлении окончательного морфологического диагноза ЦИН необходимо учитывать также данные цитологического исследования, желательно после повторного пересмотра цитологических и гистологических препаратов в случаях расхождения диагнозов. В спорных случаях возможно использование серийно-ступенчатых срезов, а также применение упрощенного метода денситоморфометрии на мазках, окрашенных гематоксилином и эозином [33], или переокрашенных по Фельгену.

Вопрос о низкой чувствительности цитологического исследования (по данным некоторых авторов — 47% [34]) не является однозначным и не может быть поводом для отказа от цитологического исследования при скрининге РШМ. В ведущих онкологических центрах РФ чувствительность цитологического исследования достаточно велика. Так, в МНИОИ им. П.А. Герцена (Москва) она составляет от 96,2% [13] до 97,5% [14]. При проведении цито-гистологических сопоставлений на материале 662 наблюдений, взятых из базы данных лаборатории цитологии НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова (Санкт-

Петербург) за 5 лет (2011–2015 гг.), установлено, что чувствительность выявления ЦИН2+ составила 97,2%, ЦИН3+ — 94,5%, специфичность — 99,7%. Конечно в других лабораториях, принимающих участие в скрининге РШМ, эти показатели могут быть ниже; многое зависит от качества подготовки специалистов по клинической цитологии.

Приведенные выше данные позволяют сделать вывод, что попытка улучшить результаты цитологического скрининга путем применения жидкостной цитологии и дополнительного выявления ВПЧ-ВР приводит к значительному удорожанию скрининга, не соответствующему получаемому положительному эффекту, и ограничивает возможности максимального охвата женского населения.

Для повышения эффективности цитологического скрининга РШМ в нашей стране необходимы радикальные организационные изменения:

1. необходимо выделить цитологический скрининг РШМ из системы массовых профилактических осмотров населения (диспансеризации) в самостоятельную национальную программу организованного популяционного скрининга;
2. утвердить специальность «клиническая цитология» или «клиническая онкоцитология»;
3. обеспечить качественную подготовку специалистов по этой новой специальности.

В России организованный цитологический скрининг РШМ целесообразно создавать на отдельных территориях, в которых имеются канцер-регистры, с учетом эпидемиологической обстановки, местных этнических и финансовых условий. Необходимо обеспечить управляемость цитологическим скринингом с ведением компьютерного учета контингента женщин, подлежащих скринингу и прошедших его, мониторинг охвата скринингом женщин, прослеживание выявленных больных, обеспечить взаимосвязь всех звеньев скрининга: гинекологов, цитологов, патогистологов и пр. Для этого необходимо включить в состав канцер-регистров подготовленных специалистов, способных проводить такую работу. Желательно учитывать опыт ВОЗ по организации цитологического скрининга, изложенный в методических рекомендациях [35], оценить количество женщин, подлежащих скринингу на закрепленной территории и необходимые ресурсы [36], создать базу данных женщин, подлежащих скринингу, совместимую с компьютерными программами канцер-регистра. За основу можно взять рекомендации ВОЗ (2010 г.), согласно которым цитологическому скринингу подлежат женщины в возрасте 25–65 лет, при этом в возрасте 25–49 лет периодичность скрининга составляет 3 года, для женщин 50 лет и старше — 5 лет [37]. На практике это может

означать, что ежегодному скринингу должны подвергаться женщины в возрасте 25, 28, 31, 34, 37, 41, 44, 47, 50, 55, 60, 65 лет, что обеспечивает автоматическое обновление контингента женщин, подлежащих исследованию, для достижения более полного охвата. При планировании организованного скрининга с учетом эпидемиологической обстановки и местных условий на данной территории возрастные границы и периодичность скрининга могут меняться в ту или другую сторону в зависимости от результатов анализа распределения случаев РШМ по возрастным группам и имеющихся ресурсов. При ограниченных ресурсах допустимо увеличение периодичности скрининга до 5 лет, о чем свидетельствует опыт проведения цитологического скрининга РШМ в Финляндии [38]. Для увеличения процента охвата скринингом женского населения большое значение имеет широкое информирование общественности о важности этого мероприятия и необходимости его поддержки.

Для получения информативных мазков, как было сказано выше, гинекологической службе необходимо приобрести и использовать соответствующие инструменты, обеспечить обучение молодых специалистов, соблюдать известные правила получения материала для цитологического исследования: брать мазки у женщин без всякой предварительной подготовки до проведения других манипуляций, не брать мазки во время месячных, не использовать лубриканты и т. д.

Особого внимания заслуживает подготовка врачей-цитологов и фельдшеров-лаборантов, принимающих участие в цитологическом скрининге. Несмотря на то, что цитологический скрининг в нашей стране проводится с 70-х годов прошлого века, специальность «клиническая цитология» или «онкоцитология» до сих пор не получила официального признания. Цитологическим скринингом занимаются врачи клинической лабораторной диагностики, при первичной подготовке которых раздел цитологии занимает лишь небольшую часть программы обучения или вообще отсутствует. Выделение клинической цитологии в отдельную специальность позволило бы значительно улучшить подготовку специалистов-цитологов с обеспечением достаточного времени для такой подготовки. Требуется также решения вопроса о соответствующей подготовке среднего медицинского персонала — цитотехнологов и цитотехников. Все эти вопросы требуют широкого обсуждения и принятия организационных решений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Новик В.И. Скрининг и дифференциальная цитоморфологическая диагностика рака шейки матки. СПб: Ладога, 2012 [Novik V.I. Screening for and differential

- cytomorphological diagnosis of cervical cancer. Saint Petersburg: Ladoga, 2012 (In Russ.).
2. Деражне А.Б., Иока Н.М., Нисенбаум Г.Э., Фридман П.Ш. Двадцатилетний опыт профилактики рака шейки матки среди женщин, обслуживаемых лечебно-профилактическими учреждениями Октябрьской железной дороги. Всесоюзный симпозиум: «Ранняя диагностика, лечение предопухолевых и опухолевых заболеваний шейки матки и диспансеризации женского населения». Л., 1985:84–85 [Derazhne A.B., Ioka N.M., Nisenbaum G.E., Fridman P.Sh. Twenty year experience in preventing cervical cancer in medical institutions of the Oktyabrskaya arailway. Soviet Symposium «Early diagnosis and treatment of precancerous and neoplastic diseases of the cervix and preventive medical examinations of women». Leningrad, 1985:84–85 (In Russ.)].
 3. Миллер А.Б. Программы скрининга на рак шейки матки: организационные рекомендации. ВОЗ, Женева, 1994 [Miller A.B. Cervical cancer screening programs: organizational recommendations. Geneva: World Health Organization, 1994 (In Russ.)].
 4. Eaker S, Adami YO, Granath F et al. A large population-based randomized controlled trial to increase attendance at screening for cervical cancer // *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2004;13(3):346–354.
 5. Новик В.И. Скрининг рака шейки матки // *Практическая онкология.* 2010;11(2):66–73 [Novik V.I. Cervical cancer screening // *Prakticheskaya onkologiya.* 2010;11(2):66–73 (In Russ.)].
 6. Cobb CJ. Suggested approaches to reporting benign cervical smears that lack endocervical columnar cells // *Acta Cytol.* 1986;30(3):317–328.
 7. Sykes PH, Harker DY, Miller A et al. A randomised comparison of SurePath liquid-based cytology and conventional smear cytology in a colposcopy clinic setting // *VJOG.* 2008;115(11):1375–81.
 8. Титмуш Э., Адамс К. Шейка матки. Цитологический атлас. Пер. с англ. / Под ред. Н.И. Кондрикова. М.: Практическая медицина, 2009 [Titmuss E., Adams C. Cervical cytology. Transl. from Eng. by N.I. Kondrikov. Moscow: Prakticheskaya meditsina, 2009 (In Russ.)].
 9. Sigurdsson K. Is a liquid-based cytology more sensitive than a conventional Pap smear? // *Cytopathology.* 2013;4:254–63. <https://doi:10.1111/cyt.12037>
 10. Минкина Г.Н. Цитологический скрининг рака шейки матки: от традиционного Пап-теста к компьютерным технологиям // *Акушерство, гинекология и репродукция.* 2017;11(1):56–63. <https://doi:10.17749/2313-7347.2017.11.1.056-063> [Minkina G.N. Cytological screening of cervical cancer: from traditional Pap-test to computer technologies // *Akusherstvo, ginekologiya i reproduksiya.* 2017;11(1):56–63 (In Russ.)]. <https://doi:10.17749/2313-7347.2017.11.1.056-063>
 11. Савостикова М.В., Короленкова Л.И., Федосеева Е.С., Пименова В.В. Опыт применения жидкостной технологии BD SurePath™ для ранней диагностики и скрининга предопухолевой и опухолевой патологии шейки матки в Ростовской области // *Онкогинекология.* 2018;(4):50–60 [Savostikova M.V., Korolenkova L.I., Fedoseeva E.S., Pimenova V.V. Experience in using BD SurePath™ liquid-based technology for early diagnosis of and screening for precancerous and neoplastic cervical pathology in Rostov region // *Onkoginekologiya.* 2018;(4):50–60 (In Russ.)].
 12. Новик В.И., Владимирова А.В., Нефедова А.В., Красильникова Л.А. Сравнение результатов традиционной и жидкостной цитологии при проведении скрининга рака шейки матки. Тезисы 4-го Международного онкологического форума «Белые ночи 2018», 2018:58 [Novik V.I., Vladimirova A.V., Nefedova A.V., Krasilnikova L.A. Comparing the results of traditional and liquid-based cytology in cervical cancer screening. Proceedings of the 4th International Cancer Forum «White nights 2018», 2018:58 (In Russ.)].
 13. Волченко Н.Н., Сушинская Т.В., Борисова О.В. и др. Сравнительный анализ традиционной и жидкостной цитологии мазков из шейки матки // *Исследования и практика в медицине.* 2019;6(1):83–90 [Volchenko N.N., Sushinskaya T.V., Borisova O.V. et al. Comparative analysis of traditional and liquid-based cytology of cervical smears // *Issledovaniya i praktika v meditsine.* 2019;6(1):83–90 (In Russ.)].
 14. Сушинская Т.В., Волченко Н.Н., Мельникова В.Ю., Тугулукова А.А. Эффективность цитологической диагностики цервикальной интраэпителиальной неоплазии и рака шейки матки в зависимости от способа взятия материала // *Онкогинекология.* 2017;3(23):51–9 [Sushinskaya T.V., Volchenko N.N., Melnikova V.Yu., Tugulukova A.A. Effectiveness of cytological diagnostics of cervical intraepithelial neoplasia and cervical cancer depending on the method of specimen collection // *Onkoginekologiya.* 2017;3(23):51–9 (In Russ.)].
 15. Davey T, Darratt F, Irvig L et al. Effect of study design and quality on unsatisfactory rates, cytology classifications and accuracy of liquid-based versus conventional cancer cytology: a systematic review // *Lancet.* 2006;367:122–32.
 16. Arbyn M, Bergeron Ch, Klinkhamer P et al. Liquid compared with conventional cervical cytology. A systematic review and meta-analysis // *Obstet Gynecol.* 2008;111:167–77.
 17. Kituncharoen S, Tantbirojn P, Niruthisard S. Comparison of unsatisfactory rates and detection of abnormal cervical cytology between conventonal Papanicolaou smear and liquid-based cytology (Sure Path®) // *Asian Pac J Cancer Prev.* 2015;16(18):8491–4. <https://doi:10.7314/APJCP.2015.16.18.8491>
 18. Ronco G, Cuzick J, Pierotti P et al. Accuracy of liquid-based versus conventional cytology: overall results of new technologies for cervical cancer screening randomized controlled trial // *BMJ.* 2007:1–7.
 19. Димитриади Т.А., Бурцев Д.В., Дженкова Е.А. Реализация первичной и вторичной профилактики цервикального рака в областном центре патологии шейки матки // *Современные проблемы науки и образования.* 2019;(4):42. <https://doi:10.17513/spno.29076> [Dimitriadi T.A., Burtsev D.V., Dzhenkova E.A. Implementation of measures for primary and secondary prevention of cervical cancer in a Regional Center for Cervical Pathology. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*=Current Problems of Science and Education 2019;(4):42 (In Russ.)]. <https://doi:10.17513/spno.29076>
 20. Screening for Cervical Cancer US Preventive Services Task Force Recommendation Statement. *JAMA* // 2018;320(7):674–86. <https://doi:10.1001/jama.2018.10897>
 21. Безруков А.В., Мишукова А.А. К вопросу об организации цитологического скрининга на рак шейки матки (на примере Московской области). М., 2017 [Bezrukov A.V., Mishukova A.A. Organization of cytological screening for cervical cancer (on the example of Moscow region). Moscow, 2017 (In Russ.)].

22. Cuzick J, Clavel C, Petry KU et al. Overview of the European and North American studies on HPV testing in primary cervical cancer screening // *Int J Cancer*. 2006;119(5):1095–101.
23. Anttila A, Kotaniemi-Talonen L, Leinonen M, Hakama M et al. Rate of cervical cancer, severe intraepithelial neoplasia, and adenocarcinoma in situ in primary HPV DNA screening with cytology triage: randomized study with in organized screening programme // *BMJ*. 2010;340:1804.
24. Agorastos T, Chatzistamatiou K, Katsamagkas T et al. Primary screening for cervical cancer based on high-risk human papillomavirus (HPV) detection and HPV16 and HPV18 genotyping, in comparison to cytology // *PLoS One*. 2015;10(3):e0119755. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0119755>
25. Veijalainen O, Kares S, Kujala P et al. Human papillomavirus test with cytology triage in organized screening for cervical cancer // *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2016;95:1220–7.
26. Белокрыницкая Т.Е., Туранова О.В., Фролова Н.И. Сравнительная оценка прогностической ценности самостоятельного и врачебного забора материала для ВПЧ-теста // *Гинекология*. 2018;2:51–54 [Belokrinititskaja T.E., Turanova O.V., Frolova N.I. Comparative appraisal of prognostic value of self-collected samples and physician-obtained specimens for HPV-test // *Gynecologia*. 2018;2:51–54 (In Russ.)].
27. Mangold BR. Self-Collected Samples in Cervical Cancer Screening: Results of HPV and Pap Self-Collected Samples Compared to Physician-Obtained Specimens // *Acta Cytol*. 2019;63:379–384. <https://doi.org/10.1159/000499373>
28. Zhao C, Li Z, Nayar et al. Prior High-Risk Human Papillomavirus Testing and Papanicolaou Test Results of 70 Invasive Cervical Carcinomas Diagnosed in 2012. Results of a Retrospective Multicenter Study // *Arch Pathol Lab Med*. 2015;139:184–188. <https://doi.org/10.5858/arpa.2014-0028-OA>
29. Nicolás I, Marimon L, Barnadas E et al. HPV-negative tumors of the uterine cervix. *Mod Pathol*. 2019;32(8):1189–1196.
30. Alexander C, White M, Maleki Z, Rodriguez EF. HPV-ISH-Negative Invasive Cervical Squamous Cell Carcinoma: Histologic and Pap Test Results // *Acta Cytologica*. 2019;63:417–423. <https://doi.org/10.1159/000500595>
31. Melnikow J, Henderson JT, Burda BU et al. Screening for cervical cancer with high-risk human papillomavirus testing: updated evidence report and systematic review for the US Preventive Services Task Force // *JAMA*. 2018;320(7):687–705. <https://doi.org/10.1001/jama.2018.10400>
32. Новик В.И. Верификация цитологического диагноза карциномы in situ шейки матки при расхождении его с гистологическими данными // *Вопросы онкологии*. 2012;58(2):227–32 [Novik V.I. Verification of cytological diagnosis of cervical carcinoma in situ in patients with discrepant results of cytology and histology // *Voprosy onkologii*. 2012;58(2):227–32 (In Russ.)].
33. Новик В.И. Уточняющая цитологическая диагностика цервикальной интраэпителиальной неоплазии шейки матки с использованием анализа микроизображений // *Опухоли женской репродуктивной системы*. 2019;15(3):24–30 [Novik V.I. Verification of cytological diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia using analysis of microimages // *Opukholi zhenskoy reproductivnoy sistemy*. 2019;15(3):24–30 (In Russ.)].
34. Бадалова Л.А., Роговская С.И. Современные методы диагностики цервикальной неоплазии: клинико-экономическая эффективность // *Проблемы репродукции*. 2012;2:27–32 [Badalova L.A., Rogovskaja S.I. Modern methods of cervical neoplasia diagnostic: clinical and economical efficacy // *Problemy reproduksii*. 2012; 2:27–32 (In Russ.)].
35. Комплексная борьба с раком шейки матки. Руководство по основам практики. Издание второе. Перевод с англ. ВОЗ, 2018:440 [Comprehensive cervical cancer control: a guide to essential practice — 2nd ed. World Health Organization, 2014. Transl. from Engl., 2018:440].
36. Безруков А.В. Цервикальный цитологический скрининг: как оценить количество женщин на закрепленной территории, ежегодно подлежащих скринингу на рак шейки матки и связанные ресурсные оценки (в соответствии с требованиями Приказа МЗ РФ от 13 марта 2019 г. № 124н «Об утверждении порядка проведения профилактического медицинского осмотра и диспансеризации определенных групп взрослого населения»). М., 2019:24 [Bezrukov A.V. The cervical cytological screening: how to estimate quantity of women in the fixed territory, annually subject to screening on a cancer of a cervix uteri and the connected resource estimations (according to requirements of Order Ministry of Health of the Russian Federation from March, 13th 2019 № 124n «About the statement of an order of carrying out of preventive medical inspection and prophylactic medical examination of certain groups of adult population»). М., 2019:24].
37. Комплексная борьба с раком шейки матки. Краткое практическое руководство. Всемирная организация здравоохранения. 2010:278 [Comprehensive cervical cancer control: a guide to essential practice. World Health Organization, 2010:278].
38. Suijanen K. Mass Screening of Cervical Cancer in Finland. Department of Pathology, University of Kuopio K. Суриянен. Массовый скрининг рака шейки матки в Финляндии. Доклад на конференции «Новые методы и разработки в онкоморфологии», проведенной в ОНЦ имени Н.Н. Блохина в январе 1996 г. <https://doi.org/www.cironline.ru/articles/168/92429/> [Suijanen K. Mass Screening of Cervical Cancer in Finland. Department of Pathology, University of Kuopio. The report at conference «New methods and workings out in oncologic morphology», spent in Science Oncologic Center N.N.Blohinin's name in January, 1996]. <https://doi.org/www.cironline.ru/articles/168/92429/>

Поступила в редакцию 30.04.2021 г.

V.I. Novik

Organizational issues in cytological screening for cervical cancer (literature review)

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

This article discusses the issues for efficacy increase of cervical cancer cytological screening, including the use of liquid-based cytology, high-risk human papillomavirus testing, transforming of opportunistic screening into population-based cytological screening and staff training.

Key words: cervical cancer, cytological screening, population-based screening organization

Р.А. Мурашко, А.М. Шматкова

Динамика онкологической заболеваемости населения Краснодарского края

ГБУЗ «Клинический онкологический диспансер № 1», г. Краснодар

Введение. В мире первичная заболеваемость онкологическими заболеваниями составляет 143 случая на 100 тыс. населения, а в РФ этот показатель значительно превышает среднемировые значения. Экономический ущерб от онкологических заболеваний в России достиг в 2015 г. более чем 90 млрд, а к 2020 г., по прогнозам, мог возрасти до 200 млрд рублей.

Материалы и методы. В работе использовались данные формы № 12 федерального статистического наблюдения «Сведения о числе заболеваний, зарегистрированных у пациентов, проживающих в районе обслуживания медицинской организации» за период с 2008 по 2019 гг. Применялись математический, библиографический и статистический методы.

Результаты. Уровень онкологической заболеваемости в Краснодарском крае растет так же, как и в целом по Российской Федерации. По данным популяционного ракового регистра Краснодарского края показатель заболеваемости раком за последние десять лет (2010–2019 гг.) увеличился на 23,2% и составил в 2019 г. 479,5 на 100 000 населения (в РФ - 425,5), что в значительной мере определено неблагоприятным направлением демографических процессов в популяции края. «Грубый» показатель заболеваемости на 100 000 мужского населения составил в 2019 г. — 414,6, с 2008 г. этот показатель вырос на 18,7%, а стандартизованный (295,6) — на 6,2%. «Грубый» показатель заболеваемости на 100 000 женского населения составил 478,9 (прирост на 23,9%), а стандартизованный — 427,6 (прирост на 16,2%) по сравнению с 2008 г. Ведущими локализациями в общей структуре онкологической заболеваемости в 2019 г. являются кожа (16,2%), молочная железа (10,4%), трахея, бронхи, легкое (10,2%), предстательная железа (7,8%), ободочная кишка (7,0%), гемобластозы (4,8%), прямая кишка (4,8%) и желудок (4,2%).

Обсуждение. Онкологическая заболеваемость — одна из важнейших составляющих комплексной оценки здоровья населения, а ее анализ необходим для управленческих ре-

шений на всех уровнях организации работы системы здравоохранения. В этой связи показатели онкологической заболеваемости являются одним из критериев качества работы онкологических организаций.

Заключение. Рост заболеваемости населения Краснодарского края злокачественными новообразованиями (ЗНО), а также территориальная неравномерность распространения этих заболеваний, являются отражением не только продолжающейся тенденции старения населения, сохраняющегося влияния неблагоприятных факторов внешней среды и урбанизации, но и отсутствия эффективных путей первичной профилактики. Помимо перечисленных выше причин отмеченный рост онкологической заболеваемости был также связан с внедрением новых диагностических технологий, информированностью населения и доступностью специализированной медицинской помощи.

Ключевые слова: Краснодарский край, злокачественные новообразования, динамика заболеваемости

Введение

В мире первичная заболеваемость онкологическими заболеваниями составляет 143 случая на 100 тыс. населения, а в РФ этот показатель значительно превышает среднемировые значения [7, 8]. Экономический ущерб от онкологических заболеваний в России достиг в 2015 г. более чем 90 млрд, а к 2020 г., по прогнозам, мог возрасти до 200 млрд рублей [9].

Эксперты ВОЗ прогнозируют устойчивую тенденцию роста онкологических заболеваний: в начале века в мире ежегодно регистрировалось около 10 млн новых случаев рака и более 6 млн смертей от него, ожидалось достижение числа заболевших к 2020 г. 15 млн в год, к 2050 — до 24 млн и смертей до 16 млн, но уже в 2018 г. число заболевших превысило 18 млн новых случаев рака и более 9,6 млн смертей от него. Ежегодный темп прироста злокачественных новообразований (ЗНО) составляет около 2%, что превышает на 0,3–0,5% рост численности населения мира [2, 8–12].

Ухудшается эпидемиологическая ситуация по ЗНО и в РФ, растет число пациентов как впервые заболевших ЗНО, так и состоящих на учете. Ежегодно в России выявляется более полумиллиона новых случаев ЗНО. За первое десятилетие XXI века прирост показателя заболеваемости ЗНО превысил 14% [1, 2]. В дальнейшем прирост увеличился. Каждый пятый житель страны заболевает в течение жизни одной из форм рака. Число потерянных лет жизни в активном возрасте в результате ЗНО составляет в среднем 7,5 лет у мужчин и 10 лет у женщин [3–7, 9].

Материалы и методы

В работе были использованы данные формы № 12 федерального статистического наблюдения «Сведения о числе заболеваний, зарегистрированных у пациентов, проживающих в районе обслуживания медицинской организации» за период с 2008 по 2019 г. Применялись математический, библиографический и статистический методы.

Результаты

Уровень онкологической заболеваемости в Краснодарском крае растет так же, как и в целом по Российской Федерации. По данным популяционного ракового регистра Краснодарского края, показатель заболеваемости раком за последние десять лет (2010–2019 гг.) увеличился на 23,2% и составил в 2019 г. 479,5 на 100 000 населения (в РФ — 425,5), что в значительной мере определено неблагоприятным направлением демографических процессов в популяции края.

«Грубый» показатель заболеваемости на 100 000 мужского населения составил в 2019 г. — 414,6, с 2008 г. этот показатель вырос на 18,7%, а стандартизованный (295,6) — на 6,2%. «Грубый» показатель заболеваемости на 100 000 женского населения составил 478,9 (прирост на 23,9%), а стандартизованный — 427,6 (прирост на 16,2%) по сравнению с 2008 г.

Ведущими локализациями в общей структуре онкологической заболеваемости в 2019 г. являются кожа (16,2%), молочная железа (10,4%),

трахея, бронхи, легкое (10,2%), предстательная железа (7,8%), ободочная кишка (7,0%), гемобластозы (4,8%), прямая кишка (4,8%) и желудок (4,2%) (рисунок).

Структура заболеваемости злокачественными новообразованиями всего населения Краснодарского края в 2019 г.

У мужчин ведущие места занимают ЗНО трахеи, бронхов и легкого (16,3%), предстательной железы (16,3%), кожи вместе с меланомой (13,5%), ободочной кишки (6,7%).

Структура онкологической заболеваемости мужчин в течение последних десяти лет несколько изменилась. Если до 2018 г. на первом месте находился рак кожи, на втором — рак трахеи, бронхов и легких, на третьем — ЗНО предстательной железы, то в 2019 г. ЗНО кожи заняли второе место. По сравнению с 2018 г. выявлен рост ЗНО трахеи, бронхов, легкого (с 15,2 до 16,3%), предстательной железы (с 14,7 до 16,3% соответственно), ободочной кишки (с 6,4 до 6,7%), прямой кишки (с 5,0 до 5,2%), печени (с 2,1 до 2,7%). В то же время снизился удельный вес ЗНО кожи (с 15,3 до 13,5%), поджелудочной железы (с 3,6 до 3,4%) и почки (с 4,3 до 4,1%).

У женщин рак молочной железы (19,8%) является ведущей онкологической патологией, на втором месте рак кожи (18,7%). Далее следуют рак тела матки (7,3%), ободочной кишки (7,2%), шейки матки (4,7%) гемобластозы (4,7%), прямой кишки (4,5%), трахеи, бронхов, легких (4,5%), щитовидной железы (4,1%), яичников (3,7%), желудка (3,2%), поджелудочной железы (3,1%).

В отличие от мужчин, в структуре заболеваемости женщин увеличился удельный вес рака трахеи, бронхов, легких (с 2,7 до 4,5% соответственно), ободочной кишки (с 5,8 до 7,2%), шейки матки (с 4,1 до 5,1%), поджелудочной железы (с 2,2 до 3,1%). В то же время отмечено снижение ЗНО молочной железы (с 20,1 до 19,8%), желудка (с 3,8 до 3,2%), щитовидной железы (с 5,2 до 4,1%), прямой кишки (с 5,8 до 4,5%).

Заболеваемость в Краснодарском крае злокачественными новообразованиями в 2008–2019 гг. (в абс. числах, $\frac{0}{0000}$, %)

Пол	Годы					% прироста к 2008 г.
	2008	2012	2013	2017	2019	
Число заболеваний						
Оба пола	23981	25655	26390	26784	26891	11,8
Мужчины	11182	11955	12435	12536	12535	10,3
Женщины	12799	13700	13955	14248	14356	9,4
Интенсивный показатель						
Оба пола	389,3	427,1	444,5	472,3	479,5	23,2
Мужчины	398,7	439,6	447,2	480,1	484,0	21,4
Женщины	371,2	426,2	439,6	465,6	475,4	28,1

Онкологическая заболеваемость в Краснодарском крае составила 479,5 на 100 000 населения. За исследуемые годы она выросла на 23,2%. В 2019 г. в крае зарегистрировано всего 26891 новых случаев ЗНО, что на 2910 больше, чем в 2008 г. (таблица).

В Российской Федерации показатель онкологической заболеваемости в 2019 г. был ниже и составил 436,1 на 100 000 населения страны. При этом темпы роста заболеваемости раком в Краснодарском крае за десять последних лет были ниже, чем в целом по РФ (11,8% в абсолютном исчислении против 18,5% соответственно, и 23,2 против 26,2 — в интенсивном).

Уровень интенсивного показателя заболеваемости мужчин вырос за этот период на 20,3% и составил в 2019 г. 484,0 на 100 000 мужского населения. Более высокими темпами выросла онкологическая заболеваемость женщин. Интенсивный показатель заболеваемости женщин, зафиксированный в 2019 г. на уровне 475,4 на 100 000 женского населения, превысил соответствующий показатель в 2008 г. на 28,8%. Среди всех впервые выявленных случаев ЗНО преобладали женщины (53,6% — женщины и 46,4% — мужчины). При этом гендерные различия в уровнях первичной онкозаболеваемости оставались практически неизменными в течение всего периода наблюдения. Прирост интенсивного показателя заболеваемости раком при этом среди женщин был выше, чем у мужчин.

Рост заболеваемости ЗНО произошел за счёт всех возрастных групп как в первом, так и во втором пятилетии. Наиболее высокие уровни заболеваемости отмечены в возрасте от 60–69 лет (106,0 в первом, 150,2 во втором периодах на 100 000 населения). В этом же возрасте наиболее выраженный прирост заболевших.

Несмотря на рост показателей заболеваемости в зависимости от возраста в целом, интенсивность его среди мужчин и женщин не была одинаковой. Как у мужчин, так и у женщин резкий рост заболеваемости ЗНО начинается после 30–39 лет и достигает своего максимума к 70 годам. В возрастных группах (по пятилетним интервалам) с 0 до 29 лет показатель заболеваемости у мужчин выше, чем среди женщин, а с 30 до 59 лет показатель заболеваемости выше среди женщин. После 60 лет показатель у мужчин вновь превышает показатель заболеваемости женщин.

Удельный вес больных в возрасте 40 лет в группе заболевших женщин (21,3%) в 1,5 раза выше, чем в группе мужчин (14,4%). Максимальное число заболевших как у мужчин (20,5%), так и у женщин (15,7%) приходится на возрастную группу 60–69 лет.

В связи с разной направленностью динамики роста заболеваемости произошло изменение в её структуре. Главным образом на протяжении исследуемого периода (2008–2018 гг.) на территории края отмечалось наличие двух тенденций заболеваемости ЗНО: наклонность к росту и у мужчин, и у женщин во втором периоде по сравнению с первым. К концу изучаемого периода интенсивный показатель заболеваемости оказался на 14,2% выше исходного. Указанный рост показателей обусловлен комбинацией двух факторов (помимо обозначенных выше): постарением популяции и истинным ростом заболеваемости.

Территориальные особенности распространения рака в Краснодарском крае были изучены по статистическим данным каждого района, сосредоточенным в ГБУЗ «Клинический онкологический диспансер № 1» Министерства здравоохранения Краснодарского края с 2014 по 2019 г.

Значительный прирост показателей онкозаболеваемости с 2014 по 2019 г. отмечается в следующих муниципальных образованиях Краснодарского края: Щербиновский (+43,7%), Мостовский (+42,1%), Горячий Ключ (+42,1%), Темрюкский (+33,3%) и Успенский (+32,1%) районы. Снижение уровня заболеваемости ЗНО характерно для Павловского (–10,5%), Крымского (–1,4%) районов и г. Краснодара (–6,2%).

Наиболее высокие показатели заболеваемости ЗНО в 2019 г. отмечаются в Белоглинском (674,3 на 100 тыс. населения), Тихорецком (571,3), Брюховецком (548,6), Выселковском (535,1) и Новопокровском (536,9) муниципальных образованиях. В Отрадненском, Куцеевском, Гулькевичском, Апшеронском и Каневском районах отмечены самые низкие показатели первичной онкозаболеваемости в крае.

В 2019 г. наибольшее число выявленных случаев ЗНО отмечается по таким локализациям как ЗНО кожи (4371 случаев), молочной железы (2802), трахеи, бронхов, легкого (2740), предстательной железы (2116), ободочной кишки (1881), желудка (1132), прямой кишки (1304) и по гемобластомам (1303).

За последние 5 лет снизилось ежегодное количество впервые выявляемых случаев злокачественных заболеваний желудка, щитовидной железы, костей и суставных хрящей. Значительно выросло количество регистрируемых случаев заболеваний кожи, предстательной железы, молочной железы, трахеи, бронхов, легкого, ободочной кишки и гемобластозов.

С 2014 г. первичная заболеваемость снизилась при ЗНО костей и суставных хрящей на 25,0%, желудка на 9,3%, щитовидной железы на 7,0%, гортани на 1,9%, и значительно выросла при ЗНО пищевода (на 27,6%), соединительной

и других мягких тканей (на 25,0%), мочевого пузыря (на 18,3%), шейки матки (на 18,0%), печени (на 17,6%), поджелудочной железы (на 16,4%), предстательной железы (на 15,7%).

Средний возраст больных с впервые выявленными ЗНО в Краснодарском крае в 2019 г. составил 65,2 года (в 2014 г. — 64,7), среди мужчин — 65,4 (в 2014 г. — 65,1), среди женщин — 65,0 лет (в 2014 г. — 64,3). В РФ средний возраст заболевших в 2018 г. равен 64,4 года: для мужчин — 64,7, для женщин — 64,2 года. В крае самый высокий средний возраст заболевших в 2019 г. отмечался при ЗНО кожи (69,9 лет), губы (69,5 года), поджелудочной железы (68,8 лет), ободочной кишки (68,7 лет), желудка (68,3 лет), мочевого пузыря (67,8 лет), печени (67,2 лет). Самый молодой средний возраст заболевших приходился на лимфогранулематоз (39,8 лет), онкопатологию костей и суставных хрящей (48,8 года), щитовидной железы (52,8 года), головного мозга, других и неуточненных отделов нервной системы (57,6 лет), лимфомы (57,6 года) и лейкозы (59,9 года). При этом следует отметить, что среди заболевших ЗНО женщин самый молодой средний возраст диагностирования заболевания отмечен при ЗНО шейки матки (54,7 лет) и яичников (58,8 лет), а среди заболевших мужчин — ЗНО яичка (38,9 лет).

Различия среднего возраста между заболевшими женщинами и мужчинами особенно значительно выражены при новообразованиях печени (на 8,2 года: у женщин — 72,6, у мужчин — 64,4), костей и суставных хрящей (на 11,3 года: у женщин — 51,1, у мужчин — 39,8), губы (на 9,8 лет: у женщин — 76,4, у мужчин — 66,6), пищевода (на 4,5 года: у женщин — 68,0, у мужчин — 63,5), поджелудочной железы (на 6,2 года: у женщин — 71,9, у мужчин — 65,7), лимфатической и кроветворной ткани (на 3,1 года: у женщин — 60,1, у мужчин — 57,0), головного мозга, других и неуточненных отделов нервной системы (на 3,7 года: у женщин — 58,8, у мужчин — 56,4).

Обсуждение

Онкологическая заболеваемость — одна из важнейших составляющих комплексной оценки здоровья населения, а ее анализ необходим для управленческих решений на всех уровнях организации работы системы здравоохранения. В этой связи показатели онкологической заболеваемости являются одним из критериев качества работы онкологических организаций.

Не является исключением и Краснодарский край, уровень онкологической заболеваемости в котором растет так же, как и в целом по РФ. По данным популяционного ракового регистра

Краснодарского края показатель заболеваемости раком за последние десять лет (2009–2019 гг.) увеличился на 23,2% и составил в 2019 г. — 479,5 на 100 000 населения (в РФ — 425,5), что в значительной мере определено неблагоприятным направлением демографических процессов в популяции края.

Наибольший удельный вес в структуре онкологической заболеваемости женщин Краснодарского края так же, как и в среднем по РФ имеют ЗНО репродуктивной системы (35,5%), при этом опухоли половых органов составляют 15,7% всех ЗНО. Удельный вес заболеваемости органов пищеварительной системы у женщин ниже аналогичного показателя у мужчин. Каждая пятая злокачественная опухоль, диагностируемая у мужчин, локализуется в органах дыхания, у женщин доля этих опухолей в 5 раз меньше.

Заключение

Рост заболеваемости населения Краснодарского края ЗНО, а также территориальная неравномерность распространения этих заболеваний является отражением не только продолжающейся тенденции старения населения, сохраняющегося влияния неблагоприятных факторов внешней среды и урбанизации, но и отсутствия эффективных путей первичной профилактики. Помимо перечисленных выше причин рост выявляемости ЗНО был также связан с внедрением новых диагностических технологий, информированностью населения и доступностью специализированной медицинской помощи.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии в статье конфликта интересов.

Финансирование

Исследование не имело спонсорской поддержки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Введенская Е.С. Проблемы организации паллиативной помощи incurable онкологическим больным на региональном уровне // Социальные аспекты здоровья населения. 2012;25(3). <https://doi:vestnik.mednet.ru/content/view/407/30/> [Vvedenskaya, E. S. Problems of organizing palliative care for incurable cancer patients at the regional level // Sotsial'nye aspekty zdorov'ya naseleniya. 2012;25(3). (In Russ.)]. <https://doi:vestnik.mednet.ru/content/view/407/30/>
2. Голивец Т.П., Коваленко Б.С. Анализ мировых и российских тенденций онкологической заболеваемости в XXI веке // Научный результат. 2015;1(4):79–86 [Golivets TP, Kovalenko BC. Analysis of the global and Russian cancer incidence in the twenty-first century // Nauchnyi rezultat. 2015;1(4):79–86 (In Russ.)].

3. Злокачественные новообразования в России в 2010 году (заболеваемость и смертность) / Ред. В.И. Чиссов, В.В. Старинский, Г.В. Петрова. М., 2012 [Malignant neoplasms in Russia in 2010 (morbidity and mortality) / Ed. VI Chissov, VV Starinskiy, GV Petrova, M., 2012 (In Russ.)].
4. Злокачественные новообразования в России в 2012 году (заболеваемость и смертность) / Ред. А.Д. Каприн, В.В. Старинский, Г.В. Петрова. М.: ФГБУ «МНИОИ им. П.А.Герцена» Минздрава России, 2014 [Malignant neoplasms in Russia in 2012 (morbidity and mortality) / Ed. AD Kaprin, VV Starinskiy, GV Petrova. M.: FGBU «MNIIOI P.A. Gertsena» Minzdrava Rossii, 2014 (In Russ.)].
5. Злокачественные новообразования в России в 2014 году (заболеваемость и смертность) / Ред. А.Д. Каприн, В.В. Старинский, Г.В. Петрова. М.: ФГБУ «МНИОИ им. П.А.Герцена» Минздрава России, 2016 [Malignant neoplasms in Russia in 2014 (morbidity and mortality) / Ed. AD Kaprin, VV Starinskiy, GV Petrova. M.: FGBU «MNIIOI P.A. Gertsena» Minzdrava Rossii, 2016 (In Russ.)].
6. Злокачественные новообразования в России в 2015 году (заболеваемость и смертность) / Под ред. В.И. Чиссова, В.В. Старинского, Г.В. Петровой. М.: ФГБУ «МНИОИ им. П.А. Герцена Росмедтехнологий», 2016 [Malignant neoplasms in Russia in 2015 (morbidity and mortality) / Ed. VI Chissov, VV Stalinskogo, GV Petrova. M.: FGBU «MNIIOI P.A. Gertsena Rosmedtechnologii», 2016 (In Russ.)].
7. Злокачественные новообразования в России в 2016 году (заболеваемость и смертность) / Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, Г.В. Петровой, 2018 [Malignant neoplasms in Russia in 2016 (morbidity and mortality) under the General editorship of AD Kaprin, VV Stalinskogo, GV Petrova, 2018].
8. Иванилов А.К. Структура онкологической заболеваемости в мире, РФ и отдельных ее регионах // Актуальные проблемы гуманитарных и естественных наук. 2014(1–2):181–184 [Ivanilov AK. The structure of oncological morbidity in the world, the Russian Federation and its individual regions // Actual'nye problemy gumanitarnykh i estestvennykh nauk. 2014(1–2):181–184 (In Russ.)].
9. Муханова И.Ф. Организация онкологической помощи больным со злокачественными новообразованиями в Российской Федерации // Оренбургский медицинский вестник. 2017;17(1):64–67 [Mukhanova IF. Organization of oncological care for patients with malignant neoplasms in the Russian Federation // Orenburgskii meditsinskii vestnik. 2017;17(1):64–67 (In Russ.)].
10. Шарафутдинова Н.Х., Потапов С.О., Шарафутдинова А.Г., Назмиева Л.Р. Некоторые аспекты организации онкологической помощи больным на уровне первичного звена // Журнал научных статей здоровья и образование в XXI веке. 2013;15(1–4):332–336 [Sharafutdinova NKh, Potapov SO, Sharafutdinova AG, Nazmieva LR. Some aspects of the organization of cancer care for patients in primary care // Journal nauchnykh statei zdorov'ie i obrazovanie v XXI veke. 2013;15(1–4):332–336 (In Russ.)].
11. Cancer incidence in Five continents. Vol. VIII / eds.: DM Parkin, SL Whelan, J Ferlay et al. Lyon: International Agency for Research on Cancer, 2002. 838 p.: tab. (IARC Scientific Publication; № 155).
12. World Cancer Report / World Health Organization, International Agency for Research on Cancer / eds.: BW Stewart, P Kleihues. Lyon: IARC Press, 2003.
13. World Health Organization Guide to cancer early diagnosis. Geneva, 2018.

Поступила в редакцию 19.05.2021 г.

R.A. Murashko, A.M. Shmatkova

Dynamics of oncological morbidity of the population of the Krasnodar Territory

Physician of the Clinical Oncological Dispensary № 1, Krasnodar, Russia

Introduction. In the world, the primary incidence of cancer is 143 cases per 100 thousand of the population, and in the Russian Federation this figure is significantly higher than the global average. The economic damage from cancer for Russia reached more than 90 billion rubles in 2015, and by 2020, according to forecasts, could increase to 200 billion rubles.

Materials and methods. The work used data from the form № 12 of the federal statistical observation «Information on the number of diseases registered in patients living in the area of service of a medical organization» for the period from 2008 to 2019. Mathematical, bibliographic, and statistical methods were used.

Results. The level of cancer incidence in the Krasnodar Territory is growing in the same way as in the whole of the Russian Federation. According to the population cancer register of the Krasnodar Territory, the cancer incidence rate over the past ten years (2010–2019) increased by 23.2% and amounted to 479.5 per 100 000 population in 2019 (in the Russian Federation — 425.5), which is largely determined by the unfavorable direction of demographic processes in the population of the region. The «rough» incidence rate per 100 000 male population was 414.6 in 2019, since 2008. this indicator increased by 18.7%, and the standardized (295.6) — by 6.2%. The «rough» incidence rate per 100 000 female population was 478.9 (an increase of 23.9%), and the standardized — 427.6 (an increase of 16.2%) compared to 2008. The leading localities in the overall structure of cancer incidence in 2019 are the skin (16.2%), breast (10.4%), trachea, bronchi, lung (10.2%), prostate (7.8%), colon (7.0%), hemoblastosis (4.8%), rectum (4.8%) and stomach (4.2%).

Discussion. Cancer incidence is one of the most important components of a comprehensive assessment of public health, and its analysis is necessary for management decisions at all levels of the organization of the health system. In this regard, the indicators of cancer incidence are one of the criteria for the quality of work of cancer organizations.

Conclusion. The increase in the incidence of malignant neoplasms among the population of the Krasnodar Territory, as well as the territorial unevenness of the spread of these diseases, reflects not only the continuing trend of population aging, the continuing influence of adverse environmental factors and urbanization, but also the lack of effective ways of primary prevention. In addition to the reasons listed above, the increase in cancer incidence was also associated with the introduction of new diagnostic technologies, public awareness and the availability of specialized medical care.

Key words: Krasnodar Region, malignant neoplasms, morbidity

В.М. Мерабишвили

Состояние онкологической помощи в России: злокачественные новообразования кожи (С44). Распространенность, достоверность учета, локализационная и гистологическая структура. Популяционное исследование на уровне федерального округа

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

Злокачественные новообразования кожи (ЗНО) — локализация визуальная, с низким уровнем летальности. Несмотря на то, что ЗНО кожи (С44) относятся к группе злокачественных опухолей, во многих странах раковые регистры не вели ее учет, такое же отношение к этой опухоли выработалось и у врачей, что затрудняет проведение сравнительных исследований между странами.

При отборе данных для анализа распространенности ЗНО кожи кроме рубрики С44 добавляют часть рубрики МКБ-10 — С46 — саркома Капоши, ее часть С46.0 — саркома Капоши кожи, или гистотип М-9140/3. Во многих случаях саркому Капоши не включают в число ЗНО кожи в связи с редким ее возникновением. В Северо-Западном федеральном округе РФ (СЗФО РФ) саркома Капоши регистрируется от двух до двадцати случаев в год.

Целью настоящего исследования является: впервые в России рассмотреть не только закономерности распространенности ЗНО кожи, но и изучить специфику локализационной и гистологической структуры данной локализации опухоли, опираясь на вновь созданную базу данных (БД) популяционного ракового регистра (ПРР) СЗФО РФ.

Ключевые слова: кожа, злокачественные новообразования, заболеваемость, смертность, достоверность учета, одногодичная летальность, Россия, популяционный раковый регистр, СЗФО РФ, пол, возраст

Ежегодно в России регистрируется более 80 000 первичных случаев ЗНО кожи (С44), величина сводного грубого показателя заболеваемости колеблется в весьма широких пределах — от 12,0 случаев на 100 000 населения в Дагестане до 115,66 0/0000 в республике Мордовия. Ежегодно в России погибает более 1500 (2019 г. — 1514) заболевших [7, 16–18].

Грубые средние показатели заболеваемости находятся в пределах 50 случаев на 100 000 населения, что составляет около 10% всех ЗНО, близок к этой величине и стандартизованный показатель,

в связи с чем мы можем констатировать, что в мире ежегодно возникает (а не регистрируется) около 1 млн новых случаев ЗНО кожи, из которых не менее 18–20 тыс. заболевших погибают.

На рис. 1 и 2 представлена заболеваемость населения по данным раковых регистров некоторых стран, отдельно для мужчин и женщин, по данным только что изданной (2021 г.) монографии МАИР «Рак на 5 континентах» № 166 том XI [16–18].

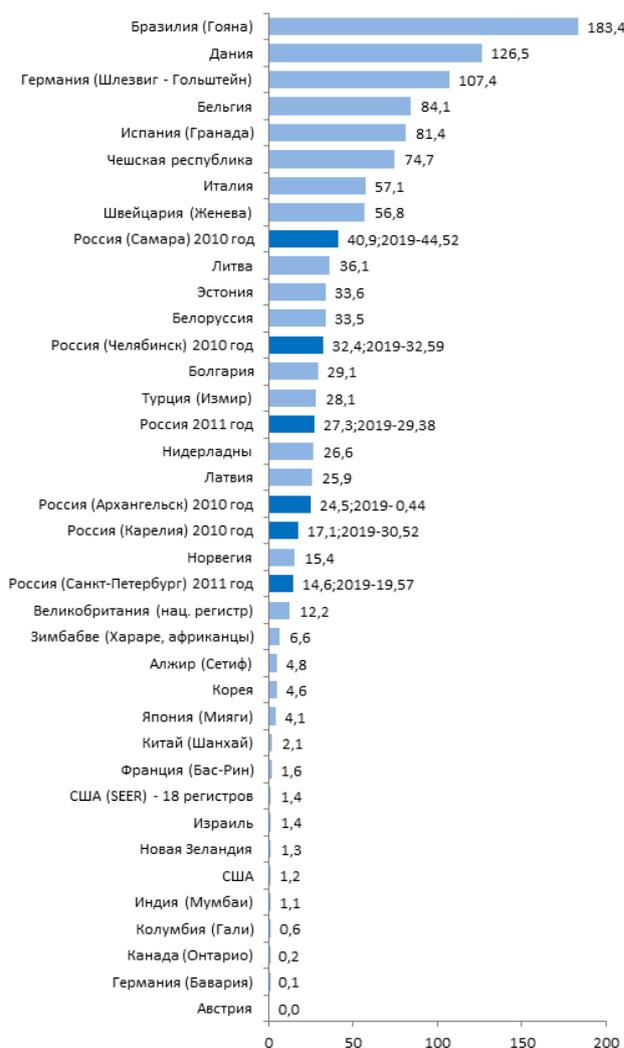


Рис. 1. Злокачественные новообразования в некоторых странах мира. Кожа (кроме меланомы). С44. Мужчины. 2008–2012. МАИР «Рак на 5 континентах». т. XI (2021) [7, 16–18]

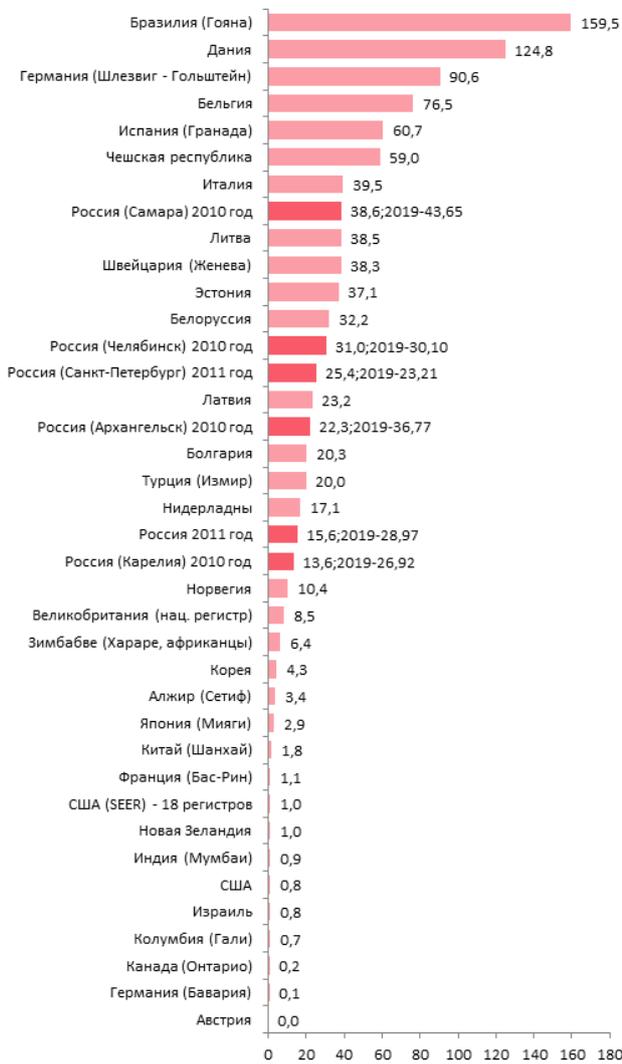


Рис. 2. Злокачественные новообразования в некоторых странах мира. Кожа (кроме меланомы). С44. Женщины. 2008–2012. МАИР «Рак на 5 континентах». т. XI (2021) [7, 16–18]

Наивысшие показатели зарегистрированы в Бразилии, Дании и Германии, где ведется более тщательный учет ЗНО кожи.

Учитывая вышесказанное сложно оценивать такое расположение показателей. Например, в США многие годы ЗНО кожи (С44) не учитывались. Такой же порядок учета был установлен и в Канаде. Во многих арабских странах население, особенно женщины, носят одежду почти закрывающую все части тела, в связи с чем риск возникновения ЗНО кожи резко снижается.

Вместе с тем четко прослеживается тенденция постоянного нарастания ЗНО кожи от выпуска к выпуску монографий МАИР к каждому последующему пятилетнему периоду наблюдения.

Россия. Северо-Западный федеральный округ (СЗФО) РФ

В табл. 1 представлена динамика заболеваемости населения России и СЗФО РФ ЗНО кожи (С44). Наблюдается постепенное нарастание

всех показателей. В отличие от многих других ЗНО уровень стандартизованных показателей среди мужского и женского населения не имеет существенных различий [7, 10, 11].

В данной работе мы впервые в России представляем динамику локализационной структуры ЗНО кожи на уровне СЗФО РФ (табл. 2) [1–7, 9–11]. Для этого было отобрано 15 125 впервые в жизни установленных диагнозов ЗНО кожи (С44) за период с 2000 по 2004 г. и 24 467 наблюдений за период с 2010 по 2014 гг. [1–7, 9–11].

Прежде всего необходимо отметить устойчивость локализационной структуры, где в первом и во втором случае первое место заняли ЗНО кожи неуточненных частей лица (С44.3), второе место, с некоторым увеличением доли, пришлось на С44.5 — кожу туловища и третье на С44.4 — волосистую часть головы и шеи. О повышении качества диагностики свидетельствует уменьшение почти в 2 раза рубрики С44.9 — ЗНО кожи неуточненной области [15].

Гистологическая структура ЗНО кожи (С44) для мужского и женского населения СЗФО РФ изменились следующим образом: основная доля гистологических типов ЗНО сосредоточилась на рубрике М-8090/3 базальноклеточный рак, более того, произошло ее усиление до 81,9% среди мужского и до 86,0% среди женского населения. Второе место пришлось на рубрику М-8070/3 плоскоклеточный рак БДУ, которая сохранила свой удельный вес, третье место заняла рубрика М-8071/3 плоскоклеточный рак, ороговевающий БДУ, удельный вес которой несколько снизился. На остальные рубрики приходилось, как правило, менее 10% удельного веса. Снизился и удельный вес рубрики М-8000/3 новообразования злокачественные — до 0,4–0,5%, практически не характеризующий гистотип опухоли [8, 9].

Смертность

В табл. 4 мы наблюдаем динамические процессы стандартизованных показателей смертности населения России и СЗФО от ЗНО кожи (С44).

Обращают на себя внимание 2 процесса: постоянное снижение показателей смертности и близкие величины их уровней для мужского и женского населения. Всего в России в 2019 г. умерло от ЗНО кожи (С44) 1514 человек, в том числе 744 мужчин и 770 женщин [1–7, 9–12]. Наиболее высокие стандартизованные показатели смертности населения от данной причины при среднероссийском уровне $0,46^{0/0000}$ зафиксированы в Кемеровской области — $0,84^{0/0000}$, умерло 52 человека, Новосибирской — $0,73^{0/0000}$, умерло 45 человек, в Астраханской области — $0,81^{0/0000}$, умерло 17 человек,

Таблица 1. Динамика заболеваемости населения России и СЗФО РФ ЗНО кожи (стандартизованные показатели, мировой стандарт)

Оба пола								
	2000	2005	2010	2015	2016	2017	2018	2019
Россия	20,8	22,31	25,82	26,75	26,75	27,5	27,46	28,82
СЗФО			18,42	21,91	22,83	22,23	22,54	23,39
Мужчины								
	2000	2005	2010	2015	2016	2017	2018	2019
Россия	22,79	24,49	27,83	27,54	27,81	28,73	28,26	29,38
СЗФО			18,65	21,43	22,37	22,06	21,58	22,6
Женщины								
	2000	2005	2010	2015	2016	2017	2018	2019
Россия	20,2	21,64	25,16	26,76	26,67	27,22	27,43	28,97
СЗФО			18,6	22,68	23,69	22,9	23,64	24,31

Таблица 2. Локализационная структура ЗНО кожи (С44) в СЗФО РФ. БД ПРР СЗФО РФ

Нозология Абс. число	2000–2004		2010–2014	
	%	Абс. число	%	Абс. число
С44		15125		24467
Губа	.0	304	2,0	632
Веко	.1	747	4,9	1061
Ухо	.2	492	3,3	708
Кожа, неуточненные части лица	.3	7990	52,8	13216
Голова, шея	.4	1434	9,5	1911
Туловище	.5	2168	14,3	4121
Верхние конечности	.6	537	3,6	954
Нижние конечности	.7	555	3,7	767
Выход за пределы	.8	290	1,9	507
Неуточненная	.9	608	4,0	590

Таблица 3. Гистологическая структура больных ЗНО кожи (С44) в СЗФО РФ. БД ПРР СЗФО РФ

	2000–2004				2010–2014			
	Мужчины		Женщины		Мужчины		Женщины	
	Абс. число	%						
8090/3	3921	73,6	7575	77,3	6658	81,9	14043	86,0
8070/3	294	5,5	435	4,4	470	5,8	724	4,4
8001/3	94	1,8	139	1,4	84	1,0	210	1,3
8071/3	256	4,8	350	3,6	290	3,6	312	1,9
8095/3	39	0,7	83	0,8	55	0,7	109	0,7
8072/3	69	1,3	92	0,9	64	0,8	64	0,4
8000/3	42	0,8	64	0,7	35	0,4	76	0,5
По группе	4715	88,5	8738	89,2	7656	94,1	15538	95,1
	5330		9795		8133		16334	
Всего	15125				24467			

Таблица 4. Смертность населения России и СЗФО РФ от ЗНО кожи (С44)

Оба пола								
	2000	2005	2010	2015	2016	2017	2018	2019
Россия	0,78	0,69	0,65	0,53	0,51	0,49	0,48	0,46
СЗФО			0,66	0,54	0,56	0,52	0,55	0,44
Мужчины								
	2000	2005	2010	2015	2016	2017	2018	2019
Россия	0,94	0,91	0,93	0,77	0,75	0,75	0,73	0,69
СЗФО			0,91	0,84	0,74	0,8	0,78	0,55
Женщины								
	2000	2005	2010	2015	2016	2017	2018	2019
Россия	0,67	0,56	0,48	0,39	0,36	0,33	0,34	0,32
СЗФО			0,56	0,37	0,47	0,36	0,43	0,38

в Калининградской и Амурской областях также высокие показатели ($0,7\%_{0000}$), но малое число умерших — 10–14 человек. Велик фактор случайности. Каждый случай смерти резко влияет на величину показателя. На четырех небольших территориях не зафиксирован ни один летальный случай.

Достоверность учета

Для определения качества учета больных мы используем простой критерий — индекс достоверности учета (ИДУ) — отношение числа умерших к заболевшим. ЗНО кожи (С44) относятся к локализациям с низким уровнем летальности (менее 0,5). Реально ее величина для ЗНО кожи (С44) равна в настоящее время в России 0,2 и 0,1 [7, 13, 14]. Главным для этого критерия остается не величина индекса, а ее динамика.

На рис. 3 представлена динамика величин ИДУ для России и СЗФО РФ, всего и отдельно для мужского и женского населения за длительный период. Во всех случаях мы наблюдаем положительную динамику ее величин, что свидетельствует об улучшении учета больных (С44).

Таким образом, проведенное исследование позволило выявить устойчивый рост заболеваемости населения ЗНО кожи (С44) в мире, в том числе и в России.

В России и в СЗФО РФ относительно рака кожи наблюдается постоянное снижение стандартизованных показателей смертности. Установлены низкие и близкие по величинам показатели смертности от ЗНО кожи в России и в СЗФО независимо от пола.

На протяжении многих лет наблюдается снижение индекса достоверности учета больных ЗНО кожи среди мужского и женского населения, что свидетельствует об улучшении учета больных данной группы.

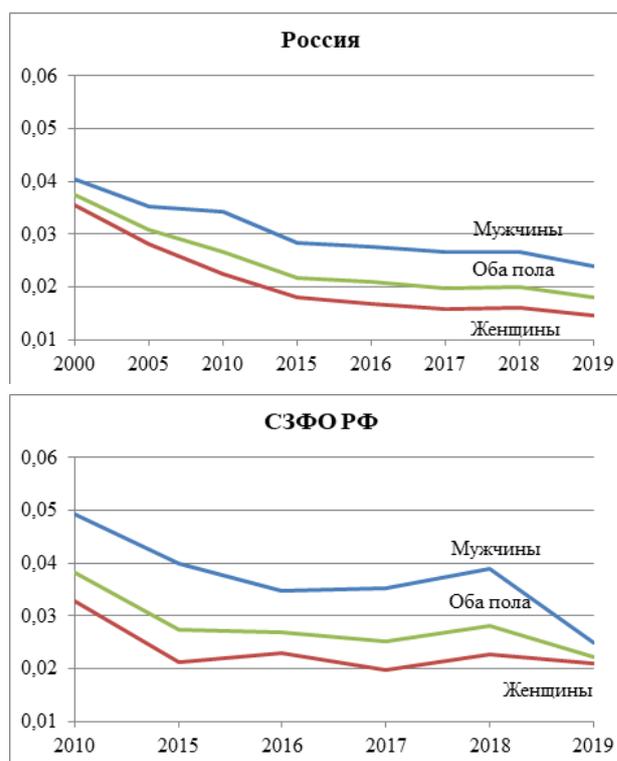


Рис. 3. Динамика индекса достоверности учета больных ЗНО кожи (С44) по России и СЗФО РФ с 2000 по 2019 гг.

Установлен устойчивый характер локализационной и гистологической структуры ЗНО кожи. Снижился удельный вес рубрики С44.9 — ЗНО кожи неуточненной области. Возросла доля базальноклеточного рака — М08090/3.

ЛИТЕРАТУРА

1. Злокачественные новообразования в России в 2000 году (заболеваемость и смертность) / Под ред. В.И.Чиссова, В.В.Старинского. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена, 2002.
2. Злокачественные новообразования в России в 2010 году (заболеваемость и смертность) / Под ред.

- В.И.Чиссова, В.В.Старинского, Г.В.Петровой. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена, 2012.
3. Злокачественные новообразования в России в 2015 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, 2017.
 4. Злокачественные новообразования в России в 2016 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, 2018.
 5. Злокачественные новообразования в России в 2017 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, 2018.
 6. 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.
 7. Злокачественные новообразования в России в 2019 году (заболеваемость и смертность) / Под ред. А.Д.Каприна, В.В.Старинского, А.О.Шахзадовой. М.: МНИОИ им. П.А.Герцена — филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2020.
 8. Инструктивно-методические указания по использованию полного перечня кодов морфологии опухолей (МКБ-О) и их переводу в коды единой системы популяционных раковых регистров России / Ред. О.Ф.Чепик, В.М.Мерабишвили. СПб., 1996.
 9. Международная статистическая классификация болезней и проблем, связанных со здоровьем (МКБ-10) в 3 томах. ВОЗ. Женева, 1995.
 10. Мерабишвили В.М. Злокачественные новообразования в Северо-Западном федеральном округе России (заболеваемость, смертность, достоверность учета, выживаемость больных). Экспресс-информация. Выпуск пятый / Под ред. проф. А.М. Беляева, проф. А.М. Щербаклова. СПб.: Т8 Издательские технологии, 2020 [Merabishvili VM. Malignant tumors in the North-West Federal Region of Russia (morbidity, mortality, index accuracy, survival). Express-information. Fifth Issue. Editors: Prof. A.M.Belyaev, Prof. A.M.Shcherbakov. St.Petersburg: T8 Izdatel'slie tekhnologii, 2020 (In Russ.)].
 11. Мерабишвили В.М. Злокачественные новообразования в Северо-Западном федеральном округе России (заболеваемость, смертность, контингенты, выживаемость больных). Экспресс-информация. Выпуск четвертый. Пособие для врачей. / Под ред. проф. А.М.Беляева. СПб.: Т8 Издательские технологии, 2018 [Merabishvili VM. Malignant tumors in the North-West Federal Region of Russia (Morbidity, mortality, prevalence rate, survival). Express-information. Fours Issue. Manual for doctors. St.Petersburg: T8 Izdatel'slie tekhnologii, 2018 (In Russ.)].
 12. Мерабишвили В.М. Аналитические показатели. Анализ реального состояния динамики смертности населения России от злокачественных новообразований и изменения ее структуры // Вопросы онкологии. 2019;65(2):205-219.
 13. Мерабишвили В.М. Индекс достоверности учета — важнейший критерий объективной оценки деятельности онкологической службы для всех локализаций ЗНО, независимо от уровня летальности больных // Вопросы онкологии. 2019;65(4):510-515.
 14. Мерабишвили В.М. Медико-статистический терминологический словарь (Методическое пособие для врачей, ординаторов, аспирантов и научных сотрудников). Выпуск второй. СПб., 2021.
 15. Справочник сопоставления кодов МКБ-9 и МКБ-10 пересмотров по классу новообразований. Второе издание уточненное и дополненное / Под ред. проф. В.М.Мерабишвили. СПб., 1998.
 16. Vazhenin A, Domozhirova A, Aksenova I et al. Cancer incidence in Russian Federation, Chelyabinsk // Cancer incidence in Five Continents. v. XI / Ed. F Bray, M Colombet, L Mery, M Pineros, A Znaor, R Zanetti, J Ferlay. IARC Sci. Publ. №166, Lyon, France, 2021:884–885, 1013–1410.
 17. Cancer Incidence in Five Continents. v. XI. IARC CancerBase № 14 / Ed. by Bray F, Colombet M, Mery L, Pineros M, Znaor A, Zanetti R, Ferlay J Lyon, 2018.
 18. Gusenkova L, Merabishvili V, Lashin V, Lasarevich O. Cancer incidence in Russian Federation, Karelia // Cancer incidence in Five Continents. v. XI / Ed. F Bray, M Colombet, L Mery, M Pineros, A Znaor, R Zanetti, J Ferlay. IARC Sci. Publ. № 166, Lyon, France, 2021, p. 886–887, 1013–1410

Поступила в редакцию 07.04.2021 г.

V.M. Merabishvili

The state of cancer care in Russia: malignant tumors of the skin (C44). Prevalence, index of accuracy, localization and histological structure. Population-based research at the federal district level

FSBI «N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology», St Petersburg

Malignant tumors of the skin — visual localization, with a low mortality rate. Despite the fact that malignant tumors of the skin (C44) belong to the group of malignant tumors in many countries, cancer registries did not keep its records, the same attitude to this tumor was developed by doctors, which makes it difficult to conduct comparative studies between countries.

When selecting data for the analysis of the prevalence of malignant tumors of the skin, in addition to the heading C44, a part of the heading ICD-10 — C46 — Kaposi's sarcoma — its part C46.0 — Kaposi's sarcoma of the skin is added. In many cases, it is not taken into account, due to its extremely rare occurrence, which does not have any practical impact on all the main analytical indicators.

The purpose of this study is: for the first time in Russia, to consider not only the patterns of the prevalence of malignant tumors of the skin, but also to study the specifics of the localization and histological structure of this tumor localization, based on the newly created database of the population cancer Registry (PCR) of the North-Western Federal District of the Russian Federation (NWFD of the Russian Federation).

Key words: skin, malignant tumors, morbidity, mortality, index of accuracy, one-year mortality, Russia, PCR, North-western Federal District of the Russian Federation, gender, age

В.М. Мерабишвили

**Состояние онкологической помощи в России:
злокачественные новообразования кожи (С44).
Погодичная летальность, медиана выживаемости, наблюдаемая
и относительная выживаемость с учетом стадии заболевания.
Популяционное исследование на уровне федерального округа**

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

В предыдущей статье мы представили анализ распространенности и качества учета больных злокачественными новообразованиями (ЗНО) кожи (С44) в России и Северо-Западном федеральном округе (СЗФО), показали качество учета и раскрыли особенности динамики локализационной и гистологической структуры.

В настоящем сообщении наше внимание впервые в России направлено на изучение эффективности противораковых мероприятий, проведенное на основе главного критерия — расчета показателей выживаемости больных ЗНО кожи на уровне СЗФО, чей уровень «грубых» и стандартизованных показателей заболеваемости и смертности населения практически не отличается от среднероссийского.

Расчеты всех видов показателей выживаемости больных ЗНО кожи (С44) на уровне федерального округа стали возможным после организации в феврале 2019 г. единой базы данных (БД) ракового регистра СЗФО РФ, насчитывающей более 1 млн случаев ЗНО, в том числе более 20000 с ЗМК (2,0%).

Созданная БД позволяет осуществлять углубленные разработки динамики локализационной и гистологической структуры по любой части локализационной структуры (губы, уха, туловища и др. частей тела), что недоступно проводить на основе форм государственной отчетности, формируемой до получения всей информации, характеризующей состояние онкологической службы, не говоря о том, что при анализе деятельности онкологической службы не используются базы данных популяционных раковых регистров (БД ПРР) и не осуществляются расчеты главного критерия ее оценки — расчет выживаемости больных.

Ключевые слова: злокачественные новообразования, кожа, СЗФО РФ, медиана вы-

живаемости, выживаемость больных, стадия, гистология

Погодичная летальность

Погодичная летальность — летальность контингентов онкологических больных на разных сроках динамического наблюдения [6].

ЗНО кожи (С44) в отличие от многих других локализаций ЗНО выявили особый характер погодичной летальности. Если для большинства ЗНО летальность отобранной группы больных на первом году диспансерного наблюдения характеризуется максимальным уровнем, а в последующие годы летальность больных год от года становится меньше, то относительно ЗНО кожи эти процессы носят совсем иной характер.

Для изучения закономерностей погодичной летальности больных ЗНО кожи (С44) за длительный период (десятилетний) мы отобрали из БД ПРР СЗФО РФ 15125 больных, учтенных в период 2000–2004 гг. Если по многим другим локализациям ЗНО мы наблюдали неадекватные всплески на 5,7 или 9 году наблюдения, то относительно ЗНО кожи (С44) было установлено, что на первом году наблюдения летальность больных составила 4,4%, а начиная с 6 года наблюдения происходил постоянный рост летальности, достигая к 10 году 8,2% (у мужчин — 9,0%) (рис. 1).

В последующий период наблюдения (2010–2014 гг.) эта тенденция сохранилась с уменьшением величины погодичной летальности (рис. 2).

Медиана выживаемости

Медиана выживаемости — период, за который погибает 50% больных взятых под наблюдение [6].

Учитывая, что ЗНО кожи относятся к локализациям ЗНО с низким уровнем летальности, медиана выживаемости больных составляет более 12 лет, с 2000 по 2006 г. ее величина возросла

с 12 до 12,8 года. Учитывая это обстоятельство, величину медианы выживаемости больных, учтенных в 2020 г. мы узнаем не ранее 2035 г. Важно отметить, что величина медианы выживаемости для мужчин составляет около 11,0 лет, для женщин — около 13, что, скорее всего, связано с характером производственного процесса и некоторым различием ухода за состоянием кожных покровов.

Выживаемость

Анализ выживаемости больных ЗНО — главный критерий оценки эффективности противоопухолевых мероприятий. Методологии расчета

показателей посвящено большое число исследований [1–12].

В табл. 1 и 2 представлена динамика показателей кумулятивной наблюдаемой и относительной выживаемости больных ЗНО кожи (С44) в СЗФО РФ. Мы наблюдаем, что за прошедшие 18 лет в СЗФО РФ однолетняя и 5-летняя выживаемость больных ЗНО кожи (С44) практически не изменилась, но достигла максимальной величины — 100% (особенно относительная).

На рис. 3 и 4 представлена динамика показателей выживаемости больных ЗНО кожи (С44) с учетом стадии заболевания отдельно для мужчин и женщин СЗФО РФ, материал сгруппирован по трем 5-летним периодам.

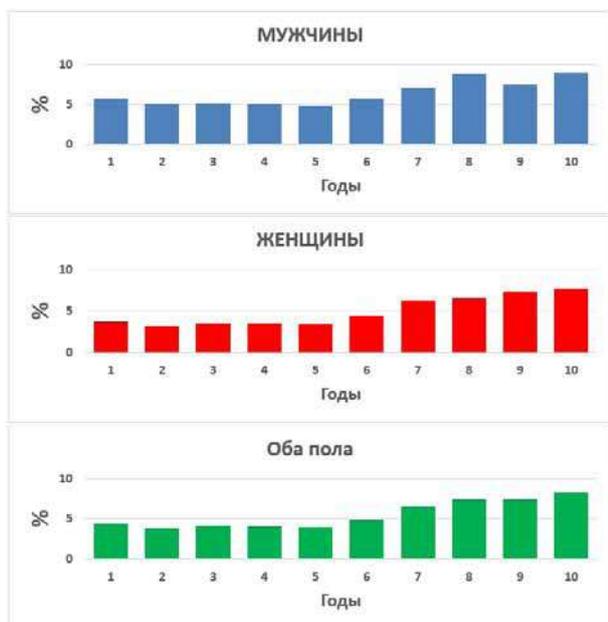


Рис. 1. Погодичная летальность больных ЗНО кожи (С44) в СЗФО РФ. БД ПРР СЗФО РФ. 2000–2004 гг.

Период наблюдения	Мужчины		Женщины		Оба пола	
	Абс. число	Летальность	Абс. число	Летальность	Абс. число	Летальность
1	5330	5,7	9795	3,7	15125	4,4
2	4737	5,0	8901	3,2	13638	3,8
3	4467	5,2	8558	3,5	13025	4,1
4	4212	5,0	8207	3,5	12419	4,0
5	3978	4,8	7869	3,4	11847	3,9
6	3651	5,7	7203	4,5	10854	4,9
7	1856	7,1	3389	6,3	5245	6,6
8	1580	8,9	2918	6,6	4498	7,4
9	1355	7,5	2567	7,3	3922	7,4
10	1197	9,0	2260	7,7	3457	8,2

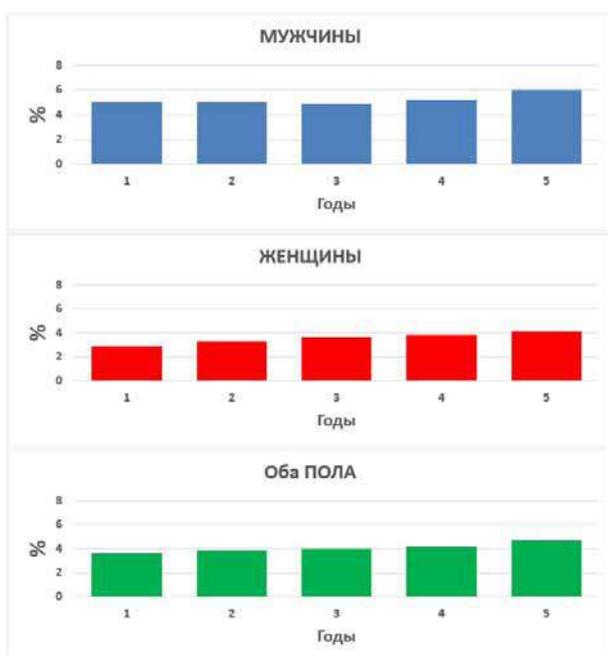


Рис. 2. Погодичная летальность больных ЗНО кожи (С44) в СЗФО РФ. БД ПРР СЗФО РФ. 2010–2014 гг.

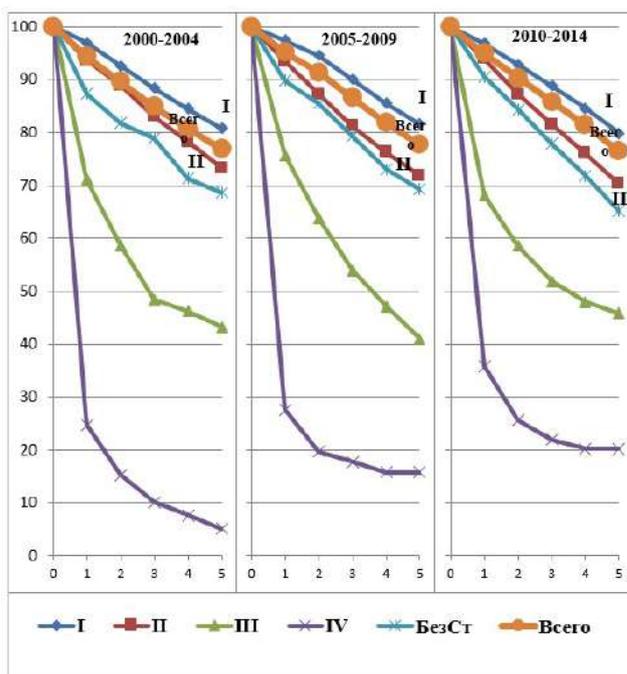
Период наблюдения	Мужчины		Женщины		Оба пола	
	Абс. число	Летальность	Абс. число	Летальность	Абс. число	Летальность
1	8133	5,0	16334	2,9	24467	3,6
2	7245	5,0	14742	3,3	21987	3,8
3	6821	4,9	14140	3,6	20961	4,0
4	6335	5,2	13330	3,8	19665	4,2
5	5719	6,0	12232	4,1	17951	4,7

Совершенно очевидно более благоприятное состояние выживаемости больных ЗНО кожи (С44) среди женского населения региона, особенно в ранних стадиях.

Мы неоднократно обращали внимание на то, что государственная отчетность (ф. № 7) значительно завышает удельный вес ранних стадий по большинству ЗНО, что касается ЗНО кожи, — таких различий мы не обнаружили.

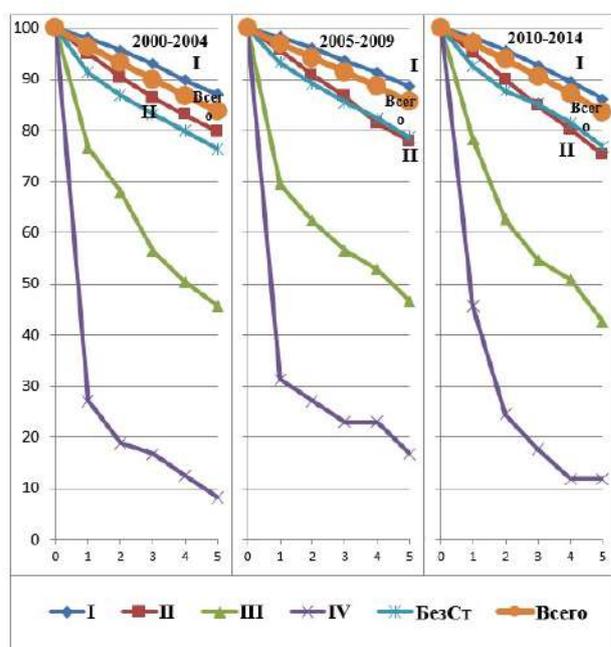
Таким образом, проведенное исследование показало, что в мире и России продолжается

рост заболеваемости ЗНО кожи (С44), но снижается уровень смертности, отмечен незначительный рост медианы выживаемости больных, кумулятивная выживаемость практически достигла максимального уровня, особенно в относительных величинах. Снизился удельный вес больных с неустановленной стадией заболевания. Установлена новая особенность погодичной летальности больных ЗНО кожи — увеличение ее уровня с увеличением срока диспансерного наблюдения за пролеченными больными.



Период	Стадии					Всего	
	I	II	III	IV	БезСт		
2000-2004	Кол-во	3745	1014	139	47	385	5330
	%	70,3	19,0	2,6	0,9	7,2	100,0
	1	96,9	93,6	71,1	24,7	87,4	94,3
	2	92,6	88,9	58,7	15,3	81,8	89,6
	3	88,4	83,0	48,4	10,2	78,9	84,9
	4	84,5	78,2	46,2	7,7	71,3	80,7
	5	80,8	73,3	43,2	5,1	68,6	76,9
2005-2009	Кол-во	5038	1064	186	53	374	6715
	%	75,0	15,8	2,8	0,8	5,6	100,0
	1	97,4	93,4	75,7	27,6	89,8	95,2
	2	94,5	87,2	63,8	19,7	85,5	91,4
	3	90,0	81,2	53,9	17,8	79,3	86,5
	4	85,5	76,2	47,2	15,8	73,1	81,8
	5	81,6	71,8	41,0	15,8	69,3	77,7
2010-2014	Кол-во	6270	1268	175	65	355	8133
	%	77,0	15,6	2,2	0,8	4,4	100,0
	1	96,8	93,9	68,1	35,9	90,5	95,0
	2	92,8	87,2	58,6	25,7	84,4	90,3
	3	88,8	81,5	51,9	22,0	77,9	85,8
	4	84,6	76,0	48,0	20,2	71,8	81,4
	5	79,8	70,3	45,8	20,2	65,1	76,5

Рис. 3. Динамика наблюдаемой 5-летней выживаемости больных ЗНО кожи (С44) (мужчины) в СЗФО с учетом стадии заболевания, БД ПРР СЗФО РФ



Период	Стадии					Всего	
	I	II	III	IV	БезСт		
2000-2004	Кол-во	7209	1656	225	48	657	9795
	%	73,6	16,9	2,3	0,5	6,7	100,0
	1	98,1	95,0	76,6	27,1	91,3	96,3
	2	95,7	90,4	67,9	18,8	86,9	93,2
	3	93,0	86,4	56,4	16,7	83,2	90,0
	4	89,9	83,1	50,4	12,5	79,9	86,8
	5	87,1	79,8	45,7	8,3	76,4	83,8
2005-2009	Кол-во	10208	1711	250	50	673	12892
	%	79,2	13,3	1,9	0,4	5,2	100,0
	1	98,3	95,8	69,5	31,3	93,2	96,9
	2	96,1	90,8	62,3	27,1	89,1	94,2
	3	93,7	86,7	56,5	23,0	85,5	91,4
	4	91,3	81,4	52,8	23,0	82,3	88,6
	5	88,6	77,9	46,6	16,7	78,6	85,6
2010-2014	Кол-во	13519	1831	235	63	686	16334
	%	82,8	11,2	1,4	0,4	4,2	100,0
	1	98,2	95,3	78,3	45,6	92,6	97,1
	2	95,7	90,0	62,6	24,4	87,7	93,9
	3	92,7	84,8	54,6	17,7	85,2	90,6
	4	89,5	80,2	50,8	11,8	81,5	87,2
	5	86,2	75,2	42,5	11,8	76,8	83,6

Рис. 4. Динамика наблюдаемой 5-летней выживаемости больных ЗНО кожи (С44) (женщины) в СЗФО с учетом стадии заболевания, БД ПРР СЗФО РФ

Таблица 1. Кумулятивная наблюдаемая выживаемость больных ЗНО кожи (С44) в СЗФО РФ. БД ПРР СЗФО РФ

Оба пола		2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018
Год уст. диагноза		2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018
Абс. число заболевших		2821	2929	2956	3056	3363	3389	4013	4001	3945	4259	4496	5001	5107	4640	5223	6255	6472	7059	6859
Медиана		12 лет	11,8 лет	12 лет	11,5 лет	11,4 лет	12 лет	12,8 лет												
Период наблюдения	1	95,5	94,9	95,4	95,9	96,1	96,5	96,5	96,5	95,9	96,1	96,4	96,6	96,5	96,4	96,2	96,7	96,6	96,1	95,8
	2	92,1	91,1	92,1	91,9	92,3	93,5	93,6	93,5	92,3	93,1	92,8	93,4	92,6	92,7	92,1	92,0	90,2	87,8	
	3	88,7	87,2	88,2	88,7	88,2	90,4	89,6	90,2	88,8	89,6	89,4	90,0	89,1	88,8	87,8	85,9	78,7		
	4	85,4	83,9	84,7	84,8	84,5	86,9	85,9	87,0	85,3	86,1	86,2	86,5	84,8	85,5	83,2	72,7			
	5	81,8	79,9	81,6	82,1	81,3	83,4	82,7	83,6	81,7	83,3	82,7	83,3	80,6	80,7	78,6				
Мужчины																				
Год уст. диагноза		2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018
Абс. число заболевших		941	1049	1051	1081	1208	1183	1342	1331	1358	1501	1519	1613	1749	1574	1678	2083	2100	2352	2286
Медиана		10,6 лет	10,5 лет	10,6 лет	10,2 лет	10,1 лет	10 лет	12 лет	11,5 лет	10,8 лет										
Период наблюдения	1	93,8	93,2	94,4	94,8	94,9	94,9	96,0	95,6	94,8	94,8	95,2	95,3	95,2	94,5	94,7	95,1	95,0	95,2	94,0
	2	89,7	87,6	90,2	89,8	90,2	91,6	91,8	92,1	90,4	91,2	90,8	90,5	90,4	90,0	89,6	90,1	86,3	84,8	
	3	84,7	82,7	86,8	85,7	84,6	86,4	86,7	87,4	85,7	86,1	87,2	86,4	85,9	85,2	84,7	82,4	73,8		
	4	80,8	77,9	83,6	80,6	80,6	82,2	81,5	82,7	81,5	81,1	83,4	81,4	81,0	81,3	79,9	66,9			
	5	76,9	73,2	79,5	77,8	76,7	78,0	77,6	78,6	77,3	77,2	79,9	77,9	75,1	75,3	74,3				
Женщины																				
Год уст. диагноза		2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018
Абс. число заболевших		1880	1880	1905	1975	2155	2206	2671	2670	2587	2758	2977	3388	3358	3066	3545	4172	4372	4707	4573
Медиана		12,6 лет	12,7 лет	12,9 лет	12,5 лет	12,5 лет	12,9 лет													
Период наблюдения	1	96,3	95,8	95,9	96,5	96,8	97,4	96,8	96,9	96,5	96,8	97,1	97,2	97,2	97,4	96,9	97,5	97,4	96,5	96,6
	2	93,3	93,0	93,1	93,0	93,5	94,6	94,5	94,2	93,4	94,2	93,7	94,7	93,8	94,1	93,3	93,0	92,1	89,3	
	3	90,7	89,6	88,9	90,4	90,2	92,5	91,1	91,6	90,5	91,5	90,6	91,8	90,7	90,7	89,2	87,7	81,2		
	4	87,8	87,1	85,3	87,2	86,7	89,4	88,1	89,1	87,4	88,9	87,7	89,0	86,9	87,6	84,8	75,7			
	5	84,3	83,6	82,7	84,5	83,9	86,3	85,2	86,1	83,9	86,6	84,1	85,9	83,5	83,5	80,7				

Таблица 2. Кумулятивная относительная выживаемость больных ЗНО кожи (С44) в СЗФО РФ. БД ПРР СЗФО РФ

Оба пола		2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018
Год уст. диагноза		2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018
Абс. число забол-х		2821	2929	2956	3056	3363	3389	4013	4001	3945	4259	4496	5001	5107	4640	5223	6255	6472	7059	6859
Медиана		12 лет	11,8 лет	12 лет	11,5 лет	11,4 лет	12 лет	12,8 лет	12,8 лет											
Период наблюдения	1	100,0	99,7	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	99,8
	2	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	98,3	95,9	
	3	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	98,5	89,9		
	4	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	99,8	88,0			
	5	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	98,9				
Мужчины																				
Год уст. диагноза		2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018
Абс. число забол-х		941	1049	1051	1081	1208	1183	1342	1331	1358	1501	1519	1613	1749	1574	1678	2083	2100	2352	2286
Медиана		10,6 лет	10,5 лет	10,6 лет	10,2 лет	10,1 лет	10 лет	12 лет	11,5 лет	10,8 лет										
Период наблюдения	1	99,8	98,6	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	99,2	99,6	100,0	99,9	99,9	98,6
	2	100,0	99,2	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	99,4	99,2	99,9	95,5	93,8	
	3	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	99,3	98,8	96,4	86,1		
	4	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	98,1	83,0			
	5	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	98,1	97,8	96,2				
Женщины																				
Год уст. диагноза		2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018
Абс. число забол-х		1880	1880	1905	1975	2155	2206	2671	2670	2587	2758	2977	3388	3358	3066	3545	4172	4372	4707	4573
Медиана		12,6 лет	12,7 лет	12,9 лет	12,5 лет	12,5 лет	12,9 лет													
Период наблюдения	1	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
	2	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	99,7	97,0	
	3	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	99,6	91,7		
	4	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	90,5			
	5	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0				

ЛИТЕРАТУРА

1. Березкин Д.П. Методы изучения выживаемости онкологических больных. Методические рекомендации. Л., 1982.
2. Мерабишвили В.М. Выживаемость онкологический больных. Выпуск второй. Часть I. СПб.: КОСТА, 2011 [Merabishvili VM. Survival of cancer patients. St.Petersburg: KOSTA, 2011 (In Russ.)].
3. Мерабишвили В.М. Выживаемость онкологический больных. Выпуск второй. Часть II. СПб.: КОСТА, 2011 [Merabishvili VM. Survival of cancer patients. St.Petersburg: KOSTA, 2011(In Russ.)].
4. Мерабишвили В.М. Злокачественные новообразования в Северо-Западном федеральном округе России (заболеваемость, смертность, достоверность учета, выживаемость больных). Экспресс-информация. Выпуск пятый / Под ред. проф. А.М.Беляева, проф. А.М.Щербаква. СПб.: Т8 Издательские технологии, 2020 [Merabishvili VM. Malignant tumors in the North-West Federal Region of Russia (morbidity, mortality, index accuracy, survival). Express-information. Fifth Issue / Editors: Prof. AM Belyaev, Prof. AM Shcherbakov. St.Petersburg: T8 Izdatel'skie tekhnologii, 2020 (In Russ.)].
5. Мерабишвили В.М. Злокачественные новообразования в Северо-Западном федеральном округе России (заболеваемость, смертность, контингенты, выживаемость больных). Экспресс-информация. Выпуск четвертый. Пособие для врачей / Под ред. проф. А.М.Беляева. СПб.: Т8 Издательские технологии, 2018 [Merabishvili VM. Malignant tumors in the North-West Federal Region of Russia (Morbidity, mortality, prevalence rate, survival). Express-information. Fours Issue. Manual for doctors. St.Petersburg: T8 Izdatel'skie tekhnologii (In Russ.)].
6. Мерабишвили В.М. Медико-статистический терминологический словарь (Методическое пособие для врачей, ординаторов, аспирантов и научных сотрудников). Выпуск второй. СПб., 2020.
7. Мерков А.М. Методика статистического исследования эффективности лечения больных злокачественными новообразованиями // Вопросы онкологии, 1958;4(4):488–498.
8. Напалков Н.П., Березкин Д.П. Принципы и методы изучения выживаемости онкологических больных // Вопросы онкологии. 1982;8:10–13.
9. Организация и эксплуатация популяционного ракового регистра. Методические рекомендации / Ред. А.В.Елисеева. Л., 2001.
10. Характеристика и методы расчета статистических показателей, применяемых в онкологии. Практическое пособие / Ред. А.В.Елисеева. М., 2005.
11. Survival of Cancer patients in Europe: the Eurocare-3 Study / Ed. F Berrino et al. // Annals of Oncology. 2003;14. Supplement 5. Oxford press.
12. Sant M, Allemani C, Santaquilani M et al. Eurocare-4. Survival of Cancer patients diagnosed in 1995–1999. Results and commentary // European Journal of Cancer. 2009;45(6):931–91 <https://doi:10.1016/j.ejca.2008.11.018>

Поступила в редакцию 07.04.2021 г.

V.M. Merabishvili

The state of cancer care in Russia: malignant neoplasms of the skin (C44). Typical mortality, median survival, observed and relative survival, taking into account the stage of the disease. Population-based research at the federal district level

FSBI «N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology», St Petersburg

In the previous article, we presented an analysis of the prevalence and quality of registration of patients with malignant neoplasms of the skin (C44) in Russia and the North-Western Federal District, showed the quality of accounting and revealed the features of the dynamics of localization and histological structure.

In this report, for the first time in Russia, our attention is focused on the nature of evaluating the effectiveness of anti – cancer measures based on the main criterion-calculating the survival rates of patients with malignant skin neoplasms at the level of the North-Western Federal District, whose level of “rough” and standardized indicators of morbidity and mortality of the population practically does not differ from the average Russian one.

Calculations of all types of survival rates of patients with malignant skin neoplasms (C44) at the federal district level became possible after the organization in February 2019 of a single database (DB) of the cancer registry of the North-Western Federal District, numbering more than 1 million cases of ZNO, including more than 20,000 with malignant melanoma of the skin (2.0%).

The created database allows for in-depth development of the dynamics of the localization and histological structure for any part of the localization structure (lip, ear, trunk, etc. parts of the body), which is not available for conducting on the basis of state reporting forms formed before receiving all the information characterizing the state of the oncological service, not to mention that when analyzing the activities of the oncological service, databases of population cancer registers are not used and calculations of the main criterion for its assessment – the calculation of patient survival.

Key words: malignant tumors, skin, Northwestern Federal District of the Russian Federation, median survival, patient survival, histology stage

А. Клинические исследования

© Коллектив авторов, 2021
УДК 618.19
DOI 10.37469/0507-3758-2021-67-5-646-657

Вопросы онкологии, 2021. Том 67, № 5

А.Г. Иевлева^{1,2}, М.М. Крамчанинов³, С.Н. Алексахина¹, Т.Н. Соколова¹, Т.И. Соловьева¹,
А.В. Косьмин¹, В.Н. Дмитриев^{4,5}, В.В. Петкау^{6,7}, В.М. Моисеенко³, Е.Н. Имянитов^{1,2,8}

Предиктивная роль амплификаций генов *CCND1*, *FGFR1* и мутаций *PIK3CA* при гормонотерапии первично-метастатического рака молочной железы

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

² ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России

³ ГБУЗ «Санкт-Петербургский клинический научно-практический центр специализированных видов медицинской помощи (онкологический)»

⁴ ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет»

⁵ ОГБУЗ «Белгородский онкологический диспансер»

⁶ ГАУЗ СО «Свердловский областной онкологический диспансер», г. Екатеринбург

⁷ Центр лекарственной терапии, г. Екатеринбург

⁸ ГБОУ ВПО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург

Актуальность. Более половины карцином молочной железы экспрессируют рецепторы эстрогенов (ER) и прогестерона (PR) и сохраняют зависимость от эстрогенов. Эндокринная терапия ингибиторами эстрогенового каскада позволяет длительно и эффективно контролировать заболевание у значительного числа пациенток, однако у части больных наблюдается первичная, и у большинства — вторичная резистентность к подобному лечению.

Целью работы являлось изучение факторов, ассоциированных с резистентностью к эндокринной терапии рака молочной железы (РМЖ). Конкретными задачами стал анализ предиктивной значимости амплификаций генов *CCND1*, *FGFR1* и мутаций в гене *PIK3CA*.

Материалы и методы. В исследование вошли 133 женщины с ER-позитивным первично-метастатическим РМЖ, которые получали эндокринную терапию ингибиторами ароматазы (ИА) (n=69) или тамоксифеном (n=64) в качестве первой линии. Амплификации генов *CCND1* и *FGFR1* были протестированы при помощи цифровой капельной ПЦР. Мутации в 7, 9 и 20 экзонах гена *PIK3CA* определялись при помощи высокоточного анализа кривых плавления ПЦР-продукта с последующим секвенированием, а также аллель-специфической ПЦР. Было проанализировано влияние изучаемых генетических факторов на показатели выживаемости без прогрессирования (ВБП) и клинический ответ на терапию.

Результаты. Амплификации *CCND1* и *FGFR1* были обнаружены в 24 (18,6%) и 28 (21,7%) из 129 успешно проанализированных случаев соответственно; в 9 карциномах наблюдалась коамплификация двух генов. Амплификации по крайней мере в одном из двух локусов чаще детектировались в менее дифференцированных опухолях (p=0,030). Амплификация гена *CCND1* ассоциировалась с меньшей выживаемостью без прогрессирования у пациентов, получавших ингибиторы ароматазы (16,0 мес против 32,4 мес, относительные риски=3,16 [95% доверительный интервал: 1,26–7,93], p=0,014). Статус гена *FGFR1* не оказывал значительного влияния на ВБП у женщин, получавших ИА, однако в РМЖ с амплификацией *FGFR1* использование ингибиторов ароматазы реже приводило к частичному регрессу опухоли (13,3%), чем в опухолях без амплификации (47,8%, p=0,031).

Частота мутаций в гене *PIK3CA* составила 39,3% (46/117). Они чаще наблюдались в опухолях меньших размеров (p=0,029), в PR-позитивных карциномах (p=0,013), и в случаях с более обширным метастатическим поражением (p=0,039). Наличие мутаций *PIK3CA* не влияло на результаты лечения ИА или тамоксифеном.

Заключение. Присутствие амплификаций *CCND1* и, вероятно, *FGFR1* сопряжено с худшими результатами лечения ингибиторами ароматазы при метастатическом РМЖ.

Ключевые слова: рак молочной железы, мутация, амплификация, тамоксифен, ингибиторы ароматазы, резистентность к лечению

Введение

Примерно 60–70% карцином молочной железы позитивны в отношении экспрессии рецепторов эстрогенов и нуждаются в постоянной эстрогенной стимуляции. Стандартом в лечении эстроген-зависимых опухолей является эндокринная терапия, однако у части пациентов наблюдается первичная, и у большинства — вторичная резистентность к применяемым препаратам. Единственными доступными маркерами чувствительности к эндокринной терапии пока остаются экспрессия рецепторов эстрогенов (ER), рецепторов прогестерона (PR) и онкогена HER2. Наличие дополнительных предиктивных факторов позволило бы более эффективно планировать терапию ER-позитивного рака молочной железы (PMЖ).

Вклад генов *CCND1* и *FGFR1* в развитие PMЖ уже давно является объектом активного изучения, однако достаточной ясности относительно их предиктивного и прогностического значения пока нет. Ген *CCND1* кодирует фермент циклин D1, один из ключевых регуляторов клеточного цикла. Помимо регуляции клеточного деления, онкогенный эффект *CCND1* при PMЖ может реализовываться при помощи других механизмов: например, циклин D1 способен связываться с эстрогеновыми рецепторами и стимулировать ER-зависимую транскрипцию в отсутствие эстрогенов [1]. Также было показано участие циклина D1 непосредственно в регуляции транскрипции и процессов репарации ДНК [2, 3].

Высокая экспрессия *CCND1* встречается примерно в половине PMЖ, преимущественно в ER-позитивных опухолях, а частота амплификации гена при этом составляет 5–20% [4–6]. Многими исследователями было обнаружено негативное влияние как амплификации, так и гиперэкспрессии *CCND1* на прогноз заболевания [7–12] и на результаты терапии тамоксифеном [7, 13–16]. В ряде работ, включая крупное исследование более чем 1000 пациентов [5], гиперэкспрессия *CCND1*, напротив, ассоциировалась с лучшим прогнозом [5, 8]. Данные противоречия могут быть обусловлены отличиями в критериях отбора больных (например, включение всех случаев PMЖ или только ER-позитивных, анализ пре- или постменопаузальных случаев, пациентов, ранее получавших и не получавших терапию, и др.), а также разными методами определения статуса *CCND1* (учет амплификации, экспрессии гена или обоих параметров).

Ген *FGFR1*, кодирующий рецептор фактора роста фибробластов, амплифицирован примерно в 10–15% ER-позитивных PMЖ [17–20]. Связывание *FGFR1* с лигандом запускает серию за-

действованных в канцерогенезе сигнальных путей (PI3K/AKT, RAS/RAF/MEK/ERK). Как было продемонстрировано, *FGFR1* также способен ассоциироваться с рецепторами эстрогенов и влиять на ER-зависимую транскрипционную активность [21]. Высокая экспрессия и амплификация *FGFR1* коррелируют с неблагоприятным течением заболевания [19, 22, 23], и, предположительно, с резистентностью к гормонотерапии [18, 21]. Лocus, содержащие гены *CCND1* (11q13) и *FGFR1* (8p12), часто коамплифицированы [24].

Мутации в гене *PIK3CA*, кодирующем каталитическую субъединицу киназы PI3K, присутствуют примерно в трети всех опухолей молочной железы, при этом их частота максимальна (≈ 30 –50%) в ER+/HER2- PMЖ [25]. Прогностический эффект повреждений *PIK3CA*, по-видимому, отличается при ранних и поздних формах заболевания: если в опухолях начальных стадий мутации *PIK3CA* ассоциируются с лучшими показателями выживаемости [26], то при метастатических карциномах они связаны с худшим прогнозом и плохим ответом на химиотерапию [27]. При HER2-позитивном PMЖ наличие мутаций *PIK3CA* негативно влияет на результаты лечения [28]. Детекция соматических нарушений *PIK3CA* приобрела особую актуальность после успешного клинического испытания комбинации гормонотерапии и PI3K-ингибитора алпелисиба при *PIK3CA*-позитивном метастатическом PMЖ [29]. Подавляющее большинство генетических дефектов *PIK3CA* локализуется в 9 (спиральный домен) или 20 (каталитический домен) экзонах гена. Повреждения в разных доменах сопровождаются разными механизмами активации PI3K и ассоциируются с разными клинико-морфологическими свойствами опухолей [30, 31].

Целью исследования стала оценка предиктивной роли амплификаций *CCND1*, *FGFR1* и мутаций *PIK3CA* в группе первично-метастатических опухолей молочной железы от пациенток, получавших эндокринную терапию в качестве первой линии.

Материалы и методы

В исследование вошли 133 случая первично-метастатического PMЖ у пациенток, получавших гормонотерапию в качестве первой линии лечения, наблюдавшихся в Санкт-Петербургском клиническом научно-практическом центре специализированных видов медицинской помощи (онкологическом) (n=111) и в Свердловском областном онкологическом диспансере (n=22). Гормонотерапия первой линии состояла из ингибиторов ароматазы (ИА, n=69, включая анастрозол: n=60; летрозол: n=3; экземестан: n=5; анастрозол и летрозол: n=1) или тамоксифена (n=64). ДНК для генетического анализа была выделена из архивных гистологических образцов по опубликованному ранее протоколу [32]. Амплификации генов *CCND1* и *FGFR1* были

протестированы при помощи цифровой капельной ПЦР. Мутации в 7, 9 и 20 экзонах гена *PIK3CA* определялись при помощи высокоточного анализа кривых плавления ПЦР-продукта (High resolution melting analysis, HRMA) с последующим секвенированием, а также аллель-специфической ПЦР. Последовательности праймеров и условия реакций приведены в табл. 1.

Сравнение частот проводилось с помощью критерия хи-квадрат или точного критерия Фишера. U-критерий Манна-Уитни применялся для сравнения непрерывных переменных. Выживаемость без прогрессирования (ВБП), определяемая как время от начала гормональной терапии до прогрессирования заболевания или смерти, анализировалась с помощью метода Каплана-Мейера и логарифмического рангового критерия. Регрессионный анализ пропорциональных рисков Кокса использовался для оценки влияния нескольких переменных на ВБП.

Результаты

Общая характеристика исследуемой группы.

Основные клиничко-морфологические характеристики изучаемой выборки представлены в табл. 2. Первичная резистентность к терапии,

определяемая как прогрессирование в первые 6 мес после начала лечения, была зафиксирована у 15 из 133 (11,3%) больных. Клинический ответ по критериям RECIST 1,1 был оценен у 114 женщин: частичный ответ, стабилизация заболевания и прогрессирование были зарегистрированы в 35 (30,7%), 61 (53,5%) и 18 (15,8%) случаях соответственно. Медиана выживаемости без прогрессирования (ВБП) в анализируемой группе РМЖ достигла 21,4 мес (95% доверительный интервал (ДИ): 18,4–23,1). ВБП была несколько более продолжительной у женщин, получавших ИА, чем у больных, получавших тамоксифен (23,1 мес [95% ДИ: 18,7–35,0 мес] vs. 18,7 мес [95% ДИ: 14,7–22,7 мес]; отношение рисков (ОР)=1,55 [95% ДИ: 0,98–2,45], p=0,060). Более длительный период до прогрессирования также ассоциировался со старшим возрастом (> 70 лет), низкой степенью злокачественности опухоли (G1–2) и высокой экспрессией ER (7–8 баллов) (рис. 1).

Таблица 1. Методы детекции амплификаций *CCND1/FGFR1* и мутаций в гене *PIK3CA*

Исследуемый параметр, метод детекции	Последовательности праймеров и меток	Состав ПЦР-смеси	Условия реакции, оборудование
Амплификация <i>CCND1</i> : цифровая капельная ПЦР	CCND1-F: accaacgtagctgagccca	1 µl ДНК, 10 µl PCR Supermix (Bio-Rad), 1,0 µM каждого праймера CCND1, 0,5 µM метки CCND1, 1,5 µM каждого праймера Alb, 0,5 µM метки Alb в общем объеме 20 µl	45 ПЦР-циклов: 95 °C — 15 с, 57 °C — 60 с, [CFX96 Thermal Cycler; QX100 Droplet Digital PCR system (Bio-Rad)]
	CCND1-R: gaacacgcccctagaaatgc		
	CCND1 probe: ctcagaaaaaccgtccacagcaga		
	Alb-F: gcattgccgaagtggaaaat		
	Alb-R: gcaaacatccttacttcaaca		
	Alb probe: actgcctcattagctgctgat		
Амплификация <i>FGFR1</i> : цифровая капельная ПЦР	FGFR1-F: aactctatcgactctccca	1 µl ДНК, 10 µl PCR Supermix (Bio-Rad), 1,0 µM каждого праймера и 0,5 µM каждой метки в общем объеме 20 µl	45 ПЦР-циклов: 95 °C — 15 с, 57 °C — 60 с [CFX96 Thermal Cycler; QX100 Droplet Digital PCR system (Bio-Rad)]
	FGFR1-R: caggacatcgagaggagaag		
	FGFR1 probe: ctccagaacggtaaccatgc		
	Alb-F: gcattgccgaagtggaaaat		
	Alb-R: gcaaacatccttacttcaaca		
	Alb probe: actgcctcattagctgctgat		
Мутации <i>PIK3CA</i> : плавление ПЦР-продукта с высоким разрешением	PIK3CAex7F: tgttgaatttcttttgggg	1 µl ДНК, 0,75 и ДНК-полимеразы hot-start, 1X ПЦР-буфер (pH 8,3), 2,5 µM MgCl ₂ , 1X EvaGreen, 200 µM дНТФ, 0,3 µM праймеров в общем объеме 20 µl	45 ПЦР-циклов: 95 °C — 15 с, 60 °C — 30 с, 72 °C — 30 с, высокоразрешающее плавление ДНК [CFX96 Thermal Cycler; (Bio-Rad); CEQ 8000 (Beckman-Coulter, USA)]
	PIK3CAex7R: actggcacaagattcaaacg		
	PIK3CAex9F: ctgagacaatgaattaaggga		
	PIK3CAex9R: cattttagcacttacctgtgac		
	PIK3CA_20F: ttgcatacttccgaagacc		
	PIK3CA_20R: tgctgttaattgtgtggaaga		
Мутации <i>PIK3CA</i> : аллель-специфическая ПЦР	PIK3CA_E542Kwt: tttctcctgctcagtgatttc	1 µl ДНК, 0,75 и ДНК-полимеразы hot-start, 1X ПЦР-буфер (pH 8,3), 2,5 mM MgCl ₂ , 0,2X Sybr Green, 200 µM дНТФ, 0,3 µM праймеров в общем объеме 20 µl	45 ПЦР-циклов: 95 °C — 15 с, 60 °C — 30 с, 72 °C — 30 с, плавление ДНК [CFX96 Thermal Cycler (Bio-Rad)]
	PIK3CA_E542Kmut: tttctcctgctcagtgatttt		
	PIK3CA_E542com: tctgtaaatcatctgtgaatcc		
	PIK3CA_E545Kwt: atagaaaatctttctcctgctc		
	PIK3CA_E545Kmut: atagaaaatctttctcctgctt		
	PIK3CA_E545com: ggaaaaatgatgacaagaaagc		
	PIK3CA_H1047wt: tgttgaccagccaccttgat		
	PIK3CA_H1047R: tgttgaccagccaccttgac		
	PIK3CA_H1047L: tgttgaccagccaccttgaa		
	PIK3CA_H1047Y: gttgaccagccaccttgata		
	PIK3CA_H1047ComF: ctggaatgccagaactacaat		

Таблица 2. Клинико-морфологические характеристики случаев РМЖ с амплификациями *CCND1/FGFR1*

	Амплификация <i>CCND1/FGFR1</i> есть (n=43)	Нет амплификации (n=86)	Сравнение групп (p)
Средний возраст (диапазон)	68,0 (53–87)	68,6 (46–89)	0,518
Размер опухоли (T)			
T1	1 (2,3%)	11 (12,8%)	
T2	12 (27,9%)	20 (23,3%)	
T3	8 (18,6%)	10 (11,6%)	0,559
T4	22 (51,2%)	45 (52,3%)	(T1–2 vs. T3–4)
Статус лимфоузлов (N)			
N0	7 (16,7%)	15 (17,4%)	
N1	15 (35,7%)	35 (40,7%)	
N2	8 (19,0%)	23 (26,7%)	
N3	12 (28,6%)	13 (15,1%)	1,000
Nd	1	0	(N0 vs. N1–3)
Степень дифференцировки			
G1	1 (2,9%)	15 (23,1%)	
G2	25 (71,4%)	38 (58,5%)	
G3	9 (25,7%)	12 (18,5%)	0,009
Nd	8	21	(G1 vs. G2–3)
Гистологический тип			
Инвазивный протоковый неспецифицированный	38 (90,5%)	66 (83,5%)	
Инвазивный дольковый рак	1 (2,4%)	9 (11,4%)	
Муцинозная карцинома	3 (7,1%)	2 (2,5%)	0,162
Папиллярная карцинома	0 (0%)	2 (2,5%)	(ИДР vs.
Nd	1	7	остальные типы)
ER (баллы по шкале Allred)			
7–8	41 (97,6%)	81 (94,2%)	
4–6	0 (0%)	4 (4,7%)	
2–3	1 (2,4%)	1 (1,2%)	0,663
Nd	1		(7–8 vs. 2–6)
PR (баллы по шкале Allred)			
4–8	32 (76,2%)	72 (83,7%)	
0–3	10 (23,8%)	14 (16,3%)	
Nd	1		0,339
HER2 гиперэкспрессия			
HER2+	2 (4,8%)	3 (3,7%)	
HER2-	40 (95,2%)	78 (96,3%)	
Nd	1	5	1,000
Индекс Ki67, %			
Mean (min-max)	29,8 (5–80)	21,7 (3–70)	
Nd	4	9	0,033
Терапия 1 линии			
Ингибиторы ароматазы	25 (58,1%)	42 (48,8%)	
Тамоксифен	18 (41,9%)	44 (51,2%)	0,354
Количество зон отдаленных метастазов			
1	31 (72,1%)	59 (68,6%)	
2	10 (23,3%)	15 (17,4%)	
3	0 (0%)	9 (10,5%)	
4	1 (2,3%)	3 (3,5%)	0,839
5	1 (2,3%)	0 (0%)	(1 vs. 2–5)
Отдаленные метастазы в органы помимо костей			
Нет	20 (46,5%)	30 (34,9%)	
Есть	23 (53,5%)	56 (65,1%)	0,251

Примечание. Nd — нет данных.

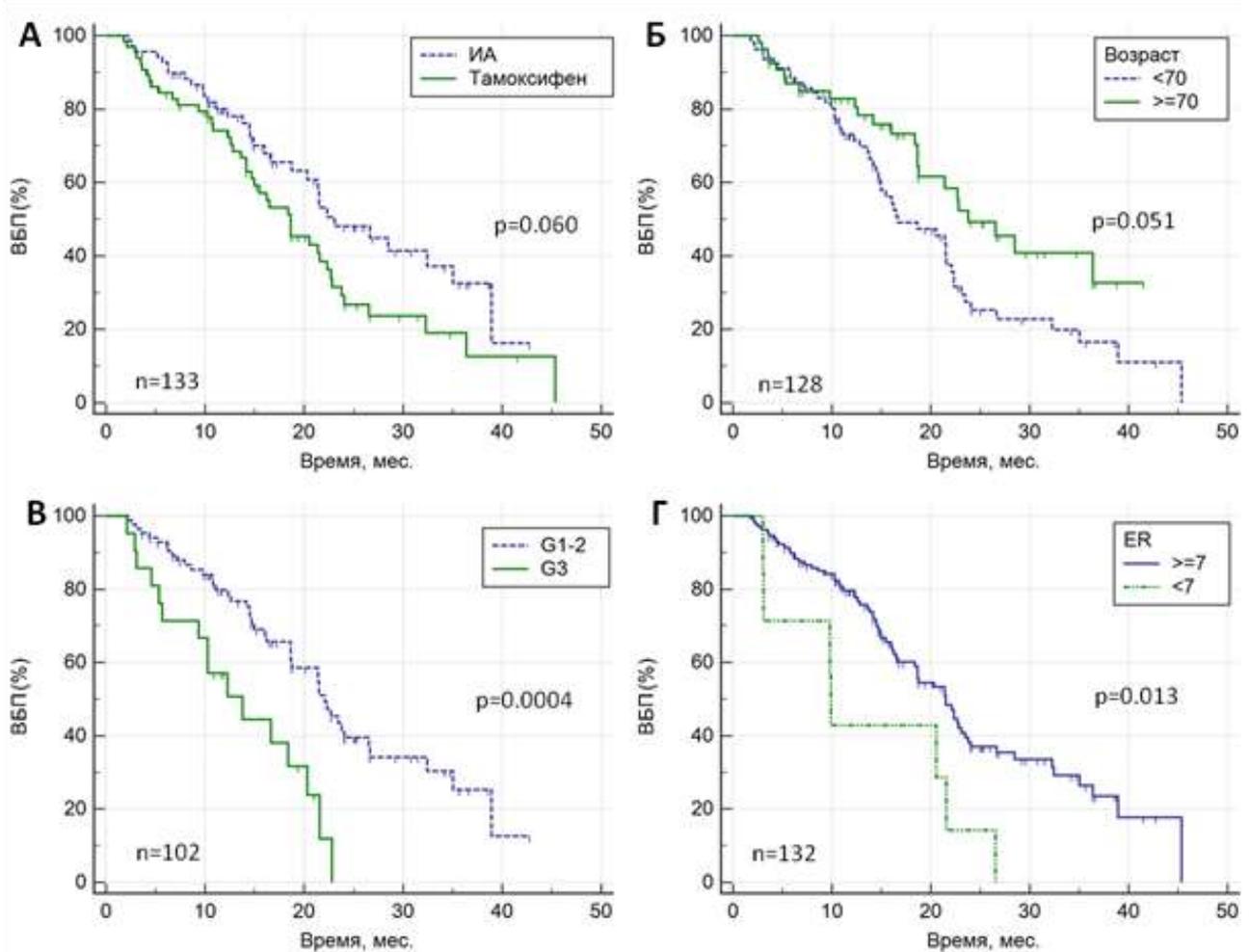


Рис. 1. Кривые выживаемости без прогрессирования (ВБП) в группах пациентов, получавших эндокринную терапию первой линии, в зависимости от типа препарата (ингибиторы ароматазы или тамоксифен) (А), возраста (Б), степени дифференцировки опухоли (В), уровня экспрессии ER по шкале Allred (Г)

Амплификации генов *CCND1* и *FGFR1* и результаты эндокринной терапии. Амплификации *CCND1* и *FGFR1* были обнаружены в 24 (18,6%) и 28 (21,7%) из 129 успешно проанализированных случаев соответственно; в 9 карциномах наблюдалась коамплификация двух генов. Наличие амплификации хотя бы одного локуса чаще обнаруживалось в менее дифференцированных опухолях (G1: 1/16 (6,3%); G2: 25/63 (39,7%); G3: 9/21 (42,9%); $p=0,030$) и было связано с более высоким индексом пролиферации Ki-67 ($p=0,033$) (см. табл. 2).

Присутствие амплификации *CCND1* ассоциировалось с результатами применения ингибиторов ароматазы: у пациенток, получавших анастрозол, летрозол или аромазин, безрецидивный период оказался короче в случае наличия амплификации (медиана: 16,0 мес, 95% ДИ: 6,3–28,5 мес), чем при нормальной копии гена (медиана: 32,4 мес [95% ДИ 18,7–38,9 мес]; $OR=3,16$ [95% CI: 1,26–7,93], $p=0,014$) (рис. 2, А; табл. 3).

В РМЖ с амплификацией *FGFR1* использование ингибиторов ароматазы реже приводило к частичному регрессу опухоли (2/15, 13,3%), чем в опухолях без амплификации (22/46, 47,8%, $p=0,031$), однако связь между увеличением копияности *FGFR1* и длительностью периода до прогрессирования не была обнаружена (см. рис. 2, В; табл. 3).

Примечательно, что среди пациенток, получавших ингибиторы ароматазы, амплификация хотя бы одного из двух локусов (*CCND1* и *FGFR1*) наблюдалась в большинстве — 5/7 (71,4%) случаев с прогрессированием заболевания на фоне лечения, и значительно реже — в 5/24 (20,8%) карцином, продемонстрировавших частичный регресс ($p=0,022$). Многофакторный анализ, включающий возраст, степень дифференцировки и индекс Ki-67, подтвердил связь амплификации *CCND1* с прогрессированием заболевания ($p=0,020$). В отличие от ингибиторов ароматазы, присутствие амплификаций *CCND1/FGFR1* не влияло на результаты лечения тамоксифеном (см. рис. 2, Б, Г; табл. 3).

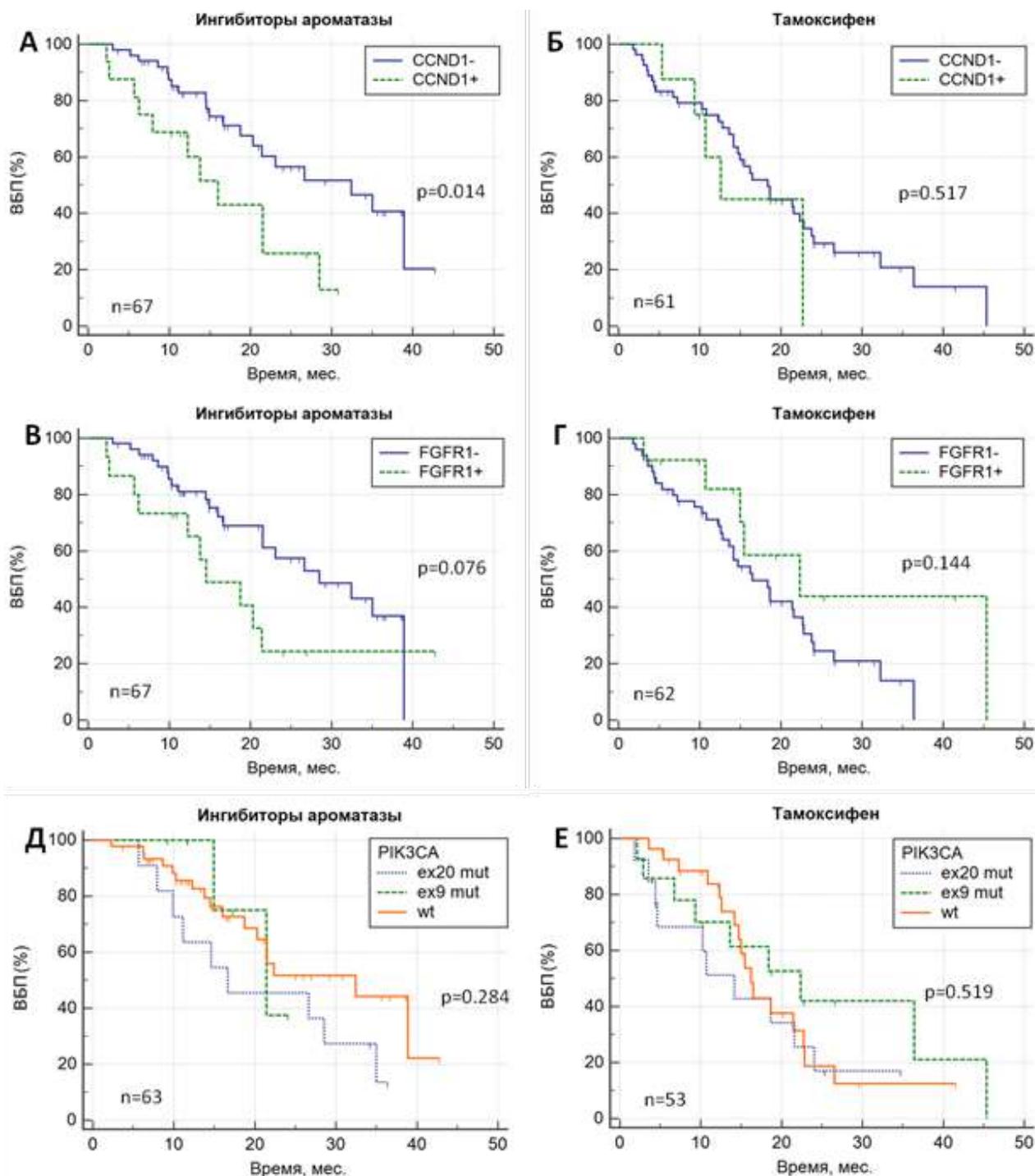


Рис. 2. Кривые выживаемости без прогрессирования (ВБП) в группах пациентов, получавших ингибиторы ароматазы (А, В, Д) и тамоксифен (Б, Г, Е), в зависимости от наличия амплификаций *CCND1* (А, Б), амплификаций *FGFR1* (В, Г) или мутаций *PIK3CA* (Д, Е)

Мутации в гене *PIK3CA* и результаты эндокринной терапии. Мутации в гене *PIK3CA* были обнаружены в 46/117 (39,3%) проанализированных случаев. Они оказались примерно поровну распределены между киназным (экзон 20, 24/46, 52,2%) и спиральным (экзон 9, 21/46, 45,7%) доменами, ещё одна замена локализовалась в 7 экзоне гена (р.С420R). В 20 экзоне наиболее частым повреждением была замена р.Н1047R (n=19), а в 9 экзоне — мутации р.Е542К (n=11) и р.Е545К (n=8). Мутации

чаще наблюдались в опухолях меньших размеров (Т1–2: 53,7% vs. Т3–4: 31,6%, p=0,029) и в карциномах с высокой экспрессией PR (частота среди PR-положительных: 44,8% vs. среди PR-негативных: 15,0%, p=0,013) (табл. 4). В случаях с повреждениями *PIK3CA* чаще имелись висцеральные метастазы (p=0,012), а также присутствовало метастатическое поражение более, чем одной зоны (p=0,039) (см. табл. 4). В 13 опухолях одновременно присутствовали амплификации *CCND1/FGFR1* и замены *PIK3CA*.

Таблица 3. Ответ на лечение и выживаемость без прогрессирования (ВБП) у пациентов, получавших ингибиторы ароматазы и тамоксифен, в зависимости от присутствия амплификаций *CCND1*, *FGFR1* и мутаций *PIK3CA*

Ответ на лечение	Амплификация/мутация+	Амплификация/мутация–	p
Амплификация <i>CCND1</i> (пациенты, получавшие ИА)			
PD	4/15 (26,7%)	3/46 (6,5%)	0,055
PR+SD	11/15 (73,3%)	43/46 (93,5%)	
Медиана ВБП (95% ДИ)	16,0 (6,3–28,5)	32,4 (18,7–38,9)	0,014
Амплификация <i>CCND1</i> (пациенты, получавшие тамоксифен)			
PD	1/6 (16,7%)	10/44 (22,7%)	1,000
PR+SD	5/6 (83,3%)	34/44 (77,3%)	
Медиана ВБП (95% ДИ)	12,6 (5,4–22,7)	18,6 (14,2–22,8)	0,517
Амплификация <i>FGFR1</i> (пациенты, получавшие ИА)			
PD	4/15 (26,7%)	3/46 (6,5%)	0,055
PR+SD	11/15 (73,3%)	43/46 (93,5%)	
Медиана ВБП (95% ДИ)	14,6 (5,7–21,4)	28,5 (21,5–38,9)	0,076
Амплификация <i>FGFR1</i> (пациенты, получавшие тамоксифен)			
PD	1/10 (10,0%)	10/41 (24,4%)	0,428
PR+SD	9/10 (90,0%)	31/41 (75,6%)	
Медиана ВБП (95% ДИ)	22,3 (10,7–45,3)	18,4 (12,8–22,7)	0,144
Амплификация <i>CCND1</i> и/или <i>FGFR1</i> (пациенты, получавшие ИА)			
PD	5/24 (20,8%)	2/37 (5,4%)	0,101
PR+SD	19/24	35/37	
Медиана ВБП (95% ДИ)	18,7 (12,3–21,5)	35 (23,1–38,9)	0,033
Амплификация <i>CCND1</i> и/или <i>FGFR1</i> (пациенты, получавшие тамоксифен)			
PD	2/15 (13,3%)	9/36 (25,0%)	0,472
PR+SD	13/15	27/36	
Медиана ВБП (95% ДИ)	22,3 (10,7–45,3)	18,4 (13,6–22,8)	0,394
Мутация <i>PIK3CA</i> (пациенты, получавшие ИА)			
PD	1/15 (6,7%)	3/42 (7,1%)	1,000
PR+SD	14/15 (93,3%)	39/42 (92,9%)	
Медиана ВБП (95% ДИ)	21,4 (11,1–35,0)	32,4 (18,7–38,9)	0,214
Мутация <i>PIK3CA</i> (пациенты, получавшие тамоксифен)			
PD	7/23 (30,4%)	2/20 (10,0%)	0,142
PR+SD	16/23 (69,6%)	18/20 (90,0%)	
Медиана ВБП (95% ДИ)	18,4 (9,3–36,4)	16,5 (14,2–22,7)	0,937

Примечание. PD — прогрессирование заболевания (progressive disease); PR — частичный регресс (partial response); SD — стабилизация заболевания (stable disease); сравнение частот выполнялось при помощи точного критерия Фишера; анализ ВБП — при помощи лог-рангового критерия.

Таблица 4. Клинико-морфологические характеристики случаев РМЖ с мутациями PIK3CA

	PIK3CA mut (n=46)	PIK3CA wt (n=71)	Сравнение групп (p)	PIK3CA mut (exon 9) (n=21)	PIK3CA mut (exon 20) (n=24)	Сравнение групп (p)
Средний возраст (диапазон)	67,7 (49–86)	69,1 (46–89)	0,444	69,7 (57–83)	66,0 (49–86)	0,249
Размер опухоли (T)						
T1	8 (17,4%)	3 (4,2%)		6 (28,6%)	2 (8,3%)	
T2	14 (30,4%)	16 (22,5%)		5 (23,8%)	8 (33,3%)	
T3	3 (6,5%)	15 (21,1%)	0,029	1 (4,8%)	2 (8,3%)	0,556
T4	21 (45,7%)	37 (52,1%)	(T1–2 vs. T3–4)	9 (42,9%)	12 (50,0%)	(T1–2 vs. T3–4)
Статус лимфоузлов (N)						
N0	9 (19,6%)	10 (14,3%)		3 (14,3%)	5 (20,8%)	
N1	21 (45,7%)	26 (37,1%)		10 (47,6%)	11 (45,8%)	
N2	10 (21,7%)	18 (25,7%)		6 (28,6%)	4 (16,7%)	
N3	6 (13,0%)	16 (22,9%)	0,456	2 (9,5%)	4 (16,7%)	0,705
Nd	0	1	(N0 vs. N1–3)	0	0	(N0 vs. N1–3)
Степень дифференцировки						
G1	6 (16,7%)	7 (12,5%)		3 (20,0%)	3 (15,0%)	
G2	20 (55,6%)	40 (71,4%)		7 (46,7%)	12 (60,0%)	
G3	10 (27,8%)	9 (16,1%)	0,196	5 (33,3%)	5 (25,0%)	0,712
Nd	10	15	(G1–2 vs. G3)	6	4	(G1–2 vs. G3)
Гистологический тип						
Инвазивный протоковый неспецифицированный (ИПН)	38 (90,5%)	55 (83,3%)		19 (90,5%)	18 (90,0%)	
Инвазивный дольковый (ИДР)	3 (7,1%)	6 (9,1%)		1 (4,8%)	2 (10,3%)	
Муцинозная карцинома	0 (0%)	4 (6,1%)	0,396	0 (0%)	0 (0%)	1,000
Папиллярная карцинома	1 (2,4%)	1 (1,5%)	(ИПН vs.	1 (4,8%)	0 (0%)	(ИДР vs.
Nd	4	5	остальные типы)	0	4	остальные типы)
ER (баллы по шкале Allred)						
7–8	44 (95,7%)	68 (97,1%)		21 (100,0%)	22 (91,7%)	
4–6	2 (4,3%)	2 (2,9%)	0,648	0 (0%)	2 (8,3%)	0,491
Nd	0	1	(7–8 vs. 2–6)	0	0	(7–8 vs. 2–6)
PR (баллы по шкале Allred)						
4–8	43 (93,5%)	53 (75,7%)		19 (90,5%)	23 (95,8%)	
0–3	3 (6,5%)	17 (24,3%)		2 (9,5%)	1 (4,2%)	
Nd	0	1	0,013	0	0	0,594
HER2 гиперэкспрессия						
HER2+	0 (0%)	4 (5,9%)		0 (0%)	0 (0%)	
HER2-	44 (100,0%)	64 (94,1%)		19 (100,0%)	24 (100,0%)	
Nd	2	3	0,153	2	0	1,000
Индекс Ki67, %						
Mean (min-max)	23,4 (9–80)	24,2 (3–80)		24,5 (10–80)	22,9 (9–70)	
Nd	5	8	0,596	2	3	0,860
Терапия 1 линии						
Ингибиторы ароматазы (ИА)	18 (39,3%)	45 (63,4%)	0,014	7 (33,3%)	11 (45,8%)	0,543
Тамоксифен (Там)	28 (60,9%)	26 (36,6%)	(ИА vs Там)	14 (66,7%)	13 (54,2%)	(ИА vs Там)

	PIK3CA mut (n=46)	PIK3CA wt (n=71)	Сравнение групп (p)	PIK3CA mut (exon 9) (n=21)	PIK3CA mut (exon 20) (n=24)	Сравнение групп (p)
Количество зон отдаленных метастазов						
1	27 (58,7%)	55 (77,5%)		13 (61,9%)	13 (54,2%)	
2	12 (26,1%)	10 (14,1%)		5 (23,8%)	7 (29,2%)	
3	5 (10,9%)	3 (4,2%)		3 (14,3%)	2 (8,3%)	
4	2 (4,4%)	2 (2,8%)	0,039	0 (0%)	2 (8,3%)	0,764
5	0 (0%)	1 (1,4%)	(1 vs. 2–5)	0 (0%)	0 (0%)	(1 vs. 2–5)
Отдаленные метастазы в органы помимо костей						
Нет	13 (28,3%)	33 (46,5%)		8 (38,1%)	5 (20,8%)	
Есть	33 (71,7%)	38 (53,5%)	0,055	13 (61,9%)	19 (79,2%)	0,323
Локализация отдалённых метастазов						
Кости	28 (60,9%)	42 (59,2%)		13 (61,9%)	15 (62,5%)	
Печень	9 (19,6%)	7 (9,9%)		4 (19,1%)	5 (20,8%)	
Плевра	6 (13,0%)	5 (7,0%)		1 (4,8%)	5 (20,8%)	
Легкие	15 (32,6%)	17 (23,9%)	0,428 (печень)	10 (47,6%)	5 (20,8%)	0,079 (легкие)
Кожа	3 (6,5%)	4 (5,6%)	vs. другие зоны)	0 (0%)	3 (12,5%)	vs. другие зоны)
Головной мозг	0 (0%)	2 (2,8%)		0 (0%)	0 (0%)	
Отдалённые лимфоузлы (кроме внутригрудных)	5 (10,9%)	11 (15,5%)		2 (9,5%)	3 (12,5%)	
Внутригрудные лимфоузлы	7 (15,2%)	5 (7,0%)		2 (9,5%)	4 (16,7%)	

Примечание. Mut — случаи с мутацией; wt (wild-type) — случаи без мутации; Nd — нет данных.

Мутации в 9 или 20 экзоне гена *PIK3CA* не ассоциировались с длительностью периода без прогрессирования или ответом на терапию у пациенток, получавших ингибиторы ароматазы или тамоксифен (см. рис. 2, Д, Е; табл. 3). Тем не менее, среди всех случаев с прогрессированием заболевания частота мутаций оказалась выше (8/13, 61,5%), чем среди больных с объективным ответом на гормонотерапию (9/32, 28,1%, $p=0,048$).

Обсуждение

Несмотря на длительную историю изучения амплификаций *CCND1* и *FGFR1* при РМЖ, их влияние на эффективность разных типов эндокринной терапии, а именно ингибиторов ароматазы и тамоксифена, до сих пор окончательно не установлено. Первоначально данные об ассоциации этих амплификаций с резистентностью к гормонотерапии были получены в экспериментах на клеточных культурах [7, 18, 21]. Клинические данные относительно предиктивной роли статуса гена *CCND1* оказались противоречивыми, при этом большинство исследований основывалось на анализе пациенток, получавших тамоксифен в адъювантном режиме [5, 13, 14, 33–35]. В некоторых работах активация *CCND1*, детектированная на уровне ДНК (амплификация) или белка (гиперэкспрессия), ассоциировалась с худшим эффектом тамоксифена [13–16],

в то время как другие авторы не обнаружили эту взаимосвязь [33–35]. В нашей выборке данная ассоциация не наблюдалась. К числу причин подобных расхождений можно отнести как минимум несколько факторов. Во-первых, вероятно, что помимо *CCND1*, амплификации других генов, расположенных в локусе 11q13 (*PAK1*, *RSF1*, *EMSY*), влияют на резистентность к тамоксифену [16, 34, 35]. Кроме этого, объектом нашего исследования стала относительно редкая категория больных РМЖ — пациентки, у которых заболевание было впервые выявлено уже на метастатической стадии. С одной стороны, эта группа высокоинформативна в отношении оценки ответа на лечение, так как больные получали гормонотерапию в качестве первой линии лечения. С другой стороны, такие случаи РМЖ, вероятно, обогащены более агрессивными опухолями и не репрезентативны в отношении всех ER-позитивных карцином. По-видимому, результаты исследования нельзя экстраполировать на больных с рецидивом заболевания, возникшим после операции и адъювантной терапии.

Влияние амплификаций *CCND1* и *FGFR1* на эффективность лечения ингибиторами ароматазы остается малоизученным. Подробный анализ статуса *CCND1* у пациенток, вошедших в клиническое испытание адъювантного лечения АТАС (Arimidex, Tamoxifen, Alone or in Combination) не выявил сокращения времени до прогрессирования у женщин, получавших анастрозол

или тамоксифен, при наличии амплификации *CCND1*; в то же время, присутствие амплификации ассоциировалось с большей частотой рецидивов во всей изученной выборке [5]. В исследовании Giltnane и соавт. (2017) было показано, что амплификации *CCND1* и *FGFR1* могут быть связаны с резистентностью к летрозолу в неoadьювантном режиме [36]. Drago и соавт. проанализировали пациентов с метастатическим РМЖ и обнаружили, что амплификация гена *FGFR1* ассоциировалась с более коротким временем до прогрессирования у пациентов, получавших различные типы эндокринной терапии первой линии [37]. Эти авторы также показали, что амплификация *FGFR1* вызывает устойчивость к ингибиторам PI3K и CDK4/6, но не к ингибиторам TORC1. Наши результаты подтверждают предиктивное значение амплификаций *CCND1* и, возможно, *FGFR1* для ответа на ингибиторы ароматазы.

Активация PIK3CA-опосредованного сигнального пути в экспериментах на клеточных линиях связана с резистентностью к гормонотерапии [38]. Вместе с тем, по клиническим данным, присутствие соматических мутаций *PIK3CA* не оказывает значимого влияния или даже улучшает эффект эндокринной терапии. Например, мутации *PIK3CA* не ассоциировались с результатами применения тамоксифена у пациенток с распространённым РМЖ [39], летрозол в неoadьювантном режиме [40] или адьювантной гормонотерапии [41, 42]. В то же время, имеются данные о разном эффекте мутаций в спиральном и киназном доменах *PIK3CA*, а также о неодинаковом влиянии мутаций на результаты применения тамоксифена и ингибиторов ароматазы [39]. В исследуемой нами когорте больных не было выявлено достоверной связи между мутациями в киназном или спиральном домене *PIK3CA* и эффектом эндокринной терапии. Отсутствие значимого влияния мутаций *PIK3CA* на эффективность антиэстрогенов может объясняться тем, что мутации не сопровождаются выраженной активацией конечных мишеней соответствующих сигнальных путей [43].

Заключение

Полученные данные подтверждают, что присутствие амплификации *CCND1* и, вероятно, *FGFR1* сопряжено с худшими результатами лечения ингибиторами ароматазы при метастатическом РМЖ. Можно предположить, что у пациенток с амплификациями более эффективно будет использование других групп антиэстрогенов и/или сочетания ингибиторов ароматазы с таргетными анти-CDK4/6, анти-FGFR или анти-TORC1 препаратами.

Вклад авторов:

Иевлева А.Г., Имянитов Е.Н., Моисеенко В.М. — концепция и дизайн исследования;
Крамчанинов М.М., Дмитриев В.Н., Петкау В.В. — сбор и обработка клинического материала;
Алексахина С.Н., Соколова Т.Н., Соловьева Т.И., Косьмин А.В. — молекулярно-генетические исследования;
Иевлева А.Г., Крамчанинов М.М., Имянитов Е.Н. — анализ результатов, подготовка и редактирование рукописи.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии в статье конфликта интересов.

Финансирование

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант №_17-04-01281).

ЛИТЕРАТУРА

- Zwijsen RM, Buckle RS, Hijmans EM et al. Ligand-independent recruitment of steroid receptor coactivators to estrogen receptor by cyclin D1 // *Genes Dev.* 1998;12:3488–98. <https://doi.org/10.1101/gad.12.22.3488>
- Jirawatnotai S, Hu Y, Michowski W et al. A function for cyclin D1 in DNA repair uncovered by protein interactome analyses in human cancers // *Nature.* 2011;474:230–4. <https://doi.org/10.1038/nature10155>
- Casimiro MC., Di Sante G, Crosariol M et al. Kinase-independent role of cyclin D1 in chromosomal instability and mammary tumorigenesis // *Oncotarget.* 2015;6:8525–38. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.3267>
- Gillett C, Fantl V, Smith R et al. Amplification and overexpression of cyclin D1 in breast cancer detected by immunohistochemical staining // *Cancer Res.* 1994;54:1812–7.
- Lundgren K, Brown M, Pineda S et al. Effects of cyclin D1 gene amplification and protein expression on time to recurrence in postmenopausal breast cancer patients treated with anastrozole or tamoxifen: a TransATAC study // *Breast Cancer Res.* 2012;14:R57. <https://doi.org/10.1186/bcr3161>
- Roy PG, Pratt N, Purdie CA et al. High CCND1 amplification identifies a group of poor prognosis women with estrogen receptor positive breast cancer // *Int J Cancer.* 2010;127:355–60. <https://doi.org/10.1002/ijc.25034>
- Kenny FS, Hui R, Musgrove EA et al. Overexpression of cyclin D1 messenger RNA predicts for poor prognosis in estrogen receptor-positive breast cancer // *Clin Cancer Res.* 1999;5:2069–76.
- Bièche I, Olivi M, Noguès C et al. Prognostic value of CCND1 gene status in sporadic breast tumours, as determined by real-time quantitative PCR assays // *Br J Cancer.* 2002;86:580–6. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6600109>
- Rudas M, Lehnert M, Huynh A et al. Cyclin D1 expression in breast cancer patients receiving adjuvant tamoxifen-based therapy // *Clin Cancer Res.* 2008;14:1767–74. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-07-4122>
- Beca F, Pereira M, Cameselle-Teijeiro JF et al. Altered PPP2R2A and Cyclin D1 expression defines a subgroup

- of aggressive luminal-like breast cancer // *BMC Cancer*. 2015;15:285. <https://doi.org/10.1186/s12885-015-1266-1>
11. Ahlin C, Lundgren C, Embretsén-Varro E et al. High expression of cyclin D1 is associated to high proliferation rate and increased risk of mortality in women with ER-positive but not in ER-negative breast cancers // *Breast Cancer Res Treat*. 2017;164:667–678. <https://doi.org/10.1007/s10549-017-4294-5>
 12. Lundberg A, Lindström LS, Li J et al. The long-term prognostic and predictive capacity of cyclin D1 gene amplification in 2305 breast tumours // *Breast Cancer Res*. 2019;21:34. <https://doi.org/10.1186/s13058-019-1121-4>
 13. Stendahl M, Kronblad A, Rydén L et al. Cyclin D1 overexpression is a negative predictive factor for tamoxifen response in postmenopausal breast cancer patients // *Br J Cancer*. 2004;90:1942–8. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6601831>
 14. Jirstrom K, Stendahl M, Rydén L et al. Adverse effect of adjuvant tamoxifen in premenopausal breast cancer with cyclin D1 gene amplification // *Cancer Res*. 2005;65:8009–16. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-05-0746>
 15. Ahnström M, Nordenskjöld B, Rutqvist LE et al. Role of cyclin D1 in ErbB2-positive breast cancer and tamoxifen resistance // *Breast Cancer Res Treat*. 2005;91:145–51. <https://doi.org/10.1007/s10549-004-6457-4>
 16. Brown LA, Johnson K, Leung S et al. Co-amplification of CCND1 and EMSY is associated with an adverse outcome in ER-positive tamoxifen-treated breast cancers // *Breast Cancer Res Treat*. 2010;121:347–54. <https://doi.org/10.1007/s10549-009-0479-x>
 17. Theillet C, Adelaide J, Louason G et al. FGFR1 and PLAT genes and DNA amplification at 8p12 in breast and ovarian cancers // *Genes Chromosomes Cancer*. 1993;7(4):219–26.
 18. Turner N, Pearson A, Sharpe R et al. FGFR1 amplification drives endocrine therapy resistance and is a therapeutic target in breast cancer // *Cancer Res*. 2010;70:2085–94. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-09-3746>
 19. Tomiguchi M, Yamamoto Y, Yamamoto-Ibusuki M et al. Fibroblast growth factor receptor-1 protein expression is associated with prognosis in estrogen receptor-positive/human epidermal growth factor receptor-2-negative primary breast cancer // *Cancer Sci*. 2016;107:491–8. <https://doi.org/10.1111/cas.12897>
 20. Elbauomy Elsheikh S, Green AR, Lambros MB et al. FGFR1 amplification in breast carcinomas: a chromogenic in situ hybridisation analysis // *Breast Cancer Res*. 2007;9:R23. <https://doi.org/10.1186/bcr1665>
 21. Formisano L, Stauffer KM, Young CD et al. Association of FGFR1 with ER Maintains Ligand-Independent ER Transcription and Mediates Resistance to Estrogen Deprivation in ER₊ Breast Cancer // *Clin Cancer Res*. 2017;23:6138–6150. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-17-1232>
 22. Jang M, Kim E, Choi Y et al. FGFR1 is amplified during the progression of in situ to invasive breast carcinoma // *Breast Cancer Res*. 2012;14:R115. <https://doi.org/10.1186/bcr3239>
 23. Shi YJ, Tsang JY, Ni YB et al. FGFR1 is an adverse outcome indicator for luminal A breast cancers // *Oncotarget*. 2016;7:5063–73. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.6563>
 24. Karlsson E, Waltersson MA, Bostner J et al. High-resolution genomic analysis of the 11q13 amplicon in breast cancers identifies synergy with 8p12 amplification, involving the mTOR targets S6K2 and 4EBP1 // *Genes Chromosomes Cancer*. 2011;50:775–87. <https://doi.org/10.1002/gcc.20900>
 25. Anderson EJ, Mollon LE, Dean JL et al. A Systematic Review of the Prevalence and Diagnostic Workup of PIK3CA Mutations in HR+/HER2- Metastatic Breast Cancer // *Int J Breast Cancer*. 2020;2020:3759179. <https://doi.org/10.1155/2020/3759179>
 26. Zardavas D, Te Marvelde L, Milne RL et al. Tumor PIK3CA Genotype and Prognosis in Early-Stage Breast Cancer: A Pooled Analysis of Individual Patient Data // *J Clin Oncol*. 2018;36(10):981–990. <https://doi.org/10.1200/JCO.2017.74.8301>
 27. Mosele F, Stefanovska B, Lusque A et al. Outcome and molecular landscape of patients with PIK3CA-mutated metastatic breast cancer // *Ann Oncol*. 2020;31:377–386. <https://doi.org/10.1016/j.annonc.2019.11.006>
 28. Perez EA, de Haas SL, Eiermann W et al. Relationship between tumor biomarkers and efficacy in MARIANNE, a phase III study of trastuzumab emtansine ± pertuzumab versus trastuzumab plus taxane in HER2-positive advanced breast cancer. *BMC Cancer*. 2019;19(1):517. <https://doi.org/10.1186/s12885-019-5687-0>
 29. Andr F, Ciruelos EM, Juric D et al. Alpelisib plus fulvestrant for PIK3CA-mutated, hormone receptor-positive, human epidermal growth factor receptor-2-negative advanced breast cancer: final overall survival results from SOLAR-1 // *Ann Oncol*. 2021;32:208–217. <https://doi.org/10.1016/j.annonc.2020.11.011>
 30. Barbareschi M, Buttitta F, Felicioni L et al. Different prognostic roles of mutations in the helical and kinase domains of the PIK3CA gene in breast carcinomas // *Clin Cancer Res*. 2007;13:6064–9. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-07-0266>
 31. Willis O, Choucair K, Alloghbi A et al. PIK3CA gene aberrancy and role in targeted therapy of solid malignancies // *Cancer Gene Ther*. 2020;27:634–644. <https://doi.org/10.1038/s41417-020-0164-0>
 32. Yanus GA, Belyaeva AV, Ivantsov AO et al. Pattern of clinically relevant mutations in consecutive series of Russian colorectal cancer patients // *Med Oncol*. 2013;30:686. <https://doi.org/10.1007/s12032-013-0686-5>
 33. Han S, Park K, Bae BN et al. Cyclin D1 expression and patient outcome after tamoxifen therapy in estrogen receptor positive metastatic breast cancer // *Oncol Rep*. 2003;10:141–4.
 34. Bostner J, Ahnström Waltersson M, Fornander T et al. Amplification of CCND1 and PAK1 as predictors of recurrence and tamoxifen resistance in postmenopausal breast cancer // *Oncogene*. 2007;26:6997–7005. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1210506>
 35. Keilty D, Buchanan M, Ntapolias K et al. RSF1 and not cyclin D1 gene amplification may predict lack of benefit from adjuvant tamoxifen in high-risk premenopausal women in the MA.12 randomized clinical trial // *PLoS One*. 2013;8:e81740. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0081740>
 36. Giltnane JM, Hutchinson KE, Stricker TP et al. Genomic profiling of ER₊ breast cancers after short-term estrogen suppression reveals alterations associated with endocrine resistance // *Sci Transl Med*. 2017;9(402). <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aai7993>
 37. Drago JZ, Formisano L, Juric D et al. FGFR1 Amplification Mediates Endocrine Resistance but Retains TORC Sensitivity in Metastatic Hormone Receptor-Positive (HR(+))

- Breast Cancer // Clin Cancer Res. 2019;25:6443–6451. <https://doi:10.1158/1078-0432.CCR-19-0138>
38. Miller TW, Balko JM, Arteaga CL Phosphatidylinositol 3-kinase and antiestrogen resistance in breast cancer // J Clin Oncol. 2011;29:4452–61. <https://doi:10.1200/JCO.2010.34.4879>
 39. Ramirez-Ardila DE, Helmijr JC, Look MP et al. Hotspot mutations in PIK3CA associate with first-line treatment outcome for aromatase inhibitors but not for tamoxifen // Breast Cancer Res Treat. 2013;139:39–49. <https://doi:10.1007/s10549-013-2529-7>
 40. Ellis MJ, Lin L, Crowder R et al. Phosphatidylinositol-3-kinase alpha catalytic subunit mutation and response to neoadjuvant endocrine therapy for estrogen receptor positive breast cancer // Breast Cancer Res Treat. 2010;119:379–90. <https://doi:10.1007/s10549-009-0575-y>
 41. Beelen K, Opdam M, Severson TM et al. PIK3CA mutations, phosphatase and tensin homolog, human epidermal growth factor receptor 2, and insulin-like growth factor 1 receptor and adjuvant tamoxifen resistance in postmenopausal breast cancer patients // Breast Cancer Res. 2014;16(1):R13. <https://doi:10.1186/bcr3606>
 42. Sabine VS, Crozier C, Brookes CL et al. Mutational analysis of PI3K/AKT signaling pathway in tamoxifen exemestane adjuvant multinational pathology study // J Clin Oncol. 2014;32:2951–8. <https://doi:10.1200/JCO.2013.53.8272>
 43. Loi S, Haibe-Kains B, Majjaj S et al. PIK3CA mutations associated with gene signature of low mTORC1 signaling and better outcomes in estrogen receptor-positive breast cancer // Proc Natl Acad Sci USA. 2010;107:10208–13. <https://doi:10.1073/pnas.0907011107>

Поступила в редакцию 15.02.2021 г.

A.G. Iyevleva^{1,2}, M.M. Kramchaninov³,
S.N. Aleksakhina¹, T.N. Sokolova¹, T.I. Solovieva¹,
A.V. Kosmin¹, V.N. Dmitriev^{4,5}, V.V. Petkat^{6,7},
V.M. Moiseenko³, E.N. Imyanitov^{1,2,8}

Predictive role of *CCND1*, *FGFR1* gene amplifications and *PIK3CA* mutations for endocrine therapy of primary metastatic breast cancer

- ¹ NMRC of Oncology named after N.N. Petrov of MoH of Russia, St Petersburg
- ² Saint-Petersburg State Pediatric Medical University, St Petersburg
- ³ Saint-Petersburg clinical scientific and practical center for specialised types of medical care (oncological), St Petersburg
- ⁴ Medical Institute of Belgorod University, Belgorod
- ⁵ Belgorod Oncological Dispensary, Belgorod
- ⁶ Sverdlovskiy Regional Oncological Hospital, Ekatherinburg
- ⁷ Center for drug therapy in Ekatherinburg, Ekatherinburg
- ⁸ I.I. Mechnikov North-Western State Medical University, St Petersburg

Background. More than half of breast carcinomas express estrogen and progesterone receptors (ER and PR) and remain estrogen-dependent. Endocrine therapy with inhibitors of the estrogen cascade allows long-term and effective control of the disease in a significant number of patients, however, some patients demonstrate primary, and the majority — secondary resistance to such treatment.

The aim of the study was to evaluate the predictive significance of the *CCND1* and *FGFR1* gene amplifications and *PIK3CA* mutations for endocrine therapy.

Materials and methods. The study included 133 women with ER-positive primary metastatic breast cancer (BC) who received hormone therapy with aromatase inhibitors (AIs) (n=69) or tamoxifen (n=64) as the first line treatment. *CCND1* and *FGFR1* gene amplifications were tested by digital droplet PCR, while mutations in exons 7, 9, and 20 of the *PIK3CA* gene were determined using high-resolution melting analysis and allele-specific PCR. We analyzed the associations between the presence of the mentioned genetic lesions, progression-free-survival (PFS) and response to treatment.

Results. Amplifications of *CCND1* and *FGFR1* genes were identified in 24 (18.6%) and 28 (21.7%) of 129 successfully tested cases, respectively; 9 tumors were positive for both alterations. Amplifications were more prevalent in less differentiated tumors (p=0.030). *CCND1* amplification was associated with shorter PFS in patients receiving aromatase inhibitors (16.0 months vs. 32.4 months, HR=3.16 [95% CI: 1.26–7.93], p=0.014). *FGFR1* status did not significantly affect PFS of AI-treated women, however, partial regress as a result of AI implementation was less frequent in *FGFR1*-amplified BC as compared to cases with normal *FGFR1* copy number (p=0.031).

The frequency of *PIK3CA* mutations was 39.3% (46/117). They were more often observed in smaller tumors (p=0.029), in PR-positive carcinomas (p=0.013), and in cases with more extensive metastatic involvement (p=0.039). The presence of *PIK3CA* mutations did not affect the results of treatment with AI or tamoxifen.

Conclusion The presence of *CCND1* and/or *FGFR1* amplification is associated with worse results of AI therapy of metastatic breast cancer.

Key words: breast cancer; mutation; amplification; tamoxifen; aromatase inhibitors; resistance to treatment

С.Н. Алексахина¹, А.Г. Иевлева¹, А.П. Соколенко¹, С.В. Баскина¹,
А.Р. Венина¹, Е.И. Анисимова², Н.А. Ахмедов³, А.О. Иванцов¹, Я.В. Бельшева¹,
А.П. Чернякова¹, Е.Н. Имянитов^{1,4,5}

Феномен потери гетерозиготности при *CHEK2*-ассоциированном раке молочной железы

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

² СПб ГБУЗ «Городская Мариинская больница», Санкт-Петербург

³ ФГБОУ ВО «Дагестанский государственный университет», Республика Дагестан, г. Махачкала

⁴ ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России

⁵ ГБОУ ВПО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург

Актуальность. *CHEK2*-ассоциированные новообразования составляют значительную, сопоставимую с *BRCA1*-опосредованными опухолями, долю наследственного рака молочной железы (РМЖ) в России. Феномен соматической делеции нормального аллеля гена, затронутого наследственной мутацией, или потери гетерозиготности, — частый механизм полной инактивации соответствующего белка, реализующийся при развитии наследственных карцином молочной железы. Вклад потери гетерозиготности в патогенез *CHEK2*-зависимых опухолей малоизучен, и практически все имеющиеся данные касаются только одной мутации — *CHEK2 1100delC*.

Целью исследования стало определение частоты потери гетерозиготности (ЛОН, loss of heterozygosity) в опухолевой ткани при трёх распространённых в нашей стране типах мутаций: *CHEK2 1000delC*, *CHEK2 IVS2+1G>A* и *CHEK2 del5395*.

Материалы и методы. Анализ потери гетерозиготности был выполнен в группе из 50 случаев РМЖ, представленных опухолями от носительниц мутаций *CHEK2 1000delC* (n=19), *CHEK2 IVS2+1G>A* (n=12) и *CHEK2 del5395* (n=19). Детекция ЛОН осуществлялась посредством комбинации методов, анализирующих непосредственно locus мутации (аллель-специфическая ПЦР, секвенирование по Сэнгеру, цифровая капельная ПЦР) и оценивающих статус окружающих ген *CHEK2* однонуклеотидных полиморфизмов (цифровая капельная ПЦР).

Результаты. Частота феномена ЛОН в исследуемой выборке составила 27/50 (54%). Потеря гетерозиготности наблюдалась в 10/19 (52,6%) *CHEK2 1000delC*-ассоциированных, 6/12 (50%) *CHEK2 IVS2+1G>A*-ассоциированных и 11/19 (57,9%) связанных с мутацией *CHEK2 del5395*

опухолей. В одной из карцином от носительницы мутации *CHEK2 IVS2+1G>A* при этом была выявлена потеря не нормального, а мутантного аллеля. Основные клинико-морфологические характеристики РМЖ были сопоставлены в опухолях с потерей и без потери гетерозиготности. Значимых отличий по проанализированным параметрам в этих группах обнаружено не было.

Заключение. Потеря гетерозиготности наблюдается примерно в половине случаев РМЖ у носителей наследственных дефектов *CHEK2*; частота этого феномена не отличается при трёх разновидностях мутаций.

Ключевые слова: рак молочной железы; наследственная мутация; ген *CHEK2*; потеря гетерозиготности

Введение

CHEK2-ассоциированные новообразования составляют значительную долю наследственного рака молочной железы (РМЖ) в России: в нашей стране и других регионах с преимущественно славянским населением их частота сопоставима с *BRCA1*-индуцированными опухолями [1]. К преобладающим в российской популяции мутациям относятся три типа повреждений (*CHEK2 1000delC*, *CHEK2 IVS2+1G>A* и делеция экзонов 9-10 (*CHEK2 del5395*)), суммарная доля которых при неселективном РМЖ составляет около 2–3%.

Изучение различных аспектов *CHEK2*-обусловленного РМЖ до сих пор было сфокусировано вокруг распространённых в странах Северной, Восточной и Западной Европы мутаций *CHEK2 1100delC* и *CHEK2 I157T* [2, 3]. Особенности двух других «транквирующих», т.е. нарушающих структуру белка, вариантов, характерных для славянских популяций, *CHEK2 IVS2+1G>A* и *CHEK2 del5395*, посвящено мень-

ше работ, выполненных, в основном, польской группой ученых [4–7]. На основании анализа, включающего преимущественно опухоли от носителей варианта *CHEK2 1100delC*, известно, что *CHEK2*-ассоциированный РМЖ отличается от спорадических и BRCA-опосредованных наследственных опухолей. Для него характерен положительный ER-статус [8, 9]; люминальный экспрессионный подтип [7, 10, 11]; более поздний, в сравнении с BRCA-зависимым РМЖ, возраст манифестации [11, 12]; высокий риск контралатеральных карцином молочной железы [13–16]; худшие, по сравнению со спорадическими опухолями, показатели РМЖ-специфической выживаемости [10, 15–18].

Делеция второго, не затронутого наследственной мутацией аллеля гена в опухолевой ткани, т. е. потеря гетерозиготности (Loss of Heterozygosity, LOH) — это частый механизм полной инактивации гена-супрессора, необходимой для развития злокачественной опухоли. Например, при BRCA1-опосредованных карциномах LOH наблюдается в более чем 90% случаев [19]. Вопрос о внутриопухолевом статусе нормального аллеля представляет не только фундаментальный, но и практический интерес, поскольку полная функциональная инактивация *CHEK2*, как предполагается, может приводить к дефекту гомологичной репарации ДНК и повышенной чувствительности опухолевых клеток к терапии ДНК-повреждающими цитостатиками. Данный механизм химиочувствительности продемонстрирован для BRCA1- и BRCA2-опосредованных РМЖ, в которых недостаточность гомологичной репарации связана именно с утратой аллеля дикого типа [20, 21]. Систематическая характеристика статуса нормального аллеля при разных типах мутаций *CHEK2* до сих пор не проводилась. Опубликованные сведения о феномене LOH при *CHEK2*-ассоциированном РМЖ немногочисленны и, в основном, касаются мутации *CHEK2 1100delC*. Так, в работе Sodha и соавт., 2002, при помощи анализа микросателлитных маркеров в 4 интроне *CHEK2* и секвенирования были проанализированы две опухоли, в одной из которых наблюдалась потеря аллеля с мутацией [22]. В работе Oldenburg и соавт., 2003, утрата нормального аллеля была обнаружена в 3 из 11 (27,3%) *CHEK2 1100delC*-опосредованных РМЖ (использовался фрагментный анализ микросателлитных маркеров) [23]. В другом исследовании одна из двух карцином от носительниц *CHEK2 1100delC* содержала делецию нормального, а вторая — мутантного аллеля (метод анализа — секвенирование) [24]. По данным Mrganen и соавт., 2011, частота LOH при этой мутации составила 6/22 (27,3%) (метод — arrayCGH) [25]. В единствен-

ной посвященной изучению феномена LOH российской работе потеря гетерозиготности наблюдалась в 3/9 (33,3%) опухолей с мутацией *CHEK2 5395del*, и отсутствовала в 5 карциномах с *CHEK2 IVS2+1G>A* и 3 — с делецией *CHEK2 1100delC* (метод анализа — аллель-специфическая ПЦР) [26]. В недавнем исследовании, посвященном изучению генетического паттерна *CHEK2*-ассоциированных опухолей при помощи полноэкзомного секвенирования, частота потери гетерозиготности среди опухолей с высокопатогенными мутациями *CHEK2* составила 81% (13/16) [27]. Надо отметить, что спектр изученных патогенных мутаций включал только 5 повреждений *CHEK2 1100delC* и 1 *CHEK2 IVS2+1G>A*, а остальные случаи были представлены миссенс-вариантами.

Целью настоящего исследования стало определение частоты потери гетерозиготности в опухолях, ассоциированных с тремя распространенными мутациями *CHEK2*.

Материалы и методы

Анализ потери гетерозиготности был выполнен в группе из 50 случаев РМЖ, представленных опухолями от носительниц мутаций *CHEK2 1000delC* (n=19), *CHEK2 IVS2+1G>A* (n=12) и *CHEK2 del5395* (n=19). ДНК для исследования выделялась из свежемороженого или архивного опухолевого материала, полученного до лекарственного лечения. Стандартный ПЦР-анализ в области мутации *CHEK2 1100delC* (NM_007194.3, *CHEK2* экзон 11) затрудняется наличием в геноме нескольких локусов, обладающих высокой степенью гомологии с 10–14 экзонами гена [28]. В связи с этим тестирование LOH осуществлялось при помощи комбинации методов, включающей аллель-специфическую ПЦР (АС-ПЦР), секвенирование по Сэнгеру [26, 29] и анализ 6 однонуклеотидных полиморфизмов, окружающих ген *CHEK2*. Статус информативных (гетерозиготных в образцах неопухолевой ДНК) полиморфизмов оценивался в опухоли посредством аллельной дискриминации с использованием цифровой капельной ПЦР (digital droplet PCR, ddPCR). Помимо этого, ddPCR была также использована для анализа потери гетерозиготности непосредственно в локусе *CHEK2 IVS2+1G>A*. Праймеры для амплификации, последовательности зондов и расположение полиморфизмов в геноме представлены в табл. 1.

Результаты

В работу были включены 50 случаев РМЖ с тремя типами «транквирующих» мутаций *CHEK2*. Средний возраст в группе составил 58,3 года. Большая часть карцином экспрессировала рецепторы эстрогенов (42/48, 87,5%) и прогестерона (31/48, 64,6%), а в 7 из 43 случаев (16,3%) наблюдалась гиперэкспрессия HER2. У 9 из 50 (18,0%) пациенток были диагностированы первично-множественные опухоли: билатеральный РМЖ (n=6), сочетание РМЖ с раком яичника (n=1) или папиллярным раком щитовидной железы (n=2).

Таблица 1. Последовательности праймеров и флуоресцентных зондов, использованные для детекции потери гетерозиготности при тестировании однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) в локусе *CHEK2* и мутации *CHEK2 IVS2+1G>A* с помощью цифровой капельной ПЦР

SNP/мутация	Положение в геноме	Последовательность праймеров и флуоресцентных зондов 5'-3'
rs738574	22: 27,450,914	F- TCTGTTATCACAACCTCCTTTCT
MAF: 0.49		R- CCTGGATGATGAAGGCAGC
		[R6G]TCTCCCCCTAAAAGGACTCTC[BHQ1]
		[FAM]TCTCCCCCTATAAGGACTCTC[BHQ1]
rs2065036	22: 27,703,363	F- GAAATTAGGAAAAATGGCAAAG
MAF: 0.50		R- TTGATTGGGCTGTGAACCT
		[R6G]CTGCCCAAGAGAGCCCCT[BHQ1]
		[FAM]CTGCCCAAAAGAGCCCCT[BHQ1]
rs5762680	22: 28,549,527	F- AGTAAATGTCTACTGCTGCCA
MAF: 0.49		R- ATAGACTTAAAAGGAGAGAATC
		[R6G]TCAGGACTGTAAACTATAAAAACAAAC[BHQ1]
		[FAM]TCAGGACTGTAAACAATAAAAACAAAC[BHQ1]
rs5752793	22: 28,764,326	F- GTCTAGGGAGGGATCATTTC
MAF: 0.49		R- GGACACCTGACATAGTTTCTC
		[R6G]TCCTCCTCTCCTTTCTTCTTAGT[BHQ1]
		[FAM]TCCTCCTCTCCTTTCTTCTTAGT[BHQ1]
rs5997408	22: 28,811,927	F- TCAAAGCTAGCACAGATAATTC
MAF: 0.48		R- GTTTTGACAAATGTGCCACAG
		[R6G]CCTCACCCGGTCCGGTTTC[BHQ1]
		[FAM]CCTCACCCAGTCCGGTTTC[BHQ1]
rs9613777	22: 29,024,494	F- ACTGAGGTCTGCTGTTTACA
MAF: 0.50		R- GAAATATCACAGGACTGCAAG
		[R6G]CTATGTGTCTCCACTTTATATCAAC[BHQ1]
		[FAM]CTATGTGTCTCCACTTTATATCAAC[BHQ1]
<i>CHEK2 IVS2+1G>A</i> (с.444+1G>A)	22: 28,725,242	F- GAACATACAGCAAGAAACACT
		R- ACCAAATTACCAGCTCTCCT
		[R6G]TCATTACCTACCCTGAA[BHQ1]*
		[FAM]TCATTACCTATCCTGAA[BHQ1]*

* Выделенные жирным шрифтом нуклеотиды модифицированы LNA (locked nucleic acids).

Частота феномена ЛОН в исследуемой выборке составила 27/50 (54%). Потеря гетерозиготности наблюдалась в 10/19 (52,6%) *CHEK2 1000delC*-ассоциированных, 6/12 (50%) *CHEK2 IVS2+1G>A*-ассоциированных и 11/19 (57,9%) связанных с мутацией *CHEK2 del5395* опухолях (табл. 2). В одной из карцином от носительницы мутации *CHEK2 IVS2+1G>A* наблюдалась потеря не нормального, а мутантного аллеля. Значительные расхождения в оценке ЛОН разными методами были выявлены при анализе мутаций *CHEK2 1000delC* и *CHEK2 IVS2+1G>A*: в 7 и 4 опухолях соответственно, потеря гетерозиготности не была обнаружена

посредством стандартной АС-ПЦР/секвенирования, но детектировалась с помощью цифровой капельной ПЦР. В случае делеции *CHEK2 del5395* результаты АС-ПЦР и анализа окружающих ген полиморфизмов совпали во всех информативных случаях.

Основные клинико-морфологические характеристики РМЖ были сопоставлены в опухолях с потерей и без потери гетерозиготности (табл. 3). Значимых отличий по проанализированным параметрам (возраст манифестации заболевания, классификация TNM, экспрессия гормональных рецепторов, семейный онкологический анамнез) в этих группах обнаружено не было.

Таблица 2. Результаты исследования потери гетерозиготности CHEK2-ассоциированных опухолей методами аллель-специфической ПЦР, секвенирования, генотипирования однонуклеотидных полиморфизмов (LOH – loss of heterozygosity, потеря гетерозиготности, ROH – retention of heterozygosity, сохранение гетерозиготности)

ID образца	Мутация CHEK2	Статус LOH (АС-ПЦР/секвенирование)	Статус LOH CHEK2 IVS2+1G>A (ddPCR)	Генотип по выбранным полиморфизмам («+» гетерозигота; «-» гомозигота, na – генотип не определён) (ddPCR)						Окончательный результат
				rs738574	rs2065036	rs5762680	rs5752793	rs5997408	rs9613777	
1	1100delC	ROH		+ (LOH)	-	+ (LOH)	+	-	+ (LOH)	LOH
2	1100delC	ROH		-	+ (ROH)	+ (ROH)	+	na	-	ROH
3	1100delC	ROH		+ (LOH)	-	+ (LOH)	na	+ (LOH)	-	LOH
4	1100delC	ROH		+ (ROH)	-	+ (ROH)	+ (ROH)	na	-	ROH
5	1100delC	ROH		-	+ (ROH)	+ (ROH)	na	na	-	ROH
6	1100delC	ROH		na	-	+ (ROH)	na	na	+ (ROH)	ROH
7	1100delC	ROH		+ (LOH)	-	+ (LOH)	+ (LOH)	na	+ (LOH)	LOH
8	1100delC	ROH		+ (ROH)	+ (ROH)	+ (ROH)	na	na	+ (ROH)	ROH
9	1100delC	ROH		+ (LOH)	+ (LOH)	-	na	na	-	LOH
10	1100delC	ROH		-	-	na	na	+ (ROH)	-	ROH
11	1100delC	ROH		+ (LOH)	-	na	na	+ (LOH)	-	LOH
12	1100delC	ROH		+ (ROH)	+ (ROH)	nd	+		-	ROH
13	1100delC	LOH		-	+ (LOH)	+ (LOH)	+		-	LOH
14	1100delC	LOH		+ (LOH)	+ (LOH)	+ (LOH)	na	na	+ (LOH)	LOH
15	1100delC	ROH		+ (ROH)	-	na	+	+ (ROH)	-	ROH
16	1100delC	LOH		-	+ (LOH)	na	+ (LOH)	-	+ (LOH)	LOH
17	1100delC	ROH		+ (LOH)	+ (LOH)	na	+ (LOH)	-	+ (LOH)	LOH
18	1100delC	ROH		-	+ (LOH)	+ (LOH)	-	-	-	LOH
19	1100delC	ROH		-	-	na	+ (ROH)	+ (ROH)	+ (ROH)	ROH
20	del5395	LOH		-	+ (LOH)	-	-	na	-	LOH
21	del5395	ROH		+ (ROH)	-	-	na	-	+ (ROH)	ROH
22	del5395	ROH		-	-	-	+ (ROH)	na	+ (ROH)	ROH
23	del5395	LOH		-	+ (LOH)	-	+	-	+ (LOH)	LOH
24	del5395	LOH		na	na	na	na	na	na	LOH
25	del5395	ROH		-	+ (ROH)	-	+		+ (ROH)	ROH
26	del5395	LOH		+ (LOH)	+ (LOH)	-	-	+ (LOH)	-	LOH
27	del5395	ROH		+ (ROH)	+ (ROH)	+ (ROH)	-	na	-	ROH
28	del5395	ROH		-	-	+ (ROH)	-	+ (ROH)	-	ROH
29	del5395	ROH		+ (ROH)	+ (ROH)	-	-	+ (ROH)	+ (ROH)	ROH
30	del5395	LOH		-	+ (LOH)	-	-		-	LOH
31	del5395	LOH		na	na	na	na	na	na	LOH
32	del5395	ROH		-	+ (ROH)	-	-	na	+ (ROH)	ROH
33	del5395	LOH		-	-	-	-	-	-	LOH
34	del5395	LOH		-	-	-	-	+ (LOH)	+ (LOH)	LOH
35	del5395	LOH		na	na	na	na	na	na	LOH
36	del5395	LOH		-	-	-	-	-	-	LOH
37	del5395	ROH		-	-	+ (ROH)	-	+	-	ROH
38	del5395	LOH		-	+ (LOH)	na	-	+ (LOH)	-	LOH
39	IVS2+1G>A	ROH	LOH	-	-	-	na	+ (LOH)	+ (LOH)	LOH
40	IVS2+1G>A	ROH		-	-	+ (ROH)	+ (ROH)	na	-	ROH
41	IVS2+1G>A	ROH		+ (ROH)	-	-	na	na	-	ROH
42	IVS2+1G>A	ROH		-	+ (ROH)	+ (ROH)	na	na	+ (ROH)	ROH
43	IVS2+1G>A	ROH	LOH	-	+ (LOH)	-	+ (LOH)	-	+ (LOH)	LOH
44	IVS2+1G>A	ROH		na	-	+ (ROH)	na	na	+ (ROH)	ROH
45	IVS2+1G>A	LOH	LOH	-	-	+	+ (LOH)	+ (LOH)	-	LOH
46	IVS2+1G>A	LOH	LOH	-	-	-	na	+ (LOH)	+ (LOH)	LOH
47	IVS2+1G>A	ROH	ROH	-	+ (ROH)	-	+	na	-	ROH
48	IVS2+1G>A	ROH	LOH	-	+ (LOH)	-	+ (LOH)	na	-	LOH
49	IVS2+1G>A	ROH		-	-	+	na	+ (ROH)	-	ROH
50	IVS2+1G>A	ROH	LOH (mut)	na	na	na	na	na	na	LOH (mut)

Таблица 3. Клинико-морфологические характеристики CHEK2-ассоциированного РМЖ, сопровождающегося и не сопровождающегося феноменом потери гетерозиготности (LOH — loss of heterozygosity, потеря гетерозиготности, ROH — retention of heterozygosity, сохранение гетерозиготности)

Характеристика	LOH	ROH*
	(n=26)	(n=24)
Возраст, лет		
Средний ± станд. отклонение	59,8±11,9	56,7±10,9
Диапазон	35–76	38–77
Размер опухоли (Т)	n=25	n=19
T1	10 (40,0%)	8 (42,1%)
T2	9 (36,0%)	8 (42,1%)
T3	3 (12,0%)	1 (5,3%)
T4	3 (12,0%)	2 (10,5%)
Вовлеченность лимфоузлов (N)	n=25	n=19
N0	14 (56,0%)	10 (52,6%)
N>0	11 (44,0%)	9 (47,4%)
Отдаленные метастазы	n=26	n=17
M0	24 (92,3%)	17 (100%)
M1	2 (7,7%)	0 (0%)
Гистотип	n=26	n=24
Инвазивный протоковый рак	14 (53,8%)	18 (75,0%)
Инвазивный неспецифицированный рак	7 (26,9%)	5 (20,8%)
Инвазивный дольковый рак	1 (3,8%)	0 (0%)
Инвазивный протоковый и дольковый рак	2 (7,7%)	0 (0%)
Другие	2 (7,7%)	1 (4,2%)
Экспрессия рецепторов эстрогенов	n=24	n=24
ER+	22 (91,7%)	20 (83,3%)
ER-	2 (8,3%)	4 (16,7%)
Экспрессия рецепторов прогестерона	n=24	n=24
PR+	13 (54,2%)	18 (75,0%)
PR-	11 (45,8%)	6 (25,0%)
Гиперэкспрессия HER2	n=22	n=21
HER2-	19 (86,4%)	17 (81,0%)
HER2+	3 (13,6%)	4 (19,0%)
Семейный онкологический анамнез	n=26	n=24
Есть	8 (30,8%)	10 (41,7%)
Нет/нет данных	18 (69,2%)	14 (58,3%)

* Случай с потерей мутантного аллеля CHEK2 в данной таблице включён в группу «ROH».

Обсуждение

В соответствии с полученными данными, примерно в половине карцином молочной железы у носительниц патогенных наследственных мутаций *CHEK2* наблюдается феномен потери гетерозиготности, и его частота не отличается при трех разновидностях генетических дефек-

тов: *CHEK2 1000delC*, *CHEK2 IVS2+1G>A* и *CHEK2 del5395*. Необходимо учесть, что из 20 опухолей, для которых феномен LOH был детектирован непосредственно в локусе с мутацией, в 19 была подтверждена делеция нормального, а в одном — мутантного аллеля гена. Ещё в 7 карциномах с мутациями *CHEK2 1100delC* потеря гетерозиготности была зафиксирована исключительно при помощи генотипирования близлежащих полиморфизмов, что не позволяет идентифицировать делецированный аллель. Можно отметить, что потеря целого плеча или фрагментов хромосомы 22q (ген *CHEK2* расположен в локусе 22q12.1) — достаточно частое событие при РМЖ (25–50%) [30–32]. Тем не менее, преобладание потери именно неизменённого аллеля подтверждает неслучайный характер этого события в патогенезе опухоли. Альтернативные варианты инактивации нормального аллеля гена в опухолевой ткани, такие как соматические мутации или гиперметилование, по-видимому, практически не встречаются [31]. Вопрос о значимости мутаций *CHEK2* в развитии РМЖ при сохранении гетерозиготности и механизме канцерогенеза в присутствии функциональной копии гена остаётся открытым. В клетках у гетерозиготных носителей мутации *CHEK2 1100delC* было зафиксировано снижение количества полноразмерного полипептида CHEK2 и эффективности его АТМ-опосредованного фосфорилирования [12, 24, 33]. Вероятно, что само по себе уменьшение количества функционального белка CHEK2 может predispose к злокачественной трансформации.

Ген *CHEK2* кодирует ядерную серин-треониновую киназу, играющую роль в поддержании целостности генома. В случае возникновения повреждений ДНК (в клетке) CHEK2 фосфорилируется белком АТМ, что приводит к его гомодимеризации и активации. К основным внутриклеточным мишеням CHEK2, задействованным в регуляции клеточного цикла, апоптоза и репарации ДНК, относятся CDC25A, p53, PML, E2F1 и BRCA1 [34]. Можно предположить, что биаллельная инактивация *CHEK2* ассоциирована с повышенной генетической нестабильностью или фенотипом BRCAness, который, в свою очередь, является маркером чувствительности опухолей к ДНК-повреждающей химиотерапии [35]. В нашем исследовании случаи РМЖ с наличием и отсутствием потери гетерозиготности не отличались по основным клинико-морфологическим параметрам. Тем не менее, ввиду потенциальной роли LOH *CHEK2* в формировании фенотипа BRCAness, представляется необходимым в дальнейшем сопоставить особенности химиочувствительности LOH+ и LOH- карцином.

Детекция ЛОН посредством разных методик обнаружила высокую долю несоответствий при анализе мутаций *CHEK2 1000delC* и *CHEK2 IVS2+1G>A*: «обычные» ПЦР-тесты выявили меньше потерь гетерозиготности, чем цифровая капельная ПЦР. Объяснением этому может служить как неспецифичная амплификация гомологичных *CHEK2* последовательностей в случае мутации *CHEK2 1000delC*, так и в целом значительно более высокая чувствительность методики цифровой капельной ПЦР.

Заключение

Потеря гетерозиготности в опухолевой ткани наблюдается примерно в половине случаев РМЖ у носителей наследственных дефектов *CHEK2*, и встречается с одинаковой частотой при мутациях *CHEK2 1000delC*, *CHEK2 IVS2+1G>A* и *CHEK2 del5395*. Представляет интерес сравнение особенностей чувствительности карцином с потерей и сохранением гетерозиготности к ДНК-повреждающей терапии.

Вклад авторов:

Алексахина С.Н., Иевлева А.Г., Имянитов Е.Н. — концепция и дизайн исследования;

Анисимова Е.И., Венина А.Р., Ахмедов Н.А. — сбор и обработка клинического материала;

Соколенко А.П., Баскина С.В., Иванцов А.О., Бельшева Я.В., Чернякова А.П. — молекулярно-генетическое тестирование потери гетерозиготности;

Алексахина С.Н., Иевлева А.Г., Имянитов Е.Н. — анализ результатов, подготовка и редактирование рукописи.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии в статье конфликта интересов.

Финансирование

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант №_17-29-06046 офм_м).

ЛИТЕРАТУРА

1. Sokolenko AP, Bogdanova N, Kluzniak W et al. Double heterozygotes among breast cancer patients analyzed for BRCA1, CHEK2, ATM, NBN/NBS1, and BLM germline mutations // *Breast Cancer Res Treat.* 2014;145:553–562. <https://doi.org/10.1007/s10549-014-2971-1>
2. Schutte M, Seal S, Barfoot R et al. Variants in CHEK2 other than 1100delC do not make a major contribution to breast cancer susceptibility // *Am J Hum Genet.* 2003;72:1023–1028.
3. Weischer M, Bojesen SE, Ellervik C et al. CHEK2*1100delC genotyping for clinical assessment of breast cancer risk:

- meta-analyses of 26,000 patient cases and 27,000 controls // *J Clin Oncol.* 2008;26:542–548.
4. Cybulski C, Huzarski T, Górski B et al. A novel founder CHEK2 mutation is associated with increased prostate cancer risk. *Cancer Res.* 2004;64:2677–2679.
5. Cybulski C, Wokolorczyk D, Huzarski T et al. A large germline deletion in the Chek2 kinase gene is associated with an increased risk of prostate cancer // *J Med Genet.* 2006;43:863–866.
6. Cybulski C, Wokolorczyk D, Huzarski T et al. A deletion in CHEK2 of 5,395 bp predisposes to breast cancer in Poland // *Breast Cancer Res Treat.* 2007;102:119–122.
7. Domagala P, Wokolorczyk D, Cybulski C et al. Different CHEK2 germline mutations are associated with distinct immunophenotypic molecular subtypes of breast cancer // *Breast Cancer Res Treat.* 2012;132:937–945.
8. Cybulski C, Huzarski T, Byrski T et al. Estrogen receptor status in CHEK2-positive breast cancers: implications for chemoprevention // *Clin Genet.* 2009;75:72–78.
9. Schmidt MK, Hogervorst F, van Hien R et al. Age- and Tumor Subtype-Specific Breast Cancer Risk Estimates for CHEK2*1100delC Carriers // *J Clin Oncol.* 2016;34:2750–2760.
10. Nagel JH, Peeters JK, Smid M et al. Gene expression profiling assigns CHEK2 1100delC breast cancers to the luminal intrinsic subtypes // *Breast Cancer Res Treat.* 2012;132:439–448
11. Huszno J, Budryk M, Ko osza Z et al. A Comparison between CHEK2*1100delC/1157T Mutation Carrier and Noncarrier Breast Cancer Patients: A Clinicopathological Analysis // *Oncology.* 2016;90:193–198.
12. Vahteristo P, Bartkova J, Eerola H et al. A CHEK2 genetic variant contributing to a substantial fraction of familial breast cancer // *Am J Hum Genet.* 2002;71:432–438.
13. Kilpivaara O, Bartkova J, Eerola H et al. Correlation of CHEK2 protein expression and c.1100delC mutation status with tumor characteristics among unselected breast cancer patients // *Int J Cancer.* 2005;113:575–580.
14. Fletcher O, Johnson N, Dos Santos Silva I et al. Family history, genetic testing, and clinical risk prediction: pooled analysis of CHEK2 1100delC in 1,828 bilateral breast cancers and 7,030 controls // *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2009;18:230–234.
15. Schmidt MK, Tollenaar RA, de Kemp SR et al. Breast cancer survival and tumor characteristics in premenopausal women carrying the CHEK2*1100delC germline mutation // *J Clin Oncol.* 2007;25:64–69.
16. Weischer M, Nordestgaard BG, Pharoah P et al. CHEK2*1100delC heterozygosity in women with breast cancer associated with early death, breast cancer-specific death, and increased risk of a second breast cancer // *J Clin Oncol.* 2012;30:4308–4316.
17. Zhang S, Phelan CM, Zhang P et al. Frequency of the CHEK2 1100delC mutation among women with breast cancer: an international study // *Cancer Res.* 2008;68:2154–2157.
18. de Bock GH, Schutte M, Krol-Warmerdam EM et al. Tumour characteristics and prognosis of breast cancer patients carrying the germline CHEK2*1100delC variant // *J Med Genet.* 2004;41:731–735.
19. Maxwell KN, Wubbenhorst B, Wenz BM et al. BRCA locus-specific loss of heterozygosity in germline BRCA1 and BRCA2 carriers. *Nat Commun.* 2017;8:319. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-00388-9>

20. Neuhausen SL, Marshall CJ. Loss of heterozygosity in familial tumors from three BRCA1-linked kindreds // *Cancer Res.* 1994;54:6069–6072.
21. Imyanitov EN, Byrski T. Systemic treatment for hereditary cancers: a 2012 update // *Hered Cancer Clin Pract.* 2013;11:2.
22. Sodha N, Bullock S, Taylor R et al. CHEK2 variants in susceptibility to breast cancer and evidence of retention of the wild type allele in tumours // *Br J Cancer.* 2002;87:1445–1448.
23. Oldenburg RA, Kroeze-Jansema K, Kraan J et al. The CHEK2*1100delC variant acts as a breast cancer risk modifier in non-BRCA1/BRCA2 multiple-case families // *Cancer Res.* 2003;63:8153–8157.
24. Jekimovs CR, Chen X, Arnold J et al. Low frequency of CHEK2 1100delC allele in Australian multiple-case breast cancer families: functional analysis in heterozygous individuals // *Br J Cancer.* 2005;92:784–790.
25. Muranen TA, Greco D, Fagerholm R et al. Breast tumors from CHEK2 1100delC-mutation carriers: genomic landscape and clinical implications // *Breast Cancer Res.* 2011;13:R90.
26. Suspitsin EN, Yanus GA, Sokolenko AP et al. Development of breast tumors in CHEK2, NBN/NBS1 and BLM mutation carriers does not commonly involve somatic inactivation of the wild-type allele // *Med Oncol.* 2014;31:828.
27. Mandelker D, Kumar R, Pei X et al. The Landscape of Somatic Genetic Alterations in Breast Cancers from CHEK2 Germline Mutation Carriers // *JNCI Cancer Spectr.* 2019;3:pkz027. <https://doi:10.1093/jncics/pkz027>
28. Sodha N, Williams R, Mangion J et al. Screening hCHK2 for mutations // *Science.* 2000;289:359.
29. Sokolenko AP, Preobrazhenskaya EV, Aleksakhina SN et al. Candidate gene analysis of BRCA1/2 mutation-negative high-risk Russian breast cancer patients // *Cancer Lett.* 2015;359:259–261.
30. Castells A, Gusella JF, Ramesh V, Rustgi AK. A region of deletion on chromosome 22q13 is common to human breast and colorectal cancers // *Cancer Res.* 2000;60:2836–2839.
31. Williams LH, Choong D, Johnson SA, Campbell IG. Genetic and epigenetic analysis of CHEK2 in sporadic breast, colon, and ovarian cancers // *Clin Cancer Res.* 2006;12:6967–6972.
32. Massink MP, Kooi IE, Martens JW et al. Genomic profiling of CHEK2*1100delC-mutated breast carcinomas // *BMC Cancer.* 2015;15:877.
33. Dong X, Wang L, Taniguchi K et al. Mutations in CHEK2 associated with prostate cancer risk // *Am J Hum Genet.* 2003;72:270–280.
34. Zannini L, Delia D, Buscemi G. CHK2 kinase in the DNA damage response and beyond // *J Mol Cell Biol.* 2014;6:442–457.
35. Lord CJ, Ashworth A. BRCAness revisited // *Nat Rev Cancer.* 2016;16:110–120.

S.N. Aleksakhina¹, A.G. Iyevleva¹, A.P. Sokolenko¹, S.V. Baskina¹, A.R. Venina¹, E.I. Anisimova², N.A. Akhmedov³, A.O. Ivantsov¹, Y.V. Belisheva¹, A.P. Cherniakova¹, E.N. Imyanitov^{1,4,5}

Loss of heterozygosity in CHEK2-associated breast cancer

- ¹ NMRC of Oncology named after N.N. Petrov of MoH of Russia, St Petersburg
- ² Mariinskaya City Hospital, St Petersburg
- ³ Dagestan State University, Makhachkala, Dagestan Republic, Russian Federation
- ⁴ Saint-Petersburg State Pediatric Medical University, St Petersburg
- ⁵ I.I. Mechnikov North-Western State Medical University, St Petersburg

Background. CHEK2-associated neoplasms account for a significant proportion of hereditary breast cancer (BC) in Russia. The phenomenon of somatic deletion of the normal allele of a gene affected by a hereditary mutation, or loss of heterozygosity (LOH), is a frequent mechanism of complete inactivation of the corresponding protein, which is realized during the development of hereditary breast carcinomas. The contribution of the LOH phenomenon to the pathogenesis of CHEK2-dependent tumors is poorly understood, and almost all available data concern only one type of mutations — *CHEK2 1100delC*.

The aim of the study was to characterize the frequency of LOH in breast tumor tissues from carriers of the three types of *CHEK2* alterations: *CHEK2 1000delC*, *CHEK2 IVS2+1G>A*, and *CHEK2 del5395*.

Materials and methods. LOH analysis was performed in a group of 50 breast cancer cases from women carrying *CHEK2 1000delC* (n=19), *CHEK2 IVS2+1G>A* (n=12), and *CHEK2 del5395* (n=19) mutations. Detection of LOH was carried out using a combination of methods that directly analyze the mutation locus (allele-specific PCR, Sanger sequencing, digital droplet PCR), and assess the status of single nucleotide polymorphisms surrounding the *CHEK2* gene (digital droplet PCR).

Results. The frequency of the LOH phenomenon in the studied cohort reached 27/50 (54%). Loss of heterozygosity was observed in 10/19 (52.6%) *CHEK2 1000delC*-associated, 6/12 (50%) *CHEK2 IVS2+1G>A*-associated, and 11/19 (57.9%) *CHEK2 del5395*-associated tumors. In one carcinoma from a carrier of the *CHEK2 IVS2+1G>A* alteration, the loss of mutated allele was confirmed. The main clinical and pathological characteristics were compared between tumors with loss and retention of heterozygosity. This comparison did not reveal any significant differences.

Conclusion. Loss of heterozygosity is observed in about half of breast carcinomas arising in *CHEK2* mutation carriers; the frequency of this phenomenon does not differ between three types of *CHEK2* genetic defects.

Key words: breast cancer; hereditary mutation; *CHEK2*; loss of heterozygosity

Поступила в редакцию 16.03.2021 г.

*А.С. Мартьянов^{1,2}, Ф.В. Моисеенко³, А.С. Жабина³, Т.Н. Соколова^{1,4}, С.А. Белухин³,
Т.А. Лайдус^{1,2}, М.М. Холматов^{1,2}, В.И. Тюрин^{1,2}, Н.М. Волков³, Е.Ш. Кулигина^{1,2}, Г.А. Янус^{1,2}*

Изменения концентрации циркулирующей в плазме опухолевой ДНК в первые часы таргетной терапии позволяют прогнозировать ответ опухоли у пациентов с EGFR-зависимым раком легкого

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

² ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России

³ ГБУЗ «Санкт-Петербургский клинический научно-практический центр специализированных видов медицинской помощи (онкологический)

Развитие современных высокочувствительных методов детекции мутаций позволило «жидкостной» биопсии стать полноценной альтернативой стандартной «тканевой» биопсии и войти в клиническую практику для неинвазивного анализа злокачественных новообразований. Чрезвычайно значимым приложением «жидкостной» биопсии стал мониторинг течения заболевания в ходе терапии. Целью данного исследования являлся анализ изменений циркулирующей в плазме свободной ДНК (цДНК), происходящих в первые часы после начала терапии ингибиторами тирозинкиназы EGFR (EGFR-TKI). В исследование было включено 30 больных немелкоклеточным раком легкого (НМРЛ), связанным с мутациями в гене EGFR. От каждого пациента получали серийные образцы плазмы: непосредственно перед приемом первой таблетки и через 0,5, 1, 2, 3, 6, 12, 24, 36 и 48 ч после начала терапии. Концентрацию мутантных аллелей EGFR в плазме измеряли с помощью цифровой-капельной ДНК (ddPCR). Копии цДНК, содержащие EGFR мутации, были обнаружены в стартовой точке у 25 из 30 (83%) участников исследования. Применение таргетного препарата ингибитора EGFR приводило к немедленным колебаниям концентрации циркулирующих фрагментов, причем обнаруженные «паттерны» динамики можно было условно отнести к трем категориям: а) постепенное снижение уровня цДНК; б) продолжающееся увеличение количества мутантных копий EGFR; в) чередующиеся всплески и падения концентрации цДНК. В качестве единого контрольного пункта для измерения динамики цДНК была выбрана точка «48 часов» после начала приема препарата. Двенадцать (50%) из 24 информативных пациентов показали снижение содержания цДНК

за этот период более чем на 25%; у всех этих пациентов рентгенологические исследования подтвердили стабилизацию (SD) или частичный регресс (PR) опухолевого процесса («контроль заболевания») в течение 8–12 следующих недель. У остальных 12 человек уровень EGFR-мутантной цДНК либо возрос (n=7), либо остался неизменным (n=5). 10 из 12 пациентов с повышенным или стабильным уровнем цДНК достигли объективного ответа опухоли через 4 нед, но только 5 из них по-прежнему демонстрировали «контроль заболевания» через 8–12 нед (p=0,014 по сравнению с группой со снижением цДНК). Падение количества циркулирующих мутантных копий EGFR также коррелировало с более длительной выживаемостью без прогрессирования (ВБП; 14,7 мес против 8,5 мес, p=0,013). Полученные данные свидетельствуют о том, что мониторинг концентрации ДНК с EGFR-мутацией в плазме в течение первых часов терапии TKI может использоваться в качестве непосредственного (предиктора) ответа опухоли на лечение.

Ключевые слова: НМРЛ; EGFR; циркулирующая опухолевая ДНК; терапия TKI; опухолевый ответ

Введение

Периферическая кровь, полученная от онкологического больного, как правило, содержит свободно циркулирующие злокачественные клетки, а также их фрагменты — тканеспецифичные белки и нуклеиновые кислоты. Анализ циркулирующей опухолевой ДНК (цДНК) является чрезвычайно перспективным направлением, поскольку она содержит в точности те же генетические и эпигенетические альтерации, что и «материнская» опухоль. Ключевое ограниче-

ние «жидкостной биопсии» — это малая концентрация опухолевой ДНК в пуле растворенных в плазме разнообразных «нормальных» нуклеиновых кислот. Современные аналитические методы способны преодолеть эти трудности и детектировать даже единичные мутантные молекулы на фоне избытка фрагментов неопухолевого происхождения (Bettegowda и соавт., 2014; Gobbinì и соавт., 2020). Энергичные усилия направлены на адаптацию “жидкостной биопсии” для ранней диагностики и мониторинга опухолевых заболеваний (Akhoundova и соавт., 2020; Charo и соавт., 2021). Полагают, что концентрация цоДНК в плазме пропорциональна общей массе опухоли (Abbosh и соавт., 2017; Strijker и соавт., 2020), таким образом, вполне закономерен тот факт, что цоДНК относительно легко обнаруживается у пациентов с распространенным опухолевым заболеванием, а уменьшение опухолевой массы в результате терапевтического воздействия, как правило, приводит к падению уровня цоДНК в периферической крови (Anagnostou и соавт., 2019; Ebert и соавт., 2020).

Уменьшение размера опухоли под действием терапии объясняется несколькими биологическими эффектами. Классическая химиотерапия и таргетные препараты обладают цитостатическим действием, то есть предотвращают пролиферацию неопластических клеток (Serkova и Eckhardt, 2016). Кроме того, данные категории препаратов вызывают регресс опухоли за счет активации запрограммированной клеточной гибели (апоптоза или аутофагии) (Jiang и соавт., 2020). Терапевтический эффект, который часто достигается после нескольких недель или месяцев системной терапии, почти всегда сопровождается снижением концентрации циркулирующих маркеров, будь то опухолеспецифические белки или цоДНК (Reese и соавт., 2019; Fukuhara и соавт., 2020). Что же касается событий, происходящих в неопластических очагах в первые часы после получения противоопухолевого препарата, то они до сих пор остаются практически недоступными для изучения. В этой связи весьма перспективной представляется идея использования преимуществ «жидкостной биопсии» (в частности, анализ концентрации фрагментов ДНК с опухолевой мутацией в плазме), для неинвазивного раннего мониторинга краткосрочных эффектов EGFR-ТКИ. В качестве модели для такого эксперимента мы выбрали EGFR-зависимый немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ).

Ингибиторы тирозинкиназы EGFR (EGFR-ТКИ; gefitinib, erlotinib, afatinib, osimertinib и др.) высокоэффективны при НМРЛ, несущем активирующую мутацию в экзонах 19 или 21 гена *EGFR* (Sequist и соавт., 2013). Применение EGFR-ТКИ в этих случаях почти всегда

сопровождается объективным ответом опухоли или стабилизацией заболевания. Существуют примеры немедленного облегчения симптомов в течение первых же часов после введения препарата — так называемый «эффект Лазаря» (Conci и соавт., 2020). Эти факты говорят о практически мгновенном запуске соответствующих сигнальных каскадов и противоопухолевых процессов. Краткосрочные последствия EGFR-ТКИ на уровне цоДНК до сих пор не анализировались. Задачей данного исследования было изучить, каким образом введение EGFR-ТКИ влияет на концентрацию цоДНК в плазме в течение первых часов после приема препарата, и имеют ли эти изменения значение при прогнозе долгосрочных эффектов таргетной терапии.

Материалы и методы

В исследование приглашали пациентов с локализованным или метастатическим EGFR-позитивным НМРЛ, проходивших лечение в Санкт-Петербургском городском онкологическом центре в период с августа 2018 г. по март 2020 г., ранее не получавших таргетной терапии. Тестирование мутации *EGFR* в опухолевой ткани проводилось, как описано Moiseyenko и соавт. (2010). Все пациенты дали информированное согласие на участие в эксперименте. Исследование было одобрено местным этическим комитетом.

Характеристики 30 пациентов, включенных в работу, представлены в табл. 1. От каждого больного получали 10 серийных образцов плазмы: перед приемом первой таблетки («нулевая точка») и через 0,5, 1, 2, 3, 6, 12, 24, 36 и 48 ч после начала терапии (рисунок 1). Кроме того, всем пациентам было предложено сдать кровь на 14-й и 28-й день лечения. EGFR-ТКИ назначали в обычных суточных дозах (gefitinib: 250 мг; erlotinib: 150 мг; afatinib: 40 мг; osimertinib: 80 мг). Оценка раннего ответа проводилась с помощью компьютерной томографии (КТ) на 4-й неделе, а затем в течение 8–12 нед после начала терапии. Объем опухоли рассчитывали с помощью RadiAnt DICOM Viewer V.4.5.9.18463.

Анализ цоДНК. Образцы крови (10 мл) собирали в пробирки cf-DNA/cf-RNA Preservative Tubes (Norgen), и отделяли плазму от остальной части образца с помощью двухэтапного центрифугирования (400 g в течение 10 мин при комнатной температуре с последующим 14400 g в течение 10 мин при 4 °C). Внеклеточную (cell-free) ДНК экстрагировали с помощью набора QIAamp Circulating Nucleic Acid kit из 3–5 мл плазмы в соответствии с инструкциями производителя и растворяли в 50 мкл стерильной воды.

Содержание фрагментов ДНК с мутацией EGFR (делеции 19 экзона или замены L858R) измеряли с помощью цифровой капельной ПЦР (ddPCR) с использованием системы QX100 Bio-Rad. Реакции ddPCR проводили в трех повторах для каждого образца. Реакционная смесь включала 2X ddPCR Supermix for Probes (no UTP, Bio-Rad), мутант-специфические олигонуклеотиды и 2–3 мкл матричной ДНК в общем объеме реакции 22–23 мкл. Анализ данных проводился с помощью программного обеспечения QuantaSoft версии 1.7.4 в соответствии с рекомендациями производителя. Все реакции ddPCR, в результате которых было получено 10 или более капель с таргетной молекулой ДНК, считались информативными. Абсолютное количество “мутантных” копий ДНК опухолевого происхождения в 1 мл плазмы (Cmut) рассчитывали по формуле:

Таблица 1. Пациенты с НМРЛ, вызванным мутациями в гене EGFR, включенные в исследование

		N	%
Пол	Ж	26	87%
	М	4	13%
Средний возраст (min — max)		68,4 (52–81)	
Мутация EGFR	ex19del	20	67%
	L858R	10	33%
Метастазы в легких		16	53%
Метастазы в печени		3	10%
Вовлечение плевры		6	20%
Метастазы в надпочечниках		2	7%
Метастазы в костях		10	33%
Метастазы в лимфоузлах		6	20%
Метастазы в мозг в стартовой точке		7	25%
Среднее число метастатических очагов (min-max)		1,7 (1–4)	
ECOG	0	1	3%
	1	25	83%
	2	2	7%
	3	2	7%
	4	0	0
Средний суммарный объем поражения (мм ³)		60 841 (23 — 490 590)	
Средний объем наибольшего поражения (мм ³)		54 833 (14 — 490 509)	
Лекарственное средство	Гефитиниб	20	67%
	Эрлотиниб	5	17%
	Афатиниб	3	10%
	Осимертиниб	2	7%

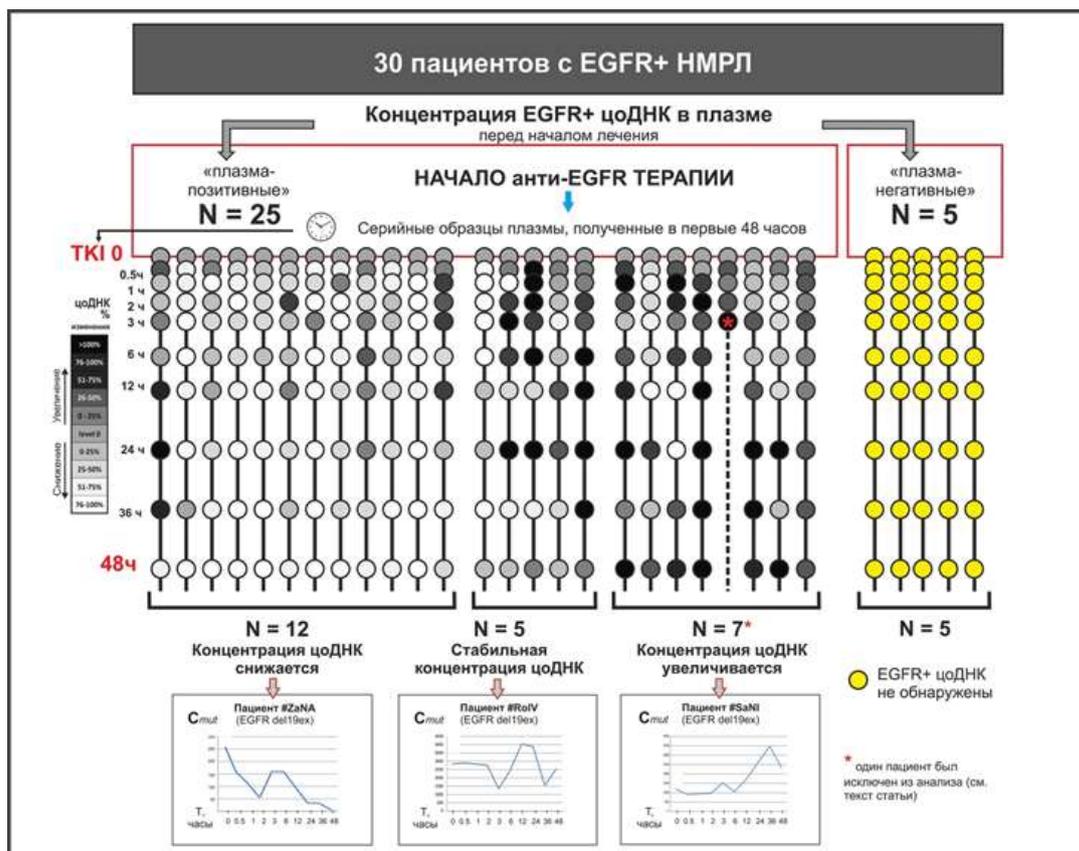


Рис. 1. Схема исследования

$N \text{ mut copies}/1\text{mL plasma}$

$$= \frac{\text{Concentration} \left(\frac{\text{copies}}{\mu\text{L}} \text{-cfDNA} \right) \times V_{\text{template}} \times V_{\text{dilution}}}{V_{\text{plasma}}}$$

где: concentration — число «мутантных» капель на 1 мкл ddPCR реакции; V_{template} — объем образца (аликвоты) цоДНК, взятой в ddPCR, мкл; V_{dilution} — общий объем образца цоДНК, полученной из плазмы, мкл; V_{plasma} — объем плазмы, из которого получили цоДНК, мл.

Статистическая обработка. Количественные данные были представлены в виде медианных значений/размаха или средних значений с доверительным интервалом $\pm 95\%$ (1.960σх). Для сравнения медиан использовались непараметрический критерий знаковых рангов Вилкоксона и U-критерий Манна-Уитни. Значение $p < 0,05$ считалось статистически значимым. Все расчеты проводились с использованием программного пакета IBM SPSS v.23.

Результаты

Включенным в исследование пациентам провели КТ-исследование после 4 нед применения ингибиторов тирозиназы (ТКИ). В 25 случаях задокументирован частичный ответ опухоли (PR), у 3 пациентов достигнута стабилизация опухолевого процесса (SD) и двое прогрессировали (PD) на фоне лечения (табл. 2). 29 пациентов продолжили терапию ТКИ (28 случаев с «контролем заболевания» (SD+PR) и 1 случай с PD). 25 пациентам повторно было произведено КТ обследование через 8–12 нед после начала лечения; 5 человек выбыли по следующим причинам: 3 пациентов перенесли циторедуктивную операцию, 1 больной отказался от обследования из-за мер предосторожности против COVID-19, и 1 пациент умер на 6-й неделе лечения после внезапного ухудшения состояния.

Все включенные в исследование пациенты были подвергнуты анализу цоДНК в «нулевой точке», перед началом приема препарата. EGFR-мутантная (EGFR+) ДНК была обнаружена в плазме у 25/30 (83%) субъектов (см. табл. 2, рис. 1). «Плазма-негативными» считали те образцы, в которых количество мутантных копий, циркулирующих в 1 мл плазмы, не превышало 5. Как и ожидалось, общий объем опухолевых поражений был явно выше у пациентов с достоверным уровнем EGFR+цоДНК в плазме (здесь и далее — «плазма-позитивных») по сравнению с «плазма-негативными» пациентами, однако эти различия не достигли статистической значимости (29463 мм³ vs. 9963 мм³, $p=0,552$). Вероятность обнаружения EGFR+цоДНК в «нулевой точке» не коррелировала с возрастом или полом пациента, количеством метастатических зон или типом мутации EGFR (см. табл. 2). Первая КТ-оценка ответа опухоли на 4-й неделе после начала терапии зафиксировала тенденцию к более выраженному уменьшению объема опухоли в группе «плазма-позитивных» пациентов по сравнению с «плазма-негативными» (–61% vs.

–18,5%, $p=0,208$). Эта тенденция не сохранилась после 8–12 нед лечения (см. табл. 2). Пациенты с изначально детектируемой в плазме мутацией EGFR имели более короткий показатель выживаемости без прогрессии (ВБП), чем «плазма-негативные» больные [11,4 мес vs. 21,0 мес, $p=0,238$].

Ни у одного из 5 пациентов, «плазма-негативных» на старте, циркулирующая мутация так и не появилась на фоне анти-EGFR терапии. Остальные 25 субъектов продемонстрировали разнонаправленные изменения в количестве цоДНК (см. табл. 2, 3, рис. 1). У одного из этих субъектов, пациента #ПрОД, в 1-й день лечения случился перелом бедренной кости на месте метастатического поражения; травма вызвала резкое увеличение концентрации EGFR+ ДНК в плазме; этот пациент был сочтен неинформативным для дальнейшего анализа. В остальных случаях анализ изменений концентраций цоДНК, происходящих в течение первых 48 ч лечения, выявил несколько типов динамических паттернов (см. табл. 2, 3). Некоторые пациенты демонстрировали более или менее плавное снижение содержания цоДНК в течение первых двух дней терапии (#ДаАА, #ЗаНА, #ИгВС). У других (#ОгЛФ, #ЗаНИ) наблюдалась тенденция к постепенному увеличению количества циркулирующих EGFR-мутантных копий. В одном случае был зафиксирован относительно стабильный уровень цоДНК в течение всего периода наблюдения (#РоИВ). У большинства пациентов наблюдались менее последовательные вариации в содержании цоДНК, представленные рядом скачков и падений (#СуГИ, #ВаОГ, #СеЕК, #БеСН и т. д.). Очевидно, что не все исследованные нами временные точки в период от 0 до 48 ч являлись одинаково информативным для оценки общего вектора динамики цоДНК. Мы определили, что колебания уровня цоДНК, зафиксированные на 48-м часу от начала терапии, наилучшим образом коррелируют с клинико-патологическими параметрами, в частности с ВБП. Разница в 25% между исходным и конечным измерением расценивалась нами как достоверное снижение или увеличение уровня цоДНК.

Двенадцать (50%) из 24 информативных пациентов показали снижение концентрации цоДНК в плазме более чем на 25% (среднее снижение: –85%; диапазон: от –100% до –49%) через 48 ч после начала лечения. У всех этих пациентов документирована стабилизация или регресс заболевания по данным контрольных КТ через 4 и 8–12 нед терапии (см. табл. 2, 3). Примечательно, что у одного из двух пациентов, перенесших операцию в период наблюдения, отмечен полный патологический (положительный) ответ опухоли.

Таблица 2. Клинико-патологические характеристики больных НМРЛ в зависимости от изменения уровня EGFR+цодНК на фоне анти-EGFR терапии

	«Плазма-позитивные» (в стартовой точке)*	«Плазма-негативные» (в стартовой точке)*	P value позитивные vs. негативные	Группы пациентов с разными паттернами динамики EGFR+цодНК в плазме				
				«↓» (n=12)	«↑/=» (n=12)**	P-value «↓» vs. «↑/=»	«↑» (n=7)	«=» (n=5)
ctDNA, Cmut *** Base-line: Медиана [min — max]	161 [16 to 4351]	0 [0]	–	299 [7 to 2071]	117 [6 to 4093]	NS (Mann-Whitney U test)	114 [27 — 4093]	127 [6 — 2841]
цодНК, **** Процент изменения (%) Cmut (0h) to Cmut (48h) Медиана [min — max]	–45 [–100 to 254,5]	–	–	–85 [–100,0 to –48,7]	37 [–21,4 to 276,3]	–	95 [35,6 — 276,3]	–11 [–21,4 to 16,7]
Пол								
Мужчины	3 (12%)	1 (20%)	NS (Fisher exact test)	2	1	NS (Fisher exact test)	1	0
Женщины	22 (88%)	4 (80%)		10	11		6	5
Возраст, лет Медиана [min — max]	70 [52 to 82]	67 [59 to 81]	NS (Mann-Whitney U test)	70 [63 to 79]	69,5 [52 to 82]	NS (Mann-Whitney U test)	70 [52 to 82]	66 [61 — 70]
Отдаленные Mts (M)								
M1	20 (80%)	4 (75%)	NS (Fisher exact test)	11	8	0,312 (Fisher exact test)	4	4
M0	5 (20%)	1 (25%)		1	4		3	1
Число метастатических очагов Медиана [min — max]	2 [0 to 4]	1 [0 to 4]	NS (Fisher exact test)	1 [1 to 3]	2 [0 to 4]	NS (Fisher exact test)	2 [0 to 4]	2,5 [0 to 3]
EGFR мутация								
ex19del	16 (64%)	4 (80%)	NS (Fisher exact test)	7	8	NS (Fisher exact test)	5	3
L858R	9 (36%)	1 (20%)		5	4		2	2
EGFR-TKI								
Gefitinib	16 (64%)	4 (80%)	N (Chi-Square test)	8	7	0,254 (Chi-Square test)	6	1
Erlotinib	4 (16%)	1 (20%)		3	1		0	1
Afatinib	3 (12%)	0		0	3		1	2
Osimertinib	2 (8%)	0		1	1		0	1
Base-line: Суммарный объем опухоли, V (мм ³). Медиана [min — max]	29463 [23 to 490590]	9963 [37 to 175455]	0,552 (Mann-Whitney U test)	34527,5 [23 to 159943]	23575 [37 to 490590]	NS (Mann-Whitney U test)	24360 [166 to 111270]	4875 [37 — 490590]
4-я неделя: 1-й RECIST ответ								
Всего, n	25 (100%)	5 (100%)		12 (100%)	12 (100%)		7 (100%)	5 (100%)
CR	0	0	0,045 (Fisher exact test)	0	0	NS (Fisher exact test)	0	0
PR	22 (88%)	3 (63%)		11 (92%)	10 (83%)		7 (100%)	3 (60%)
SD	1 (4%)	2 (25%)		1 (8%)	0		0	0
PD	2 (8%)	0		0	2 (17%)		0	2 (40%)
DCR (CR+PR+SD), n (%)	23 (92%)	5 (100%)	NS (Fisher exact test)	12 (100%)	10 (83%)	NS (Fisher exact test)	7 (100%)	3 (60%)
4-я неделя: Изменения объема опухоли (%) **** Медиана [min — max]	–61,1 [–95,0 to 27,3]	–18,5 [–97,5 to 0,89]	0,214 (Mann-Whitney U test)	–62,1 [–86,9 to 8,4]	–65,7 [–95,0 to 0,02]	NS (Mann-Whitney U test)	–61,1 [–95,0 to –43,9]	–81,4 [–91,4 to 27,30]

	«Плазма-позитивные» (в стартовой точке)*	«Плазма-негативные» (в стартовой точке)*		Группы пациентов с разными паттернами динамики EGFR+цДНК в плазме				
8–12-я неделя: 2-й RECIST ответ								
Не доступны*****	4	1		2	2		0	2
Total, n	21 (100%)	4 (100%)		10 (100%)	10 (100%)		7 (100%)	3 (100%)
CR	0	0	0,173 (Fisher exact test)	0	0	0,017 (Fisher exact test)	0	0
PR	14 (67%)	2 (50%)		8 (80%)	5 (50%)		3 (43%)	2 (67%)
SD	2 (10%)	2 (50%)		2 (20%)	0		0	0
PD	5 (24%)	0		0	5 (50%)		4 (57%)	1 (33%)
DCR (CR+PR+SD), n (%)	16 (76%)	4 (100%)	NS (Fisher exact test)	10 (100%)	5 (50%)	0,032 (Fisher exact test)	3 (43%)	2 (67%)
8–12-я неделя: Изменения объема опухоли (%) **** Медиана [min — max]	0,0 [–99,4 to 2661,1]	–2,64 [–42,8 to 19,0]	NS (Mann–Whitney U test)	0 [–70,6 to 108,8]	–6,7 [–99,4 to 2622,1]	NS (Mann–Whitney U test)	41,0 [–75,4 to 2660,1]	–6,7 [–99,4 to 153,2]
Продолжение снижение опухолевого объема (с 4-й по 8-ю неделю EGFR-TKI терапии)								
Да	8 (38%)	2 (50%)	NS (Fisher exact test)	4	4	Ns (Fisher exact test)	3	1
Нет	13 (62%)	2 (50%)		6	6		4	2
ВБП, мес, [95% CI] Kaplan–Meier method	11,37 [11,24–11,70]	21,03 [na]	0,238 (Breslow test)	14,7 [10,33–15,81]	8,5 [6,27–8,07]	0,013 (Breslow test)	9,2 [5,57–12,87]	6,1 [4,07–8,19]
Прогрессия *****								
Да	18 (72%)	2 (40%)	0,300 (Fisher exact test)	8 (67%)	9 (75%)	Ns (Fisher exact test)	6 (86%)	3 (60%)
Нет	7 (28%)	3 (60%)		4 (33%)	3 (25%)		1 (14%)	2 (40%)

Примечание. NS — недостоверные различия (P value >>0,05); ВБП — время без прогрессирования; RECIST: CR — полный ответ, PR — частичный ответ, SD — стабилизация, PD — прогрессирование, DCR — «контроль заболевания», disease control rate (CR+PR+SD).

* «Плазма-позитивными» считали пациентов, у которых количество мутантных копий, циркулирующих в 1 мл плазмы, было более 5; ** пациент #PrOD исключен из анализа динамики цДНК из-за травмы (см. текст); *** *Stut* — число мутантных копий EGFR на 1 мл плазмы; **** процент изменения (Percentage change)=(New Value — Initial Value)/(Initial Value) × 100%; ***** 5 пациентов не прошли второго КТ-исследования на 8–12-й неделе терапии (см. текст); ***** статус на 20 июля, 2020.

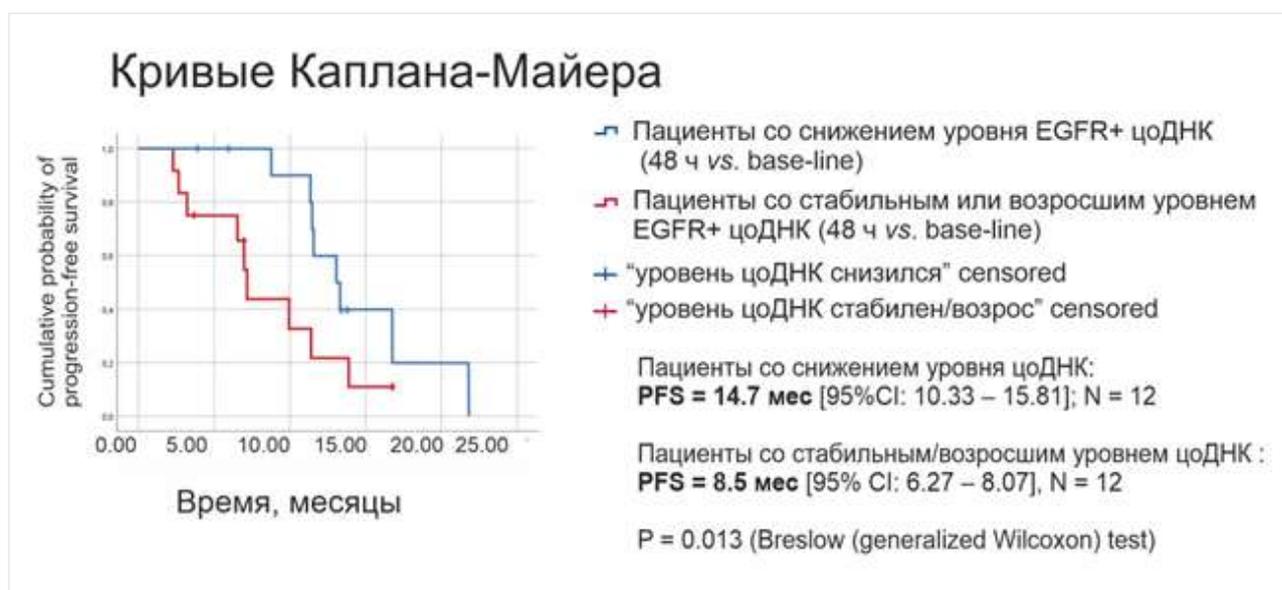


Рис. 2. Анализ параметра ВБП в группах пациентов с разной динамикой EGFR+цДНК в первые часы анти-EGFR терапии

Таблица 3. Серийные измерения концентрации EGFR+цодНК в плазме крови больных НМРЛ на фоне первых часов анти-EGFR терапии

Код	EGFR	Концентрация EGFR+цодНК (Cmut*)												Изменения в цодНК (48ч vs. base-line**)	Ответ опухоли (4 нед)	Ответ опухоли (8–12 нед)	ВБП, мес
		0	30'	1 h	2 h	3 h	6 h	12 h	24 h	36h	48 h	2 wks	4 wks				
BaAG	<i>ex19del</i>	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	nd	nd	0	PR	PR	8,47
BaAU	<i>ex19del</i>	328	456	267	257	388	326	587	715	659	153	0	0	↓	PR	PR	11,47
BeSN	<i>L858R</i>	127	142	142	209	167	713	1273	636	360	129	8	nd	=	PD	na	2,30
VaOG	<i>L858R</i>	29	50	72	38	30	39	56	90	35	84	40	67	↑	PR	PD	2,67
GeRD	<i>ex19del</i>	114	67	52	80	53	65	0	193	100	157	0	0	↑	PR	PD	3,23
GuLB	<i>ex19del</i>	13	6	4	3	0	3	6	0	13	0	0	0	↓	PR	PR	21,80
DaAA	<i>L858R</i>	48	58	24	44	32	45	48	30	22	0	nd	nd	↓	PR	PR	13,77
ZaNA	<i>ex19del</i>	270	159	112	55	159	159	96	33	32	5	nd	nd	↓	PR	PR	11,37
ZaIV	<i>L858R</i>	14	0	0	0	0	0	11	11	0	11	nd	nd	=	PD	PD	7,00
IgVS	<i>ex19del</i>	1180	929	677	736	880	982	445	309	167	291	0	0	↓	PR	PR	13,07
IIGM	<i>ex19del</i>	479	392	305	785	437	395	498	266	435	199	0	0	↓	PR	na (pCR, MPR 4)***	13,37
KoVA	<i>ex19del</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	SD	SD	3,23
LeLM	<i>L858R</i>	42	61	135	81	46	66	0	0	53	82	3	0	↑	PR	PD	11,43
LeNN	<i>ex19del</i>	1278	1340	593	2222	3168	2042	728	6798	400	1004	nd	nd	=	PR	PR	7,17
LyLK	<i>L858R</i>	7	0	4	0	8	0	0	0	0	0	0	nd	↓	PR	SD	8,77
MiAI	<i>ex19del</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	PR	na	21,03
MiND	<i>ex19del</i>	49	23	51	10	0	15	31	28	29	0	nd	nd	↓	PR	na (pPR, MPR 2)***	11,53
MuNP	<i>ex19del</i>	6	19	26	18	9	23	3	21	2	7	0	0	=	PR	na	3,70
NiGA	<i>L858R</i>	1584	1619	1100	924	1734	2033	1698	1910	859	730	nd	nd	↓	PR	PR	13,30
NoIE	<i>L858R</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	nd	nd	0	PR	PR	15,77
OgLF	<i>ex19del</i>	4093	4093	6367	8318	5751	6352	15404	13408	29340	15404	nd	nd	↑	PR	PR	9,97
PrOD	<i>ex19del</i>	4351	6077	5023	5559	9949	18883	12576	11099	12115	18403	nd	nd	Исклю- чен****	PR	PR	13,97
RoIV	<i>ex19del</i>	2841	2891	2828	2766	1340	2451	4035	3872	1545	2523	nd	nd	=	PR	PR	6,97
SaNI	<i>ex19del</i>	119	90	94	96	153	105	171	261	347	232	21	21	↑	PR	PR	13,90
SeEK	<i>ex19del</i>	27	24	26	13	19	23	15	67	21	78	0	0	↑	PR	PD	6,53
SmEI	<i>ex19del</i>	161	65	80	132	138	129	96	104	9	60	nd	nd	↓	SD	SD	3,9
TiNY	<i>L858R</i>	845	787	48	32	15	239	394	150	46	47	nd	nd	↓	PR	PR	16,76
FiZE	<i>ex19del</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	nd	nd	0	SD	SD	9,40
CeIH	<i>ex19del</i>	3623	4819	4715	4094	4612	4129	4025	4911	4727	4911	3105	nd	↑	PR	PR	16,77
SuGI	<i>L858R</i>	2071	2074	3168	3014	3212	1141	3590	1672	781	1063	nd	nd	↓	PR	PR	5,97

Примечание. nd — нет данных; na — пациент не прошел КТ-обследование; BeSN — умер на 6-й неделе, IIGM, MiAI, MiND — перенесли циторедуктивную операцию в период между 4-й и 8–12-й неделями терапии, MuNP — не прошел КТ-обследование из-за эпидемиологической обстановки.

* Cmut — число мутантных копий EGFR на 1 мл плазмы (по данным ddPCR); ** изменения в концентрации EGFR+цодНК в точке «48 часов» по сравнению с «нулевой точкой» (base-line): «↓» — Cmut % change ≤ -25%; «↑» — Cmut % change >25%; «=» — Cmut % change ~ 0±25%; «0» — изначально «плазма-негативные» случаи; *** циторедуктивная операция / MPR — Major Pathological Response; **** пациент #PrOD исключен из анализа динамики цодНК из-за травмы (см. текст).

У остальных 12 человек к окончанию вторых суток применения EGFR-ТКИ содержание *EGFR+цодНК* либо осталось неизменным ($n=5$), либо увеличилось ($n=7$) (см. табл. 2, 3). Среднее увеличение уровня цодНК в последней группе составило 95% (диапазон: от 36% до 276%). 10 из 12 пациентов с повышенным или стабильным уровнем цодНК достигли объективного ответа через 4 нед, но только 5 из 10 прошедших КТ-контроль пациентов по-прежнему демонстрировали «контроль заболевания» через 8–12 нед лечения ($p=0,014$ по сравнению с группой с уменьшением цодНК); у остальных больных к этому времени уже началось прогрессирование заболевания (PD); еще один пациент умер до момента второго обследования (см. табл. 2, 3).

Снижение концентрации мутантных фрагментов в плазме к 48 часу приема EGFR-ТКИ было ассоциировано со значительно более длительным ВВП (14,7 мес в группе со снижением цодНК vs. 8,5 мес в группе без снижения цодНК, $p=0,013$; см. табл. 2; рис. 2).

Обсуждение

EGFR-ТКИ характеризуются относительно быстрой абсорбцией, при этом пиковые концентрации в плазме достигаются в течение нескольких часов после приема таблетки (Nakamura и соавт., 2010). По данным экспериментов *in vitro* и *in vivo*, минимальные концентрации препарата, которые обладают достоверным противоопухолевым эффектом, значительно ниже, чем стандартные терапевтические дозы EGFR-ТКИ (Caussials и соавт., 2020). Следовательно, объяснимо, что некоторые пациенты испытывают явное облегчение симптомов в течение первых часов после начала лечения (Langer и соавт., 2009; Conci и соавт., 2020). Действительно, исследования ингибирования EGFR в клеточных линиях показали, что введение EGFR-ТКИ приводит к немедленным биологическим последствиям. Воздействие ТКИ вызывает снижение аутофосфорилирования рецептора EGFR с последующим подавлением ERK, AKT, STAT3 и других сигнальных белков; все эти события наблюдаются в течение 10–30 мин после добавления ТКИ в среду для культивирования клеток (Opo и соавт., 2004; Wu и соавт., 2013). Уменьшение массы опухоли после терапии EGFR-ТКИ, вероятно, связана как с прекращением пролиферации клеток, так и с индукцией апоптоза (Fung и соавт., 2012; Zhao и соавт., 2016). Некоторые данные показывают, что иммунные механизмы также могут способствовать уменьшению размеров опухоли (Ayeni и соавт., 2019). Использование магнитно-резо-

нансной томографии (МРТ) в экспериментах на животных выявило доказательства регрессии опухоли уже в течение 1–7 дней после введения ТКИ (Venugopalan и соавт., 2016; Jia и соавт., 2019). Следовательно, сам факт отмеченного нами немедленного изменения уровня EGFR-мутированной цодНК в плазме в ответ на поступление в опухоль препарата, согласуется с доклиническими наблюдениями.

Нам удалось обнаружить мутации *EGFR* в плазме у 25/30 (83%) пациентов в «нулевой» точке, что весьма близко к опубликованным данным (Normanno и соавт., 2017; Kim и соавт., 2020). Наши наблюдения также подтверждают выводы о том, что изначальное отсутствие *EGFR*-мутантных копий в плазме коррелирует с улучшением показателей безрецидивной выживаемости (Fukuhara и соавт., 2020; Molina-Vila и соавт., 2020). Так же как и другие исследователи (Riediger и соавт., 2016; Phallen и соавт., 2019), мы зафиксировали временное повышение уровня цодНК в течение первых часов лечения в некоторых, но не во всех случаях. Остается неизвестным, связаны ли эти изменения с массовым выделением опухолевых клеток в ответ на лекарство или другими причинами.

Настоящее исследование демонстрирует, что клинический ответ на ТКИ можно с определенной долей уверенности предсказать с помощью анализа немедленных изменений концентрации мутантной цодНК в плазме. Неясно, должны ли неблагоприятные результаты этого плазменного теста побудить клинициста к коррекции терапевтической схемы? В дальнейшем предстоит разобраться, какие именно дополнительные опции могут быть предложены пациентам с потенциально плохим ответом по данным «жидкостной биопсии». В этой связи представляют интерес исследования, подтверждающие перспективность комбинированного применения ингибиторов EGFR-ТКИ и антиангиогенных или цитотоксических препаратов (Yu и соавт., 2020).

Финансирование

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 18-75-10070

ЛИТЕРАТУРА

1. Abbosh C, Birkbak NJ, Wilson GA. et al. Phylogenetic ctDNA analysis depicts early-stage lung cancer evolution // *Nature*. 2017;545(7655):446–451.
2. Akhoundova D, Mosquera Martinez J, Musmann LE et al. The Role of the Liquid Biopsy in Decision-Making for Patients with Non-Small Cell Lung Cancer // *Journal of clinical medicine*. 2020;9(11):3674.
3. Anagnostou V, Forde PM, White JR et al. Dynamics of tumor and immune responses during immune checkpoint

- blockade in non-small cell lung cancer // *Cancer research*. 2019;79(6):1214–1225.
4. Ayeni D, Miller B, Kuhlmann A et al. Tumor regression mediated by oncogene withdrawal or erlotinib stimulates infiltration of inflammatory immune cells in EGFR mutant lung tumors // *Journal for immunotherapy of cancer*. 2019;7(1):1–15.
 5. Bettegowda C, Sausen M, Leary R et al. Detection of circulating tumor DNA in early-and late-stage human malignancies // *Science translational medicine*. 2014;6(224):224ra24–224ra24.
 6. Cayssials E, Torregrosa-Diaz J, Gallego-Hernanz P et al. Low-dose tyrosine kinase inhibitors before treatment discontinuation do not impair treatment-free remission in chronic myeloid leukemia patients: Results of a retrospective study // *Cancer*. 2020;126(15):3438–3447.
 7. Charo LM, Eskander RN, Okamura R et al. Clinical implications of plasma circulating tumor DNA in gynecologic cancer patients // *Molecular Oncology*. 2021;15(1):67–79.
 8. Conci N, Dall'Olio FG, Comellini V et al. «Lazarus effect» in patient affected by lung adenocarcinoma carrying EGFR, CTNNB1, MET exon 11 and PIK3CA mutations treated with gefitinib // *Precision Cancer Medicine*. 2020;3(23):1–5.
 9. Ebert EBF, McCulloch T, Hansen KH et al. Clearing of circulating tumour DNA predicts clinical response to first line tyrosine kinase inhibitors in advanced epidermal growth factor receptor mutated non-small cell lung cancer // *Lung Cancer*. 2020;141:37–43.
 10. Fukuhara T, Saito H, Furuya N et al. Evaluation of plasma EGFR mutation as an early predictor of response of erlotinib plus bevacizumab treatment in the NEJ026 study // *EBioMedicine*. 2020;57:102861.
 11. Fung C, Chen X, Grandis JR, Duvvuri U. EGFR tyrosine kinase inhibition induces autophagy in cancer cells // *Cancer biology & therapy*. 2012;13(14):1417–1424.
 12. Gobbi E, Swalduz A, Levra MG et al. Implementing ctDNA Analysis in the Clinic: Challenges and Opportunities in Non-Small Cell Lung Cancer // *Cancers*. 2020;12(11):3112.
 13. Yu HA, Schoenfeld AJ, Makhnin A et al. Effect of osimertinib and bevacizumab on progression-free survival for patients with metastatic EGFR-mutant lung cancers: a phase 1/2 single-group open-label trial // *JAMA oncology*. 2020;6(7):1048–1054.
 14. Jia Y, Li X, Jiang T et al. EGFR-targeted therapy alters the tumor microenvironment in EGFR-driven lung tumors: Implications for combination therapies // *International journal of cancer*. 2019;145(5):1432–1444.
 15. Jiang M, Gu DN, Dai JJ et al. Dark side of cytotoxic therapy: Chemoradiation-induced cell death and tumor repopulation // *Trends in cancer*. 2020;6(5):419–431.
 16. Kim JO, Shin JY, Kim SR et al. Evaluation of Two EGFR Mutation Tests on Tumor and Plasma from Patients with Non-Small Cell Lung Cancer // *Cancers*. 2020;12(4):785.
 17. Langer CJ. The «lazarus response» in treatment-naive, poor performance status patients with non-small-cell lung cancer and epidermal growth factor receptor mutation // *J Clin Oncol*. 2009;27(9):1350–1354.
 18. Moiseyenko VM, Procenko SA, Levchenko EV et al. High efficacy of first-line gefitinib in non-Asian patients with EGFR-mutated lung adenocarcinoma // *Oncology Research and Treatment*. 2010;33(5):231–238.
 19. Molina-Vila MA, Stahel RA, Dafni U et al. Evolution and clinical impact of EGFR mutations in circulating free DNA in the BELIEF trial // *Journal of Thoracic Oncology*. 2020;15(3):416–425.
 20. Nakamura Y, Sano K, Soda H et al. Pharmacokinetics of gefitinib predicts antitumor activity for advanced non-small cell lung cancer // *Journal of Thoracic Oncology*. 2010;5(9):1404–1409.
 21. Normanno N, Denis MG, Thress KS et al. Guide to detecting epidermal growth factor receptor (EGFR) mutations in ctDNA of patients with advanced non-small-cell lung cancer // *Oncotarget*. 2017;8(7):12501.
 22. Ono M, Hirata A, Kometani T et al. Sensitivity to gefitinib (Iressa, ZD1839) in non-small cell lung cancer cell lines correlates with dependence on the epidermal growth factor (EGF) receptor/extracellular signal-regulated kinase 1/2 and EGF receptor/Akt pathway for proliferation // *Molecular cancer therapeutics*. 2004;3(4):465–472.
 23. Phallen J, Leal A, Woodward BD et al. Early noninvasive detection of response to targeted therapy in non-small cell lung cancer // *Cancer research*. 2019;79(6):1204–1213.
 24. Reece M, Saluja H, Hollington P et al. The use of circulating tumor DNA to monitor and predict response to treatment in colorectal cancer // *Frontiers in genetics*. 2019;10:1118.
 25. Riediger AL, Dietz S, Schirmer U et al. Mutation analysis of circulating plasma DNA to determine response to EGFR tyrosine kinase inhibitor therapy of lung adenocarcinoma patients // *Scientific reports*. 2016;6(1):1–8.
 26. Sequist LV, Yang JC, Yamamoto N et al. Phase III study of afatinib or cisplatin plus pemetrexed in patients with metastatic lung adenocarcinoma with EGFR mutations // *Journal of clinical oncology*. 2013;31(27):3327–3334.
 27. Serkova NJ, Eckhardt SG. Metabolic imaging to assess treatment response to cytotoxic and cytostatic agents // *Frontiers in oncology*. 2016;6:152.
 28. Strijker M, Soer EC, de Pastena M et al. Circulating tumor DNA quantity is related to tumor volume and both predict survival in metastatic pancreatic ductal adenocarcinoma // *International journal of cancer*. 2020;146(5):1445–1456.
 29. Venugopalan A, Lee M, Niu G et al. EGFR-targeted therapy results in dramatic early lung tumor regression accompanied by imaging response and immune infiltration in EGFR mutant transgenic mouse models // *Oncotarget*. 2016;7(34):54137.
 30. Wu K, Chang Q, Lu Y et al. Gefitinib resistance resulted from STAT3-mediated Akt activation in lung cancer cells // *Oncotarget*. 2013;4(12):2430.

Поступила в редакцию 26.04.2021 г.

*A.S. Martianov^{1,2}, F.V. Moiseenko³, A.S. Zhabina³,
T.N. Sokolova¹, S.A. Belukhin³, T.A. Laidus^{1,2},
M.M. Kholmatov^{1,2}, V.I. Turin^{1,2}, N.M. Volkov³,
E.S. Kuligina^{1,2}, G.A. Yanus^{1,2}*

Changes in the concentration of EGFR-mutated plasma DNA in the first hours of anti-EGFR therapy allow the prediction of tumor response in patients with EGFR-driven lung cancer

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

² Saint-Petersburg State Pediatric Medical University, St Petersburg

³ Saint-Petersburg clinical scientific and practical center for specialised types of medical care (oncological), St Petersburg

This study aimed to analyze changes in the plasma concentration of *EGFR*-mutated DNA occurring immediately after the start of therapy with EGFR tyrosine kinase inhibitors (TKIs). The study included 30 patients with *EGFR* mutation-driven non-small cell lung cancer (NSCLC). Serial plasma samples were collected before intake of the first tablet and

at 0.5, 1, 2, 3, 6, 12, 24, 36 and 48 hours after the start of the therapy. EGFR-mutated plasma DNA (EGFR+ ctDNA) was detectable at diagnosis in 25 out of 30 study participants. There were different patterns of changes of the amount of circulating tumor DNA, i.e., the consistent decline of ctDNA content, or continuing increase of the number of circulating *EGFR* mutant copies, or alternating spikes and drops in the ctDNA concentration. Correlation with the disease outcome was observed only for the measurement performed at 48 hours. Twelve (50%) out of 24 informative patients showed >25% reduction of the ctDNA content at 48 h time point; all these patients demonstrated disease control after 4 and 8–12 weeks of therapy. The remaining 12 individuals showed either stable content of circulating EGFR+ DNA (n=5) or the elevation of ctDNA concentration (n=7). 10 of 12 patients with elevated or stable ctDNA level achieved an objective response at 4 weeks, but only 5 of 10 evaluable patients still demonstrated disease control at 8–12 weeks (p=0.014, when compared to the group with ctDNA decrease). The decline of the amount of circulating EGFR mutant copies also correlated with longer progression-free survival (PFS; 14.7 months vs. 8.5 months, p=0.013). Conclusion: Monitoring of plasma EGFR-M+ concentration within the first hours of the TKI therapy may be used as an immediate predictor of tumor response to the treatment.

Key words: NSCLC; EGFR; circulating tumor DNA; TKI therapy; tumor response

*И.Д. Амелина¹, Л.Н. Шевкунов¹, А.М. Карачун^{1,2}, А.Л. Муравцева¹, А.Е. Михнин^{1,2},
С.С. Багненко^{1,3}, А.С. Артемьева¹*

Компьютерно-томографическая пневмогастрография в определении клинической T-стадии и уT-стадии рака желудка

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

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

³ ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России

Цель. Оценить чувствительность компьютерно-томографической пневмогастрографии в определении T-стадии и уT-стадии рака желудка.

Материалы и методы. Исследование проспективное, одноцентровое включившее 267 пациентов с гистологически установленным диагнозом — рак желудка, получавших лечение в НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова с 2015 по 2018 г. 162 (60,7%) пациентам проведена предоперационная химиотерапия. Все пациенты были прооперированы: 22 — в объеме проксимальной субтотальной резекции желудка, 95 — в объеме дистальной субтотальной резекции, 123 — в объеме гастрэктомии и 27 — в объеме эндоскопической диссекции. Всем пациентам на предоперационном этапе была проведена стадирующая компьютерная томография по единому протоколу — КТ-пневмогастрография на 64-срезовом рентгеновском компьютерном томографе. Чувствительность метода в оценке глубины инвазии рассчитывалась отдельно для пациентов без предоперационной химиотерапии (T-стадия) и для пациентов, которым была проведена предоперационная химиотерапия (уT-стадия), путем сравнения с патоморфологическими данными.

Результаты. Показатели чувствительности метода КТ-пневмогастрографии для пациентов без проведения предоперационной химиотерапии составили: для T1a — 80,6%, T1b — 72,7%, T2 — 80,0%, T3 — 88,0%, T4a — 83,3%, T4b — 100%. Показатели чувствительности метода КТ-пневмогастрографии для пациентов, получавших предоперационную химиотерапию, составили: для уT2 — 65,2%, уT3 — 83,5%, уT4a — 83,9%, уT4b — 75,0%. Рестадирировать местно-распространенные РЖ с глубиной инвазии сT2–сT4b в категории усT0, усT1a и усT1b после предоперационной химиотерапии затруднительно ввиду сохраняющейся патологической ткани с нарушением

дифференцировки всех слоев стенки желудка, патоморфологически представляющей собой большим своим объемом фиброзную ткань.

Вывод. КТ-пневмогастрография демонстрирует высокие диагностические показатели в определении T-стадии и уT-стадии рака желудка.

Ключевые слова: рак желудка, ранний рак желудка, компьютерная томография, КТ-пневмогастрография, T-стадия, уT-стадия

Введение

Рак желудка (РЖ) является одним из наиболее распространенных онкологических заболеваний в мире, ежегодно выявляется свыше 1 млн. новых случаев [1]. В России 38,9% больных РЖ выявляется на IV стадии, а летальность на первом году после установления диагноза составляет 45,8% [2].

Неудовлетворительные результаты лечения РЖ в значительной степени связаны не только с его поздней диагностикой, но и с неправильным стадированием на дооперационном этапе, что влечет за собой выбор неверной тактики лечения [3]. Хирургический метод остается основным в обеспечении радикальности лечения РЖ [4], а системная противоопухолевая терапия способствует улучшению прогноза резектабельных пациентов с местно-распространенными формами заболевания [5]. Основными факторами, влияющими на прогноз заболевания, является стадия опухолевого процесса и радикальность оперативного вмешательства [6]. Обеспечение абластики может быть достигнуто дооперационным планированием объема оперативного вмешательства для уменьшения развития локальных рецидивов и улучшения общей выживаемости [7, 8].

Наиболее важным аспектом стадирования с последующим выбором оптимального подхода к лечению конкретного пациента является качественная и достоверная визуализация, в том чис-

ле с использованием лучевых методов диагностики [9, 10]. Компьютерная томография (КТ) с внутривенным болюсным контрастированием рассматривается как один из основных методов оценки местного распространения опухолевого процесса и исключения отдаленных метастазов [11, 12]. Но на сегодняшний момент отсутствует стандартизованный протокол КТ сканирования при РЖ, а, как показывает практика, проведение КТ без прицельной подготовки желудка к исследованию недостаточно. Для адекватной визуализации любого полового органа ЖКТ необходимо его растяжение, для оценки желудка используют контрастные агенты — газ или жидкость, чаще всего используют обычную воду. Однако, именно газ является предпочтительным контрастным агентом, позволяющим использовать трехмерные реконструкции с виртуальной гастроскопией.

Материалы и методы

Все пациенты, вошедшие в исследование, проходили лечение в НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова в период с 2015 по 2018 г. КТ всем пациентам выполнялась на 64-срезовом рентгеновском компьютерном томографе. Наше исследование проспективное, одноцентровое, включившее 267 пациентов, которым была проведена предоперационная КТ по протоколу КТ-пневмогастрография (КТ-ПГГ) с подготовкой желудка к исследованию, с ее прицельной оценкой и определением глубины инвазии опухоли. Также использовалась опция виртуальной гастроскопии. 162 пациентам, получившим предоперационную химиотерапию, КТ-ПГГ выполнялась как на этапе первичного стадирования, так и непосредственно перед операцией. Всем пациентам, включенным в исследование, на дооперационном этапе по результатам биопсии был установлен предварительный диагноз — рак желудка.

Всем пациентам, вошедшим в исследование, было проведено оперативное вмешательство, удаленный макропрепарат подвергался стандартному патоморфологическому исследованию по классификации TNM. Затем сравнивалась клиническая сT/усT-стадия, установленная методом КТ-ПГГ, с патологической pT/урT-стадией. Исследование одобрено этическим комитетом учреждения.

Протокол КТ-пневмогастрографии. На КТ исследование пациент приходит натощак (не менее 6 часов голодания). Непосредственно перед исследованием в положении на спине выполнялась сканограмма с определением зоны сканирования — от бифуркации трахеи до уровня подвздошных костей. Параметры сканограммы: kV — 120, mAs — 50, длина — 800 мм. Сканирование проводилось сначала в артериальную, затем в портальную фазу. Параметры артериальной фазы: kV — 120, mAs — 250, толщина среза — 2 мм, интервал реконструкции — 1 мм, Pitch — 1, задержка сканирования — Care Bolus+50–60 с. После окончания портальной фазы сканирования пациент принимает per os газообразующую смесь в составе Acidum Citricum — 1±0,5 г, растворенной в 5±1 мл воды, и Natrii Bicarbonati — 2±0,5 г, запивая небольшим количеством воды в объеме не более 30 мл. Затем снова выполняется сканограмма с прежними параметрами и проводится ранняя отсроченная фаза. Параметры ранней отсроченной фазы: kV — 120,

mAs — 250, толщина среза — 2 мм, интервал реконструкции — 1 мм, Pitch — 1, задержка сканирования — Care Bolus+240–300 с. При этом пациент удерживает образовавшийся газ до окончания сканирования.

Для лучшей визуализации предпочтительно использовать полипозиционное сканирование в отсроченную фазу: при локализации опухоли в кардиальном отделе и своде желудка для оценки возможного распространения на пищевод — на животе, в антральном отделе для исключения распространения на двенадцатиперстную кишку — на левом боку, при локализации опухоли в теле желудка — на спине. Визуализация при полипозиционном сканировании помогает переместить содержимое желудка и расправить газом сокращенные отделы в месте локализации опухоли.

Эффект раздутого желудка газообразующей смесью — достаточно краткосрочный процесс, образовавшийся газ частично проходит в тонкую кишку, частично выходит через рот, что способствует активизации перистальтики, и отрыжка может явиться причиной развития артефактов. Тем самым артериальная или венозная фаза могут быть испорчены. Также необходимо учитывать, что операция проводится в условиях ненаполненного желудка, поэтому необходимо сопоставление информации, полученной во время одного исследования — без растяжения желудка и с растяжением.

Проведение раздувания желудка в раннюю отсроченную фазу контрастирования явилось наиболее оптимальным: границы образования визуализируются на КТ-изображениях наиболее четко ввиду различий скорости вымывания контрастного вещества из неизменных стенок желудка и опухоли [13]. Из трех видов пероральных агентов (положительных, нейтральных и отрицательных) именно отрицательные (газ) предпочтительнее при построении трехмерных реконструкций с использованием опции виртуальной гастроскопии.

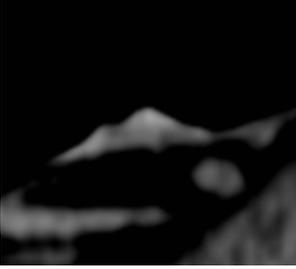
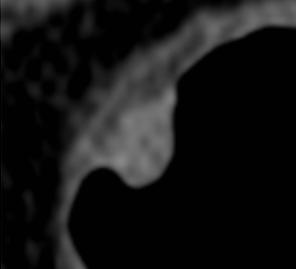
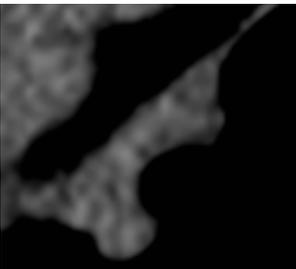
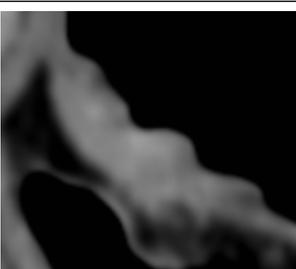
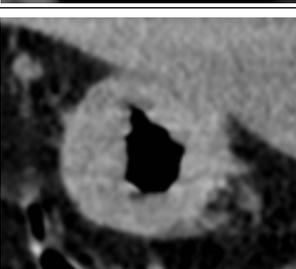
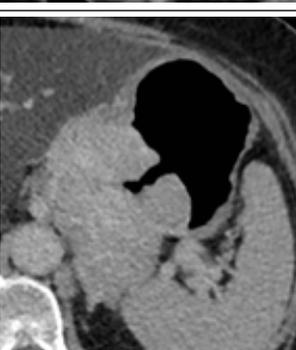
Анализ изображения/постпроцессинговая обработка. Перед интерпретацией полученных КТ-изображений необходимо оценить адекватна ли подготовка пациента, достаточно ли растяжение просвета желудка. Если растяжение недостаточно, это может помешать выявлению патологических изменений, и этот факт необходимо учитывать при анализе полученных результатов.

Для обнаружения и определения локализации опухоли необходимо проанализировать 2D- и 3D-изображения, виртуальную гастроскопию. Любое атипичное изменение структуры рельефа желудочных складок (истончение, гипертрофия, конвергенция, деформация с образованием площадки, ниши или неравномерных утолщений) должно привлечь на себя внимание и быть сопоставлено со всеми фазами сканирования 2D- и 3D-изображений. При обнаружении патологических изменений необходимо определить точную локализацию с указанием отдела и стенки желудка, протяженности изменений, проксимальной и дистальной границы. Сопоставление всех фаз сканирования 2D- и 3D-изображений также дает информацию в определении морфологического типа опухоли. Затем определяется глубина инвазии опухоли с помощью 2D-изображений посредством анализа аксиальных, коронарных и сагиттальных срезов.

КТ-семиотика глубины инвазии. Критерии оценки глубины опухолевой инвазии стенки желудка были сформулированы с учетом TNM классификации и сопоставления с патоморфологическими данными (табл. 1).

Характеристика пациентов. Всем 267 пациентам, вошедшим в исследование, по результатам КТ-ПГГ была определена клиническая сT-стадия РЖ. 162 (60,7%) пациентам, получившим предоперационную химиотерапию, КТ-ПГГ выполнялась как на этапе первичного стадирования, так и после проведения терапевтического лечения непосредственно перед операцией, и устанавливалась клиническая усT-стадия.

Таблица 1. КТ-семиотика опухолевой инвазии стенки желудка

Глубина инвазии	КТ-семиотика	Примеры
T1a	— деформация или «уплощение» внутреннего слоя стенки (соответствует слизистой)	
	— возможно утолщение внутреннего слоя стенки (соответствует слизистой)	
	— под измененным внутренним слоем может дифференцироваться глубже лежащий слой в виде тонкой ровной гиподенсной полоски (соответствует подслизистой основе)	
	— остальная часть стенки желудка на уровне изменений интактна	
T1b	— утолщение и деформация внутреннего слоя стенки (соответствует слизистой)	
	— деформация и утолщение/истончение глубже лежащего гиподенсного слоя на этом же уровне (соответствует подслизистой основе)	
	— остальная часть стенки желудка на уровне изменений интактна	
T2	— утолщение и деформация внутреннего слоя стенки (соответствует слизистой)	
	— деформация и истончение глубже лежащего гиподенсного слоя на этом же уровне (соответствует подслизистой основе)	
	— отсутствие дифференцировки границ между вторым и следующим более глубоким слоем (соответствует мышечному)	
	— наружный контур желудка четкий и ровный	
T3	— утолщение, возможна деформация всей толщи стенки желудка с нарушением дифференцировки слоев	
	— наружный контур четкий, но неровный	
	— повышение плотности прилежащей клетчатки малого и/или большого сальника	
T4a	— утолщение и деформация всей толщи стенки желудка с нарушением дифференцировки слоев	
	— наружный контур нечеткий и неровный	
	— повышение плотности прилежащей перигастральной клетчатки со стороны связочного аппарата желудка, вовлеченного в процесс	
	— соседние органы интактны	
T4b	— утолщение и деформация всей толщи стенки желудка с нарушением дифференцировки слоев	
	— наружный контур нечеткий и неровный	
	— повышение плотности прилежащей перигастральной клетчатки со стороны связочного аппарата желудка, вовлеченного в процесс	
	— отсутствие дифференцировки границы с соседними органами за счет инвазии, атипично неровный контур прилежащего к опухоли органа	

Таким образом, пациенты, вошедшие в исследование, были поделены на две группы с учетом проведения или отсутствия предоперационной химиотерапии. В первую группу вошли 105 (39,3%) больных как с ранним (n=58; 55,2%), так и с местно-распространенным (n=47; 44,8%) процессом; во вторую — 162 (60,7%) больных только с местно-распространенным процессом. 47 (44,8%) пациентам с местно-распространенным раком из первой группы предоперационная химиотерапия не проводилась по причине противопоказаний, отсутствия клинических данных о наличии региональных и отдаленных метастазов, либо отказа самих пациентов от проведения предоперационной химиотерапии.

Средний возраст пациентов составил около 55–56 лет (минимальный — 27, максимальный — 86), мужчин было больше (n=160; 59,9%), чем женщин (n=107; 40,1%). Все пациенты были прооперированы: 22 (8,2%) — в объеме проксимальной субтотальной резекции желудка, 95 (35,6%) — дистальной субтотальной резекции, 123 (46,1%) — гастрэктомии и 27 (10,1%) — эндоскопической диссекции. Удаленный макропрепарат подвергался стандартному патоморфологическому исследованию по классификации TNM.

Результаты

У всех пациентов по результатам патоморфологического исследования был подтвержден рак желудка: у 165 (61,8%) была выявлена аденокарцинома с высоким потенциалом злокачественности, у 91 (34,1%) аденокарцинома с низким потенциалом злокачественности, у 11 (4,1%) отмечен полный патоморфологический регресс в результате проведенной предоперационной химиотерапии. У пациентов без предоперационной химиотерапии клинически методом КТ-ПГГ глубина инвазии была определена следующим образом: cT1a — 30 пациентов (28,6%), cT1b — 20 (19,1%), cT2 — 20 (19,1%), cT3 — 25 (23,8%), cT4a — 8 (7,6%), cT4b — 2 (1,9%). Патоморфологически у данной группы пациентов глубина инвазии была определена как: pT1a — 36 пациентов (34,3%), pT1b — 22 (20,9%), pT2 — 15

Таблица 2. Сопоставление клинической cT-стадии, установленной методом КТ-ПГГ, и патологической pT-стадии

	pT1a	pT1b	pT2	pT3	pT4a	pT4b	n
cT1a	29	1	0	0	0	0	30
cT1b	4	16	0	0	0	0	20
cT2	3	5	12	0	0	0	20
cT3	0	0	3	22	0	0	25
cT4a	0	0	0	3	5	0	8
cT4b	0	0	0	0	1	1	2
n	36	22	15	25	6	1	105

Таблица 3. Чувствительность оценки T-стадии РЖ методом КТ-ПГГ

T-стадия	Чувствительность оценки T-стадии РЖ методом КТ-ПГГ	
	n (абс.)	%
T1a	29 (36)	80,6
T1b	16 (22)	72,7
T2	12 (15)	80,0
T3	22 (25)	88,0
T4a	5 (6)	83,3
T4b	1 (1)	100

Таблица 4. Конверсия клинической T-стадии, установленной методом КТ-ПГГ после проведения предоперационной химиотерапии

	ycT0	ycT1a	ycT1b	ycT2	ycT3	ycT4a	ycT4b	n
cT0	0	0	0	0	0	0	0	0
cT1a	0	0	0	0	0	0	0	0
cT1b	0	0	0	0	0	0	0	0
cT2	0	0	0	5	0	0	0	5
cT3	0	0	0	18	61	1	0	80
cT4a	0	0	0	1	23	35	0	59
cT4b	0	0	0	0	0	8	10	18
n	0	0	0	24	84	44	10	162

(14,3%), pT3 — 25 (23,8%), pT4a — 6 (5,7%), pT4b — 1 (0,9%).

Показатели чувствительности метода КТ-ПГГ были рассчитаны для группы пациентов без проведения предоперационной химиотерапии с учетом соответствия с патоморфологическими данными и составили для T1a — 80,6%, T1b — 72,7%, T2 — 80,0%, T3 — 88,0%, T4a — 83,3%, T4b — 100% (табл. 3).

У 51 (31,5%) пациента, получивших предоперационную химиотерапию, по результатам КТ-ПГГ при оценке динамики наблюдалась конверсия cT-стадии: 18 пациентов из cT3 перешли в категорию ycT2 и один — в ycT4a, 23 пациента

из cT4a перешли в ycT3 и один — в ycT2, 8 пациентов из cT4b перешли в ycT4a (табл. 4).

Пациентов, клинически стадированных как ycT0, ycT1a и ycT1b во второй группе, получавших предоперационную химиотерапию, в нашем исследовании не было. Достоверно определять конверсию опухоли в данную категорию, если до лечения диагностировалась более глубокая инвазия (cT2- cT4b), затруднительно, поскольку как правило, сохраняется патологический «масс-эффект» с нарушением дифференцировки всех слоев стенки желудка, представляющий собой патоморфологически бóльшим своим объемом фиброзную ткань (рисунок).

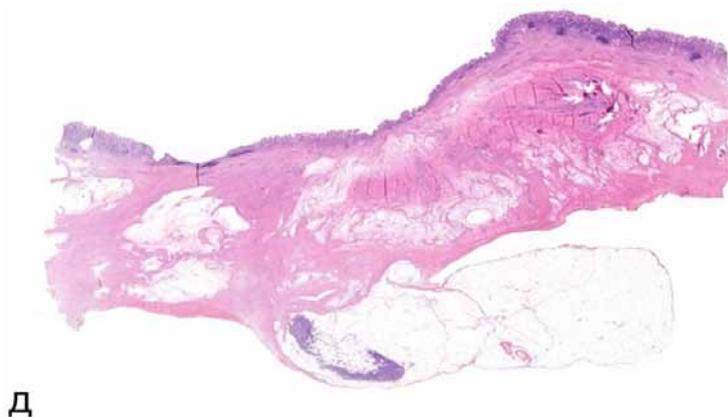
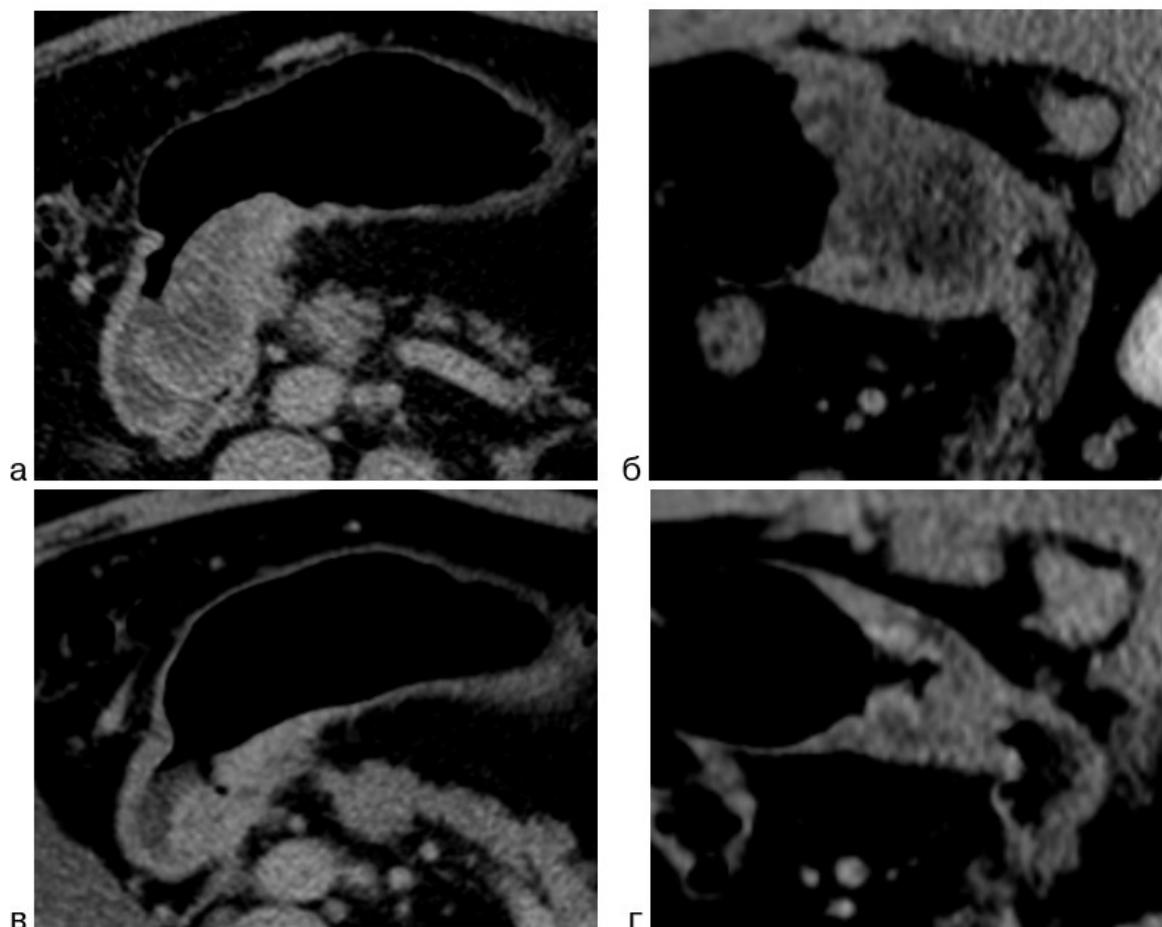


Таблица 5. Сопоставление клинической уТ-стадии, установленной методом КТ-ПГГ, и патологической урТ-стадии

	урТ0	урТ1а	урТ1b	урТ2	урТ3	урТ4а	урТ4b	n
усТ0	0	0	0	0	0	0	0	0
усТ1а	0	0	0	0	0	0	0	0
усТ1b	0	0	0	0	0	0	0	0
усТ2	3	3	3	15	0	0	0	24
усТ3	7	3	0	6	66	2	0	84
усТ4а	1	0	1	1	13	26	2	44
усТ4b	0	0	0	1	0	3	6	10
n	11	6	4	23	79	31	8	162

Рак антрального отдела желудка с распространением на двенадцатиперстную кишку. По данным КТ-ПГГ на начальном этапе до проведения предоперационной химиотерапии стадирован как сТ4а (а — аксиальное изображение, б — сагиттальное изображение), после предоперационной химиотерапии также стадирован как усТ4а — отмечается уменьшение объема опухоли, однако сохраняется патологическая ткань с нарушением дифференцировки слоев, наружный контур нечеткий и неровный, имеются признаки распространения процесса на связочный аппарат желудка (в — аксиальное изображение, г — сагиттальное изображение). Патоморфологически стадирован как урТ0 (д)

Таким образом, у пациентов, получавших предоперационную химиотерапию, клинически методом КТ-ПГГ глубина инвазии была определена следующим образом: усТ2 — у 24 (14,8%), усТ3 — 84 (51,9%), усТ4а — 44 (27,2%), усТ4b — 10 (6,2%). Патоморфологически у данной группы пациентов глубина инвазии была определена как: урТ1а — у 6 пациентов (3,7%), урТ1b — 4 (2,5%), урТ2 — 23 (14,2%), урТ3 — 79 (48,8%), урТ4а — 31 (19,1%), урТ4b — 8 (4,9%), а также у 11 (6,8%) пациентов был выявлен полный патоморфологический регресс — урТ0 (табл. 5).

Показатели чувствительности метода КТ-ПГГ для группы пациентов, получавших предоперационную химиотерапию, были рассчитаны с учетом соответствия с патоморфологическими данными и составили для уТ0 — 0%, уТ1а — 0%, уТ1b — 0%, Т2 — 65,2%, Т3 — 83,5%, Т4а — 83,9%, Т4b — 75,0%.

У пациентов, которые получили химиотерапию, наблюдается снижение чувствительности оценки глубины инвазии опухолей категории Т2 с 80,0% до 65,2% и опухолей категории Т4b со 100 до 75%, однако в последнем случае следует учитывать, что в группе без предоперационной химиотерапии был один пациент с глубиной инвазии Т4b.

Таблица 6. Чувствительность оценки уТ-стадии РЖ методом КТ-ПГГ

уТ-стадия	Чувствительность оценки уТ-стадии РЖ методом КТ-ПГГ	
	n (абс.)	%
уТ0	0	0
уТ1а	0	0
уТ1b	0	0
уТ2	15 (23)	65,2
уТ3	66 (79)	83,5
уТ4а	26 (31)	83,9
уТ4b	6 (8)	75,0

Обсуждение

Пациентам, получавшим предоперационную химиотерапию, необходимо проводить КТ-ПГГ как до начала терапевтического лечения для стадирования процесса, так и после, непосредственно перед операцией, для оценки эффекта терапевтического лечения и возможного рестадирования. Благодаря КТ-ПГГ с достаточно высокими показателями чувствительности возможно оценить глубину опухолевой инвазии, в том числе ранних форм РЖ с глубиной инвазии в пределах слизистого и подслизистого слоев. Соблюдение протокола КТ-ПГГ с полипозиционным сканированием, использование опции виртуальной гастроскопии способствуют оптимальной оценке опухолевого процесса. Точность выявления первичной опухоли в зависимости от протокола КТ-сканирования по литературным данным варьирует от 36–48% до 73–96% [14]. Показатели чувствительности оценки глубины инвазии методом КТ могут составлять 20,0–95,5% [15,16]. Некоторые пограничные поражения Т1а/Т1b, Т2/Т3, Т4а/Т4b бывает сложно дифференцировать при КТ. На это могут влиять такие факторы как недостаточность растяжения просвета желудка, степень выраженности рельефа слизистой стенки, наличие интрамурального жира в стенке

желудка и висцерального жира у конкретного пациента, перитуморозный фиброз, как проявление десмопластической реакции. Nabermann и соавт. [17] использовали следующий критерий для дифференцировки десмопластической реакции и опухолевой инфильтрации: при нечеткости на площади менее одной трети опухоли, глубину инвазии следует классифицировать как T2, при более обширной — как T3. По мнению авторов, при таком распределении глубина поражения T2 была всегда правильно определена. Стратификация пациентов с глубокой инвазией T4b очень важна, поскольку комбинированные операции технически сложны. Применение трехмерной реконструкции и полипозиционного сканирования в таких случаях помогает более точно стадировать процесс. Рестадрировать местнораспространенные РЖ с инвазией cT2–cT4b в категории ycT0, ycT1a и ycT1b после предоперационной химиотерапии затруднительно ввиду сохраняющейся патологической ткани с нарушением дифференцировки всех слоев стенки желудка, патоморфологически представляющей собой большим своим объемом фиброзную ткань.

Ограничением использования данного метода является декомпенсированный опухолевый стеноз, наличие желудочного кровотечения в анамнезе, аллергическая реакция на йодсодержащие контрастные препараты. Также следует учитывать необходимость присутствия врача при исследовании, в частности для принятия решения о выполнении полипозиционного сканирования в зависимости от локализации опухоли.

Эта методика требует затраты дополнительного времени как сканирования, так и интерпретации результатов.

В целом методика КТ-ПГГ предоставляет дополнительную информацию о местном распространении опухоли, ее локализации и визуальных характеристиках, что способствует выбору оптимальной тактики лечения в каждом конкретном случае, в частности, объем хирургического вмешательства.

Выводы

1. Компьютерная томография, совмещенная с пневмогастрографией с трехмерной визуализацией и виртуальной гастроскопией, расширяет возможности метода, улучшает диагностику за счет детальной информации с определением локализации, проксимальной и дистальной границ, характера роста опухоли, способствует повышению эффективности оценки как раннего, так и местнораспространенного процесса.

2. Способ демонстрирует достаточно высокие показатели чувствительности в определении

глубины опухолевой инвазии как без химиотерапии, так и после проведения химиотерапии.

3. КТ-пневмогастрография помогает в выборе оптимальной тактики лечения, в частности, объема хирургического вмешательства.

ЛИТЕРАТУРА

1. Cancer Facts & Figures 2020. Atlanta: American Cancer Society; 2020. <https://doi.org/10.3322/caab.3192> (accessed April 30, 2021).
2. Каприн А.Д., Старинский В.В., Шахзадова А.О. Состояние онкологической помощи населению России в 2019 г. М., 2020 [Kaprin AD, Starinskiy VV, Shakhzadova AO. The state of cancer care for the population of Russia in 2019. Moscow, 2020 (In Russ.)].
3. Клинические рекомендации. Рак желудка. Ассоциация онкологов России // Российское общество клинической онкологии. 2018. <https://doi.org/10.26907/2542-0122.2018.01.001> [Clinical guidelines. Stomach cancer. Association of Oncologists of Russia // Rossiiskoe obshchestvo klinicheskoi onkologii. 2018 (In Russ.)]. <https://doi.org/10.26907/2542-0122.2018.01.001>
4. Давыдов М.И., Тер-Ованесов М.Д., Абдирахимов А.Н., Марчук В.А. Рак желудка: что определяет стандарты хирургического лечения // Практическая онкология. 2001;3(7):18–24 [Davydov MI, Ter-Ovanesov MD, Abdihakimov AN, Marchuk VA. Stomach cancer: which defines the standards of surgical treatment // Prakticheskaya onkologiya. 2001;3(7):18-24 (In Russ.)].
5. Бесова Н.С., Бяхов М.Ю., Константинова М.М. и др. Практические рекомендации по лекарственному лечению рака желудка // Злокачественные опухоли. 2017;7(3s2):248–260. <https://doi.org/10.18027/2224-5057-2017-7-3s2-248-260> [Besova NS, Byakhov MYu., Konstantinova MM et al. Practical recommendations for drug treatment of stomach cancer // Zlokachestvennyye opukholi. 2017;7(3s2):248-260 (In Russ.)]. <https://doi.org/10.18027/2224-5057-2017-7-3s2-248-260>
6. Kim JP, Lee JH, Kim SJ et al. Clinicopathologic characteristics and prognostic factors in 10 783 patients with gastric cancer // Gastric cancer. 1998;1(2):125–133. <https://doi.org/10.1007/s101200050006>
7. Болотина Л.В., Крамская Л.В., Дешкина Т.И. и др. Современные подходы к лечению местно-распространенного и резектабельного рака желудка // Онкология. Журнал им. П.А. Герцена. 2015;4(4):52–56. <https://doi.org/10.17116/onkolog20154452-56> [Bolotina LV, Kramskaya LV, Deshkina TI et al. Modern approaches to the treatment of locally advanced and resectable gastric cancer // Oncologiya. im. PA. Hertsenda. 2015;4(4):52-56 (In Russ.)]. <https://doi.org/10.17116/onkolog20154452-56>
8. Барышев А.Г., Порханов В.А., Попов А.Ю. и др. Причины рецидива рака желудка у больных после радикального лечения // Сибирский онкологический журнал. 2017;16(1):23–31. <https://doi.org/10.21294/1814-4861-2017-16-1-23-31> [Baryshev AG, Porkhanov VA, Popov AY et al. Reasons for relapse of stomach cancer in patients after radical treatment // Sibirskii onkologicheskii zhurnal. 2017;16(1):23-31 (In Russ.)]. <https://doi.org/10.21294/1814-4861-2017-16-1-23-31>

9. Давыдов М.И., Тер-Ованесов М.Д., Абдихакимов А.Н., Марчук В.А. Рак желудка: предоперационное обследование и актуальные аспекты стадирования // Практическая онкология. 2001;3(7):9–17 [Davydov MI, Ter-Ovanesov MD, Abdihakimov AN, Marchuk VA. Stomach cancer: preoperative examination and relevant aspects of staging // *Prakticheskaya onkologiya*. 2001;3(7):9–17 (In Russ.)].
10. Солодкий В.А., Нуднов Н.В., Чхиквадзе В.Д. и др. Лучевые методы в диагностике и стадировании рака желудка // Медицинская визуализация. 2017;21(6):30–40. <https://doi.org/10.24835/1607-0763-2017-6-30-40> [Solodkiy VA, Nudnov NV, Chkhikvadze VD et al. Radiation methods in the diagnosis and staging of stomach cancer // *Medit-sinskaya vizualizatsiya*. 2017;21(6):30–40 (In Russ.)]. <https://doi.org/10.24835/1607-0763-2017-6-30-40>
11. Ставицкая Н.П., Шехтер А.И. Компьютерная томография в диагностике рака желудка (Обзор литературы) // Радиология — Практика. 2008;4:50–59 [Stavitskaya NP, Schechter AI. Computed tomography in the diagnosis of gastric cancer (literature review) // *Radiologiya — Praktika*. 2008;4:50–59 (In Russ.)].
12. Moschetta M, Ianora AAS, Cazzato F et al. The role of computed tomography in the imaging of gastric carcinoma // *Management of gastric cancer*. 2011. <https://doi.org/10.5772/17437>
13. Патент РФ на изобретение № 2621952. С1 РФ, МПК А61В 6/03 (2006.01), А61К 49/04 (2006.01)/08.06.2017, Бюл. № 16. Амелина И.Д., Мищенко А.В. Способ компьютерно-томографического исследования желудка. <https://doi.org/10.24835/1607-0763-2017-6-30-40> [Russian Federation patent for invention № 2621952. С1 RF, IPC А61В 6/03 (2006.01), А61К 49/04 (2006.01)/08.06.2017, Byul. № 16. Amelina I D, Mishchenko AV. Method of computed tomographic examination of the stomach]. https://patents.s3.yandex.net/RU2621952C1_20170608.pdf
14. Lee MH, Choi D, Park MJ, Lee MW. Gastric cancer: imaging and staging with MDCT based on the 7th AJCC guidelines // *Abdom Imaging*. 2012;37(4):531–540. <https://doi.org/10.1007/s00261-011-9780-3>
15. Seevaratnam R, Cardoso R, Mcgregor C et al. How useful is preoperative imaging for tumor, node, metastasis (TNM) staging of gastric cancer? A meta-analysis // *Gastric Cancer*. 2012;15(1):S3–S18. <https://doi.org/10.1007/s10120-011-0069-6>
16. Kim AY, Kim HJ, Ha HK. Gastric cancer by multidetector row CT: preoperative staging. Department of radiology, Asan medical center, University of Ulsan College of Medicine, 388-1, Poongnap-Dong, Songpa-Ku, Seoul, 138-736, Korea. *Abdom Imaging*. 2005;30:465–472. <https://doi.org/10.1007/s00261-004-0273-5>
17. Habermann CR, Weiss F, Riecken R et al. Preoperative staging of gastric adenocarcinoma: comparison of helical CT and endoscopic US // *Radiology*. 2004;230:465–471.

I.D. Amelina¹, L.N. Shevkunov¹, A.M. Karachun^{1,2}, A.L. Muravtseva¹, A.E. Mikhnin^{1,2}, S.S. Bagnenko^{1,3}, A.S. Artemieva¹

Computed tomography pneumogastrography in determining clinical T-stage and yT-stage of gastric cancer

¹ National Medical Research Center of Oncology named after N.N. Petrov of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, St Petersburg

² North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, St Petersburg

³ Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «St. Petersburg State Pediatric Medical University» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation

Objective. To assess the sensitivity of CT pneumogastrography in determining the T-stage and yT-stage.

Materials and methods. This is a prospective, single-center study that included 267 patients with a histologically diagnosed stomach cancer who received treatment at the N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology from 2015 to 2018. 162 (60.7%) patients underwent preoperative chemotherapy. All patients underwent surgery: 22 in the volume of proximal subtotal resection, 95 in the volume of distal subtotal resection, 123 in the volume of gastrectomy, and 27 in the volume of endoscopic dissection. All patients underwent staging computed tomography at the preoperative stage according to a single protocol — CT pneumogastrography on a 64-slice X-ray computed tomography. The sensitivity of the method in assessing the depth of invasion was calculated separately for patients without preoperative chemotherapy (T-stage) and for patients who underwent preoperative chemotherapy (yT-stage) by comparison with pathological data.

Results. The sensitivity indicators of CT pneumogastrography for patients without preoperative chemotherapy were: for T1a — 80.6%, T1b — 72.7%, T2 — 80.0%, T3 — 88.0%, T4a — 83.3%, T4b — 100%. The sensitivity indicators of CT pneumogastrography for patients receiving preoperative chemotherapy were: for yT2 — 65.2%, yT3 — 83.5%, yT4a — 83.9%, yT4b — 75.0%. It is difficult to restore locally advanced gastric cancer with a depth of invasion cT2–cT4b in the category yT0, yT1a, and yT1b after preoperative chemotherapy due to the persisting pathological tissue with impaired differentiation of all layers of the stomach wall, which is pathomorphologically a large fibrous tissue.

Conclusion. CT-pneumogastrography demonstrates high diagnostic indicators in determining the T-stage and yT-stage of gastric cancer.

Key words: gastric cancer, early gastric cancer, computed tomography, CT pneumogastrography, T-stage, yT-stage

Поступила в редакцию 17.04.2021 г.

О.И. Кум¹, И.С. Дерижанова², Н.С. Карнаухов^{1,2}, И.А. Новикова¹,
В.С. Трифанов¹, Г.В. Каминский¹

Особенности экспрессии соматостатиновых рецепторов в карциномах желудка в зависимости от доли нейроэндокринного компонента

¹ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону
² ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России

У 50 пациентов с диагнозом рак желудка был проведен скрининг нейроэндокринного компонента при помощи иммуногистохимического исследования с антителами к хромогранину А и синаптофизину в операционном материале, а также исследован статус соматостатиновых рецепторов (ССТР). Нейроэндокринный компонент в различных соотношениях был обнаружен в 62% наблюдений. В 2 нейроэндокринных карциномах наблюдалась экспрессия ССТР 2 типа на уровне «2+», и лишь в одной адено-нейроэндокринной карциноме показана такая же экспрессия. В карциномах с очаговым нейроэндокринным компонентом и без него экспрессия различных типов ССТР выявлялась в 61,8% наблюдений как в нейроэндокринных, так и в экзокринных структурах. В группе высокодифференцированных нейроэндокринных опухолей в 100% наблюдений была выявлена экспрессия хотя бы одного из 5 типов соматостатиновых рецепторов, причем в 95% — на уровне «3+». Полученные сведения не позволяют сделать статистически значимые выводы о зависимости экспрессии ССТР от доли нейроэндокринного компонента, но показывают перспективу дальнейшего изучения их не только в нейроэндокринных опухолях, но и в экзокринных и смешанных карциномах.

Ключевые слова: рак желудка, нейроэндокринные опухоли, соматостатиновые рецепторы

Введение

Соматостатин — полупептидный гормон, вырабатываемый в гипоталамусе и в нейроэндокринных клетках поджелудочной железы. Соматостатин ингибирует соматотропин (гормон роста), клеточную пролиферацию и активность различных факторов роста — фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), эпидермоидного фактора роста (EGF), фактора роста фибробластов (bFGF), инсулин-подобного фактора роста (IGF) и др. Кроме того, он повышает активность апоп-

тоза и обладает способностью моделировать и ингибировать функцию нейротрансмиттеров, оказывает существенное влияние на ангиогенез и иммунную систему [1].

В настоящее время известно 5 типов соматостатиновых рецепторов (ССТР 1–5 типов), отличающихся друг от друга по структуре, распространению в организме, филогенетическим и фармакологическим свойствам. Исследование уровня соматостатиновых рецепторов может осуществляться различными способами. Наиболее изученные — иммуногистохимическое исследование и метод полимеразной цепной реакции.

Shi и соавт. показали, что метилирование промотора соматостатина часто наблюдается в ткани рака желудка (РЖ) и связано с уменьшением экспрессии белка соматостатина [2]. Это наблюдение обеспечивает основу для применения таргетной терапии аналогами соматостатина в лечении РЖ [3].

Pavel и соавт. рекомендуют исследование соматостатиновых рецепторов иммуногистохимическим методом только в нейроэндокринных опухолях (НЭО) G1 и G2 [4].

Однако, ССТР2а типа нередко экспрессируется в высокодифференцированных НЭО (в 79%) и почти в половине (44%) низкодифференцированных нейроэндокринных карцином (G3 НЭК), а ССТР5 типа в свою очередь — в 71% высокодифференцированных НЭО и лишь в 28% G3НЭК [5].

Другими авторами показано, что экспрессия пептидных рецепторов является характерной особенностью НЭО ЖКТ и легких, и, по видимому, неодинаково при различных типах опухолей, а также коррелирует с пролиферативным индексом [6].

Стоит отметить, что РЖ представляет собой глобальную проблему здравоохранения, занимая 5 место в структуре заболеваемости и 3 — в структуре смертности [7]. Несмотря на достижения в области профилактики, диагностики и лекарственной терапии, колоссальный прогресс в развитии хирургии РЖ и успехи в разработке противораковых лекарственных

средств, резистентность к лекарственной терапии и рецидивирование РЖ является основными препятствиями для улучшения общей выживаемости больных [8].

РЖ является гетерогенным заболеванием, что отражается в многочисленных морфологических и молекулярно-генетических классификациях. Вне зависимости от улучшения диагностики в большинстве стран мира РЖ до сих пор диагностируется преимущественно на четвертой стадии. Общая выживаемость при запущенном заболевании составляет около 1 года. Этот довольно мрачный прогноз частично обусловлен высоким уровнем биологической гетерогенности опухолей.

НЭО желудка, согласно 4 изданию классификации опухолей ЖКТ ВОЗ (2010), делятся на высокодифференцированные НЭО (G1 и G2) и низкодифференцированные нейроэндокринные карциномы (НЭК G3). Кроме того, выделяют комбинированную форму — смешанную адено-нейроэндокринную карциному, в которой нейроэндокринный компонент составляет менее 70% площади, но более 30%. Эти пороговые значения многими авторами не считаются абсолютными и обсуждаются в научных публикациях [9].

Истинная частота РЖ с различной долей нейроэндокринного компонента, а также статус экспрессии ССТР в нейроэндокринных и экзокринных клетках являются недостаточно изученными.

Целью нашего исследования стало определить частоту экспрессии ССТР в карциномах желудка в зависимости от доли нейроэндокринного компонента.

Материалы и методы

Было исследовано 1800 гистологических препаратов и 1650 ИГХ препаратов, полученных от 70 пациентов, наблюдаемых в клиниках ФГБУ «НМИЦ онкологии» МЗ РФ и ФГБУ ВО РостГМУ МЗ РФ. Из них 50 больным был диагностирован РЖ (умеренно- и низкодифференцированная аденокарцинома, муцинозная аденокарцинома, перстневидно-клеточный рак), 20 пациентам поставлен диагноз высокодифференцированная нейроэндокринная опухоль (G1 и G2).

После проведения стандартного объема исследований пациентам выполнялась операция, операционный материал исследовался соответственно полученному нами патенту на изобретение [10]. Желудок вскрывался по большой кривизне, фиксировался на картоне так, чтобы опухоль полностью была погружена в 10% забуференный нейтральный формалин. Далее определялась локализация опухоли, проводились измерения и выполнялись параллельные продольные разрезы всей толщи стенки желудка в зоне опухоли на расстоянии 3 мм друг от друга в направлении сверху вниз. Для дальнейшего исследования использовалась пластина опухоли с максимальной инвазией, которую делили на кусочки размером 1,0×1,0×0,3 см. Строго контролировалось время доставки операционного материала в патологоанатомическое отделение (не более 30 мин после резекции) и время фиксации (в течение 24-х часов после вырезки). Проводку материала, заливку в парафин и изготовление гистологических препаратов (окраска гематоксилин — эозин) проводили по стандартной методике, а все вырезанные из опухоли

кусочки (от 4 до 10) исследовали при помощи иммуногистохимического метода с антителами к Synaptophysin, и Chromogranin A, Ki-67.

При положительной реакции с антителами к хотя бы одному из маркеров нейроэндокринной дифференцировки (увеличение светового микроскопа x200) оценивали процентное содержание таких клеток в каждом блоке, полученные значения суммировали и делили на общее количество блоков, при индексе более 70 опухоль (согласно критериям ВОЗ) расценивалась как низкодифференцированный нейроэндокринный рак, при значении индекса от 30 до 70 опухоль классифицировали, как смешанный адено-нейроэндокринный рак, при выявлении индекса до 30, опухоли характеризовали, как РЖ с нейроэндокринным компонентом. В случае выявления в одних и тех же клетках слизи и нейроэндокринных гранул, такие клетки считали амфикринными.

Экспрессия ССТР выявлялась с помощью моноклональных антител к соматостатиновым рецепторам 1–5 типов.

Оценку экспрессии ССТР проводили по методике, описанной Volante M. и соавт. [5]. Позитивной реакцией («2+» и «3+») считали умеренно и резко выраженную мембранную или мембранно-цитоплазматическую экспрессию ССТР в 50–100% клеток опухоли. Слабо положительная или неполное мембранное окрашивание в менее чем 50% клеток («1+») расценивалась как негативная реакция.

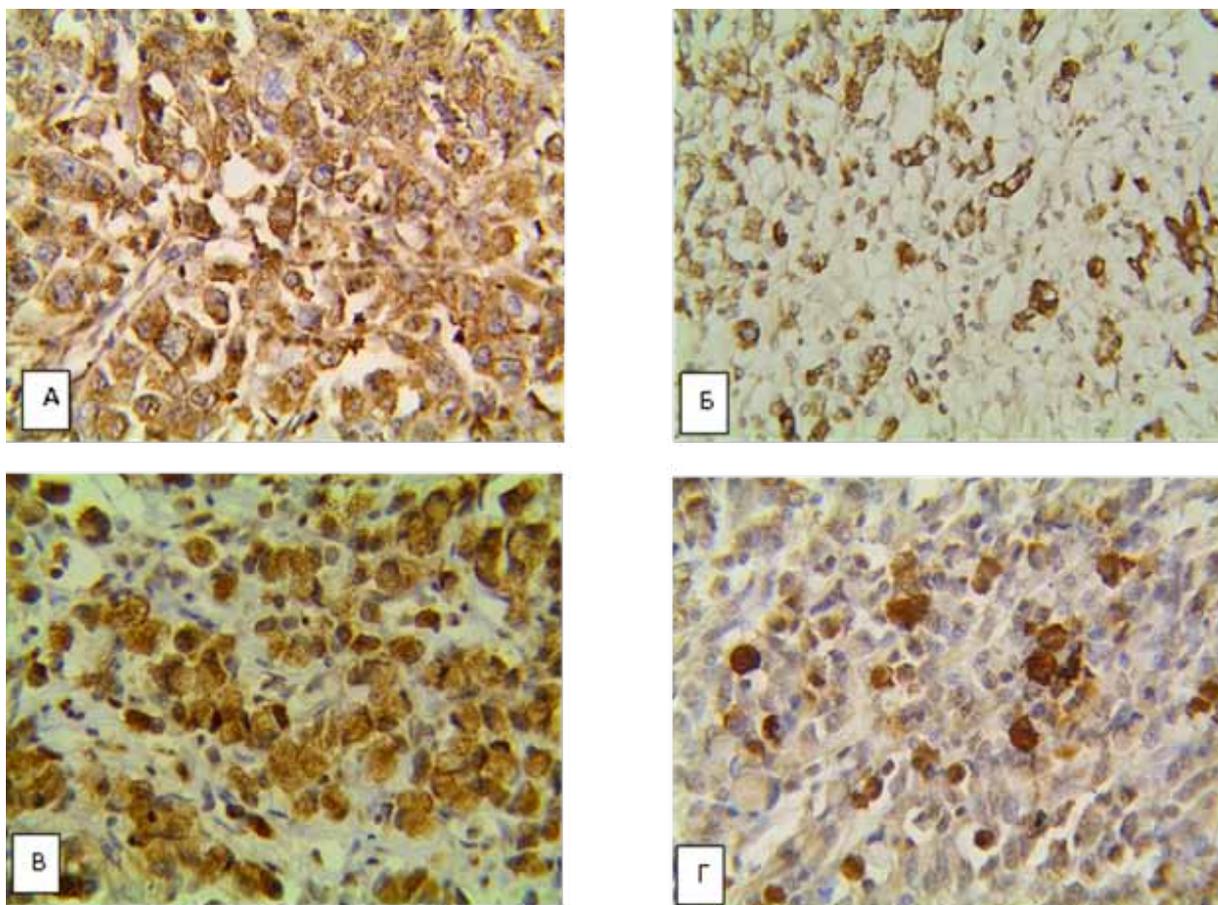
Результаты

Нейроэндокринный компонент был выявлен в 62% карцином. 4% опухолей были классифицированы как G3 НЭК, 6% — смешанные адено-нейроэндокринные карциномы, в 52% был выявлен очаговый нейроэндокринный компонент (менее 30% площади).

Экспрессия ССТР 2 типа была выявлена в двух НЭК G3 на уровне «2+», а экспрессия ССТР других типов (1–5) полностью отсутствовала.

Слабое цитоплазматическое окрашивание в части (менее 30%) опухолевых клеток («1+») было обнаружено в одном наблюдении САНЭК. Экспрессия ССТР других типов (1–5) также не была выявлена.

Экспрессия ССТР в РЖ с нейроэндокринным компонентом менее 30% была обнаружена не только в нейроэндокринных клетках, но и в экзокринных приблизительно в равных соотношениях (рисунок). В 88,5% наблюдений была выявлена экспрессия хотя бы одного из 5 типов ССТР, причем в половине опухолей на уровне «2+». ССТР1 типа — в трех наблюдениях на уровне «2+» (15,4%) и в 3,8% на уровне «3+». ССТР2 типа экспрессировались на уровне «2+» в 11,5%. ССТР3 типа на уровне «2+» — 7,7%, а на уровне «3+» — 3,8%. Экспрессия ССТР 3 типа была выявлена в 2 карциномах («2+» и «3+») в перстневидных и амфикринных клетках. ССТР 4 типа на уровне «2+» — 11,5%, а на уровне «3+» — 7,7%. ССТР 5 типа на уровне «2+» — 3,8%. В 1 наблюдении была выявлена резко выраженная гранулярная экспрессия ССТР 4 типа в очагах аденоматозной гиперплазии ней-



Экспрессия ССТР в карциномах желудка с очаговым нейроэндокринным компонентом.

А — цитоплазматическая и мембранная экспрессия ССТР 1 типа, на уровне «3+». ИГХ окр. с АТ к ССТР1 типа. Ув. 400; Б — мембранная экспрессия ССТР 2 типа, на уровне «2+» в смешанной адено-нейроэндокринной карциноме. ИГХ окр. с АТ к ССТР2 типа. Ув. 400; В — цитоплазматическая экспрессия ССТР 3 типа в перстневидных клетках, на уровне «3+». ИГХ окр. с АТ к ССТР3 типа. Ув. 400; Г — цитоплазматическая экспрессия ССТР 4 типа, на уровне «3+» в амфикринных клетках. ИГХ окр. с АТ к ССТР4 типа. Ув. 400

роэндокринных клеток в перифокальной зоне. В 4-х наблюдениях была выявлена экспрессия ССТР 4 типа в амфикринных клетках, причем в 3-х наблюдениях она была умеренно «2+» и резко выраженной «3+». Экспрессия ССТР 5 типа была выявлена в 3-х наблюдениях, но характеризовалась слабым неполным окрашиванием мембран клеток. Лишь в 11,5% наблюдений не было выявлено никакой экспрессии ССТР.

При РЖ без нейроэндокринного компонента экспрессия ССТР была как цитоплазматической, так и мембранной. Мы не выявили статистически значимой связи между гистологическим вариантом и выраженностью экспрессии ССТР. В 73,7% наблюдений была выявлена экспрессия хотя бы одного из 5 типов соматостатиновых рецепторов. Однако экспрессия на уровне «2+» была выявлена лишь в 21%. Экспрессия ССТР 1, 2, 3 и 5 типов на уровне «2+» — в 5,3%, ССТР 4 типа — 10,6%. Ни в одном наблюдении не было выявлено экспрессии на уровне «3+». В 26,3% вообще не было выявлено экспрессии ССТР.

В 100% наблюдений высококодифференцированных НЭО была выявлена экспрессия хотя бы

одного из 5 типов ССТР, причем в 95% — на уровне «3+». Экспрессия ССТР 1 типа была выявлена в 15%, на уровне «3+» в 5%, и «2+» — в 10%. Чаще всего и наиболее выраженной была экспрессия ССТР 2 типа — в 75% на уровне «3+», и в 15% — на уровне «2+». Экспрессии ССТР 3 типа не было выявлено ни в одном наблюдении высококодифференцированных НЭО. Несмотря на то, что экспрессия ССТР 4 типа была выявлена в 100%, но лишь в 20% — на уровне «3+», еще в 20% — «2+», и в остальных 60% — «1+». В 65% была выявлена экспрессия ССТР 5 типа («3+» — 50%, «2+» — 10%, «1+» — 5%).

Обсуждение

Экспрессия соматостатиновых рецепторов в нейроэндокринных и смешанных адено-нейроэндокринных карциномах была преимущественно слабо и умеренно выраженная. В карциномах с очаговым нейроэндокринным компонентом и без него экспрессия различных типов соматостатиновых рецепторов выявлялась в 61,8% наблюдений (в 38% наблюдений

на уровне «2+» и «3+»). В группе высокодифференцированных нейроэндокринных опухолей в 100% наблюдений была выявлена экспрессия хотя бы одного из 5 типов соматостатиновых рецепторов, причем в 95% — на уровне «3+».

Вывод

Экспрессия соматостатиновых рецепторов в карциномах желудка наблюдается не только в нейроэндокринном компоненте, но и в экзокринном, что может стать перспективным направлением для применения таргетной терапии аналогами соматостатина при раке желудка. Исследованная группа слишком мала для выявления статистически значимых отличий в зависимости от доли нейроэндокринного компонента в опухоли, но показывает перспективу выполнения исследования на больших выборках.

Вклад авторов:

Кит О.И. — редакция статьи, организационно-методическая поддержка;

Дерижанова И.С. — редакция статьи, консультация по гистологическим и иммуногистохимическим препаратам;

Карнаухов Н.С. — написание статьи, гистологические и иммуногистохимические исследования;

Новикова И.А. — редакция статья;

Трифанов В.С. — сбор клинических данных, доработка статьи;

Каминский Г.В. — сбор клинических и литературных данных.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии в статье конфликта интересов.

Финансирование

Исследование не имело спонсорской поддержки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Руководство по иммуногистохимической диагностике опухолей человека. 4-е изд., доп. и перераб. / Под ред. С.В.Петрова, Н.Т.Райхлина // DESIGNstudio «RED». 2004.
2. Shi et al: Somatostatin methylation in gastric cancer // Oncology letters. 2013;6:1794–1798.
3. Krystallenia I. Alexandraki, Aggeliki Karapanagioti et al. Advances and Current Concepts in the Medical Management of Gastroenteropancreatic Neuroendocrine Neoplasms // BioMed Research International Volume. 2017:12.
4. Pavel M, Baudin E, Couvelard A et al. Barcelona Consensus Conference participants: ENETS Consensus Guidelines for the management of patients with liver and other distant metastases from neuroendocrine neoplasms

- of foregut, mid-gut, hindgut, and unknown primary // Neuroendocrinology. 2012;95:157–176.
5. Volante M, Brizzi MP, Faggiano A et al. Somatostatin receptor type 2A immunohistochemistry in neuroendocrine tumors: a proposal of scoring system correlated with somatostatin receptor scintigraphy // Mod Pathol. 2007;20:1172–82.
6. Körner M, Waser JB, Reubi C. Does Somatostatin or Gastric Inhibitory Peptide Receptor Expression Correlate with Tumor Grade and Stage in Gut Neuroendocrine Tumors? // Neuroendocrinology. 2015;101:45–57.
7. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries // CA Cancer J Clin. 2018;68:394–424.
8. Rawla P, Barsouk A. Epidemiology of gastric cancer: global trends, risk factors and prevention // Gastroenterology Rev. 2019;14:26–38.
9. Кит О.И., Дерижанова И.С., Карнаухов Н.С. Вопросы классификации нейроэндокринных опухолей желудка // Вопросы онкологии. 2016;62(5):573–579.
10. Пат. 2613300 Российская Федерация, МПК G01N. Способ диагностики низкодифференцированного нейроэндокринного рака желудка [текст] / Кит О.И., Дерижанова И.С., Карнаухов Н.С.; заявитель и патентообладатель Ростовский научно-исследовательский онкологический институт. (RU). № 2015148302; заявл. 10.11.2015; опубл. 15.03.2017, Бюл. № 8. 11 с.: илл.

Поступила в редакцию 04.06.2019 г.

O.I. Kit¹, I.S. Derizhanova², N.S. Karnaukhov¹, I.A. Novikova¹, V.S. Trifanov¹, G.V. Kaminsky¹

Features of expression of somatostatin receptors in gastric carcinomas, depending on the proportion of the neuroendocrine component

¹ National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russia

² Rostov State Medical University, Russia

In 50 patients with gastric cancer, a neuroendocrine component was screened using immunohistochemical studies with antibodies to chromogenic and synaptophysin in the surgical material, as well as a somatostatin receptor status researcher (SSTR). The neuroendocrine component in various proportions was found in 62% of observers. In 2 neuroendocrine carcinomas, expression of type 2 SSTR was observed at the level of «2+», and only one adeno-neuroendocrine carcinoma produced the same expression. In carcinomas with and without neuroendocrine component, the expression of various types of SSTR was detected in 61.8% of observers in both neuroendocrine and exocrine structures. In the group of highly differentiated neuroendocrine tumors, 100% of the observers detected the expression of at least one of the 5 types of somatostatin receptors, and in 95% — at the «3+» level. The data obtained do not allow making statistically significant conclusions about the dependence of the expression of SSTR on the presence of the neuroendocrine component, but with the prospect of further study not only in neuroendocrine tumors, but also in exocrine and mixed carcinomas.

Key words: gastric cancer, neuroendocrine tumors, somatostatin receptors

*А.Н. Сидорова, В.Н. Клименко, А.М. Щербаков, О.Б. Ткаченко, О.В. Яйкова,
М.В. Гринкевич, Ю.В. Петрик, О.В. Ивко, А.Л. Муравцева*

Эндоскопическая диссекция в подслизистом слое в лечении раннего рака толстой кишки

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

Целью проведенного исследования явилась оценка эффективности применения эндоскопического внутриспросветного метода лечения при раннем раке толстой кишки. За период с 2014 по 2020 г. в НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова путем эндоскопической диссекции в подслизистом слое прооперировано 165 пациентов cTis-T1N0M0 стадией колоректального рака, среди которых 103 женщины и 62 мужчины в возрасте от 29 до 89 лет (средний возраст 64 года). Методика позволила удалить опухоли единым блоком во всех случаях, вне зависимости от их размера и локализации. Интра- и ранние послеоперационные осложнения отмечены у 14 (8,4%) больных, послеоперационной летальности нет. В представленном исследовании эндоскопическая диссекция в подслизистом слое показала технический успех в 100% случаев, с риском послеоперационных осложнений в 4,2% и радикальностью в 80,7% случаев. Таким образом, эта методика может быть рекомендована для лечения раннего рака толстой кишки ввиду своей высокой эффективности и безопасности.

Ключевые слова: ранний рак толстой кишки, эндоскопическая диссекция в подслизистом слое

Введение

Значимость проблемы рака толстой кишки определяется высоким уровнем распространения и смертности, а также тенденцией к росту заболеваемости. По данным мировой статистики колоректальный рак является одним из самых распространенных онкологических заболеваний в мире, занимая третье место по частоте встречаемости и второе по уровню смертности [1]. В Российской Федерации за последние 20 лет рак толстой кишки в структуре онкологической заболеваемости переместился с шестого на третье место, что свидетельствует о значительном росте заболеваемости в нашей стране и актуальности данной проблемы [2]. В связи с активным динамическим ростом и высокой

распространенностью колоректального рака повышенную актуальность приобретает вопрос выявления его ранних форм. По данным статистики из 39 200 впервые выявленных в России злокачественных новообразований ободочной кишки в 2017 г. всего 9,6% из них имели раннюю форму заболевания, а в прямой кишке этот показатель составил 12,3% [2]. Увеличению выявляемости раннего рака толстой кишки несомненно способствуют современные возможности эндоскопии. Эндоскопы с высокой разрешающей способностью (High-Definition), функцией узкоспектрального режима и оптическим увеличением, хромоскопия, а также эндосонография позволяют существенно повысить диагностику рака толстой кишки на ранней стадии и, тем самым, улучшить статистические показатели выживаемости больных с данной патологией [3–9].

В настоящее время в мировой литературе нет единого мнения касательно формулировки термина «ранний рак толстой кишки». Так, в руководстве Европейского общества онкологов (ESMO) 2017 г. под данным понятием подразумеваются карциномы, распространяющиеся в пределах слизистого и подслизистого слоя, без поражения регионарных лимфатических узлов (T1N0), без факторов высокого риска лимфогенного метастазирования, таких как дифференцировка G3 и лимфоваскулярная инвазия [10]. Японская классификация рака толстой кишки (2019 г., 3-е издание) определяет ранний рак как опухоль с глубиной инвазии Tis и T1 вне зависимости от наличия или отсутствия метастазов [11]. Российское общество клинической онкологии (RUSSCO) к раннему раку толстой кишки относит опухоли 0–I стадии (Tis-T1sm1 N0M0) [12].

В эндоскопической практике, в том числе и в России, активно используется Парижская эндоскопическая классификация опухолевых поражений толстой кишки по макроскопическим типам опухолей, принятая в 2002 г. и доработанная в 2005 г. [13, 14], согласно которой ранний рак (Tis-T1) толстой кишки относится к типу 0 — поверхностным новообразованиям, к типам 1–5 относятся инвазивные, прогрессив-

ные аденокарциномы. В свою очередь, тип 0 имеет подклассы, разделяющие поверхностные новообразования на полиповидные, непалиповидные и углубленные. К полиповидным (выше 2,5 мм) относятся образования на ножке (0-Ip) и на широком основании (0-Is). Непалиповидные подразделяются на плоскоприподнятые (0-IIa), плоские (0-IIb), плоско-углубленные (0-IIc) и смешанные. Углубленные представлены язвенным типом (0-III). Опухоли, характеризующиеся преимущественно латеральным типом роста и имеющие более 10 мм в диаметре, классифицируются как латерально-распространяющиеся (LST) [15]. Выделение опухолей этой группы имеет большое значение, так как их удаление представляет повышенную техническую сложность и метод их удаления до сих пор является предметом дискуссии [16]. LST разделены на подклассы: гранулярные (LST-G), которые включают гомогенный (LST-G-H) и нодулярно-смешанный (LST-G-NM) подтипы и негранулярные LST (LST-NG), которые включают плоско-приподнятый (LST-NG-FE) и псевдодепрессивный (LST-NG-PD) подтипы [15]. Гомогенные гранулярные и плоско-приподнятые негранулярные подтипы LST соответствуют Парижскому 0-IIa подтипу, нодулярно-смешанные гранулярные LST состоят из комбинации Парижских подтипов 0-IIa и 0-Is, а псевдодепрессивный негранулярный подтип LST состоит из комбинации Парижских подтипов 0-IIa и 0-IIc [14].

Дискутабельным остается вопрос, относящийся к стадированию опухолей толстой кишки по глубине опухолевой инвазии. В японской классификации рака толстой кишки (3-е издание) [11] и в классификации предложенной Американским объединенным онкологическим комитетом (AJCC, 8-е издание) [17] утверждены стандартные обозначения глубины инвазии: Tis — опухоль распространяется в пределах слизистой оболочки, но не инвазирует в подслизистый слой (не прорастает мышечную пластинку слизистой); T1 — опухоль ограничена подслизистым слоем и не распространяется на мышечную оболочку стенки кишки. Однако в японской классификации рака толстой кишки [11] имеется разделение группы T1 на подгруппу T1a, при которой опухоли ограничены глубиной инвазии подслизистого слоя не более 1000 μm , и T1b, если опухоли прорастают в подслизистый слой более чем на 1000 μm , но не достигают мышечного слоя стенки.

Российские клинические рекомендации по лечению рака прямой и ободочной кишки от 2017 г. [18, 19] в стадировании раннего рака толстой кишки по критерию T придерживаются классификации Kikuchi [20], по которой T1sm1 — глубина инвазии подслизистого слоя до

1/3; T1sm2 — умеренная глубина инвазии подслизистого слоя — до 2/3; T1sm3 — полная инвазия опухолью всего подслизистого слоя. Оценка глубины инвазии подслизистого слоя толстой кишки является одним из факторов, имеющим основополагающее значение в прогнозировании риска метастазирования опухоли и эффективности локального иссечения [21–23]. Так, по данным проведенного исследования Kitajima и соавт. (2004) отмечается отсутствие лимфогенного метастазирования при инвазии опухоли в подслизистый слой менее чем на 1000 μm и появление метастазов в регионарных лимфатических узлах в 12,5% карцином, инвазирующих подслизистый слой более чем на 1000 μm . В то же время, это исследование показало частоту лимфогенного метастазирования на уровне 1,3% в случаях глубокой инвазии подслизистого слоя при отсутствии других факторов негативного прогноза [22]. К таким факторам, ведущим к раннему лимфогенному метастазированию рака толстой кишки, относятся: наличие лимфоваскулярной инвазии; неблагоприятный гистологический тип опухоли (низкодифференцированная, перстневидноклеточная или муцинозная аденокарцинома); наличие budding 2–3 степени [21, 24, 25].

До недавнего времени золотым стандартом лечения колоректального рака, включая и ранние формы, являлись классические хирургические методики резекции толстой кишки, однако, опираясь на данные исследований отдаленных результатов [26], малоинвазивные методы локального лечения ранних раков с низким риском метастазирования стали активно развиваться и планомерно замещать стандартные. Одним из таких методов лечения раннего рака толстой кишки является эндоскопическая диссекция в подслизистом слое (ЭДПС), endoscopic submucosal dissection — ESD). Данная методика была разработана японскими учеными в конце 1990-х годов для лечения раннего рака желудка, впоследствии активно развивалась, стала применяться не только в желудке, но и в толстой кишке. Предложенный метод имеет несомненные преимущества по сравнению с хирургическим, выражающиеся в меньшем количестве интра- и послеоперационных осложнений и летальности, а также в лучшем качестве жизни пациентов в послеоперационном периоде [27]. Тем не менее, несмотря на очевидные преимущества, в современных рекомендациях роль эндоскопического лечения раннего рака толстой кишки регламентирована не в полной мере, что, в первую очередь, связано с отсутствием единого мнения относительно показаний к данным операциям. Так, в японском руководстве по лечению колоректального раннего рака (2019 г.) данными показаниями являются: уровень инвазии Tis или

T1(sm инвазия <1000 μm), любой размер и макроскопический тип, высокая или умеренная степень дифференцировки опухоли. При выявлении факторов риска лимфогенного метастазирования: sm инвазия ≥1000 μm, лимфоваскулярная инвазия, низкая дифференцировка опухоли, перстневидно-клеточная или муцинозная аденокарцинома, показана резекция кишки с лимфодиссекцией [21]. Европейские рекомендации по лечению раннего рака ободочной кишки [28] допускают эндоскопическое удаление только для стадии TisN0M0, а для стадии T1–2N0M0 рекомендуется выполнение хирургической резекции с формированием анастомоза. В Американских рекомендациях по лечению раннего рака ободочной кишки [29] регламентировано эндоскопическое удаление при инвазии T1 в случае резекции единым блоком в пределах здоровых тканей и при отсутствии неблагоприятных патоморфологических признаков. Российские рекомендации по лечению рака ободочной кишки [18] предлагают метод эндоскопической резекции слизистой или эндоскопической диссекции в подслизистом слое для рака Tis–T1sm1N0M0. Удаление считается радикальным при отсутствии факторов неблагоприятного прогноза, таких как дифференцировка опухоли ≥G3; наличие опухолевых клеток в краях резекции; лимфатическая, сосудистая или перинеуральная инвазия; четвертый уровень инвазии по Haggitt (вовлечение подслизистой оболочки толстой кишки), >pT1sm1. В Российских и Американских рекомендациях по лечению рака прямой кишки, как метод органосохраняющего лечения предлагается трансанальная эндоскопическая резекция (ТЕО), имеющая ограничение по размеру опухоли (размеры опухоли <3 см, поражение не более 30% окружности кишки) и расположению (в пределах 8 см от ануса), а методики гибкой эндоскопии не освещены [19, 30].

Как видно из представленного обзора имеющихся рекомендаций, определяется тенденция к органосохраняющему внутрипросветному эндоскопическому лечению раннего рака толстой кишки, однако показания к ним остаются предметом дискуссии. Кроме того, необходимо подчеркнуть, что публикуемый опыт по данной тематике в значительной части принадлежит иностранным авторам, это свидетельствует о том, что отечественным исследователям необходимы свои наработки, основанные на собственном материале, в связи с чем и было предпринято настоящее исследование.

Материалы и методы

С целью изучения эффективности применения эндоскопической диссекции в подслизистом слое (ЭДПС) в лечении больных ранним раком толстой кишки на отделении эндоскопии «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» в

период с 2014 по 2020 гг. прооперировано 165 пациентов, у которых по данным предоперационного обследования был диагностирован ранний рак толстой кишки (сTis–T1N0M0), среди которых 103 женщины и 62 мужчины в возрасте от 29 до 89 лет (средний возраст 64 года). Пациентам в предоперационном периоде выполнялась колоноскопия с осмотром в узкоспектральном освещении и режиме оптического увеличения изображения, эндоскопическая ультрасонография, щипцевая биопсия выявленных образований с последующей морфологической верификацией. С целью оценки регионарного и отдаленного метастазирования проводилась КТ органов грудной клетки и брюшной полости с контрастированием, МРТ органов малого таза при локализации опухоли в прямой кишке и ректосигмоидном отделе.

По данным колоноскопии локализация образований у данных пациентов была следующая: слепая кишка — 11 (6,7%), восходящая ободочная кишка — 20 (12,1%), поперечная ободочная кишка — 12 (7,3%), нисходящая ободочная кишка — 3 (1,8%), сигмовидная кишка — 24 (14,5%), ректосигмоидный отдел — 18 (10,9%), прямая кишка — 77 (46,7%). Размеры опухолей варьировали от 1 до 19 см (средний размер 4,3 см), при этом от 1 до 3 см — 53 (32,2%) образования, а от 3 см и более — 112 (67,8%). У 6 больных опухоли имели циркулярный характер. По Парижской классификации опухоли были представлены следующими типами роста: преимущественно плоский (0–Ia, 0–Ia+Ic) — 5 (3,0%), преимущественно экзофитный на широком основании (0–Is, 0–Is+Ic) — 13 (7,9%), преимущественно экзофитный на узком основании (0–Ip, 0–Ip) — 30 (18,2%), LST-G-H — 15 (9,1%), LST-G-NM — 73 (44,3%), LST-NG-PD — 24 (14,5%), LST-NG-FE — 5 (3,0%). Из этого следует, что подавляющая часть новообразований имела латерально распространяющийся тип роста.

Степень опухолевой инвазии определялась как с помощью узкоспектрального освещения с оптическим увеличением, так и с использованием эндосонографии, в особенности опухолей, локализованных в прямой кишке. Также с данной целью применялась инструментальная тракция новообразований. У всех больных, по результатам дооперационных исследований, опухоли были расценены как ранние (сTis–T1a), однако по результатам щипцевой биопсии карцинома была подтверждена не во всех случаях: аденома с высокой степенью дисплазии High Grade или карцинома *in situ* в 64 (38,8%) случаев, в 57 (34,5%) — аденома с дисплазией Low Grade, в 44 (26,7%) — дифференцированные (G1–G2) аденокарциномы.

Удаление опухоли без нарушения ее целостности способствует выполнению адекватного морфологического исследования удаленного образца с достоверной оценкой краев резекции и факторов неблагоприятного прогноза. Поэтому предпочтение было отдано методике эндоскопической диссекции в подслизистом слое, как методу внутрипросветного органосохраняющего лечения, позволяющему удалить опухоль единым блоком, независимо от ее размера и локализации в толстой кишке. Все операции проводились под эндотрахеальным наркозом с использованием видеосистемы OLYMPUS EXERA II CV-180, колоноскопа OLYMPUS CF-H 180 AL и электрохирургического блока ERBE VIO 200D. Во время операции при осмотре в узком спектре света определяли границы опухоли. Для отделения опухоли слизистой оболочки или подслизистого слоя от мышечной оболочки выполнялась инъекция раствора гидроксипропилкрахмала, окрашенного индиго карминовым, в подслизистый слой при помощи эндоскопического инъектора. Отступая не менее 5 мм от края опухоли выполнялся окаймляющий разрез слизистой и подслизистой оболочки при помощи ножа FineMedix I-тип, длиной 2 мм, затем проводилось удаление слизи-

стой оболочки с опухолью путем эндоскопической диссекции в подслизистом слое. Визуально оценивалась операционная поверхность на предмет кровотечения, перфорации и наличия резидуальной опухолевой ткани. Далее препарат извлекался, фиксировался к пенопластовой подложке в растянутом состоянии при помощи булавок, погружался в 10% раствор формалина и передавался для гистологического исследования.

Результаты и обсуждение

Технический успех операции был достигнут в 100% случаев. У всех пациентов опухоль была удалена единым блоком. Средняя длительность операции составила 115 мин (от 20 до 400 мин). Ранняя активизация больных начиналась через 1–1,5 ч после наркоза. Питье и мягкая пища разрешалась к приему сразу после операции, прием твердой пищи — на следующий день. Интраоперационные осложнения были отмечены у 9 (5,4%) пациентов, из них: кровотечение — 1 (0,6%), купировано путем эндоскопического гемостаза; перфорация стенки кишки в 8 случаях (4,8%), у всех дефекты ликвидированы эндоскопически при помощи клипирования. В раннем послеоперационном периоде отмечалось: кровотечения из дефекта слизистой у 5 (3,0%) пациентов, купированы путем эндоскопического гемостаза; отсроченная перфорация стенки ободочной кишки в зоне диссекции у 2 (1,2%) пациентов, для устранения которой потребовалось хирургическое вмешательство. В позднем послеоперационном периоде у 5 (3,0%) пациентов в области диссекции сформировались стриктуры со стенозированием просвета после удаления циркулярных опухолей, последние устранены путем эндоскопической баллонной дилатации. Послеоперационной летальности в группе больных

после эндоскопического лечения раннего рака толстой кишки не было.

По данным послеоперационного патогистологического исследования по дифференцировке опухоли распределялись следующим образом: дифференцированный тип аденокарциномы — 163 (98,8%), муцинозная карцинома — 1 (0,6%), смешанная адено-нейроэндокринная карцинома (MANEC) — 1 (0,6%). Глубина опухолевой инвазии по результатам послеоперационного патогистологического исследования биоптатов и распределение ее в группах по макроскопическому типу Парижской классификации представлена в табл. 1.

Распределение глубины опухолевой инвазии относительно размера опухоли представлено в табл. 2.

Приведенное распределение демонстрирует, что размер опухоли не является предиктором более глубокой инвазии.

Пациентам с выявленной глубиной инвазии >T1sm1 (27) было предложено дополнительное лечение: 12 больным, в том числе с инвазией T2, произведена резекция кишки с регионарной лимфодиссекцией, еще в 2 случаях эндоскопическое лечение было дополнено лучевой терапией, а 13 пациентов от предложенного хирургического лечения воздержались и продолжают наблюдаться.

Лимфоваскулярная инвазия по результатам патоморфологического исследования препаратов отмечена у 5 пациентов, из них у 3 глубина инвазии составляла T1sm1, а у 2 — >T1sm1, при этом у одного из них опухоль по гистологическому типу была представлена муцинозной аденокарциномой с инвазией T2 и еще в одном случае сочеталась с tumor budding 3 степени.

Таблица 1. Глубина опухолевой инвазии по результатам послеоперационного патогистологического исследования биоптатов и распределение ее в группах по макроскопическому типу Парижской классификации

Макроскопический тип (Парижская классификация)	Tis	T1sm1	T1>sm1	T2	Всего
0-IIa, 0-IIa+IIc	4	1	–	–	5
0-Is, 0-Is+IIc	8	2	3	–	13
0-Ip, 0-Isp	17	4	9	–	30
LST-G-H	13	1	1	–	15
LST-G-NM	58	7	8	–	73
LST-NG-PD	13	5	4	2	24
LST-NG-FE	5	–	–	–	5
Всего	118 (71,5%)	20 (12,1%)	25 (15,2%)	2 (1,2%)	165 (100%)

Таблица 2. Распределение глубины опухолевой инвазии относительно размера опухоли

Размер опухоли	Tis	T1sm1	T1>sm1	T2	Всего
<3 см	33(62,3%)	9(16,9%)	10(18,9%)	1(0,9%)	53
>3 см	85(75,9%)	11(9,8%)	15(13,4%)	1(0,9%)	112

Двум пациентам данной группы с T1sm1 проведенное лечение было дополнено лучевой терапией, а остальным 3 — хирургическим лечением. По результатам хирургического лечения больных данной группы, у двух пациентов с дифференцированными типами аденокарцином LST-NG-PD размерами около 1 см, T1sm1 и Isp размерами 2 см, T1sm2 соответственно и наличием у них лимфоваскулярной инвазии, отмечены регионарные метастазы. В одном случае выявленная лимфоваскулярная инвазия сочеталась со смешанным гистологическим типом опухоли MANEC (адено-нейроэндокринная опухоль), представленной латерально-стелющейся опухолью смешанного типа (LST-G-NM). Tumor budding 2–3 степени по результатам заключительного патологоанатомического исследования выявлен у 5 (3,0%) пациентов, у 3 из них отмечено сочетание с T1sm2. Данным больным была произведена резекция кишки с лимфодиссекцией.

Наблюдение за пациентами исследуемой группы производилось в следующем объеме: колоноскопия с детальным осмотром зоны диссекции и поиском метастазов один раз в 6 мес первые 3 года с момента операции и далее ежегодно. В этом же режиме выполнялась КТ органов грудной клетки и брюшной полости с внутривенным контрастированием (МРТ малого таза с внутривенным контрастированием для опухолей прямой кишки и ректосигмоидного соединения). Отдаленные результаты наблюдения: более 5 лет — 31 пациент, из них одна больная умерла не от основного заболевания; более 3 лет — 43 пациента, от 1 до 3 лет — 91 пациент. За время наблюдения за пациентами рецидива или прогрессирования заболевания не отмечено.

Анализируя результаты проведенного исследования необходимо отметить, что в исследуемую группу в основном вошли люди пожилого возраста (средний возраст 64 года), а около 20% из них старше 70 лет. Почти половина опухолей (47%) локализовалась в прямой кишке, остальные были достаточно равномерно распределены в других отделах толстой кишки. Размеры опухолей у 67,8% составляли от 3 см и более, в основном (76,9%) имели латерально распространяющийся тип роста. По морфологическому строению опухолей в 98,8% установлена дифференцированная аденокарцинома. Время операций в основном зависело от размеров образования и удобства доступа и в среднем составило 115 мин. Основные интраоперационные осложнения, заслуживающие внимания, отмеченные у 8 (4,8%) пациентов в виде перфораций стенки, были устранены эндоскопически путем клипирования и не сказались на отдаленных резуль-

татах. Ранние послеоперационные осложнения в виде отсроченной перфорации стенки возникли у 2 (1,2%) больных, для их купирования потребовалась резекция кишки. Незначительные интра- и послеоперационные осложнения свидетельствуют об относительной безопасности метода. Ранний восстановительный период больных после ЭДПС в среднем составил 24 ч, а на 3–4-е сутки после операции подавляющее число пациентов выписалось из стационара, что подтверждает малоинвазивность метода. Из 165 прооперированных больных у 133 (80,7%) лечение было признано радикальным, а у 32 (19,3%) пациентов по результатам заключительного патоморфологического исследования были установлены неблагоприятные прогностические факторы (глубина инвазии >T1sm1, наличие лимфоваскулярной инвазии, tumor budding 2–3 степени) и им было предложено дополнительное лечение. Резекция кишки с регионарной лимфодиссекцией выполнена 14 пациентам, еще двоим на область первичной опухоли и зону регионарных лимфоузлов была проведена дистанционная лучевая терапия, 16 больных от предложенного дополнительного лечения воздержались и продолжают наблюдаться.

По результатам резекций с лимфодиссекцией у двух пациентов с дифференцированными типами аденокарцином LST-NG-PD, T1sm1 и Isp, T1sm2 и наличием у них лимфоваскулярной инвазии были выявлены регионарные метастазы. Примечательно, что размеры опухолей у данных пациентов составляли 1 и 2 см соответственно. Полученные на этот счет данные свидетельствуют о том, что размеры опухолей, подвергшихся ЭДПС при раннем раке толстой кишки, имеют относительное значение в плане показаний и противопоказаний к данному виду операций. Более важное значение на этот счет имеет наличие в удаляемом препарате признаков лимфоваскулярной инвазии, tumor budding 2–3 степени, низкой дифференцировки опухоли, а также глубины инвазии >T1sm1, что является показанием к выполнению хирургических резекций с регионарной лимфодиссекцией.

Руководствуясь нашим опытом, показаниями к ЭДПС при раке толстой кишки являются: уровень инвазии Tis или T1sm1; любой размер и макроскопический тип; высокая или умеренная дифференцировка опухоли. На основании полученных результатов можно заключить, что эндоскопическая диссекция в подслизистом слое при соблюдении ряда правил является высокоэффективным, малоинвазивным и относительно безопасным (95,8%) методом радикального органосохраняющего лечения больных ранним раком толстой кишки любого размера и локализации.

Заключение

Данные мировой литературы и наш собственный опыт, представленный в проведенном исследовании, свидетельствуют, что дальнейшая разработка и изучение возможностей применения эндоскопической диссекции в подслизистом слое в лечении раннего рака толстой кишки являются весьма перспективным направлением в онкологической практике. Представленная технология, при соблюдении ряда правил, зарекомендовала себя как высокотехнологичный, малоинвазивный, эффективный и относительно безопасный метод радикального лечения больных данной категории.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии в статье конфликта интересов.

Финансирование

Исследование не имело спонсорской поддержки.

ЛИТЕРАТУРА

- Щаева С.Н. Экстренные резекционные вмешательства у больных осложненным раком правой и левой половины ободочной кишки: отдаленные результаты // Онкологическая колопроктология. 2019;9(2):38–46. doi:10.17650/2220-3478-2018-8-2-46-54 [Schaeva S.N. Emergency resections in patients with complicated right and left-sided colon cancer: long-term outcomes // Pelvic Surgery and Oncology. 2018;8(2):46–54. (In Russ.)]. doi:10.17650/2220-3478-2018-8-2-46-54
- Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Состояние онкологической помощи населению России в 2017 году. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена — филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2018. ISBN 978-5-85502-237-7 [Kaprin A.D., Starinsky V.V., Petrova G.V. The state of oncological assistance to the population of Russia in 2017. M.: MNI OI im. P.A. Gertsena — filial FGBU «NMIC radiologii» Minzdrava Rossii, 2018. ISBN 978-5-85502-237-7 (In Russ.)].
- Карасев И.А., Перфильев И.Б., Мазуров С.Т., Поддубный Б.К. Комплексное применение эндоскопических методов в диагностике ранних форм рака толстой кишки // Онкологическая колопроктология. 2013;2:40–45. doi: <https://doi.org/10.17650/2220-3478-2013-0-2-42-47> [Karasyov I.B., Perfilyev S.T., Mazurov B.K., Poddubny N.N. Combined use of endoscopic techniques in the diagnosis of early colonic cancer // Oncologicheskaya koloproktologia. 2013;2:40–45 (In Russ.)]. doi:10.17650/2220-3478-2013-0-2-42-47
- Roelandt P, Demedts I, Willekens H et al. Impact of endoscopy system, high definition, and virtual chromoendoscopy in daily routine colonoscopy: a randomized trial // Endoscopy. 2019;51:237–243. doi:10.1055/a-0755-7471
- Brown SR, Baraza W, Din S, Riley S. Chromoscopy versus conventional endoscopy for the detection of polyps in the colon and rectum // Cochrane Database Syst Rev. 2016;4:CD006439. doi:10.1002/14651858.CD006439.pub4
- Kahi CJ, Anderson JC, Waxman I et al. High-definition chromocolonoscopy vs. high-definition white light colonoscopy for average-risk colorectal cancer screening // Am J Gastroenterol. 2010;105(6):1301–7. doi: 10.1038/ajg.2010.51
- Kudo S, Tamura S, Nakajima T et al. Diagnosis of colorectal tumorous lesions by magnifying endoscopy // Gastrointest Endosc. 1996;44:8–14.
- Malmstrom ML, Saftoiu A, Vilmann P et al. Endoscopic ultrasound for staging of colonic cancer proximal to the rectum: A systematic review and meta-analysis // Endosc Ultrasound. 2016;5(5):307–314. doi:10.4103/2303-9027.191610
- Chan BPH, Patel R, Mbuagbaw L et al. EUS versus magnetic resonance imaging in staging rectal adenocarcinoma: a diagnostic test accuracy meta-analysis // Gastrointestinal Endoscopy. 2019;90(2):196-203.e1. doi:10.1016/j.gie.2019.04.217
- Glynn-Jones R, Wyrwicz L, Tiret E et al. ESMO Guidelines Committee. Rectal cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up // Ann Oncol. 2017;28(suppl_4):iv22–iv40. doi:10.1093/annonc/mdx224
- Japanese Society for Cancer of the Colon and Rectum. Japanese Classification of Colorectal, Appendiceal, and Anal Carcinoma: the 3d English Edition [Secondary Publication] // J Anus Rectum Colon. 2019;3(4):175–195. doi:10.23922/jarc.2019-018
- Федянин М.Ю., Ачкасов С.И., Болотина Л.В. и др. Практические рекомендации по лекарственному лечению рака ободочной кишки и ректосигмоидного соединения // Злокачественные опухоли: Практические рекомендации RUSSCO. 2019;9:324–364. doi:10.18027/2224-5057-2020-10-3s2-22 [Fedyanin MU, Achkasov SI, Bolotina LV et al. Practical guidelines for drug treatment of colon and rectosigmoid cancer // Malignant tumors: practical guidelines RUSSCO. 2019;9:324–364 (In Russ.)]. doi:10.18027/2224-5057-2020-10-3s2-22
- The Paris endoscopic classification of superficial neoplastic lesions: esophagus, stomach, and colon: November 30 to December 1, 2002 // Gastrointest Endosc. 2003;58(6 Suppl):S3–43. doi: 10.1016/s0016-5107(03)02159-x
- Endoscopic Classification Review Group. Update on the Paris classification of superficial neoplastic lesions in the digestive tract // Endoscopy. 2005;37(6):570–8. doi:10.1055/s-2005-861352
- Kudo S, Lambert R, Allen J et al. Nonpolypoid neoplastic lesions of the colorectal mucosa // Gastrointest Endosc. 2008;68:S3–S47. doi:10.1016/j.gie.2008.07.052
- Bogie RMM, Veldman MHJ, Snijders LARS et al. Endoscopic subtypes of colorectal laterally spreading tumors (LSTs) and the risk of submucosal invasion: a meta-analysis // Endoscopy. 2018;50(3):263-282. doi: 10.1055/s-0043-121144
- Brierley JD, Gospodarowicz MK, Wittekind C. (eds). TNM Classification of Malignant Tumours, 8th edition. Oxford: John Wiley & Sons, Inc., 2016. ISBN:978-1-119-26357-9
- Ассоциация онкологов России. Российские рекомендации по лечению рака ободочной кишки и ректосигмоидного отдела, 2017. Министерство здравоохранения Российской Федерации. URL: https://oncology-association.ru/docs/rak_obodochnoy_kishki.pdf [Russia oncology association. Russian Recommendations for the Treatment of Colorectal and Rectosigmoid

- Cancer, 2017. Ministerstvo zdravoohraneniya Rossiyskoy Federatsii. (In Russ.). URL: https://oncology-association.ru/docs/rak_obodochnoy_kishki.pdf
19. Ассоциация онкологов России. Российские рекомендации по лечению рака прямой кишки 2017. Министерство здравоохранения Российской Федерации. URL: https://oncology-association.ru/docs/rak_pryamoy_kishki.pdf [Russia oncology association. Russian Recommendations for the Treatment of Colorectal and Rectosigmoid Cancer, 2017. Ministerstvo zdravoohraneniya Rossiyskoy Federatsii. (In Russ.). URL: https://oncology-association.ru/docs/rak_pryamoy_kishki.pdf
 20. Kikuchi R, Takano M, Takagi K et al. Management of early invasive colorectal cancer. Risk of recurrence and clinical guidelines // *Dis. Colon Rectum*. 1995;38(12):1286–95. doi: 10.1007/bf02049154
 21. Hashiguchi Y, Muro K, Saito Y et al. Japanese Society for Cancer of the Colon and Rectum. Japanese Society for Cancer of the Colon and Rectum (JSCCR) guidelines 2019 for the treatment of colorectal cancer // *Int J Clin Oncol*. 2020;25(1):1–42. doi:10.1007/s10147-019-01485-z
 22. Kitajima K, Fujimori T, Fujii S et al. Correlations between lymph node metastasis and depth of submucosal invasion in submucosal invasive colorectal carcinoma: a Japanese collaborative study // *J Gastroenterol*. 200;39:534–543 doi:10.1007/s00535-004-1339-4
 23. Morino M, Allaix ME, Caldart M et al. Risk factors for recurrence after transanal endoscopic microsurgery for rectal malignant neoplasm // *Surg Endosc*. 2011;25(11):3683–90. doi: 10.1007/s00464-011-1777-z
 24. Ueno H, Mochizuki H, Hashiguchi Y et al. Risk factors for an adverse outcome in early invasive colorectal carcinoma // *Gastroenterology*. 2004;127:385–394. doi: 10.1053/j.gastro.2004.04.022
 25. Ikematsu H, Yoda Y, Matsuda T et al. Long-term outcomes after resection for submucosal invasive colorectal cancers // *Gastroenterology*. 2013;144:551–559. doi: 10.1053/j.gastro.2012.12.003
 26. Chen T, Qin WZ, Yao LQ et al. Long-term outcomes of endoscopic submucosal dissection for high-grade dysplasia and early-stage carcinoma in the colorectum // *Cancer Commun (Lond)*. 2018;38(1):3. Published 2018 Mar 21. doi:10.1186/s40880-018-0273-4
 27. Kiriya S, Saito Y, Yamamoto S et al. Comparison of endoscopic submucosal dissection with laparoscopic-assisted colorectal surgery for early-stage colorectal cancer: a retrospective analysis // *Endoscopy*. 2012;44:1024–30. PMID:23012216 doi:10.1055/s-0032-1310259
 28. Labianca R, Nordlinger B, Beretta GD et al. ESMO Guidelines Working Group. Early colon cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up // *Ann Oncol*. 2013;24(Suppl 6):vi64–72. doi: 10.1093/annonc/mdt354
 29. Benson AIB, Venook AP, Al-Hawary MM. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN Guidelines) Colon Cancer. Version 2/2019. May 15, 2019. URL: https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/colon.pdf
 30. Benson AIB, Lurie RH, Venook AP, Al-Hawary MM. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN Guidelines) Rectal Cancer. Version 2/2019. May 15, 2019 URL: https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/rectal.pdf

Поступила в редакцию 16.08.2021 г.

*A.N. Sidorova, V.N. Klimenko, A.M. Sherbakov,
O.B. Tkachenko, O.V. Iaikova, M.V. Grinkevich,
Yu.V. Petrik, O.V. Ivko, A.L. Muravceva*

Endoscopic submucosal dissection for early colorectal cancer

Federal State Budget Institution «N.N. Petrov National Medical Research Centre of Oncology» Ministry of public health of Russian Federation, St Peterburg

The aim of the study was to evaluate the effectiveness of endoscopic submucosal dissection for early colorectal cancer. From 2014 to 2020 at the N.N. Petrov National Medical Research Centre of Oncology, 165 patients with stage cTis-T1N0M0 colorectal cancer were treated by endoscopic submucosal dissection, including 103 women and 62 men aged from 29 to 89 years (mean age 64 years). A single block resection was achieved in all cases, regardless of size and location. Intra- and early postoperative complications were observed in 14 (8.4%) patients, there was no postoperative mortality. In the presented study, endoscopic submucosal dissection showed technical success in 100% of cases, with a risk of postoperative complications of 4.2% and appeared curative in 80.7% of cases. Thus, this technique can be recommended for the treatment of early colorectal cancer due to its high efficiency and safety.

Key words: early colorectal cancer, endoscopic submucosal dissection

Л.В. Спирина^{1,2}, З.А. Юрмазов¹, Е.А. Усынин¹, И.В. Кондакова¹

Экспрессия и содержание VHL в ткани рака почки, связь с клинико-морфологическими параметрами заболевания и транскрипционными и ростовыми факторами

¹ НИИ онкологии Томского НИМЦ

² Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск

Введение. Гиперэкспрессия фактора HIF на фоне недостатка VHL является ключевым событием, связанным с манифестом и прогрессией светлоклеточного почечноклеточного рака. Однако значение данного показателя для развития заболевания и формирования ответа на таргетную терапию до конца неясно. Цель исследования заключалась в изучении связи экспрессии и содержания VHL в ткани рака почки с клинико-морфологическими параметрами и уровнем мРНК транскрипционных факторов NF-κB p65, NF-κB p50, HIF-1, HIF-2, ростового фактора VEGF и CAIX.

Материалы и методы. В исследование включено 39 пациентов с почечно-клеточным раком. Локализованная форма заболевания (T1–2N0M0) диагностирована у 20 больных, 19 пациентов имели диссеминированный процесс (T1–3N0–1M1). Материалом исследования являлась нормальная и опухолевая ткань, полученная при выполнении хирургического этапа лечения. Экспрессия VHL определялась методом ПЦР в реальном времени. Содержание белка pVHL оценивали с помощью метода Вестерн Блоттинг.

Результаты. В результате проведенного исследования отмечено, что рост уровня мРНК VHL в ткани опухоли совместно с количественным снижением соответствующего белка был связан с увеличением размера опухоли. Распространенность заболевания и развитие отдаленных метастазов были ассоциированы с ростом как мРНК, так и содержанием белка VHL в трансформированной опухолевой ткани. Отмечено наличие отрицательной корреляции между уровнем мРНК VHL, содержанием соответствующего белка и положительная ассоциация с экспрессией гена NF-κB p65. Содержание VHL в опухоли было ассоциировано с падением уровня мРНК NF-κB p50, NF-κB p65 и VEGF.

Обсуждение. Повышение экспрессии гена VHL и содержания соответствующего белка в ткани опухоли способствовало росту мРНК

транскрипционных факторов, в частности NF-κB, что, в свою очередь, сопровождалось прогрессией опухоли. Увеличение содержания белка VHL в опухолевой ткани приводило к снижению уровня мРНК транскрипционных и ростовых факторов, что, вероятно, связано с их инактивацией, в том числе и за счет протеасомного расщепления. Эти взаимодействия, на наш взгляд, являются важными этапами в онкогенезе рака почки.

Заключение. Увеличение экспрессии гена VHL и содержания белка pVHL имеет решающее значение в развитии заболевания, формировании отдаленных метастазов за счет активации транскрипционных, ростовых факторов.

Ключевые слова: VHL, pVHL, светлоклеточный рак почки, транскрипционные и ростовые факторы

Введение

Рак почки является распространенной злокачественной опухолью. Следует отметить, что более 50% заболевших нуждаются в проведении системной противоопухолевой терапии на момент первичного обращения или при прогрессировании опухолевого процесса после попытки радикального лечения [1]. Широко известен вклад дефицита белка-онкосупрессора — белка фон Хиппель–Линдау (pVHL) в развитие светлоклеточного рака почки, который представляет собой компонент E3 убиквитин-лигазы [2]. Известно, что соматическая мутация данного гена связана с нарастанием уровня фактора HIF и сопровождается интенсивным ростом опухоли [3].

Молекулярная картина развития накопления фактора HIF на фоне недостатка VHL является ключевым событием, связанным с манифестом и прогрессией светлоклеточного почечно-клеточного рака [1, 3]. Применение таргетной терапии при данном гистотипе связано с блокированием ключевых сигнальных каскадов. Однако, несмотря на все успехи лекарственная терапия не позволяет достичь высокой эффективности, а

обусловлено это рядом биологических и молекулярных факторов, формирующих агрессивное течение заболевания [4]. Имеются единичные исследования, предпринимавшие попытки поиска предсказательных маркеров, основанных на пути pVHL/HIF-1/VEGF [5, 6], однако они не подтверждаются в рандомизированных исследованиях и клинической практике.

Кроме того, в настоящее время найдено около 32 клинически значимых мутаций гена *VHL* и большое количество незначимых изменений гена [7]. Однако сам факт наличия мутаций *VHL*, без учета особенностей биологического поведения опухоли, не всегда влияет на течение, исход заболевания и эффективность таргетной терапии [2].

Интенсивность молекулярных процессов онкогенеза определяет течение заболевания. Известно, что уровень pVHL в ткани опухоли значительно снижен по сравнению с прилегающей нетрансформированной тканью и коррелирует со стадией заболевания [8]. Имеются единичные данные о роли экспрессии *VHL* при развитии рака почки, где уровень показателя снижается по сравнению с неизменной тканью [9, 10].

Роль белка VHL в прогрессировании заболевания опосредована его участием в широком спектре онкологических процессов. Известно, что в присутствии нормального белка VHL сигналинг NF-κB-супрессирован [11, 12, 13, 14].

Проведенные исследования показывают разносторонний характер изменений в онкогене опухоли почки. В целом связь белка с клиническими особенностями заболевания, ассоциации с молекулярными маркерами практически не изучены. Статья направлена на поиск новых потенциальных мишеней целевой противоопухолевой терапии. Цель исследования заключалась в изучении экспрессии и содержания VHL в ткани рака почки в связи с клинико-морфологическими параметрами и уровнем мРНК транскрипционных факторов NF-κB p65, NF-κB p50, HIF-1, HIF-2, ростового фактора VEGF и CAIX.

Материалы и методы

В исследование включено 39 пациентов с почечно-клеточным раком. Проведение данной работы одобрено этическим комитетом НИИ онкологии Томского НИМЦ. Все процедуры с вовлечением больных были проведены в соответствии с Протоколом Хельсинской декларации по правам человека (1964 г.) Все больные подписывали информированное согласие на участие в исследовании.

Локализованная стадия заболевания (T1–2N0M0) диагностирована у 20 больных, 19 имели диссеминированный процесс (T1–3N0–1M1). Всем пациентам с локализованным раком было проведено хирургическое лечение в клиниках НИИ онкологии Томского НИМЦ. Большим с диссеминированным процессом проводилось комбинированное лече-

ние, которое включало 2-месячный курс предоперационной таргетной терапии тирозинкиназным ингибитором пазопанибом 800 мг один раз в сутки с последующим выполнением хирургического этапа в объеме нефрэктомии/резекции почки.

Материалом исследования являлись образцы опухолевой и неизменной ткани почки, полученные при проведении оперативного лечения, находящиеся на расстоянии не менее одного см от границы опухоли, которые после забора замораживались и хранились при температуре –80 °С.

Выделение РНК. РНК выделяли с помощью набора RNeasy mini Kit, содержащего ДНК I (Qiagen, Germany). Для оценки количества выделенной РНК на спектрофотометре NanoDrop-2000 (Thermo Scientific, USA) оценивали концентрацию и чистоту выделенной РНК. Концентрация РНК составила от 80 до 250 нг/мкл, A260/A280=1,95–2,05; A260/A230=1,90–2,31. Целостность РНК оценивалась при помощи капиллярного электрофореза на приборе TapeStation (Agilent Technologies, USA) и набора R6K ScreenTape (Agilent Technologies, USA). RIN составил 5,6–7,8.

Количественная ПЦР с обратной транскрипцией в режиме реального времени. Уровень экспрессии генов оценивали при помощи количественной обратной-транскриптазной ПЦР в режиме реального времени (RT-qPCR) с использованием красителя SYBR Green на амплификаторе iCycler (BioRad, USA). Для получения кДНК на матрице РНК проводили реакцию обратной транскрипции с помощью набора ОТ m-MuLV-RH (БиоЛабмикс, Россия) со случайными гексануклеотидными праймерами в соответствии с инструкцией к набору. ПЦР ставили в трех репликах в объеме 25 мкл, содержащем 12,5 мкл БиоМастер HS-qPCR SYBR Blue (БиоЛабмикс, Россия), 300 нМ прямого и обратного праймеров и 50 нг кДНК. CAIX: F 5'-GTTGCTGTCTCGCTTGGAA-3', R 5'-CAGGGTGTGAGAGAGGGTGT-3'; HIF-1a: F 5'-CAAGAACCTACTGCTAATGCCA-3', R 5'-TTTGGTGAGGCTGTCCGA-3'; EPAS1: F 5'-TGGAGTATGAAGAGCAAGCCT-3', R 5'-GGGAACCTGCTCTTGTGT-3'; NFKB1: F 5'-CGTGTAACCAAGCCCTAAA-3', R 5'-AACCAAGAAAGGAAGCCAAGT-3'; RELA: F 5'-GGAGCACAGATACCACCAAGA-3', R 5'-GGGTTGTTGTTGGTCTGGAT-3'; VEGFA: F 5'-AGGGCAGAATCATCACGAA-3', R 5'-TCTTGCTCTATCTTTCTTGGTCT-3'; KDR: F 5'-AACACAGCAGGAATCAGTCA-3', R 5'-GTGGTGTCTGTGCATCGGA-3'; GAPDH: F 5'-GGAAGTCAGGTGGAGCGA-3', R 5'-GCAACAATATCCACTTTACCAGA-3'.

Двухшаговая программа амплификации включала один цикл — 94 °С, 10 мин — предварительная денатурация; 40 циклов — один шаг 94 °С, 10 с и 2 шаг 20 с — при температуре 60 °С. Праймеры были подобраны с использованием программы Vector NTI Advance 11.5 и базы данных NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide>).

В качестве референсного гена использовали ген «домашнего хозяйства» фермента GAPDH (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase), уровень экспрессии каждого целевого гена нормализовали по отношению к экспрессии GAPDH. Количественный анализ экспрессии проводили по 2ΔΔCt по отношению к конститутивно-экспрессируемому гену-рефери фермента GAPDH.

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

Электрофорез. Электрофорез проводили по Laemmli в 13% полиакриламидном геле.

Вестерн блоттинг. После электрофореза переносили полипептиды на PVDF-мембрану (Immobilon, Millipore, США). Иммунодетекцию проводили с антителами к phospho-VHL(Ser68) (Affinity Biosciences, USA). Затем мембрану подвергали обработке системой хемилюминесцентной детекции ECL (GE Healthcare, Великобритания). Анализ результатов осуществляли с использованием системы визуализации ChemiDocTM Touch Imaging System, а их плотность оценивали с помощью компьютерной программы «ImageLab» (BioRad, США). Стандартизация проводилась относительно β-актина. Результаты выражали в процентах от содержания показателей в неизменной ткани.

Статистическую обработку результатов проводили с применением пакета программ Statistica 12.0. Проверку нормальности проводили с помощью критерия Колмогорова-Смирнова. Результаты определения экспрессии генов представлены как Me (Q1; Q3). Значимость различий независимых параметров оценивали по критерию Манна-Уитни. Различия считали значимыми при $p < 0,05$. Для проведения корреляционного анализа использовали критерий Спирмена.

Результаты

В ткани опухоли почки уровень мРНК и содержание VHL зависели от стадии заболевания и распространенности опухолевого процесса (табл. 1). Рост экспрессии изучаемого показателя в 12,5 раза выше у пациентов со стадией заболевания T3–4N0–1M1 по сравнению с пациентами с размером опухоли T1–2N0M0 был отмечен на фоне падения фосфорилированной

формы белка в 5 раз в изучаемых группах больных. Наиболее значимые изменения были выявлены при изучении распространенности опухолевого процесса. Экспрессия гена и содержание VHL связаны с развитием отдаленных метастазов. Зафиксировано возрастание уровня мРНК и уровня белка данного показателя у пациентов с диссеминированной формой в 32,0 и 2,68 раза соответственно, по сравнению с пациентами с локализованным раком.

Отмечено повышение уровня мРНК HIF-2, NF-κB p50 в 2,8 раза, соответственно, и CAIX в 1,3 раза в первичной опухоли со стадией T3–4N0–1M1 по сравнению с T1–2N0M0. Также показано, что формирование отдаленных метастазов сопровождалось ростом экспрессии ядерных факторов NF-κBp50 и NF-κBp65 в 4,0 и 2,8 раза соответственно, по сравнению с пациентами с локализованной формой заболевания (табл. 2).

Наличие значимых связей между экспрессией гена и содержанием белка фон Хиппель-Линдау было подтверждено и при проведении корреляционного анализа. Так, отмечено наличие корреляции между уровнем мРНК VHL, содержанием соответствующего белка ($r = -0,46$; $p = 0,005$) и экспрессией NF-κB p65 ($r = 0,3$; $p = 0,006$). Содержание VHL было ассоциировано с экспрессией NF-κB p50 ($r = -0,36$; $p = 0,022$), NF-κB p65 ($r = -0,34$; $p = 0,022$) и VEGF ($r = -0,30$; $p = 0,05$).

Таблица 1. Экспрессия гена VHL и содержание pVHL в ткани опухоли пациентов в зависимости от размера опухоли и распространенности заболевания, Me (Q1; Q3)

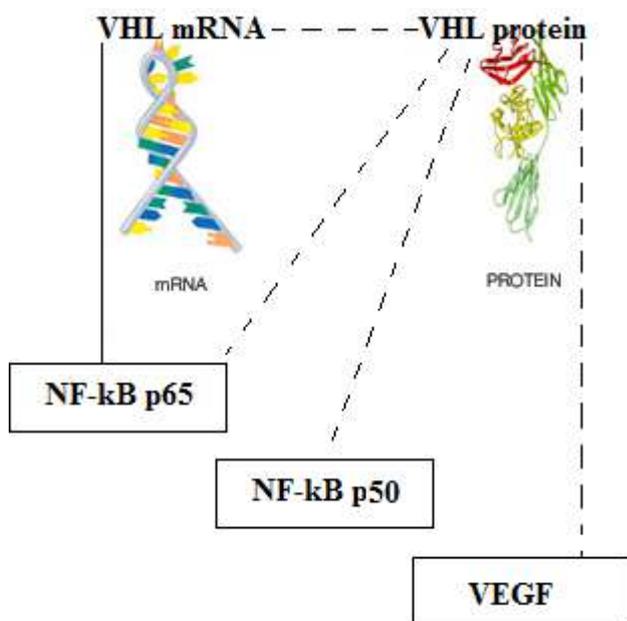
	Размер опухоли (критерий T)		Распространенность заболевания	
	T1–2N0M0	T3–4N0–1M0–1	Локализованная форма (T1–2N0M0)	Диссеминированная форма (T1–4N0–1M1)
Уровень мРНК VHL, UE	7,00 (2,00; 31,32)	87,50 (4,22; 128,00)*	2,00 (0,50; 4,0)	64,00 (8,46; 128,00)**
Содержание pVHL, % к неизменной ткани	77,20 (42,25; 99,79)	15,30 (11,30; 46,07)*	55,00 (20,10; 93,61)	147,54 (100,54; 156,78)**

Примечание. * Значимость различий по сравнению с пациентами с размером опухоли T1–2N0M0, $p < 0,05$; ** значимость различий по сравнению с локализованной формой, $p < 0,05$.

Таблица 2. Экспрессия генов ядерных факторов HIF-1, HIF-2, NF-κBp50 и NF-κBp65, ростовых факторов в зависимости от размера опухоли и распространенности заболевания, Me(Q1; Q3)

Показатель, UE	Размер опухоли (критерий T)		Распространенность заболевания	
	T1–2N0M0	T3–4N0–1M1	Локализованная форма (T1–2N0M0)	Диссеминированная форма (T1–4N0–1M1)
HIF-1	1,29 (0,11; 2,53)	0,79 (0,09; 3,50)	1,20 (0,11; 3,30)	1,07 (0,01; 6,60)
HIF-2	0,94 (0,13; 2,87)	2,68 (0,13; 128,00)*	1,00 (0,13; 4,00)	1,13 (0,01; 3,50)
NF-κB p50	1,07 (0,1; 12,72)	3,00 (0,03; 9,13)*	1,00 (0,08; 12,72)	4,08 (0,10; 6,92)*
NF-κB p65	1,39 (0,22; 4,60)	1,64 (0,66; 12,73)	1,00 (0,08; 12,725)	2,83 (0,01; 6,60)*
VEGF	1,39 (0,13; 25,00)	1,00 (0,13; 16,00)	1,35 (0,13; 25,00)	1,03 (0,00; 3,43)
CAIX	1,97 (0,31; 2,00)	2,56 (0,85; 5,00)*	0,81 (0,02; 2,00)	0,07 (0,01; 25,1)
VEGFR2	0,74 (0,16; 8,57)	0,75 (0,25; 16,00)	1,00 (0,33; 16,00)	0,32 (0,04; 12,5)

Примечание. * Значимость различий по сравнению с пациентами с размером опухоли T1–2N0M0, $p < 0,05$; ** значимость различий по сравнению с локализованной формой, $p < 0,05$.



Корреляционные связи между уровнем мРНК VHL и содержанием pVHL в ткани опухоли с транскрипционными и ростовыми факторами. Обозначения: сплошная линия — прямая корреляция, пунктир — отрицательная корреляция

Обсуждение

В результате проведенного исследования отмечено, что рост экспрессии гена *VHL* совместно со снижением уровня его белка был связан с увеличением размера опухоли. Распространенность заболевания сопровождалась ростом как мРНК, так и содержанием VHL в опухоли. Известно, что уровень pVHL и экспрессия гена в трансформированной ткани значительно снижены по сравнению с прилегающей тканью и коррелируют со стадией заболевания, что особенно выражено при наличии отдаленных метастазов [8–10].

Интенсивность молекулярных процессов в онкогенезе рака почки связана с ролью белка в регуляции основных клеточных процессов [15–17]. Так, выявленные изменения были связаны с повышением экспрессии транскрипционных факторов HIF-2, NF-κB p50, NF-κBp65 и фермента CAIX.

Наличие значимых связей между экспрессией и содержанием белка фон Хиппель-Линдау было подтверждено и при проведении корреляционного анализа. Повышение уровня мРНК VHL связано со снижением содержания соответствующего белка и ростом экспрессии транскрипционного фактора NF-κB p65. Однако повышение количества pVHL в ткани опухоли было ассоциировано со снижением экспрессии NF-κB p65, NF-κB p50 и VEGF.

На рисунке представлены корреляционные связи между уровнем мРНК VHL и содержанием pVHL в ткани опухоли с транскрипционными и ростовыми факторами. Отмечено, что

содержание белка VHL приводило к супрессии уровня мРНК транскрипционных и ростовых факторов, что, вероятно, связано с их инактивацией, в том числе и за счет протеасомного расщепления. При этом возрастание экспрессии VHL способствовало росту мРНК транскрипционных факторов, в частности NF-κB.

Заключение

Соотношение экспрессии и содержания белка VHL имеет решающее значение в развитии рака почки и появлении отдаленных метастазов с учетом гетерогенности мутационных изменений гена *VHL*. Выявлены ассоциации между содержанием активированной формы белка pVHL, экспрессией гена, уровнем мРНК транскрипционных и ростовых факторов в ткани почечно-клеточного рака. Стоит отметить, что в случае прогрессии заболевания и развития диссеминированной формы, происходит увеличение количества активированного белка фон Хиппель Линдау на фоне активации ключевых молекулярных каскадов, способствующих росту инвазивного и метастатического потенциала опухоли. Выявлены взаимосвязи между транскрипционным и ростовыми факторами в ткани светлоклеточного рака почки, которые ответственны за развитие и прогрессирование заболевания. Вероятно, развитие рака почки связано в том числе с ростом уровня мРНК и содержанием белка VHL, который также регулирует ключевые процессы онкогенеза.

Авторы внесли равнозначный вклад в работу над статьей.

ЛИТЕРАТУРА

1. Chung C. From oxygen sensing to angiogenesis: Targeting the hypoxia signaling pathway in metastatic kidney cancer // *Am J Health Syst Pharm*. 2020;77(24):2064–2073. <https://doi.org/10.1093/ajhp/zxaa308>. PMID: 33016992
2. Kim BJ, Kim JH, Kim HS, Zang DY. Prognostic and predictive value of VHL gene alteration in renal cell carcinoma: a meta-analysis and review // *Oncotarget*. 2017;8(8):13979–13985. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.14704>
3. Lessi F, Mazzanti CM, Tomei S et al. VHL and HIF-1 : gene variations and prognosis in early-stage clear cell renal cell carcinoma // *Med Oncol*. 2014;31(3):840. <https://doi.org/10.1007/s12032-014-0840-8> Epub 2014 Jan 21. PMID: 24446253.
4. Choueiri TK, Fay AP, Gagnon R et al. The role of aberrant VHL/HIF pathway elements in predicting clinical outcome to pazopanib therapy in patients with metastatic clear-cell renal cell carcinoma // *Clin Cancer Res*. 2013;19(18):5218–26. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-13-0491>. Epub 2013 Jul 23. PMID: 23881929; PMCID: PMC4522695.
5. Spirina LV, Usynin YA, Yurmazov ZA et al. Transcription factors NF-κB, HIF-1, HIF-2, growth factor VEGF, VEG-

- FR2 and carboanhydrase IX mRNA and protein level in the development of kidney cancer metastasis // *Mol Biol (Mosk)*. 2017;51(2):372–377. Russian. <https://doi.org/10.7868/S0026898417020197>. PMID: 28537244.
6. Spirina LV, Usynin EA, Yurmazov ZA et al. Effect of Targeted Therapy With Pazopanib on Expression Levels of Transcription, Growth Factors and Components of AKT/m-TOR Signaling Pathway in Patients with Renal Cell Carcinoma // *Asian Pac J Cancer Prev*. 2017;18(11):2977–2983. <https://doi.org/10.22034/APJCP.2017.18.11.2977>. PMID: 29172268; PMCID: PMC5773780
 7. Alves MR, Carneiro FC, Lavorato-Rocha AM et al. Mutational status of VHL gene and its clinical importance in renal clear cell carcinoma // *Virchows Arch*. 2014;465(3):321–30. <https://doi.org/10.1007/s00428-014-1629-z>. Epub 2014 Jul 16. PMID: 25027579.
 8. Ferchichi I, Kourda N, Sassi S et al. Aurora A overexpression and pVHL reduced expression are correlated with a bad kidney cancer prognosis // *Dis Markers*. 2012;33(6):333–40. <https://doi.org/10.3233/DMA-2012-00942>. PMID: 23151618; PMCID: PMC3810770.
 9. Xiao-Fen W, Ting C, Jie L et al. Correlation analysis of VHL and Jade-1 gene expression in human renal cell carcinoma // *Open Med (Wars)*. 2016;11(1):226–230. <https://doi.org/10.1515/med-2016-0043>
 10. Spirina LV, Kondakova IV, Yurmazov ZA et al. VHL Expression in Kidney Cancer: Relation to Metastasis Development, Transcription and Growth Factors and Component of Akt/m-TOR Signaling Pathway // *Bull Exp Biol Med*. 2019;167(5):671–675. <https://doi.org/10.1007/s10517-019-04596-9>. Epub 2019 Oct 17. PMID: 31625068.
 11. Kim DS, Choi YB, Han BG et al. Cancer cells promote survival through depletion of the von Hippel-Lindau tumor suppressor by protein crosslinking // *Oncogene*. 2011;30(48):4780–90. <https://doi.org/10.1038/onc.2011.183>. Epub 2011 May 30. PMID: 21625219.
 12. Yang H, Minamishima YA, Yan Q, et al. pVHL acts as an adaptor to promote the inhibitory phosphorylation of the NF-kappaB agonist Card9 by CK2 // *Mol Cell*. 2007;28(1):15–27. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2007.09.010>. PMID: 17936701; PMCID: PMC2128776.
 13. Wang J, Ma Y, Jiang H et al. Overexpression of von Hippel-Lindau protein synergizes with doxorubicin to suppress hepatocellular carcinoma in mice // *J Hepatol*. 2011;55(2):359–68. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2010.10.043>. Epub 2010 Dec 17. PMID: 21168458.
 14. Walmsley SR, McGovern NN, Whyte MK, Chilvers ER. The HIF/VHL pathway: from oxygen sensing to innate immunity // *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2008;38(3):251–5. <https://doi.org/10.1165/rcmb.2007-0331TR>. Epub 2007 Oct 11. PMID: 17932373.
 15. Evans AJ, Russell RC, Roche O et al. VHL promotes E2 box-dependent E-cadherin transcription by HIF-mediated regulation of SIP1 and snail // *Mol Cell Biol*. 2007;27(1):157–69. <https://doi.org/10.1128/MCB.00892-06>. Epub 2006 Oct 23. PMID: 17060462; PMCID: PMC1800649.
 16. Arias-Gonzalez L, Moreno-Gimeno I, del Campo AR et al. ERK5/BMK1 is a novel target of the tumor suppressor VHL: implication in clear cell renal carcinoma // *Neoplasia*. 2013;15(6):649–59. <https://doi.org/10.1593/neo.121896>. PMID: 23730213; PMCID: PMC3664997.
 17. Mikhaylova O, Stratton Y, Hall D et al. VHL-regulated MiR-204 suppresses tumor growth through inhibition of LC3B-mediated autophagy in renal clear cell carcinoma // *Cancer Cell*. 2012;21(4):532–46. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2012.02.019>. PMID: 22516261; PMCID: PMC3331999.

Поступила в редакцию 15.06.2021 г.

L.V. Spirina^{1,2}, Z.A. Yurmazov¹, E.A. Usynin¹, I.V. Kondakova¹

Expression and content of VHL in kidney cancer tissue, relationship with clinical and morphological parameters of the disease, expression of transcriptional and growth factors

¹ Cancer Research Institute, TNRMC, Tomsk, Russia
² Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

Introduction. The molecular picture of the HIF overexpression with VHL deficiency is a key event associated with the manifestation and progression of clear cell renal cell carcinoma. However, this indicator's significance for the development of the disease and the formation of a response to targeted therapy is not clear. The study aimed to study the relationship between the expression and content of VHL in kidney cancer tissue with clinical, morphological parameters, mRNA level NF-κB p65, NF-κB p50, HIF-1, HIF-2, VEGF, and CAIX.

Material and methods. The study included 39 patients with renal cell carcinoma. The disease's localized form (T1–2N0M0) was diagnosed in 20 patients; 19 patients had a disseminated process (T1–3N0–1M1). The study's material was normal, and tumor tissue was obtained during the surgical stage of treatment. VHL expression was determined by real-time PCR. The pVHL protein content was estimated using the Western Blotting method.

Results. As a result of the study, it was noted that an increase in the VHL expression, together with a decrease in its protein level, was associated with an increase in tumor size. The prevalence of the disease was accompanied by an increase in both mRNA and VHL content in cancers. There was a negative correlation between the level of VHL expression, the content of the corresponding protein, and a positive association with the expression of NF-κB p65. VHL content in cancers was associated with decreased expression of NF-κB p50, NF-κB p65, and VEGF.

Discussion. An increase in VHL expression and protein's content in tumor tissue promoted the growth of mRNA of transcription factors, in particular NF-κB, which is accompanied by tumor spread. An increase in the VHL protein content led to the suppression of the mRNA level of transcriptional and growth factors, which is probably associated with their inactivation, including through proteasome cleavage, and is an important stage in oncogenesis.

Conclusion. An increase in the expression of the VHL gene and the content of the pVHL protein is of decisive importance in the development of the disease, the formation of distant metastases due to the activation of transcriptional and growth factors.

Key words: clear cell kidney cancer, VHL, pVHL, transcriptional and growth factors

Е.В. Хмелевский, Н.М. Бычкова

Боль, как критерий радиочувствительности костных метастазов. Сравнительная эффективность лучевой терапии у больных с костными метастазами различной природы

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

Введение. Выбор оптимальных доз и режимов облучения метастатических поражений скелета в различных клинических ситуациях является важнейшей задачей практической радиотерапии. Построение шкалы сравнительной радиочувствительности костных метастазов различной природы способно существенно упростить ее решение. В первой части исследования было показано, что полнота и стойкость обезболивания могут рассматриваться в качестве основного критерия радиочувствительности костных метастазов. Во второй части представлены результаты лучевой терапии больных с метастазами в скелет различных новообразований, оцененные по полноте купирования болевого синдрома.

Материалы и методы. В рамках рандомизированного исследования проведено 810 курсов 3D-конформного или моделированного по интенсивности (IMRT/VMAT) широкопольного облучения при костных метастазах различной природы и локализации с не купируемым болевым синдромом. Дозы 13,5–26 Гр подводили за 2–4 фракции по 6,5 Гр или в режиме мелкого фракционирования до 46 Гр.

Результаты. Общая эффективность облучения (полный+частичный эффект) составила 96,2%, при этом полное обезболивание достигнуто у 455 (56,2%) пациентов, а частичное — у 324 (40,0%). Рецидив болевого синдрома при последующем наблюдении диагностирован в 8,6% случаев, в среднем — через 9,5 мес. Независимыми факторами прогноза полного эффекта оказались: исходная выраженность болевого синдрома [отношение рисков (ОР): 0,48, доверительный интервал (ДИ): 0,40–0,58; $p=0,0001$], доза/число фракций (ОР: 1,26, ДИ: 1,07–1,50; $p=0,0059$) и локализация первичной опухоли (ОР: 0,95, ДИ: 0,92–0,99; $p=0,0053$). Шкалу сравнительной радиочувствительности костных метастазов различной природы построили с учетом частоты полного эффекта и вероятности дожития без рецидива боли на протяжении 6, 12 и 24 мес после лучевой терапии. В результате,

к группе радиочувствительных были отнесены метастазы рака молочной и предстательной железы, меланомы, мочевого пузыря и примитивные нейроэктодермальные опухоли (ПНЭО) (с вероятностью полного эффекта — 60% и более), а к относительно радиорезистентным — метастазы из не выявленного первичного очага, рака толстой кишки, желудка и почки (с вероятностью полного обезболивания не выше 40%).

Заключение. Более чем 95% общая эффективность лучевой терапии костных метастазов, при суммарной частоте рецидивов боли за весь период наблюдения менее 10% случаев, позволяет считать широкопольное дистанционное облучение в дозах 19,5–26 Гр, подведенных за 3–4 фракции по 6,5 Гр в течение 3–15 дней, предпочтительным методом лечения при многоочаговом характере поражения. Попытки эскалации дозы у больных с метастазами рака почки, толстой кишки, легкого, а также из не выявленного первичного очага, в случае ожидаемой продолжительности жизни более года, представляются оправданными.

Цель исследования. Оценка сравнительной радиочувствительности костных метастазов различной природы и гистогенеза.

Ключевые слова: метастазы в скелет, боль, радиочувствительность

Введение

Лучевая терапия на протяжении многих лет остается важнейшим методом лечения больных с метастатическими поражениями скелета, обеспечивая снижение болевого синдрома в 60–90% случаев. Однако лишь при прецизионном высокодозном облучении небольших единичных очагов можно рассчитывать на 70–90% вероятность полного обезболивания [1, 2]. В остальных же случаях полного стойкого эффекта удается добиться не более чем у 30–50% пациентов [3–5]. Таким образом, выбор оптимальных доз и режимов облучения костных метастазов в различных клинических ситуациях является важнейшей

задачей в области практической радиотерапии. При этом, для радиобиологии, да и онкологии в целом, несомненный теоретический интерес представляют данные о сравнительной радиочувствительности опухолей различного происхождения, растущих в условиях «одинакового» микроокружения. Можно ли, при этом, считать микроокружение метастазов различной природы, растущих в одной ткани, действительно одинаковым или эти метастазы формируют специфическую среду, отличающуюся клеточным составом, ангиогенезом, набором и концентрацией биологически активных молекул (факторов роста, цитокинов/хемокинов и др.), что и определяет их радиочувствительность? Наконец, не нивелируются ли исходные отличия радиочувствительности (и не только) растущих в костной ткани опухолей различного гистогенеза после «хомингового» и последующего «метаболического» отбора? Все выше перечисленное свидетельствует о том, что построение клинической шкалы сравнительной радиочувствительности костных метастазов различной природы могло бы иметь существенное практическое и теоретическое значение. Попытка построения подобной шкалы и явилась целью данного исследования. В первой его части рассматривалась возможность использования динамики болевого синдрома в качестве критерия радиочувствительности костных ме-

тастазов и исследована взаимосвязь исходной интенсивности боли с другими факторами и клиническими проявлениями опухолевого процесса. Наряду с независимостью от локализации первичной опухоли, установлена прямая связь инициальной выраженности болевого синдрома с протяженностью опухолевого поражения и полом пациента. В результате, именно полнота и стойкость обезболивания были приняты в качестве основного критерия радиочувствительности костных метастазов различной природы.

Методики лучевой терапии

Работа построена на анализе результатов рандомизированного исследования эффективности различных режимов крупнофракционного широкопольного 3D-конформного или IMRT/VMAT облучения костных метастазов у больных с не купирующимся на фоне системной противоопухолевой лекарственной терапии болевым синдромом. Исследование состояло из 3-х этапов. На первом, наряду с традиционным мелкофракционным режимом дистанционного фотонного облучения (46 Гр за 23 фракции), использовали дозу 26 Гр, подведенную за 4 фракции по 6,5 Гр с различной общей продолжительностью курса облучения (1 фракция в 5 дней, через день или ежедневно). На 2-м этапе количество фракций сократили до 3-х (6,5 Гр×3 фракций=19,5 Гр), а на 3-м этапе — до 2-х (6,5 Гр×2 фракции=13 Гр). Дизайн рандомизированного исследования и распределение больных по группам представлены в табл. 1 и 2. Более подробно критерии включения в исследование и методики облучения представлены ранее [6].

Таблица 1. Дизайн рандомизированного исследования

Этап I		Этап II		Этап III	
	Режим рандомизации	Количество фракций	Режим рандомизации	Количество фракций	Режим рандомизации
2 Гр×23 (ежедневно)	1	6,5 Гр×4 (ежедневно)	1	6,5 Гр×3 (1/5д)	1
6,5 Гр×4 (1/5д)	2	6,5 Гр×3 (1/5д)	2	6,5 Гр×2 (1/5д)	2
6,5 Гр×4 (1/2д)	2	6,5 Гр×3 (1/2д)	2	6,5 Гр×2 (1/2д)	2
6,5 Гр×4 (ежедневно)	2	6,5 Гр×3 (ежедневно)	2	6,5 Гр×2 (ежедневно)	2
6,5 Гр×5 (1/5д)	2				
↓					
Исключен					

Таблица 2. Режимы фракционирования дозы облучения

Дозы	2 Гр×23 фр.		6,5 Гр×5 фр.			6,5 Гр×4 фр.			6,5 Гр×3 фр.			6,5 Гр×2 фр.		
	Ежедневно	1/5	1/5	1/2	Ежедневно	1/5	1/2	Ежедневно	1/5	1/2	Ежедневно	1/5	1/2	Ежедневно
n	55	10	104	109	182	118	90	81	38	11	12			
%	6,7	1,2	12,8	13,4	22,5	14,7	11,1	10,0	4,7	1,4	1,5			
n	55	10	393			289			61					
%	6,7	1,2	48,7			35,8			7,6					

В связи с ухудшением состояния лучевая терапия была преждевременно прекращена у 4 больных (0,5%): по двое из групп мелкофракционного и 4-фракционного (1 фракция в 5 дней) облучения. Набор пациентов в группу с дозой 32,5 Гр за 5 фракций был досрочно прекращен ввиду заметного повышения частоты ранних постлучевых изменений 2 степени (RTOG/EORTC). Третий этап исследования, после предварительного анализа, также завершен досрочно ввиду достоверного снижения полноты обезболивания. Наконец, по ряду причин, главным образом субъективного характера, случайный порядок попадания больных в группы (по очередности поступления на лечение) не всегда соблюдался, следствием чего явились незначительные отличия конечной численности групп от запланированной.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью пакета статистического анализа STATISTICA 10. Применяли частотный анализ с использованием критерия χ^2 ; ранговые показатели оценивали с помощью корреляционных коэффициентов тау Кендалла и гамма или рангового критерия Краскела–Уоллиса, а статистическую значимость отличий параметрических данных — *t*-критерия Стьюдента. Влияние различных факторов на эффективность лучевой терапии оценивали с помощью модели пропорциональных рисков Кокса, а сравнительную динамику выживаемости без боли в различных группах — регрессионной модели Кокса и методом Каплана–Мейера. Уровнем статистической значимости отличий считали $p < 0,05$.

Результаты

Медиана наблюдения составила 107 мес. Динамику болевого синдрома после лечения оценивали по стандартной, соответствующей рекомендациям ВОЗ [7], методике: полный эффект — полное купирование боли; частичный

эффект — снижение интенсивности болевого синдрома, согласно 4-степенной вербальной оценочной шкале; отсутствие эффекта — сохранение или нарастание исходной интенсивности боли. Рецидивом считали возобновление или усиление (при неполном эффекте) боли в зоне воздействия в любые сроки после завершения лечения.

Общая эффективность облучения (полный+частичный эффект) составила 96,2%, при этом полное обезболивание достигнуто у 455 (56,2%) пациентов, а частичное — у 324 (40,0%). Рецидив болевого синдрома при последующем наблюдении диагностирован в 8,6% случаев, в среднем — через 9,5 мес (1–96 мес).

Для определения независимых факторов прогноза стойкого (без рецидива боли на протяжении всего периода наблюдения) полного эффекта использовали модель пропорциональных рисков Кокса. Такими факторами оказались: исходная выраженность болевого синдрома [отношение рисков (ОР): 0,48, доверительный интервал (ДИ): 0,40–0,58; $p=0,0001$], доза/число фракций (ОР: 1,26, ДИ: 1,07–1,50; $p=0,0059$) и локализация первичной опухоли (ОР: 0,95, ДИ: 0,92–0,99; $p=0,0053$). Ни протяженность поражения, ни деформация кости в зоне облучения, ни локализация метастазов самостоятельного значения не имели. Вероятность полного обезболивания в зависимости от дозы/числа фракций представлена на рис. 1.

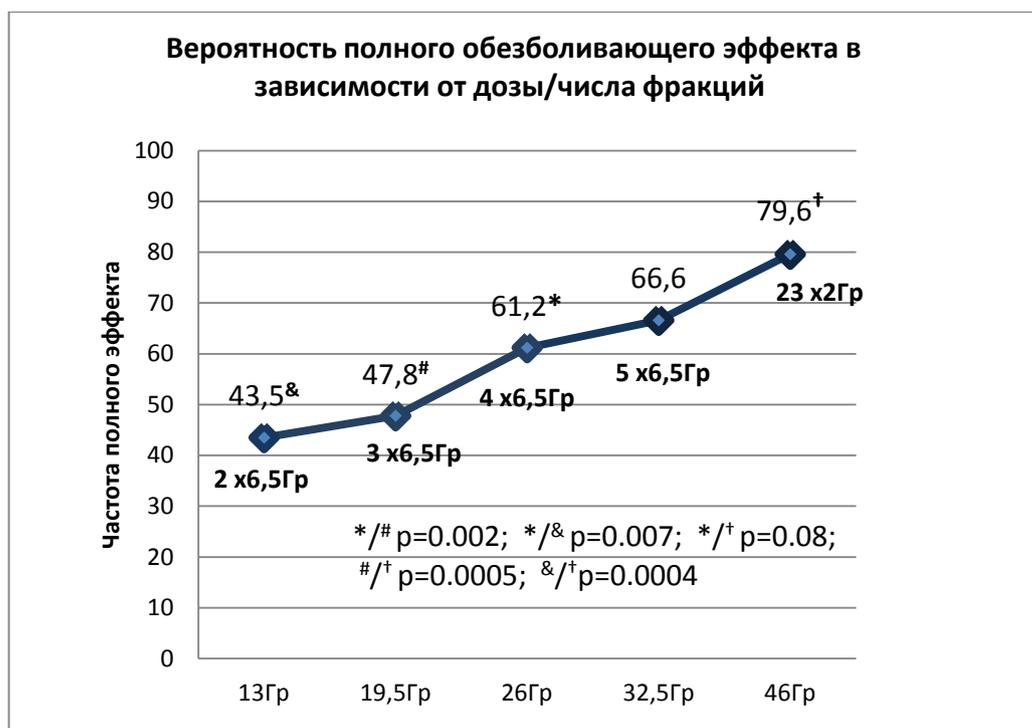


Рис. 1. Вероятность полного обезболивания после лучевой терапии костных метастазов в зависимости от дозы/числа фракций: эффективность курсов 46 Гр за 23 фракции и 26 Гр за 4 фракции по 6,5 Гр значительно выше, чем 2- и 3-фракционного облучения с РОД — 6,5 Гр

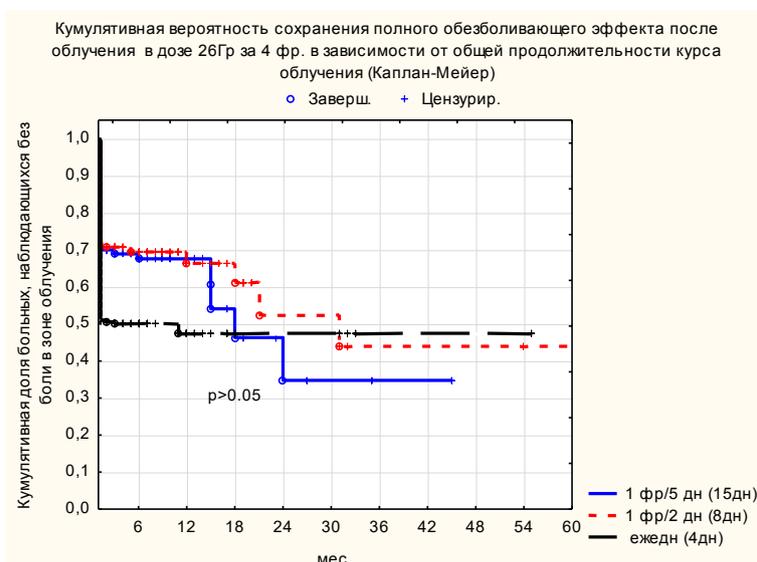


Рис. 2. Кумулятивная вероятность сохранения полного обезболивания в зависимости от продолжительности курса облучения: 4 фракции по 6,5 Гр за 4, 8 или 15 дней; статистически значимых отличий не выявлено ($p > 0,05$)

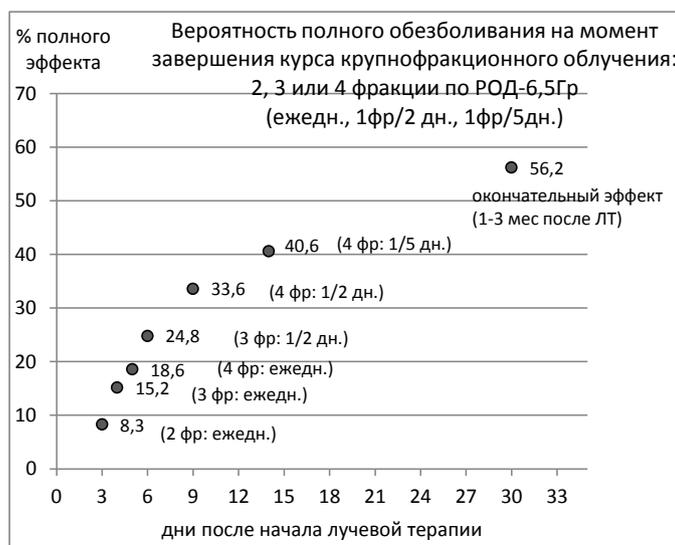


Рис. 3. Вероятность наступления полного эффекта после начала лучевой терапии при облучении костных метастазов с разовой дозой 6,5 Гр

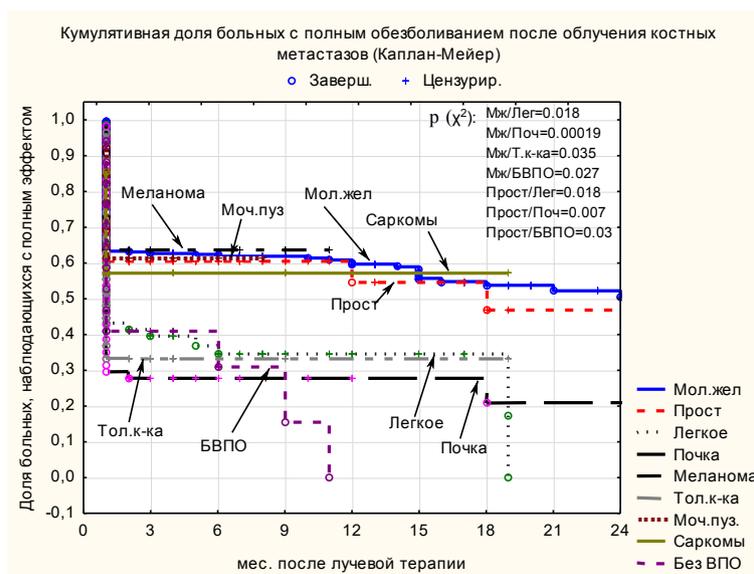


Рис. 4. Сравнительная выживаемость с сохраняющимся полным эффектом после лучевой терапии костных метастазов различной природы (кривые выживаемости построены с помощью метода Каплана-Мейера, а попарная значимость отличий оценивалась при помощи регрессионной модели Кокса)

Использование различных режимов облучения (одна фракция в 5 дней, через день или ежедневно), как при 3-, так и 4-фракционном воздействии, существенно не повлияло на вероятность достижения и сохранения полного обезболивания (рис. 2).

Если в течение первого года наблюдения некоторое преимущество было на стороне более протяженного режима облучения (1 фракция в 5 дней), то в последующем оно полностью нивелировалось. Подобная картина повторилась и в случае трехфракционного облучения.

Реализация полного эффекта нарастала со временем, а в отдельных случаях фиксировалась уже после второй ежедневной фракции — на дозе 13 Гр (рис. 3).

Почти у 75% пациентов от числа больных с окончательным полным эффектом обезболивание наступало в течение первых 15 дней от на-

чала лечения, и лишь у оставшихся 25% реализовалось на протяжении последующих 2–3 нед.

Полнота обезболивания обратно коррелировала с исходной выраженностью болевого синдрома (табл. 3).

Если вероятность достижения общего эффекта не зависела от исходной выраженности боли, то влияние последней на частоту полного обезболивания было высоко значимым ($p < 0,01$). Близким к уровню значимости ($p = 0,07$) оказался и двукратно больший риск рецидива боли у пациентов с изначально наиболее выраженным болевым синдромом.

Общая эффективность облучения костных метастазов у больных с различной локализацией первичной опухоли заметно не отличалась, тогда, как вероятность достижения полного эффекта оказалась величиной гораздо более неоднородной (табл. 4).

Таблица 3. Эффективность облучения костных метастазов в зависимости от исходной выраженности болевого синдрома

Исходная интенсивность боли	Эффект		Рецидив боли
	общий (%)	в том числе полный (%)	
Слабая	96,9	84,7*	6,2*
Умеренная	96,4	58,8#	7,4
Выраженная	94,7	41,4&	13,3&
$p (\chi^2)$	$p > 0,05$	*/# $p < 0,01$	*/& $p = 0,07$
		*/& $p < 0,01$	
		#/& $p < 0,01$	

Таблица 4. Эффективность облучения костных метастазов в зависимости от локализации/гистогенеза первичной опухоли

Локализация/гистогенез первичной опухоли	n	Среднее число фракций*	Эффект		Рецидив боли (%)
			общий (%)	в том числе полный (%)	
Молочная железа	502	3,4	98,0	62,9 ¹	7,8 ¹
Простата	66	3,4	90,1	59,1 ²	8,5 ²
Легкое	65	3,5	95,4	43,1 ³	13,3
Почка	54	3,6	90,7	27,8 ⁴	10,2
Щитовидная железа	4	3,4	100	50,0 ⁵	0
Шейка матки	8	3,4	75,0	50,0 ⁶	0
Меланома (кожи)	11	3,6	90,0	63,6 ⁷	0
Толстая кишка	27	3,4	96,3	33,3 ⁸	3,9
ПНЭО	5	3,6	100	100 ⁹	0
Матка	7	3,8	100	57,1 ¹⁰	0
Мочевой пузырь	13	3,5	100	61,6 ¹¹	0
Саркомы	7	3,4	100	57,1 ¹²	14,3
Желудок	6	3,8	100	16,7 ¹³	0
Без выявления первичного очага	17	3,4	88,2	41,2 ¹⁴	28,6 ¹⁴
Другие	18	3,8	94,4	33,3 ¹⁵	13,3
В целом	810	3,5	96,2	56,2	8,4
$p (\chi^2)$		$> 0,05$	$> 0,05$	1/3=0,06; 1/4=0,0001; 1/8=0,008; 1/13=0,048; 1/14=0,013; 1/15=0,007; 2/4=0,001; 4/7=0,06;	1/14=0,005; 2/14=0,039;

Примечание. * Без учета мелкофракционного режима облучения.

По частоте полного обезболивания к группе наиболее радиочувствительных костных метастазов можно условно отнести метастазы рака молочной железы, простаты, меланомы, ПНЭО и мочевого пузыря, а к наименее радиочувствительным — метастазы рака почки, толстой кишки, желудка и метастазы из первично не выявленного очага; метастазы остальных опухолей занимают условную позицию умеренно радиочувствительных. Идентичное распределение по критерию условной радиочувствительности демонстрирует и картина актуариальной выживаемости с сохраняющимся полным эффектом, оценивавшаяся с помощью метода Каплана–Мейера и регрессионной модели Кокса (рис. 4).

В результате, опираясь на полученную информацию о сравнительной частоте полного обезболивания, условную шкалу радиочувствительности костных метастазов различной природы, можно представить в следующем виде (рис. 5).

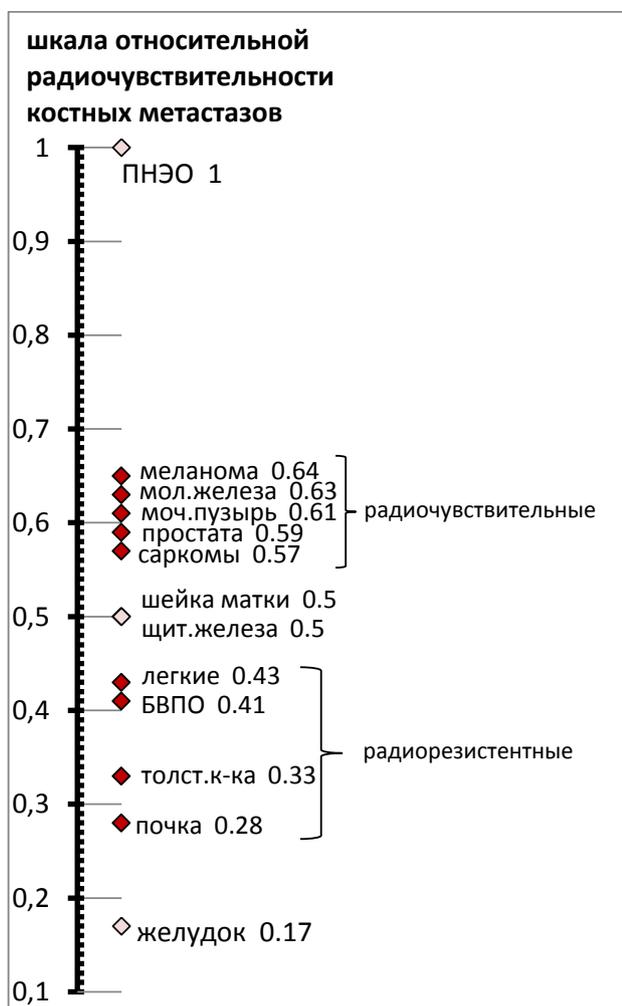


Рис. 5. Шкала сравнительной радиочувствительности костных метастазов различной природы, построенная на основе данных о частоте полного стойкого обезболивания после широкопольного крупнофракционного облучения в РОД 6,5 Гр и СОД 13–26 Гр; светлым выделены локализации, где число наблюдений менее 10 (значимость отличий — см. табл. 4)

На основании полученных данных о частоте и стойкости полного обезболивания, вторичные поражения скелета различной природы с достаточной долей уверенности можно разделить на сравнительно радиочувствительные: метастазы рака молочной и предстательной железы, меланомы, мочевого пузыря и ПНЭО (с вероятностью полного эффекта в районе 60% и выше) и относительно радиорезистентные: метастазы из не выявленного первичного очага, рака толстой кишки, желудка и почки (с вероятностью полного обезболивания около 40% и ниже).

Обсуждение

Влияние «собственной» радиочувствительности опухоли и особенностей ее микроокружения на эффективность облучения остаются ключевыми вопросами клинической радиобиологии и радиотерапии [8–11]. Анализ результатов проведенного нами исследования позволяет, в целом, отрицательно ответить на сформулированный ранее вопрос «Не нивелируются ли исходные отличия радиочувствительности растущих в условиях одинакового микроокружения — в костной ткани — опухолей различного гистогенеза после «хромингового» и последующего «метаболического» отбора?». Заметные отличия сохраняются. Однако очевидно и то, что полученные результаты не полностью укладываются в наши привычные представления о сравнительной радиочувствительности различных опухолей. В первую очередь это касается высокой эффективности облучения метастазов меланомы. Данный факт, возможно, связан, с одной стороны, с известной гетерогенностью меланом [12, 13] и реально существующей селекцией более радиочувствительных субклонов при метастазировании, с другой же — с предположительно низким α/β — соотношением, характерным для меланом, в целом. Оно, по мнению Overgaard [14], может находиться в районе 2,5. Подтверждением этого могут служить и данные Amundson и соавт. [8], свидетельствующие об изменении сравнительной радиочувствительности клеток меланом в тестах SF2 и SF5.

Наряду с меланомами, не принято причислять к разряду радиочувствительных также рак мочевого пузыря и саркомы. Конечно, оценивая полученные нами результаты приходится учитывать, что в малочисленных группах (к которым, наряду с последними, относятся и метастазы рака щитовидной железы, шейки и тела матки, ПНЭО) влияние случайных факторов, несмотря на рандомизированный характер исследования, может в значительной степени модифицировать итоговую картину. В том числе — и влияние независимых предикторов эффективности — дозы

и исходной выраженности боли. Гетерогенность группы сарком, большинство которых составили метастазы мягкотканых сарком различного гистогенеза, так же требует большой осторожности в оценках. Несомненно, вывод о сравнительно высокой радиочувствительности костных метастазов сарком и рака мочевого пузыря может рассматриваться, как сугубо предварительный.

Более привычным выглядит относительно низкий уровень радиочувствительности метастазов рака легкого, толстой кишки и почки. Но и здесь следует оговориться, что в уже приведенной работе Amundson и соавт. [8], рак легкого и почки по критерию SF5 уступили последнюю строчку раку простаты (табл. 5), метастазы которого в нашем исследовании, напротив, продемонстрировали сравнительно высокую радиочувствительность. Что же касается рака толстой кишки, то ее клетки по критерию SF5 оказались наиболее радиочувствительными среди солидных опухолей, а вот ее метастазы, по нашим данным — одними из наиболее радиорезистентных.

Таблица 5. Усредненная сравнительная радиочувствительность клеточных линий злокачественных новообразований из коллекции National Cancer Institute (NCI-60): построено на основании данных Amundson и соавт. [8]

Тип опухоли	SF2	Тип опухоли	SF5
Рак молочной железы	0,47	Рак толст.кишки	0,12
Рак легкого	0,54	Рак мол. железы	0,13
Рак почки	0,57	Меланома	0,14
Рак толстой кишки	0,58	Рак почки	0,17
Меланома	0,66	Рак легкого	0,18
Рак простаты	0,67	Рак простаты	0,21

Таким образом, приходится констатировать значительные отличия сравнительной клеточной радиочувствительности опухолей по критериям SF2 и SF5 и сравнительную клиническую радиочувствительность их костных метастазов по вероятности достижения полного стойкого обезболивания. Не обсуждая подробно природу данных отличий, можно, тем не менее, предположить, с одной стороны, отсутствие конкордантности между используемыми в том и другом случае критериями оценки эффективности, а кроме того — гораздо большую значимость микроокружения опухоли в формировании конечной радиочувствительности новообразований.

Заключение

Более чем 95% общая эффективность лучевой терапии, при суммарной частоте реци-

дива боли за весь период наблюдения менее 10% случаев, позволяет считать широкопольное дистанционное облучение в дозах 19,5–26 Гр, подведенных за 3–4 фракции по 6,5 Гр в течение 3–15 дней, предпочтительным методом лечения костных метастазов с множественным характером поражения. Отсутствие полного эффекта и риск развития рецидива боли чаще следует ожидать у больных раком почки, толстой кишки, легкого, а также при метастазах из не выявленного первичного очага и, видимо, рака желудка. Именно при этих локализациях, в случае ожидаемой продолжительности жизни более года эскалация дозы представляется оправданной.

ЛИТЕРАТУРА

- Mantel F, Glatz S, Toussaint A et al. Long-term safety and efficacy of fractionated stereotactic body radiation therapy for spinal metastases // *Strahlenther Onkol.* 2014;190(12):1141–8. <https://doi.org/10.1007/s00066-014-0706-1>
- Erlor D, Brotherston D, Sahgal A. Local control and fracture risk following stereotactic body radiation therapy for non-spine bone metastases // *Radiother Oncol.* 2018;127(2):304–309. <https://doi.org/10.1016/j.radonc.2018.03.030>
- Sze WM, Shelley M, Held I et al. Palliation of metastatic bone pain: single fraction versus multiple-fraction radiotherapy — a systematic review of randomised trials // *Clin Oncol.* 2003;15(6):345–352. [https://doi.org/10.1016/s0936-6555\(03\)00113-4](https://doi.org/10.1016/s0936-6555(03)00113-4)
- Wu J, Wong R, Johnston M et al. Meta-analysis of dose-fractionation radiotherapy trials for the palliation of painful bone metastases // *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2003;55(3):594–605. [https://doi.org/10.1016/s0360-3016\(02\)04147-0](https://doi.org/10.1016/s0360-3016(02)04147-0)
- Takahashi T, Nishimura K, Yamano T, Gika M. Role of Palliative Radiotherapy for Bone Metastasis // *J Palliat Care Med.* 2014;4:171. <https://doi.org/10.4172/2165-7386.1000171>
- Бычкова Н.М., Хмелевский Е.В. Особенности метастатического поражения костей при различных первичных опухолях и их значение для дистанционной лучевой терапии // *Онкология. Журнал им. П.А. Герцена.* 2016;5(6):12 [Bychkova N.M., Khmelevsky E.V. Features of metastatic bone involvement in different primary tumors and their implications for external beam radiotherapy // *Onkologiya Zhurnal imeni P.A. Gertsena* 2016;5(6):12. (In Russ.)] <https://doi.org/10.17116/onkolog20165612-20>
- World Health Organization (1979) WHO Handbook for reporting results of cancer treatment. WHO Publication № 48, Geneva. <https://doi.org/apps.who.int/iris/handle/10665/37200>
- Amundson S, Do K, Vinikoor L et al. Integrating global gene expression and radiation survival parameters across the 60 cell lines of the National Cancer Institute Anticancer Drug Screen // *Cancer Res.* 2008;68(2):415–24. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-07-2120>
- D'Andrea FP, Safwat A, Burns JS et al. Tumour microenvironment and radiation response in sarcomas

- originating from tumorigenic human mesenchymal stem cells // *Int J Radiat Biol.* 2012;88(6):457–65. <https://doi.org/10.3109/09553002.2012.683509>
10. Hill RP. The changing paradigm of tumor response to irradiation // *Br J Radiol.* 2017;90:20160474. <https://doi.org/10.1259/bjr.20160474>
 11. He Q, Tong Y, Ye Z et al. A multiple genomic data fused SF2 prediction model, signature identification, and gene regulatory network inference for personalized radiotherapy // *Technol Cancer Res Treat.* 2020;19:1533033820909112. <https://doi.org/10.1177/1533033820909112>
 12. Shahbazian D, Bindra R, Kluger H, Glazer P. Radiation sensitivity and sensitization in melanoma // *Pigment Cell Melanoma Res.* 2013;26(6):928–30. <https://doi.org/10.1111/pemr.12147>
 13. Sambade M, Peters E, Thomas N et al. Melanoma cells show a heterogeneous range of sensitivity to ionizing radiation and are radiosensitized by inhibition of B-RAF with PLX-4032 // *Radiother Oncol.* 2011;98(3):394–9. <https://doi.org/10.1016/j.radonc.2010.12.017>
 14. Overgaard J. The role of radiotherapy in recurrent and metastatic malignant melanoma: a clinical radiobiological study // *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1986;12(6):867–872. [https://doi.org/10.1016/0360-3016\(86\)90378-0](https://doi.org/10.1016/0360-3016(86)90378-0)

Поступила в редакцию 03.04.2021 г.

E.V. Khmelevsky, N.M. Bychkova

Pain as the evaluation criterion for bone metastasis radiosensitivity. Comparative efficacy of radiation therapy in patients with bone metastases of various primary tumors

P.A. Hertsen Moscow Oncology Research Institute — Branch of the National Medical Research Radiological Centre Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia

Material/methods. As part of a randomized study, 810 courses of 3D-conformal or IMRT/VMAT radiotherapy were performed for bone metastases of various origins and localization with persistent pain syndrome. Radiotherapy protocol included hypofractionation regimes of 2, 3 or 4 fractions of 6,5 Gy with total dose of 13–26 Gy or standard fractionation regime with total dose of 46 Gy.

Results. The overall efficacy (complete and partial pain relief) of radiotherapy was 96.2%, complete response rate (CRR) — 56.2%, partial response rate — 40.0%. Pain relapse rate was 8.6%, on average after 9.5 months after irradiation. The independent predictors of the CRR were: the initial pain

intensity [hazard ratio (RR): 0.48, confidence interval (CI): 0.40–0.58; p=0.0001], dose/number of fractions (RR: 1.26, CI: 1.07–1.50; p=0.0059) and primary tumor site (RR: 0.95, CI: 0.92–0.99; p=0.0053). We constructed a scale of comparative radiosensitivity of bone metastases of various primary tumors, taking into account the complete response rate and the probability of surviving without pain relapse for 6, 12 and 24 months after radiotherapy. The radiosensitive group included metastases from breast and prostate cancer, melanoma, bladder and PNET (CRR 60% or more), and relatively radioresistant group — metastases from unknown origin, colon, stomach and kidney cancer (CRR 40% or less).

Conclusion. More than 95% overall efficacy of radiotherapy for bone metastases, with pain relapse rate of less than 10% of cases, allows us to consider widefield irradiation in doses of 19.5–26 Gy, in 3–4 fractions of 6.5 Gy, the preferred treatment for multifocal lesions. Dose escalation in patients with bone metastases of kidney, colon, lung cancer and metastases from unknown origin seems to be justified in the cases with a life expectancy of more than a year.

Purpose. Assessment of the comparative radiosensitivity of bone metastases of various nature and histogenesis.

Key words: bone metastases, pain, radiosensitivity

*И.В. Двораковская, А.А. Ильин, Д.В. Дзадзуа, Б.М. Ариэль,
С.Ю. Дворецкий, А.Л. Акопов*

Доброкачественная лейомиома матки с поражением легких

ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова»

Описаны клинические наблюдения лейомиомы матки с поражением легких, приведены результаты лучевого обследования и гистологического исследования биоптатов легких с применением иммуногистохимических методов, а также результаты исследования гетерозиготности и микросателлитной нестабильности новообразования матки. Собственные наблюдения и немногочисленные описания доброкачественной лейомиомы матки с поражением легких, имеющиеся в литературе, подтверждают ее псевдоопухолевую природу, которую следует рассматривать как нодозную дисгормональную гиперплазию. Выявление признаков генетической нестабильности не позволяет надежно дифференцировать доброкачественную или злокачественную природу заболевания. Ключевая роль в дифференциальной диагностике лейомиомы матки с поражением легких и лейомиосаркомы принадлежит оценке клинической динамики.

Ключевые слова: матка, легкие, лейомиома, лейомиосаркома, микросателлитная нестабильность

Введение

Доброкачественная метастазирующая лейомиома матки (ДМЛМ), согласно классификации опухолей женских репродуктивных органов ВОЗ (2014), является одним из вариантов доброкачественных гладкомышечных опухолей [1]. Первые сообщения о ДМЛМ относятся к концу XIX в. и принадлежат G. Krusche [2] и P. Langerhans [3], а сам термин предложен P. Steiner [4], который описал доброкачественные гладкомышечные узлы в органах, удаленных от матки. Современными авторами отмечаются чрезвычайная редкость заболевания и отсутствие больших серий наблюдений, а также сложность диагностики. Описаны очаги ДМЛМ в легких, наружных половых органах, яичниках, мочевом пузыре, уретре, костях, коже, средостении, мышцах, лимфоузлах, сальнике, забрюшинном пространстве, нижней полой вене [5–11]. Все это может свидетельствовать о системности заболевания [12].

Предполагается, что патогенез ДМЛМ сходен с патогенезом эндометриоза [13].

Начало заболевания может быть спровоцировано лечением эстрогенами, которые регулируют транскрипцию многих генов и стимулируют пролиферацию гладкомышечных клеток [14, 15], а также с хирургическими операциями на матке [16]. Крайне редко лейомиомы в легких выявляются у мужчин [17]. Рентгенологически изменения в легких представлены в виде периферических солидных узлов на фоне неизменной паренхимы. Диагноз верифицируется путем биопсии или полного удаления новообразования с последующим гистологическим исследованием. Практически все авторы, описывающие ДМЛМ, указывают на длительность течения заболевания, отсутствие ядерного полиморфизма, низкую митотическую активность [6, 8, 12, 18, 19].

Цель исследования — обобщить опыт наблюдения пациентов с гистологически верифицированными гладкомышечными очаговыми новообразованиями легких с 2010 по 2020 годы.

Материалы и методы

За указанный период времени наблюдались четыре пациентки, у трех из которых подтверждена ДМЛМ, и у одной — лейомиосаркома. В каждом случае имелись существенные сложности диагностики, определившие длительные сроки формулировки диагноза. Представлено короткое описание четырех клинических наблюдений, обобщены сведения о течении заболевания.

Результаты

Клиническое наблюдение 1. В возрасте 53 лет (2016 г.) перенесла гистерэктомию по поводу миомы. При патоморфологическом исследовании гладкомышечные клетки с умеренно выраженным ядерным полиморфизмом, неравномерной митотической активностью (5–7 митозов на 10 полей зрения), признаки инфильтративного роста в окружающий миометрий, единичные очаги некроза; эндометрий с диффузной гиперплазией базального слоя. При иммуногистохимическом исследовании опухолевые клетки не экспрессируют p53, экспрессия рецепторов эстрогенов

слабая, индекс пролиферативной активности (по экспрессии Ki-67) 3–7%.

Через 3 мес при компьютерной томографии (КТ) органов грудной клетки выявлены множественные очаги в обоих легких диаметром до 12 мм. При торакокопии с краевой резекцией верхней доли левого легкого получен волокнистый узел диаметром 0,8 см плотной консистенции серо-желтого цвета с четкими контурами. Узел состоит из хаотично переплетающихся пучков веретенообразных клеток с выраженным клеточным полиморфизмом, с крупными, иногда уродливыми ядрами. Ткань опухоли содержит большое количество разнокалиберных сосудов; митозы и некроз не определяются. Узел заключен в тонкую капсулу; на серии срезов обнаружена зона периваскулярного инфильтрирующего роста. Иммуногистохимическое исследование: неравномерная экспрессия гладкомышечного актина, десмина, виментина, рецепторов эстрогенов, CD31 (в сосудах) (рис. 1, а, б). Экспрессия TTF-1 и панкератина не выявлена. Индекс Ki-67 менее 1%.

При молекулярно-генетическом исследовании с микросателлитным анализом локусов D3S1295,

D9S942, D10S1213, D10S1146, D10S24, D10S18 и определении геномной ДНК потери гетерозиготности и микросателлитной нестабильности, характерные для лейомиосаркомы, не выявлены.

В соответствии с вышеприведенной классификацией ВОЗ установлен диагноз ДМЛМ. Начато лечение оксипрогестерона капронатом; до настоящего времени (более 4 лет) без клинико-рентгенологических признаков прогрессирования легочных изменений.

Клиническое наблюдение 2. В возрасте 39 лет (в 2004 г.) пациентке проведена надвлагалищная ампутация матки по поводу миомы. С 2005 г. отмечает одышку, установлено наличие мягкотканых очагов от 8 до 22 мм в диаметре в обоих легких на неизменном легочном фоне. При гистологическом исследовании биоптата легкого (2009 г.), полученном путем торакокопической краевой резекции, наблюдается картина лейомиомы с отчетливым ядерным полиморфизмом и высокой пролиферативной активностью, отмечено сходство с узлом матки. Иммуногистохимически экспрессия рецепторов прогестерона, эстрогенов, гладкомышечного актина,

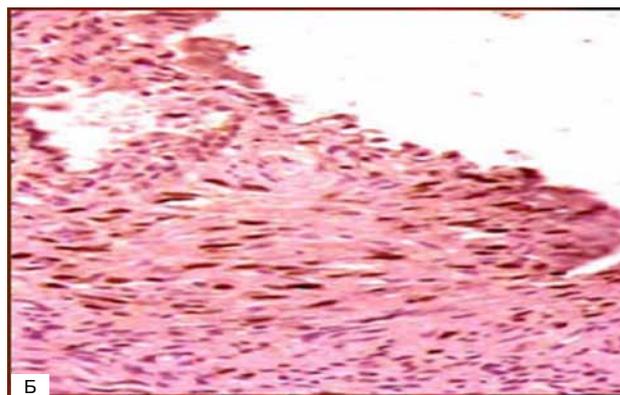
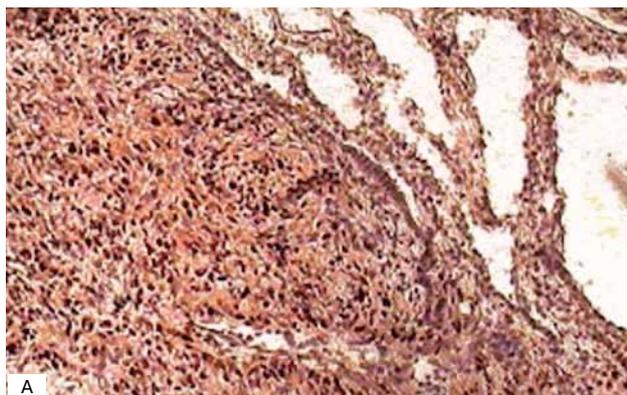


Рис. 1. Иммуногистохимическое исследование. а — экспрессия рецепторов к эстрогенам; б — экспрессия рецепторов к прогестерону. Ув.: а — 150; б — 250

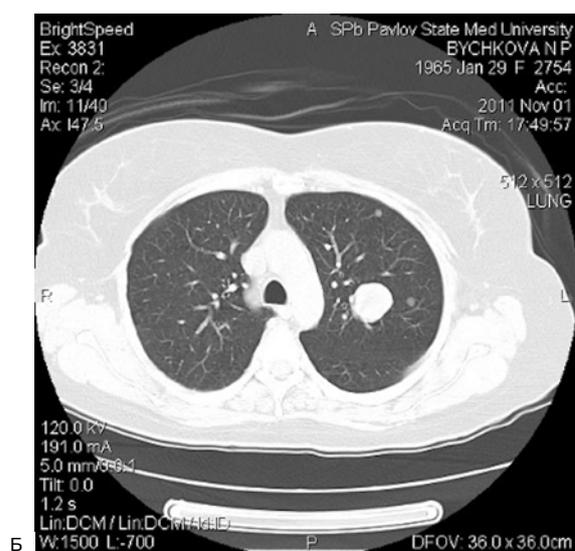
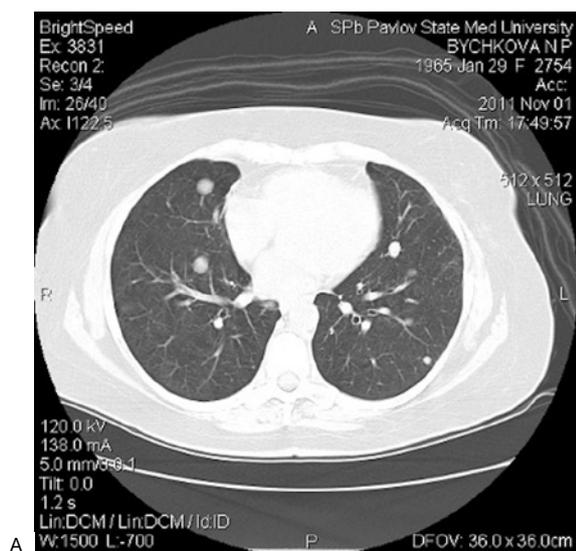


Рис. 2. Компьютерная томография органов грудной клетки (а, б). Множественные новообразования обоих легких до 30 мм в диаметре

а экспрессия HNB-4st не выявлялась. Индекс пролиферативной активности (Ki-67) 3–5%. Начато лечение оксипрогестерона капронатом. Однако при обследовании в ноябре 2011 г. размеры новообразований в легких увеличились, достигая 30 мм в диаметре (рис. 2, а, б). В проекции культи матки образование неправильной формы размерами 67×45 мм (рецидив миомы).

С 2011 г. получает препарат Сиролimus по 0,5 мг в сутки; клинко-рентгенологически — стабилизация.

Клиническое наблюдение 3. Пациентке в возрасте 45 лет (2010 г.) выполнена надвлагалищная ампутация матки в связи с ее перфорацией при диагностическом выскабливании по поводу миомы. В 2016 г. обнаружены очаговые изменения в обоих легких. При микроскопическом исследовании биоптата легкого (торакоскопическая краевая резекция) — типичный метастатический очаг доброкачественной лейомиомы матки с нерезко выраженным полиморфизмом, что подтверждено и при иммуногистохимическом исследовании. В веретенновидных клетках обнаружена экспрессия гладкомышечного актина, десмина, рецепторов эстрогенов (90% клеток) и прогестерона (80% клеток). Индекс пролиферации (Ki-67) 5%. Назначен оксипрогестерона капроната, признаков прогрессирования в течение последующего наблюдения не отмечено.

Клиническое наблюдение 4. У пациентки в возрасте 38 лет (2011 г.) удалена матка по поводу миомы (гистологический материал не представлен). В 2020 г. отмечено быстрое прогрессирование одышки (ЖЕЛ 40% от должного, ОФВ1 37% от должного) и рентгенологическое прогрессирование очаговой диссеминации в обоих легких, произведена хирургическая биопсия левого легкого. При гистологическом исследовании — очаговые разрастания опухолевой ткани звездчатой или округлой формы, расположенные периваскулярно и деформирующие прилежащие легочные структуры. Опухоль состоит из переплетающихся пучков однотипных веретенновидных клеток без ядерного полиморфизма и без митозов (рис. 3, а). Опухолевые клетки экспрессируют гладкомышечный актин и находятся в состоянии высокой пролиферативной активности, оценка которой (Ki-67) составила 40% (см. рис. 3, б–г). Бронхоскопия — на стенках крупных бронхов белесоватые очаги диаметром до 0,2–0,3 см; устье левого главного бронха обтурировано плотной белой тканью, при ее гистологическом исследовании микроскопическая картина, аналогичная биоптату легкого. Учитывая гинекологический анамнез, быстрое прогрессирование болезни, особенности КТ-картины (множественные образования легких, склонные к быстрому росту) (рис. 4, а, б),

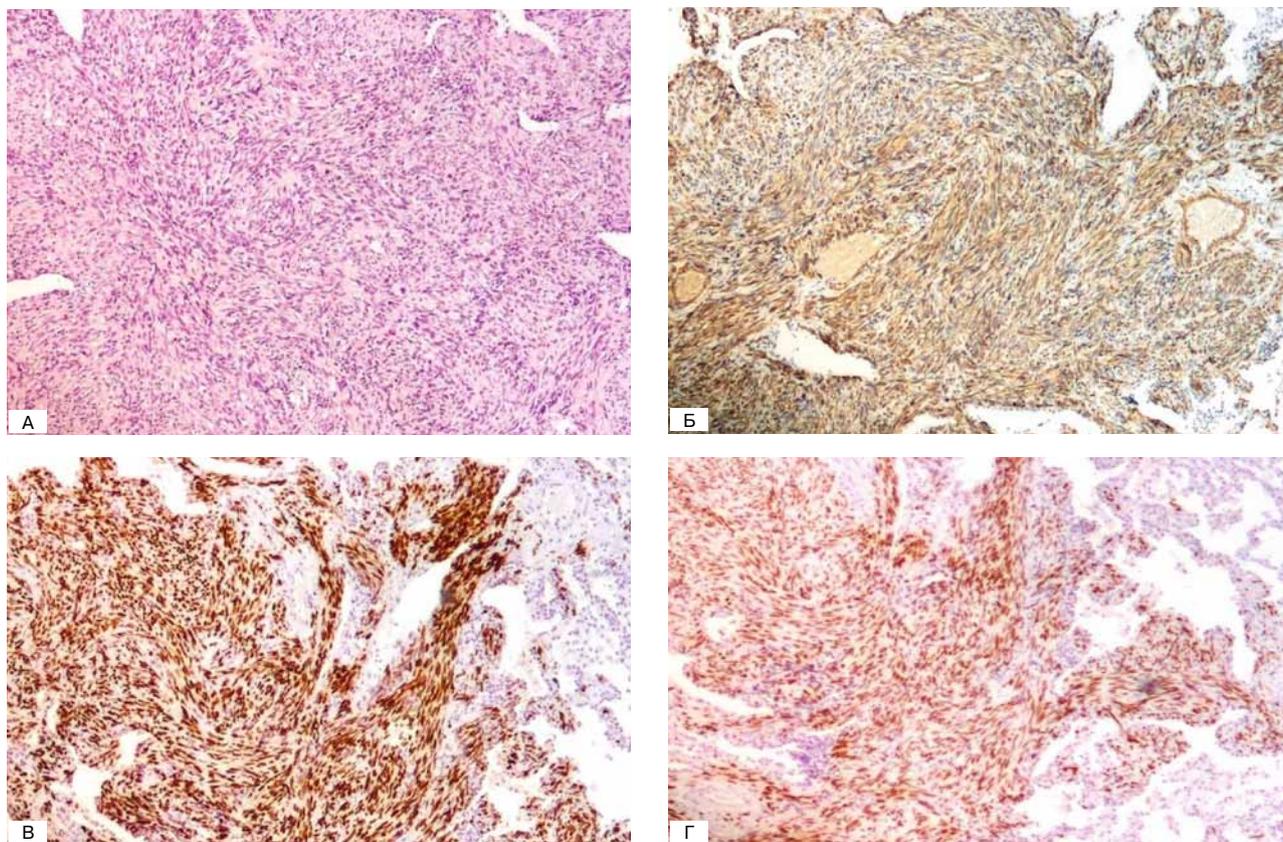


Рис. 3. Гистологическое и иммуногистохимическое исследование.

а — окраска гематоксилином и эозином; б — экспрессия гладкомышечного актина; в — экспрессия рецепторов к эстрогенам; г — экспрессия рецепторов к прогестерону. Ув.: а, в, г — 100; б — 80

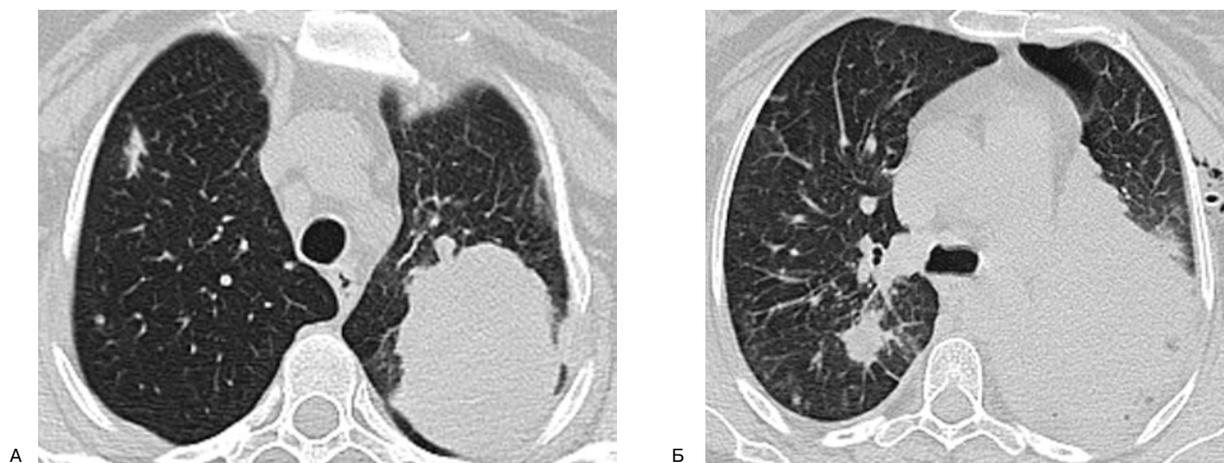


Рис. 4. Компьютерная томография органов грудной клетки.

а — множественные округлые мягкотканые новообразования, наибольшее из них в верхней доле левого легкого (26.02.2020); б — отрицательная динамика (11.03.2020)

результаты бронхоскопии, гистологического исследования и высокую пролиферативную активность опухоли, установлен диагноз лейомиосаркомы. Проводимое гормональное (антиэстрогенное) и противоопухолевое лечение неэффективны.

Обсуждение

Наши наблюдения ДМЛМ дополняют общую клинико-морфологическую картину этой патологии и позволяют высказать ряд общих соображений, затрагивающих биологическую суть проблемы.

По-видимому, нет оснований по-прежнему рассматривать ДМЛМ как редко встречающееся новообразование. По данным А.О. Awonigo и соавт. [20], в литературе можно найти не менее 150 случаев ДМЛМ, а число публикаций, появляющихся в последнее время, растет. Гистологический и иммуногистохимический фенотипы ДМЛМ описаны в малейших деталях и с той точки зрения, что это одна из форм лейомиоматозов, включающих диффузный лейомиоматоз, агрессивный лейомиоматоз, интравенозный лейомиоматоз и перитонеальный лейомиоматоз [7].

ДМЛМ, встречающаяся обыкновенно у женщин детородного возраста, отличается гормональностью и классифицируется в настоящее время как доброкачественная опухоль *sui generis* (лат. — единственный в своем роде) в силу того, что метастазирует в матку, легкие, лимфоузлы, печень, кости etc., в полной мере сохраняя там все характерные свойства первичного узла [1]. Очевидно, что название «метастазирующая доброкачественная опухоль» в клинико-анатомическом отношении есть само по себе онкологический парадокс (*contradictio in adjecto*, лат. — противоречие в определении), выходом из которого может быть новый взгляд на сущность патологического процесса.

Во всех наблюдениях стимулом к росту узлов в легких послужили оперативные вмешательства на матке. Узлы ДМЛМ в матке, лимфоузлах, легких, печени и в других органах — как совокупность, можно рассматривать как системную патологию гладкомышечной ткани [7]. Еще более расширяя это обобщение, следует признать, что речь идет о дифференцировке с формированием гладкомышечного органа *sui generis*, заслуживающего, по нашему мнению, специального названия *organum levimusculare* (лат. *levis* — гладкий). Составными частями этого органа являются вышеперечисленные гладкомышечные узловатые образования в различных органах, необоснованно названные метастазами. Процесс может рассматриваться как нодозная дисгормональная гиперплазия, подобно, например, кистозной мастопатии, миофиброматозу матки, эндометриозам, «аденомам» печени, почек, коры надпочечников и тому подобным псевдоопухолям. Иная точка зрения — всего лишь дань традиции, в рамках которой узловатые разрастания, в отличие от диффузных, рассматриваются в числе опухолей, поскольку имеют с ними клинико-анатомическое сходство.

Микроскопическая картина в матке и легких определялась разрастанием обычных лейомиоцитов и фибробластов с экспрессией типичных иммуногистохимических маркеров этих клеток. В первом клиническом наблюдении в клеточных разрастаниях имелись некоторые признаки атипии и высокая пролиферативная активность, в последнем же вызывало настороженность необычно стремительное развитие событий с быстрым прогрессированием легочной патологии. Эти наблюдения затрагивают сложнейшие вопросы дифференциальной диагностики ДМЛМ и лейомиосаркомы. Можно ли рассматривать большую митотическую активность и высокую экспрессию маркера пролиферации Ki-67 в миоматозных узлах как один из признаков злока-

чественного роста? Безусловно нет, если нет данных, в какой фазе менструального цикла получен материал. Экспериментальные и клинические наблюдения свидетельствуют о том, что активная пролиферация наблюдается в узлах ДМЛМ, как и в нормальном миометрии, в секреторной фазе цикла. Прогестерон, рецепторы к которому имеются в ДМЛМ, может, в свою очередь, оказывать подавляющее действие на пролиферацию, снижая уровень мРНК инсулиноподобного фактора роста [21].

В дифференциальной диагностике ДМЛМ и сарком нельзя не учитывать и экспрессии эпидермального фактора роста, являющейся более высокой в клетках с клинически значимым ростом по сравнению с клетками менее активно растущих миом [21]. В то же время, недостаточная специфичность морфологических критериев в оценке доброкачественной или злокачественной природы новообразования и ограниченные возможности иммуногистохимии вынудили нас в клиническом наблюдении 1 прибегнуть к использованию молекулярно-генетического метода выявления микросателлитных повторов. Отсутствие микросателлитных повторов дало основание отвергнуть диагноз лейомиосаркомы, несмотря на ряд признаков атипизма при морфологическом исследовании. Однако такое решение является далеко не безупречным, так как согласно опыту Ю.Ю. Андреевой и соавт. [7], в одних лейомиосаркомах такие повторы были налицо, в других же они отсутствовали. Очевидно, присутствие микросателлитных повторов — это необходимый, но не достаточный критерий в дифференциальной диагностике лейомиосаркомы и лейомиоматозов. В связи с этим нельзя не вспомнить мнение нобелевского лауреата Р. Медавар [22], что «heredity proposes and development disposes» («наследственность предполагает, а развитие располагает»). Иначе говоря, не морфологический анализ в собственном смысле слова, а непредвзятое клиническое наблюдение с использованием метода *ex juvantibus* играет ключевую роль в дифференциальной диагностике лейомиосаркомы и лейомиоматозов.

То же относится и к лечению ДМЛМ. Выбор его тактики зависит от всех клинических особенностей конкретного наблюдения. В наиболее тяжелых случаях применением иммуносупрессивных препаратов (сиролимус) достигается положительная динамика и улучшается весь комплекс клинических, рентгенологических и функциональных показателей.

Выводы

1. Доброкачественная лейомиома матки с поражением легких не принадлежит к числу ред-

ких нозологических форм. По биологической сущности ее следует рассматривать не как истинную опухоль, а как патологию из разряда нодозной дисгормональной гиперплазии.

2. Вопрос о дифференциальной диагностике лейомиомы матки с поражением легких и лейомиосаркомы не имеет однозначного ответа. Ключевая роль здесь принадлежит непредвзятому клиническому наблюдению, в том числе с использованием диагностики методом *ex juvantibus*, но не сводится к морфологическому анализу с применением иммуногистохимических и молекулярно-генетических методов.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии в статье конфликта интересов.

Финансирование

Исследование не имело спонсорской поддержки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Kurman RJ, Carcangiu M.L, Herrington C.S, Young RH. (eds.). WHO Classification of tumors of the female reproductive organs. 4th ed. vol. 6 IARC Publ., 2014.
2. Krische G. Ein Fall von Fibromyom des Uterus mit multiplen Metastasen bei einem Geisteskranken. Göttingen: Dissertation; 1889 (цит. по Steiner P.E.).
3. Langerhans P. Demonstration eines Präparats von Myoma laevicellulare malignum // Wien klin Wchschr. 1893;30:338–340.
4. Steiner P.E. Metastasizing fibroleiomyoma of the uterus. Report of a case and review of the literature // Am J Pathol. 1939;15:89–109.
5. Печетов А.А., Леднев А.Н., Ратникова Н.К., Волчанский Д.А. Доброкачественная метастазирующая лейомиома матки с поражением лёгких: проблемы диагностики и лечения // Хирургия. 2020;9:85–88 [Pechetov A.A., Lednev A.N., Ratnikova N.K., Volchansky D.A. Benign metastatic uterine leiomyoma with lung involvement: problems of diagnosis and treatment // Khirurgia. 2020;9:85–88. In Russ.].
6. Решетов А.В., Клименко В.Н., Елькин А.В. и др. Клинико-морфологическая характеристика случая внутрилегочных метастазов доброкачественной лейомиомы // Ученые записки СПб ГМУ им. академика И.П.Павлова. 2018;4:81–86 [Reshetov A.V., Klimentko V.N., Elkin A.V. et al. Clinical and morphological characteristics of the case of intrapulmonary metastases of benign leiomyoma // Scientific notes of St. Petersburg State Medical University named after Academician I.P. Pavlov. 2018;4:81–86. In Russ.].
7. Андреева Ю.Ю., Москвина Л.В., Франк Г.А. и др. Гладкомышечные опухоли с неопределенным злокачественным потенциалом // Архив патологии. 2019;3:5–11 [Andreeva Yu.Yu., Moskvina L.V., Frank G.A. et al. Smooth muscle tumors with undetermined malignant potential // Archiv Pathologii. 2019;3:5–11. In Russ.].
8. Cirak Y, Sever ON, Urun Y. Benign metastasizing leiomyoma of bone and lung in postmenopausal woman:

- two rare case reports and review of the literature // Eur. J. Gynaecol. Oncol. 2017;38:118–121.
9. Субботин А.С., Важенин А.В., Афанасьева Н.Г. ПЭТ-картина диссеминации доброкачественной лейомиомы // Сибирск. журнал онкологии. 2017;1:104–108 [Subbotin A.S., Vazhenin A.V., Afanasyeva N.G. PET picture of dissemination of benign leiomyoma // Siberian journal of oncology. 2017;1:104–108. In Russ.].
 10. Soarers RR, Drumond LF, Soares da Mata D et al. Cardiac metastasizing leiomyoma // Int J Surg Case Rep. 2020;77:647–650.
 11. Barbera E, Eapenb A, Mehtab R et al. Benign metastasizing leiomyoma to the lung and spine: a case report and literature review // Case Rep Oncol. 2019;12:218–223.
 12. Андреева Ю.Ю., Данилова Н.В., Шикеева А.А. и др. Доброкачественная метастазирующая лейомиома тела матки // Архив патологии. 2012;6:39–46 [Andreeva Yu.Yu., Danilova N.V., Shikeeva A.A. et al. Benign metastatic leiomyoma of the uterine body // Archiv Pathologii. 2012;6:39–46. In Russ.].
 13. Dvorakovskaya I, Pechenikova W, Ariel B et al. Pulmonary endometriosis: clinico-pathological approach to diagnostics and treatment // Lungs and Breathing Journal. 2018;2:1–4.
 14. Kommos F, Ebel T, Drusenheimer J. et al. Intravenous leiomyomatosis // Pathologie. 2019;40:80–84.
 15. Dai HY, Guo SL, Shen J, Yang L. Pulmonary benign metastasizing leiomyoma: a case report and review of the literature // World J Clin Cases. 2020;8:3082–3089.
 16. Stilidi I, Paianidi J, Bokhian V et al. Intracardiac intravenous leiomyomatosis: diagnosis and management // Int J Gynecol Cancer. 2020;30:1243–1247.
 17. Luo G, Pan H, Bi J. et al. Surgical treatment of intravenous leiomyomatosis involving the right heart: a case series // J Int Med Res. 2019;47:3465–3474.
 18. Fan R, Feng F, Yang H et al. Pulmonary benign metastasizing leiomyomas: a case series of 23 patients at a single facility // BMC Pulm Med. 2020;20:292.
 19. Stabler R, Azim A, Edwards D. Benign metastasizing leiomyoma presenting with respiratory distress // BMJ Case Rep. 2019;12(7):e228898.
 20. Awonuga AO, Shavell VI, Imudia AN et al. Pathogenesis of benign metastasizing leiomyoma // Obstetrical & Gynecological Survey. 2010;65:189–195.
 21. Пальцев М.А., Кветной И.М. Руководство по нейроиммуноэндокринологии. М., «Шико». 2014 [Palcev M.A., Kvetnoy I.M. Guide to neuroimmunoenocrinology. M., «Shiko», 2014. In Russ.].
 22. Medavar P. B. Advice to a young scientist // NY. Harper & Row. 1979.

Поступила в редакцию 30.04.2021 г.

*I.V. Dvorakovskaya, A.A. Ilin, D.V. Dzadzua,
B.M. Ariel, S.Yu. Dvorecky, A. Akopov*

Benign uterine leiomyoma with lung lesions

Pavlov First State Medical University, Saint-Petersburg, Russia

Clinical cases of uterine leiomyoma with secondary lung involvement are described. The results of X-ray, computerized tomography, and histological examination of lung specimens, as well as those of heterozygosity and microsatellite instability are presented. Our own experience and the few descriptions available to date in the literature confirm the pseudo tumorous nature of benign uterine leiomyoma with lung involvement which should be considered as nodular dyshormonal hyperplasia. The signs of genetic instability's identification do not allow to differentiate clearly between the benign or malignant nature of the disease. The key role in the differential diagnosis of uterine leiomyoma with lung involvement and leiomyosarcoma belongs to unprejudiced clinical observation.

Key words: uterus, lungs, leiomyoma, leiomyosarcoma, microsatellite instability

А.А. Перминова¹, М.Д. Ханевич^{1,2}, Н.Ю. Коханенко¹, А.А. Кашинцев¹, А.В. Глебова^{1,2}

Изолированный метастаз лейомиосаркомы матки в поджелудочную железу: клиническое наблюдение

¹ ФБГОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России

² СПб ГБУЗ «Городская Мариинская больница», Санкт-Петербург

Представлено клиническое наблюдение успешного хирургического лечения пациентки с изолированным метастазом лейомиосаркомы матки в головку поджелудочной железы спустя 3 года после удаления первичной опухоли. Выполнена панкреатэктомия с последующим иммуногистохимическим исследованием. Больная обследована через 6 мес после операции. Признаков рецидива заболевания нет.

Ключевые слова: лейомиосаркома матки, метастаз лейомиосаркомы, постнекротическая киста головки поджелудочной железы, панкреатэктомия

Введение

В онкологическом центре Карманос США был проведен анализ аутопсий больных опухолями поджелудочной железы (ПЖ). Среди 973 исследований в 38 (3,9%) наблюдениях наблюдались метастатические опухоли. Из них был обнаружен только один случай лейомиосаркомы (0,1%) [1]. Лейомиосаркома матки — редкое и агрессивное злокачественное новообразование гладкомышечных клеток миометрия. Чаще всего отдаленные метастазы лейомиосаркомы бывают в легкие, почки и печень. Метастазы в поджелудочную железу встречаются крайне редко [2].

Представляем пациентку с метастазом лейомиосаркомы матки в ПЖ. Больная 3., 63 лет. Поступила в 9 онкологическое (хирургическое) отделение городского клинического онкологического диспансера в мае 2019 г. При поступлении у пациентки была выраженная слабость, боли в верхних отделах живота. По данным объективного осмотра живот не вздут, мягкий, при пальпации болезненный в верхних отделах, больше в правом подреберье, где пальпировалось плотное, малосмещаемое, болезненное объемное образование, без четких контуров. Из анамнеза стало известно, что в ноябре 2016 г. ей была выполнена пангистерэктомия по поводу лейомиосаркомы тела матки р T1bN0M0 IB стадии. По данным гистологического и иммуногистохимического исследований: лейомиосаркома тела матки G2.

В течение последующих лет пациентка чувствовала себя хорошо, регулярно наблюдалась у онкогинеколога, признаков рецидива заболевания не было. Спустя три года появились сильные опоясывающие боли в верхних отделах живота, слабость. Пациентка экстренно была госпитализирована с диагнозом острый панкреатит. После выполнения клинко-инструментальных исследований был установлен диагноз постнекротическая киста головки поджелудочной железы. Проводилось консервативное лечение, после купирования болевого синдрома, пациентка была выписана к гастроэнтерологу по месту жительства. Спустя месяц больная госпитализирована по экстренным показаниям с клиникой кишечного кровотечения, анемией тяжелой степени. При обследовании выявлено образование головки поджелудочной железы, прорастающее в двенадцатиперстную кишку с признаками кровотечения. После проведения консервативного лечения, гемотрансфузии пациентка была выписана с рекомендациями продолжить лечение у онколога.

По данным лабораторных исследований при поступлении отмечалась выраженная анемия тяжелой степени (гемоглобин 44 г/л, эритроциты $1,96 \times 10^{12}/л$), гипопропротеинемия (общий белок 56,2 г/л). Ультразвуковое исследование брюшной полости показало наличие образования в проекции головки поджелудочной железы 9,8×8,0×9,6 см, при цветном доплеровском картировании в опухоли выявлены множественные локусы интенсивного кровотока, образование — гиперваскулярное, складывалось впечатление о прорастании опухоли в двенадцатиперстную кишку. При рентгенографии органов грудной клетки выявлены возрастные изменения. Из сопутствующих заболеваний: Ишемическая болезнь сердца. Атеросклеротический кардиосклероз. Острое нарушение мозгового кровообращения в 2012 г. по лакунарному ишемическому типу. Гипертоническая болезнь III ст. Артериальная гипертензия 3 ст. Риск сердечно-сосудистых осложнений 4. Хроническая сердечная недостаточность II ф.кл. Варикозное расширение вен нижних конечностей. Хроническая венозная

недостаточность II ст. Правосторонний коксартроз III ст. на фоне локального остеопороза. Состояние после эндопротезирования правого тазобедренного сустава от 2018 г. Хронический пиелонефрит, вне обострения. Больной было выполнено КТ органов брюшной полости на котором выявлено гипervasкулярное образование в проекции головки поджелудочной железы 95×82×85 мм с возможным прорастанием воротной вены (рис. 1). Для выявления источника кровотечения, учитывая уровень гемоглобина, и оценки экстравазации контрастного вещества была выполнена ангиография чревного ствола и брыжеечных артерий. На ангиограммах в проекции ворот печени определяется округлое гипervasкулярное образование с четкими контурами, размером 11×13 см (рис. 2). Кровоснабжение осуществлялось из бассейна гастродуоденальной артерии, верхней брыжеечной артерии, чревного ствола (рис. 3). После проведения консервативного лечения, неоднократной гемотранфузии,

стабилизации общего состояния больной было принято решение о выполнении хирургического вмешательства. Во время операции при ревизии органов брюшной полости: в области головки поджелудочной железы определялся плотный конгломерат, размером 15,0×17,0 см, на котором распластана двенадцатиперстная кишка. Образование было гипervasкулярно, плотно прилегало к сосудам правой почки, верхней брыжеечной вене, чревному стволу, верхней брыжеечной артерии (рис. 4). Выполнена операция: Лапаротомия. Дуоденопанкреатэктомия со спленэктомией (объем хирургического вмешательства расширен до панкреатэктомии, учитывая не только распространение опухоли головки поджелудочной железы на тело, но, кроме того, в области хвоста поджелудочной железы определялся постнекротический очаг), холецистэктомией, формированием гастроэнтероанастомоза, холедохоеюноанастомоза и межкишечного соустья по Брауну, дренирование брюшной полости.



Рис. 1. Компьютерная томография брюшной полости пациентки, бесконтрастная фаза, поперечный срез.
1 — опухоль головки поджелудочной железы



Рис. 2. Ангиография чревного ствола и брыжеечных артерий.
1 — образование с четкими контурами в проекции ворот печени

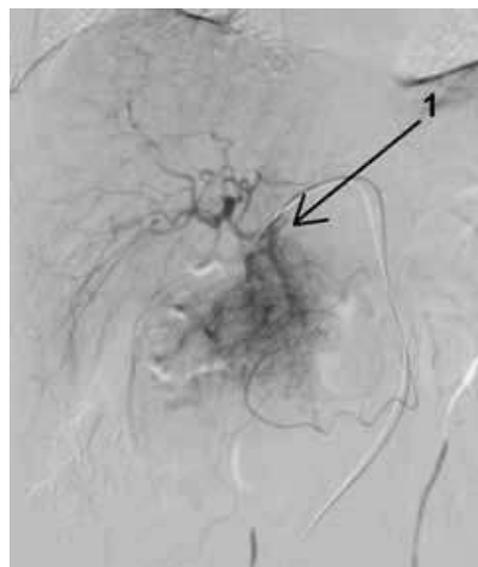


Рис. 3. Ангиография чревного ствола и брыжеечных артерий.
1 — ветви чревного ствола

Макроописание: Головка поджелудочной железы с опухолью 15×17 см, прорастающая в двенадцатиперстную кишку; опухоль с распадом и скоплением старой и свежей крови в полости распада опухоли в объеме 150 мл (рис. 5). Тело и хвост поджелудочной железы с постнекротическими изменениями (рис. 6). Отрезок двенадцатиперстной кишки (ДПК) 16 см с расширенным просветом до 17 см в периметре, с выступающим в просвет участком 9,5×6,5 см слизистой оболочки на высоту до 2 см. С наружной стороны кишки — плотное, эластичное образование 9×11 см беловатого цвета, дольчатого вида. В просвете ДПК около 50 мл сгустков крови. Гистологическое исследование № 60796-809: злокачественная неэпителиальная опухоль головки поджелудочной железы, прорастающая стенку ДПК на всю толщ, без сосудистой и периневральной инвазии, удалена в пределах здоровых тканей. Стенка желчного пузыря с атрофией слизистой и умеренно выраженными признаками хронического холецистита. Селезенка без особенностей, тело и хвост поджелудочной железы с постнекротическими очагами. Иммуногистохимическое исследование № 1112/19: Умеренная диффузная реакция: Actin SM; Умеренная фокальная реакция: Desmin, Vimentin, Caldesmon; Слабая реакция: EMA; Отсутствует реакция на: CD10, DOG-1, CD117, ER, Miogenin. Гистологическая структура и иммунофенотип наиболее соответствуют лейомиосаркоме G2. По системе FNCLCC (гистологический тип и зрелось — 2 балла; 12 митозов на 10 HPF-2 балла, некрозы менее 50% опухолевой ткани 1 балл) 2+2+1=5 (4 или 5 баллов G2), Ki 67 5–10%. Послеоперационный период составил 13 дней. После чего пациентка была выписана в удовлетворительном состоянии. Через 6 мес после операции больная чувствует себя хорошо, рецидива основного заболевания нет. Учитывая объем хирургического вмешательства пациентке проводится ежедневно контроль уровня сахара крови, который составляет 5,5–8,0 ммоль/л на фоне проводимой инсулинотерапии: 12 Ед Протофан утром, 6 Ед Протофан вечером. Кроме того, в основной рацион питания включен прием ферментных препаратов (креон по 10.000 три раза в день).

Обсуждение

Метастатические поражения поджелудочной железы встречаются редко и составляют менее 2% всех злокачественных новообразований поджелудочной железы [3]. Первичные очаги лейомиосаркомы включают матку, яичники, вены, семенной канатик, кишечник, забрюшинное пространство и мягкие ткани [4]. Пациенты с метастазами в поджелудочную железу обычно

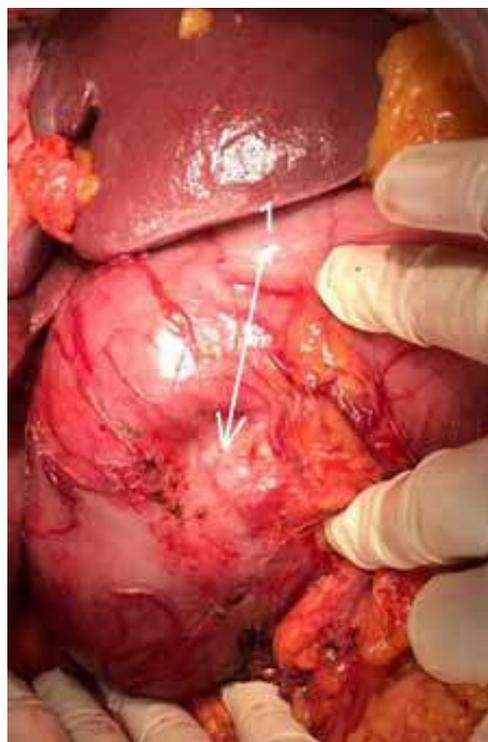


Рис. 4. Интраоперационное фото.
1 — конгломерат в области головки поджелудочной железы

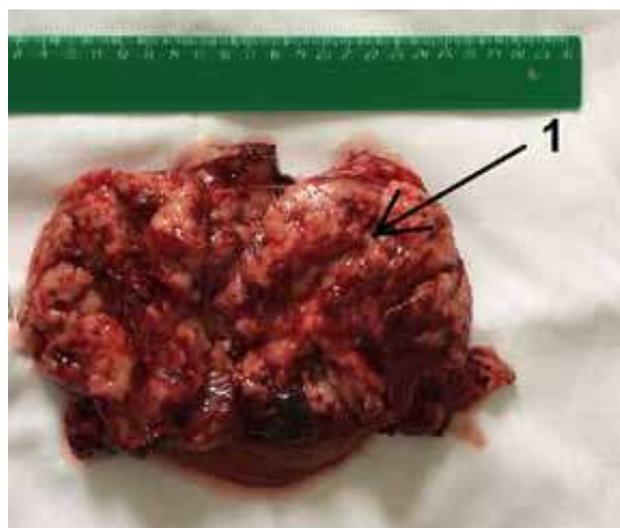


Рис. 5. Опухоль на разрезе.
1 — полости распада опухоли со скоплениями старой крови



Рис. 6. Хвост поджелудочной железы.
1 — постнекротический очаг

идентифицируются одним из трех способов: во время первичного обследования, рутинного наблюдения после резекции первичного очага, возникновения симптомов распространения опухоли [5]. Желтуха (25%) и боль в животе (20%) (как и в представленном наблюдении) были наиболее частыми симптомами метастазов в поджелудочную железу [6]. При КТ с контрастным усилением большинство метастатических лейомиосарком поджелудочной железы являются гиповаскулярными [7], что требует тщательно их дифференцировать с протоковой аденокарциномой поджелудочной железы. Перипанкреатическая лимфаденопатия редко встречается при метастазах в поджелудочную железу и поэтому считается признаком первичного злокачественного новообразования [8]. Средний интервал между диагностикой метастазов и первичной лейомиосаркомой составляет 24 мес (от 1 до 77 мес), и у всех пациентов были метастазы в другие органы [7]. В данном случае метастаз в поджелудочную железу был обнаружен через 3 года после пангистерэктомии, что свидетельствует о большом интервале между лечением первичной лейомиосаркомы и появлением метастаза в поджелудочной железе. В обзоре литературы Редди и Вольфганг [9] проанализированы 243 пациента, перенесших радикальную резекцию поджелудочной железы по поводу метастатического заболевания, из которых было 12 больных с метастатической саркомой и средней продолжительностью жизни 40 мес. Эффективность резекции поджелудочной железы при метастатической опухоли зависит от опухолевой биологии первичного рака (в данном наблюдении Ki 67 5–10%). В целом, лейомиосаркомы в поджелудочной железе представляют собой большие кистозные образования. Кистозные изменения часто связаны с кровотечением или некрозом и могут представлять собой дегенеративные изменения в быстро увеличивающейся солидной опухоли. Гистологически большинство опухолей показывают агрессивные черты высокой клеточности, плеоморфизма и значительного количества митозов [10].

Были проанализированы непосредственные результаты 63 панкреатодуоденальных резекций у больных раком головки поджелудочной железы, у 7 из них (11,1%) отмечался острый панкреатит, при этом у 3 пациентов во время операции был выявлен деструктивный панкреатит [12]. В данном случае авторы отказывались от наложения панкреатикоюноанастомоза [12]. В нашем клиническом наблюдении постнекротический очаг являлся следствием перенесенного острого деструктивного панкреатита. Во время операции нельзя было исключить и мультифокальное поражение ПЖ и, учитывая распростра-

нение опухоли на тело поджелудочной железы, была выполнена тотальная панкреатэктомия. Противопоказанием к выполнению пилоросохраняющей операции являлось макроскопическое распространение опухоли на верхнегоризонтальную часть ДПК [13]. Петербургскими авторами в разные сроки после операции было оценено качество жизни у 97 больных раком ПЖ, половине из которых была выполнена стандартная гастропанкреатодуоденальная резекция (ГПДР), а остальным — ПДР с сохранением привратника. Полученные результаты продемонстрировали отсутствие достоверных межгрупповых различий в оценке качества жизни [14]. В нашем наблюдении качество жизни больной вполне удовлетворительное, но требуется проведение заместительной терапии инсулином.

Вывод

Представлен редкий случай лейомиосаркомы матки с метастазом в головку поджелудочной железы. Диагноз подтвержден с помощью гистологического и иммуногистохимического исследований. При отсутствии широко распространенного метастатического заболевания выбор лечебной тактики в первую очередь должен быть нацелен на радикальное хирургическое лечение. Это связано с улучшением выживаемости и является единственной надеждой на излечение этих пациентов [11].

Вклад авторов:

Коханенко Н.Ю. — концепция и дизайн статьи, редактирование, утверждение окончательного варианта статьи;

Ханевич М.Д. — сбор и обработка материала;

Перминова А.А. — сбор и обработка материала, написание текста;

Кашинцев А.А. — сбор и обработка материала;

Глебова А.В. — сбор и обработка материала.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии в статье конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Adsay NV, Andea A, Basturk O et al. Secondary tumors of the pancreas: an analysis of a surgical and autopsy database and review of the literature // *Virchows Arch.* 2004;444:527–535.
2. Gomez JA, Sanchez AA, Cecilia DM et al. Uterine leiomyosarcoma metastasis to the pancreas: report of a case and review of the literature // *J Gastrointest Cancer.* 2012;43(2):361–363.
3. You DD, Choi DW, Choi SH et al. Surgical resection of metastasis to the pancreas // *J Korean Surg Soc.* 2011;80:278–282.

4. Koh YS, Kim JC. Pancreatic metastasis of leiomyosarcoma in the right thigh: a case report // *World J Gastroenterol.* 2007;13(7):1135.
5. Showalter SL, Hager E, Yeo CJ. Metastatic disease to the pancreas and spleen // *Semin Oncol.* 2008;35:160–71.
6. Sweeney AD, Wu MF, Hilsenbeck SG et al. Value of pancreatic resection for cancer metastatic to the pancreas // *J Surg Res.* 2009;156:189–98.
7. Suh CH, Keraliya A, Shinagare AB et al. Multidetector computed tomography features of pancreatic metastases from leiomyosarcoma: experience at a tertiary cancer center // *World J Radiol.* 2016;8(3):316–321.
8. Dubois J. *TxNxM1: the anatomy and clinics of metastatic cancer.* Boston, MA: Kluwer, 2002:68–9.
9. Reddy S, Wolfgang CL. The role of surgery in the management of isolated metastases to the pancreas // *Lancet Oncol.* 2009;10:287–293.
10. Komoda H, Nishida T, Yumiba T et al. Primary leiomyosarcoma of the pancreas — a case report and case review // *Virchows Arch.* 2002;440:334–337.
11. Sperti C, Pasquali C, Liessi G et al. Pancreatic resection for metastatic tumors to the pancreas // *J Surg Oncol.* 2003;83:161–166.
12. Коханенко Н.Ю., Артемьева Н.Н., Радионов Ю.В. и др. Непосредственные результаты панкреатодуоденальных резекций при раке головки поджелудочной железы. Современное состояние диагностики и лечения опухолей панкреатодуоденальной зоны // Сборник научных трудов Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. 2015:38–47.
13. Коханенко Н.Ю., Павелец К.В., Ширяев Ю.Н. и др. Особенности послеоперационного периода при ГПДР и ПДР с сохранением привратника. Вестник Санкт-Петербургского государственного университета. Серия 11. Медицина, 2014, № 4:107–113.
14. Коханенко Н.Ю., Павелец К.В., Радионов Ю.В. и др. Исследование качества жизни пациентов после ГПДР и ППДР в разные сроки после операции // Журнал Педиатр. 2015;4(3):48–51.

Поступила в редакцию 16.06.2021 г.

*A.A. Perminova¹, M.D. Khanevich^{1,2},
N.Yu. Kokhanenko¹, A.A. Kashintsev¹, A.V. Glebova^{1,2}*

Isolated metastasis of uterine leiomyosarcoma to the pancreas: clinical observation

¹ Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Saint Petersburg State Pediatric Medical University» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation

² St Petersburg State Budgetary Health Institution «City Mariinsky Hospital», Russian Federation

The article presents a clinical case of successful surgical treatment of a patient with isolated metastasis of uterine leiomyosarcoma to the head of the pancreas 3 years after the removal of the primary tumor. A pancreatectomy with immunohistochemical examination was performed. The patient was examined 6 months after the operation. There are no signs of a relapse of the disease.

Key words: leiomyosarcoma of the uterus, leiomyosarcoma metastasis, postnecrotic cyst of the head of the pancreas, pancreatectomy

*И.А. Камаева, И.Б. Лысенко, Н.В. Николаева, Е.А. Кануза,
Ю.Н. Лазутин, С.В. Оськин*

Клиническое наблюдение течения первичной медиастинальной В-крупноклеточной лимфомы

ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону

Первичная медиастинальная В-крупноклеточная лимфома (ПМВКЛ) — вариант неходжкинской лимфомы с преимущественным вовлечением лимфоузлов средостения, чаще поражающая молодых женщин. Диагностика данной нозологии затруднена ввиду редкого вовлечения периферических лимфоузлов, а также быстрого нарастания клинических проявлений, таких как синдром сдавления верхней полой вены и развития дыхательной недостаточности. В статье представлено клиническое наблюдение о пациентке, прооперированной по поводу опухоли переднего средостения с возникшими осложнениями вследствие неадекватной диагностической и лечебной тактики. В литературе нам не встретилось описания клинических проявлений заболевания, приведших к диагностической ошибке. Ниже приводим собственное наблюдение больной ПМВКЛ и обсуждаем практический диагностический алгоритм для опухолей переднего средостения. Диагноз ПМВКЛ может быть установлен только в результате морфологического исследования, отсюда важно, чтобы хирурги и патологи помнили и владели диагностикой данной опухоли, учитывая её особенности. Представленное наблюдение важно не только потому, что содержит информацию о таком лимфопролиферативном заболевании как ПМВКЛ, но и напоминает о такой диагностической ошибке в онкологии — лечении без верификации. Мы старались подчеркнуть необходимость строгого выполнения алгоритма дифференциальной диагностики новообразований переднего средостения особенно у молодых, так как крайне важно, чтобы врачи четко диагностировали заболевание для раннего начала правильного лечения. Надеемся, что данное наблюдение будет способствовать накоплению знаний и предупреждению ошибок для достижения лучших результатов.

Ключевые слова: первичная медиастинальная В-крупноклеточная лимфома; диагностические ошибки; оперативное вмешательство, химиотерапия

Первичная медиастинальная В-крупноклеточная лимфома (ПМВКЛ) — это агрессивная В-клеточная лимфома, составляющая 2–3% всех случаев неходжкинской лимфомы. До недавнего времени ПМВКЛ считалась подтипом диффузной В-крупноклеточной лимфомы, однако в 2008 г., в связи с особенностями клинико-патогенетической картины, выделена в отдельную нозологическую единицу [1]. ПМВКЛ чаще встречается у женщин (соотношение 3:1) в возрасте 30–40 лет. Клинически характеризуется симптомами сдавления верхней полой вены из-за развития большой опухолевой массы в средостении, которая наблюдается у 25–30% пациентов [2]. Несмотря на достижения последних лет в лечении ПМВКЛ, у 10–30% больных наблюдается рецидивирующее или первично-резистентное течение, которое зачастую характеризуется плохим прогнозом [1]. Стандартом лечения ПМВКЛ является иммунохимиотерапия с последующим облучением остаточной опухоли в средостении [3]. Использование стандартных схем химиотерапии демонстрирует высокую эффективность при ПМВКЛ, однако преимущества одного режима перед другим не были протестированы в рамках контролируемых клинических исследований. В сочетании с лучевой терапией частичного или полного ответа удастся добиться в 42% и 58% соответственно [4]. Осложнениями проводимой химиотерапии согласно данным литературы являются кардиотоксичность, связанная с включением антрациклинов в применяемые схемы химиотерапии, тромбоэмболические осложнения, связанные с паранеопластическим синдромом, а также развитием синдрома компрессии сосудов в средостении, нейтропения и периферическая нейропатия [5, 6].

В статье представлен клинический случай пациентки с установленным диагнозом первичной медиастинальной В-крупноклеточной лимфомы с неоправданным радикальным оперативным вмешательством и развитием такого редкого послеоперационного осложнения как остеомиелит грудины. Хронический остеомиелит грудины и ребер является тяжелым рецидивирующим заболеванием с местным гнойным воспалением,

склонным к распространению. По разным данным уровень инфекционных осложнений после трансстернального доступа составляет от 0,3% до 6,9% [7–9]. На сегодняшний день в России риск развития остеомиелита грудины и ребер колеблется от 0,2% до 5%, а средняя частота встречаемости 0,75–2,5% [10–12]. Проблема гнойных осложнений после срединной стернотомии остается актуальной проблемой в связи с высоким уровнем смертности, достигающим 10–47% [13]. Развитие остеомиелита грудины происходит, как правило, через 3–20 нед после проведенной стернотомии. У большинства пациентов заболевание протекает в хронической форме [14–17].

Пациентка 37 лет обратилась за медицинской помощью в июне 2020 г. Считает себя больной с мая 2020 г., когда впервые начали появляться отеки на лице и шее. Лечилась у аллерголога без выраженного эффекта. Пациентка имеет выраженную коморбидную патологию в виде: синдрома дисплазии соединительной ткани, пролапса передней створки митрального клапана, дисметаболической миокардиострофии, хронической сердечной недостаточности, узла правой доли щитовидной железы, хронического гастрита, энтероколита неуточненной этиологии в стадии стихающего обострения, перисигмоидита с формированием межпетельного абсцесса, эрозивного колита, полипов толстого кишечника, конкрементов желчного пузыря, микролитов обеих почек, варикозной болезни нижних конечностей, в связи с чем наблюдается по месту жительства продолжительное время. В мае 2020 г. пациентка выполнила УЗИ органов шеи, органов брюшной полости, на котором патологии в забрюшинном пространстве не выявлено, тромбоз внутренней яремной вены справа с признаками частичной реканализации. Врачом по месту жительства было рекомендовано дообследование. Пациентка выполнила видеогастродуоденоскопию, колоноскопию — патологии не обнаружено. На СРКТ ОГК от мая 2020 г. выявлено объемное образование переднего средостения размерами 110×57×120 мм, с вращением в верхнюю полую вену и формированием опухолевого тромба протяженностью до 60 мм (до уровня правой яремной вены), левосторонний гидроторакс (выпот толщиной до 7 мм). Пациентка при этом не была консультирована онкологом, не была произведена предварительная верификация образования. Была госпитализирована в одну из крупнейших неонкологических клиник Юга России для оперативного лечения. В июне 2020 г. в отделении сердечно-сосудистой хирургии было выполнено оперативное вмешательство в объеме радикального удаления новообразования перед-

него средостения с резекцией фрагмента легкого, перикарда, плевры, правой яремной вены, тромбэктомия из верхней полой вены (ВПВ), пластика верхней полой вены аутоперикардом. Течение раннего послеоперационного периода гладкое, заживление раны происходило первичным натяжением, признаков воспаления и патологического отделяемого нет. На СРКТ ОГК от июня 2020 г.: состояние после стернотомии, удаления образования переднего средостения. Двусторонний гидроторакс. В позднем послеоперационном периоде у пациентки произошло желудочное кровотечение на фоне антикоагулянтной терапии (июнь 2020), купировалось консервативно. По данным гистологического анализа морфологическая картина может соответствовать злокачественной тимоме (лимфоме?). Иммуногистохимическое исследование (ИГХ): морфоиммуногистохимическая картина наиболее всего соответствует первичной медиастинальной В-клеточной лимфоме (CD117 — отрицательная реакция, Multi-Cytokeratin — отрицательная реакция, Ki-67 — позитивная реакция в 40%, PAX5, CD30 — отрицательная реакция, CD23 — дискретная позитивная реакция, CD20 — диффузная позитивная реакция, EBV — отрицательно).

Пациентка самостоятельно обратилась в ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава РФ для уточнения диагноза и лечения в июле 2020 г. Пересмотр гистологических и иммуногистохимических препаратов подтвердили результаты проведенного ранее ИГХ исследования. Пациентка выполнила ПЭТ-КТ для оценки распространенности процесса: область головы и шеи — без особенностей; органы грудной клетки: состояние после стернотомии, оперативного удаления новообразования переднего средостения с резекцией фрагмента легкого, перикарда, плевры, вдоль стернотомического шва диффузная гиперфиксация ФДГ, справа парастернально вблизи рукоятки очаговая гиперфиксация ФДГ (SUVmax 5.0), метаболическим размером 12 мм, правое легкое незначительно уменьшено в объеме, в верхней доле грубый плевропульмональный фиброзный тяж с диффузной низкой метаболической активностью (SUVmax 2.7). В левой плевральной полости незначительное количество жидкости; органы брюшной полости: печень в размерах не увеличена, в 4 и 3 сегментах по передней поверхности печени визуализирована гиподенсивная зона аксиальным размером около 58×17 мм с диффузно повышенной метаболической активностью ФДГ (SUVmax 5.0), слева каудальнее хвоста поджелудочной железы в межкишечном пространстве определено протяженное инкапсулированное образование аксиальными размерами 28×14 мм с диффузной метаболиче-

ской активностью ФДГ (SUV_{max} 9.6), отмечается избирательная повышенная активность ФДГ по петлям тонкого кишечника. Лимфоузлы единичные брыжеечные, парааортальные до 8 мм с низкой метаболической активностью (SUV_{max} 2.3), незначительное увеличение наружно-подвздошных лимфоузлов. Отмечается физиологическая гиперфиксация РФП в мочевом пузыре, повышенная активность в нисходящем отделе ободочной кишки и в области анального канала (SUV_{max} 11.85). Матка без наличия патологической гиперфиксации ФДГ, яичники представляются единым конгломератом с диффузно повышенной активностью (SUV_{max} 8.5). Диффузное накопление ФДГ в костном мозге (SUV_{max} 5.2) в области лопаток, позвоночника, костей таза, подвздошных костей (рис. 1, а, б). Признаков остеобластических или остеолитических изменений не обнаружено. Выполнена видеоконскопия — без особенностей.

Пациентке выставлен диагноз «Первичная медиастинальная В-крупноклеточная лимфома, ст.IVB (bulky disease), состояние после радикального удаления новообразования переднего средостения с резекцией фрагмента легкого, перикарда, плевры, правой яремной вены, тромбэктомии, пластики ВПВ аутоперикардом, ПЭТ-позитивный костный мозг, МПИЗ, риск промежуточный, клиническая группа 2». Госпитализирована в отделение онкогематологии ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава РФ для дальнейшего лечения. Выполнена пункция костного мозга: костномозговой пунктат малоклеточный, костномозговые индексы близки к норме — патологии не выявлено. Результат трепан-биопсии правой подвздошной кости: морфологическая картина характерна для реактивных изменений с гиперплазией гранулоцитарного и эритроидного ростка. При объективном осмотре пациентка средней степени тяжести, ECOG-2 — дыхательная недостаточность 1–2 степени, аускультативно — ослабление дыхания с 2-х сторон. С учетом тяжести пациентки решением консилиума решено проводить химиотерапию по схеме R-CHOP (Ритуксимаб 375 мг/м² внутривенно капельно день 0 или 1 день все циклы курса, Доксорубин 50 мг/м² внутривенно капельно 1 день, Циклофосфамид 750 мг/м² внутривенно капельно 1 день, Винкристин 1,4 мг/м² внутривенно 1 день, Преднизолон 100 мг внутрь день 1–5) на фоне сопроводительной терапии, профилактики синдрома лизиса опухоли. С июня по октябрь проведено 4 курса ХТ в режиме R-CHOP, перенесла без явлений нежелательной токсичности. В перерыве между курсами однократно зарегистрирован эпизод нейтропении 3 степени, купирован введением гранулоцитарно-макрофагального колони-

естимулирующего фактора (ГКСФ). После 3-го курса ХТ пациентка перенесла новую коронавирусную инфекцию (COVID-19), подтвержденную методом ПЦР мазка из носоглотки, которая протекала бессимптомно, специальную терапию пациентка не получала. В ноябре пациентке решено продолжить ХТ. В связи с сохраняющейся лимфопенией после COVID-19 пациентке был проведен 4-й курс ХТ по схеме CHOP, без введения ритуксимаба. Пациентка выполнила плановое СРКТ ОГК после 4-го курса ХТ для оценки клинического эффекта — лимфатические узлы

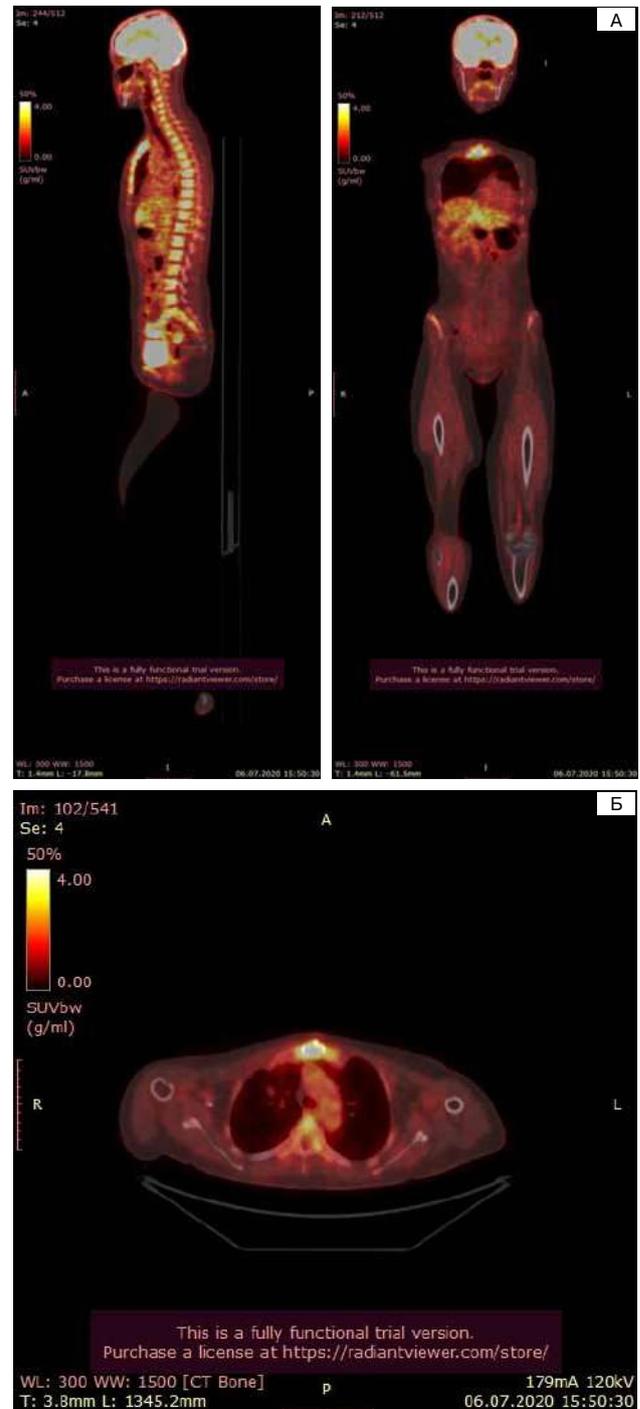


Рис. 1, а, б. Позитронно-эмиссионная томография Сагиттальный срез. Июль 2020 г. Состояние до лечения (описание в тексте)

органов грудной клетки не увеличены. В ноябре в перерыве между курсами пациентка отметила покраснение и болезненность в области послеоперационного шва. При осмотре хирурга по месту жительства: в области послеоперационного рубца определяется гиперемия, даны рекомендации по противовоспалительной терапии. В дальнейшем проведено еще 2 курса ХТ по схеме R-СНОР, без осложнений. Во время проведения 6-го курса ХТ пациентка консультирована торакальным хирургом: в области послеоперационного рубца в средней трети средостения формируется лигатурный свищ; в настоящее время хирургическое пособие не показано. В декабре у пациентки сформировался свищ с умеренным гнойным отделяемым, по месту жительства назначена антибактериальная терапия с выраженным клиническим эффектом, свищевое отверстие эпителизировано. В январе 2021 г. после 6-го курса ХТ пациентка выполнила ПЭТ-КТ: в сравнении с ПЭТ-КТ от июля 2020 г. отмечается регрессирование процесса по петлям тонкого кишечника (ранее SUVmax 9,6, в настоящее время не визуализируется), понижение активности ФДГ до фоновой в костном мозге, в верхней доле легкого сохраняется плевропульмональный фиброзный тяж с диффузной низкой метаболической активностью (ранее SUVmax 2,7, в настоящее время — 1,0), понижение активности ФДГ в левой доле печени (ранее — SUVmax 5,0, в настоящее время 1,0), лимфоузлы брюшной полости и забрюшинного пространства не определяются, регрессирование активности в яичниках (SUVmax 8,5, в настоящее время — активности нет). Однако наблюдается сохранение диффузной гиперфиксации ФДГ (SUVmax 11,8, ранее 5,0), вдоль грудины с приростом активности более 100% (вероятно, неспецифического характера, необходимо исключить остеомиелит) (рис. 2, 3, 4, 5).

Состояние расценено как неуверенная полная ремиссия, пациентка направлена на консультацию к хирургу для решения вопроса о дальнейшей тактике. Пациентка осмотрена хирургом, выставлен диагноз «Хронический остеомиелит грудины, состояние после стернотомии», даны рекомендации по антибиотикотерапии. Пациентка консультирована оперирующим хирургом в феврале 2020 г.: при осмотре в средней трети грудины определяется свищевой ход диаметром до 0,5 мм. Из области послеоперационного рубца удален шовный материал, поверхность обработана антисептиком, назначена антибактериальная, противовоспалительная терапия. Выполнено УЗИ мягких тканей: в проекции послеоперационного рубца на передней грудной стенке патологических образований не определяется. Пациентке рекомендовано повторить ПЭТ-КТ спустя 1 мес.



Рис. 2. Позитронно-эмиссионная томография. Сагиттальный срез. Январь 2021 г. Наблюдается диффузная гиперфиксация ФДГ (SUVmax 11,8, ранее 5,0), вдоль грудины с приростом активности более 100% (вероятно, неспецифического характера, необходимо исключить остеомиелит). Состояние после ХТ

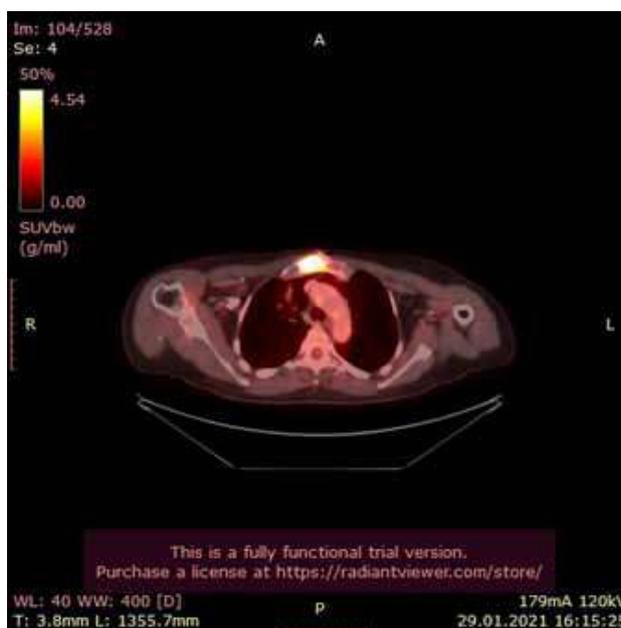


Рис. 3. Позитронно-эмиссионная томография. Аксиальный срез. Январь 2021 г. Состояние после ХТ

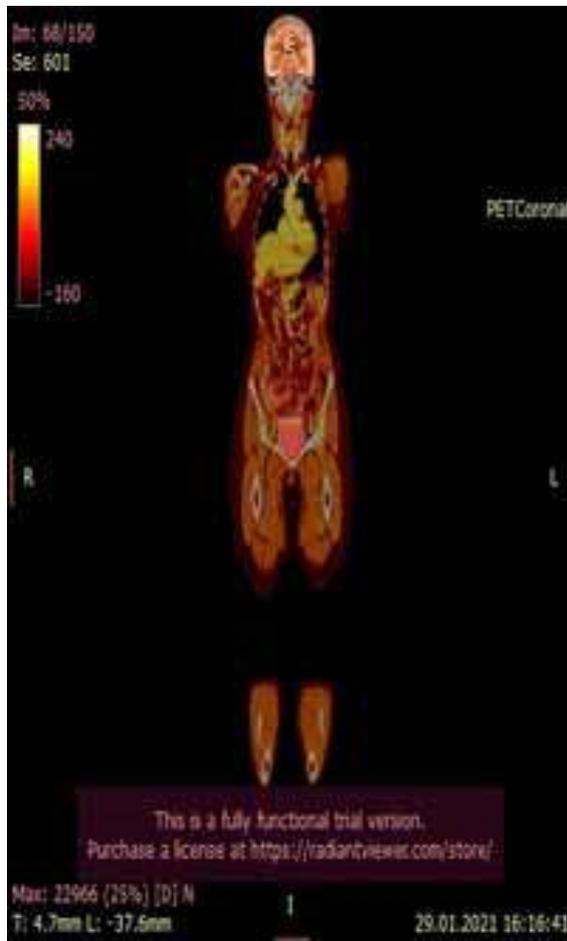


Рис. 4. Позитронно-эмиссионная томография. Январь 2021 г. Состояние после ХТ

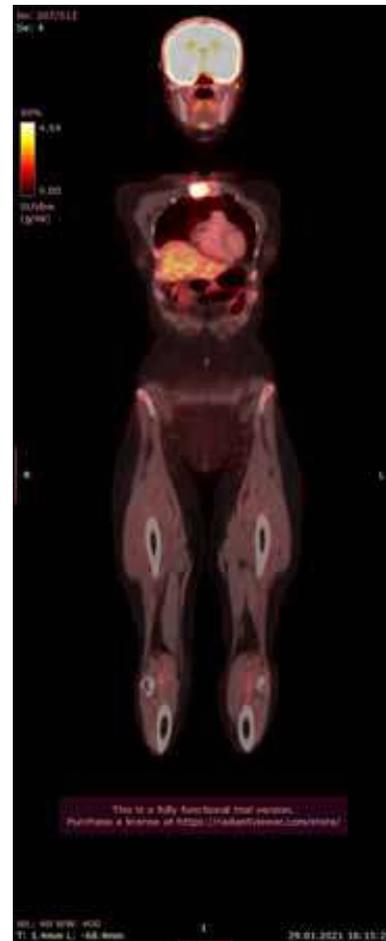


Рис. 5. Позитронно-эмиссионная томография. Январь 2021 г. Состояние после ХТ

В процессе диагностики и лечения пациентки было выполнено неоправданное при данной нозологии оперативное вмешательство, что является примером неправильной тактики, нарушением основ ведения онкологического пациента. Согласно клиническим рекомендациям диагноз ПМВКЛ устанавливается на основании патологоанатомического исследования биоптата опухоли с применением иммуногистохимических методов. Материалом для исследования служит ткань, полученная путем эксцизионной биопсии (при отсутствии технической возможности — core — биопсии) лимфатического узла или очага поражения с последующим исследованием (цитологическим и гистологическим) с применением иммуногистохимических методов. Для уточнения диагноза в некоторых случаях требуется дополнительно выполнение молекулярно-биологических и цитогенетических методов исследования биологического материала [18]. Несмотря на длительность иммуносупрессивной терапии по поводу основного процесса, коморбидности данной пациентки и объема оперативного вмешательства, нам удалось достичь полной ремиссии с минимальными гематологическими осложнениями. В нашем случае также

продемонстрирована возможность благоприятного исхода такого послеоперационного осложнения, как хронический остеомиелит грудины, вызванный остатком шовного материала в операционной ране, который удалось купировать без повторного хирургического вмешательства. Таким образом, данное клиническое наблюдение демонстрирует необходимость обследования и лечения пациентов с подозрением на злокачественные новообразования в профильных учреждениях.

ЛИТЕРАТУРА

1. Lees C, Keane C, Gandhi MK, Gunawardana J. Biology and therapy of primary mediastinal B-cell lymphoma: current status and future directions // *British journal of haematology*. 2019;185(1):25–41. <https://doi:10.1111/bjh.15778>
2. Zinzani P, Stefoni V, Finolezzi E et al. Rituximab combined with MACOP-B or VACOP-B and radiation therapy in primary mediastinal large B-cell lymphoma: a retrospective study // *Clinical Lymphoma Myeloma and Leukemia*. 2009;9(5):381–5. <https://doi:10.3816/CLM.2009.n.074>
3. Тумян Г.С., Заводнова И.З., Кичигина М.Ю., Медведовская Е.Г. Первичная медиастинальная (тимическая) В-крупноклеточная лимфома // *Клиническая онкогематология*. 2017;10(1):13–24. <https://doi:10.21320/2500-2139-2017-10-1-13-24>

4. Мазурок Л.А., Коломейцев О.А., Тумян Г.С. и др. Первичная медиастинальная В-крупноклеточная лимфома // Онкогематология. 2007;2:16–23.
5. Giulino-Roth L, O'Donohue T, Chen Z et al. Outcomes of adults and children with primary mediastinal B-cell lymphoma treated with dose-adjusted EPOCH-R // *British journal of haematology*. 2017;179(5):739–747. <https://doi.org/10.1111/bjh.14951>
6. Zinzani PL, Santoro A, Gritti G et al. Nivolumab Combined With Brentuximab Vedotin for Relapsed/Refractory Primary Mediastinal Large B-Cell Lymphoma: Efficacy and Safety From the Phase II CheckMate 436 Study // *Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2019;37(33):3081–3089. <https://doi.org/10.1200/JCO.19.01492>
7. Вишневский А.А., Печетов А.А. Современное многоэтапное хирургическое лечение больных хроническим послеоперационным стерномедиастинитом // *Практическая медицина*. 2010;47:63–65.
8. Корымасов Е.А. Пушкин С.Ю. Бенян А.С. Хирургическое лечение инфекционных осложнений после стернотомии. Тольятинский медицинский консилиум. 2012;5–6:25–29.
9. Olbrecht VA, Barreiro CJ, Bonde PN et al. Clinical outcomes of noninfectious sternal dehiscence after median sternotomy // *The Annals of thoracic surgery*. 2006;82(3):902–7. <https://doi.org/10.1016/j.athoracsur.2006.04.058>. PMID: 16928505
10. Бокерия Л.А., Гудкова Р.Г. Сердечнососудистая хирургия. Болезни и врожденные аномалии системы кровообращения. М., 2012.
11. Вишневский А.А., Рудаков С.С., Миланов Н.О. Хирургия грудной стенки. М.: Видар-М, 2005.
12. Александров А.С. Варианты хирургического лечения медиастинаита после кардиохирургических операций (обзор литературы) // *Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия*. 2012;4:97–102.
13. Белов Ю.В., Комаров Р.Н., Чернявский С.В. и др. Хирургическое лечение послеоперационного гнойного стерномедиастинита // *Хирургия*. 2015;(7):85–87. <https://doi.org/10.17116/hirurgia2015785-87>
14. Блатун Л.А., Вишневский А.А., Звягин А.А. Реостеосинтез грудины с применением фиксаторов с эффектом памяти формы после срединной стернотомии в условиях хронического стерномедиастинита // *Инфекции в хирургии*. 2009;2:5–9.
15. Потемкин А.В., Цейликман В.Э., Синицкий А.И. Особенности комплексной диагностики и хирургической тактики в лечении послеоперационного стерномедиастинита // *Гений ортопедии*. 2011;4:67–70.
16. Marcelo Cunha Fatureto, Milton Alves das Neves-Junior, Thassio Cunha de Santana. Acute mediastinitis: retrospective analysis of 21 cases // *Jornal Brasileiro de Pneumologia*. 2005;31(4):307–311. <https://doi.org/10.1590/S1806-37132005000400007>
17. Gårdlund B, Bitkover CY, Vaage J. Postoperative mediastinitis in cardiac surgery — microbiology and pathogenesis // *European journal of cardio-thoracic surgery : official journal of the European Association for Cardio-thoracic Surgery*. 2002;21(5):825–30. [https://doi.org/10.1016/s1010-7940\(02\)00084-2](https://doi.org/10.1016/s1010-7940(02)00084-2). PMID: 12062270.
18. Zelenetz AD, Gordon LI, Abramson JS et al. NCCN Guidelines Insights: B-Cell Lymphomas, Version 3.2019 // *J Natl Compr Canc Netw*. 2019;17(6):650–661. <https://doi.org/10.6004/jnccn.2019.0029>. PMID: 31200358
19. Архипова О.Е., Черногубова Е.А., Тарасов В.А. и др. Уровень онкологических заболеваний как индикатор медико-экологической безопасности территорий (на примере Ростовской области) // *Вестник Южного научного центра РАН*. 2013;9(3):7–14.

Поступила в редакцию 12.05.2021 г.

*I.A. Kamaeva, I.B. Lysenko, N.V. Nikolaeva,
E.A. Kapuza, Yu.N. Lazutin, S.V. Oskin*

Clinical report of a patient with primary mediastinal B-large cell lymphoma

Federal State Budgetary Institution «National Medical Research Centre for Oncology» of the Ministry of Health of the Russian Federation, Rostov-on-Don

Primary mediastinal B-cell lymphoma is a variant of non-Hodgkin's lymphoma with the predominant involvement of mediastinal lymph nodes, which affects young women. Diagnosis of this nosology is difficult due to the rare involvement of peripheral lymph nodes, as well as the rapid increase of clinical manifestations, such as the syndrome of compression of the vena cava superior and the development of the respiratory failure. The article presents a clinical case of a patient who was operated and complications that occurred due to inadequate diagnostic and therapeutic tactics. There aren't any descriptions of the clinical manifestations of the disease which could led to a diagnostic error in literature. We present our own observation of a patient with PMBCL and discuss a practical diagnostic algorithms for mediastinal tumors. The diagnosis of PMBCL can be established only as a result of morphological examination, it is important that surgeons and pathologists remember about it. This case is important not only because it provides information about such a lymphoproliferative disease as PMBCL, but also reminds about such a diagnostic error in oncology-treatment without verification. We tried to emphasize the necessary of strict implementation of the algorithm for differential diagnosis of the anterior mediastinal neoplasms, especially for young people. I hope that this case will contribute to the expansion of knowledge and the prevention of errors in order to achieve better results.

Keywords: primary mediastinal B cell lymphoma, diagnostic errors, surgical intervention, chemotherapy

*А.В. Щербанюк¹, С.И. Мусеев¹, Н.В. Бычкова^{1,2}, Н.А. Германов³, С.Н. Голядин³,
В.П. Улин³, Н.В. Улин³, Н.В. Калмыкова¹*

Клетки миеломной линии RPMI8226 и нормальные клетки человека имеют разную чувствительность к наночастицам бисиликата серебра *in vitro*

¹ ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины им. А.М. Никифорова» МЧС России, Санкт-Петербург

² ФБГОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова»

³ ФГБУН «Физико-технический институт им. А.Ф. Иоффе Российской академии наук», Санкт-Петербург

Введение. Наночастицы серебра и его соединений рассматривают как перспективного агента противопухолевого лечения из-за выраженного цитотоксического эффекта. Определение дифференциальной чувствительности опухолевых и нормальных клеток к действию наночастиц серебра может быть основой для их использования в качестве вспомогательного средства при терапии онкологических заболеваний.

Цель. Изучить влияние атомных кластеров серебра (АКС) в виде коллоидного раствора наноструктурированного бисиликата серебра $Ag_6Si_2O_7$ на жизнеспособность и пролиферацию клеток миеломной линии RPMI8226 и нормальных клеток человека двух типов: мезенхимальных стромальных клеток (МСК) и лимфоцитов периферической крови.

Методы. Оценку цитотоксичности АКС проводили с помощью МТТ и ЛДГ-тестов. Для изучения пролиферативной активности клеток использовали метод проточной цитофлуориметрии.

Результаты. Показано, что препарат АКС проявляет цитотоксический дозозависимый эффект по отношению ко всем типам изученных в данной работе клеток, однако нормальные и опухолевые клетки значительно различаются по чувствительности к действию АКС. Для клеток миеломной линии RPMI8226 ингибирующая доза IC50 (концентрация, при которой жизнеспособность снижается на 50%) составляет 1,75 мкг/мл АКС. Для МСК разного происхождения IC50 лежит в диапазоне концентраций 12–16 мкг/мл. Препарат АКС в концентрациях 2–3 мкг/мл через 24 ч вызывает гибель клеток миеломной линии, но не влияет на показатели жизнеспособности и пролиферацию МСК и лимфоцитов периферической крови.

Выводы. Установлен оптимальный диапазон концентраций препарата АКС (2–3 мкг/мл), при котором выявлен противоопухолевый эффект в отношении миеломных клеток RPMI8226 *in vitro* без цитотоксического воздействия на нормальные клетки человека.

Ключевые слова: наночастицы серебра; цитотоксичность; пролиферация; множественная миелома

Введение

Препараты наносеребра и его соединений рассматривают как перспективных агентов в терапии опухолевых заболеваний, поскольку вызываемые ими цитотоксические эффекты могут быть направлены против опухолевых клеток [1, 2]. Основным вероятным механизмом цитотоксичности наночастиц серебра является вызываемый ими окислительный стресс [3]. Продукция активных форм кислорода (АФК) приводит к повреждению ДНК, вызывая нарушение пролиферативной активности клетки, апоптоз и некроз [4–7]. Хотя основным действующим агентом наночастиц серебра является катион серебра, биологическая активность наночастиц зависит от их физико-химических показателей: химического состава поверхности наночастиц, реакционной способности в растворе, эффективности высвобождения ионов серебра, морфологии и размера наночастиц [2, 3, 8, 9]. В литературе есть примеры того, что нормальные клетки менее чувствительны к цитотоксическому действию наночастиц серебра, чем опухолевые клетки, в то же время те и другие клетки не различаются по чувствительности к цитотоксическому действию катиона серебра [6, 11–13]. Таким образом, для каждого конкретного вида наночастиц серебра требуется отдельное исследование.

Противоопухолевая активность атомных кластеров серебра (АКС) была ранее показана *in vitro* на культурах клеток опухолей человека и *in vivo* на модели перевиваемой опухоли Эрлиха [10]. Однако остается открытым вопрос о влиянии АКС на нормальные клетки в концентрациях, токсичных для опухолевых клеток. Идентификация дифференциальной чувствительности опухолевых клеток к АКС по сравнению с нормальными клетками поможет установить «терапевтическое окно» — интервал концентраций наночастиц для их использования в качестве средства в лечении онкологических заболеваний.

В представленном исследовании произведено сравнение влияния АКС на нормальные и трансформированные клетки на клеточной модели миеломы человека. Множественная миелома является некурабельным злокачественным заболеванием системы крови, в основе которого лежит пролиферация клона плазматических клеток, формирующегося из В-лимфоцитов. В костном мозге миеломные клетки находятся в тесном контакте с элементами стромы, в частности, с мезенхимальными стромальными клетками (МСК), которые участвуют в поддержании гемопоза в норме и при патологии. В настоящее время частота достижения ремиссий при проведении первичной противомиеломной терапии достигает в среднем 85%. Однако множественная миелома, несмотря на использование высокоэффективных лекарственных препаратов и их комбинаций, остается хроническим неизлечимым заболеванием, характеризующимся рецидивирующим течением. Именно поэтому поиск новых средств остается актуальным. В нашей работе исследована дозозависимая цитотоксичность АКС на клетки миеломной линии человека RPMI8226 и на нормальные клетки человека костномозгового происхождения (МСК и лимфоциты периферической крови).

Материалы и методы

Получение АКС. Коллоидный раствор наноструктурированного бисиликата серебра размером частиц 1–2 нм в деионизованной воде впервые получен в ФТИ им А.Ф.Иоффе РАН [14]. Частица представляет собой наноккомпозит, состоящий из ядра $Ag_6Si_2O_7$, окруженного гелеобразной оболочкой из частично ионизированных гидратированных молекул поликремниевых кислот $[-SiO_3H_2y]_n^- \cdot mH_2O$, которая обеспечивает повышенную стабильность частиц в биологических средах.

Клеточные культуры. Клетки миеломной линии человека RPMI8226 были получены из коллекции клеточных культур Института цитологии РАН (Санкт-Петербург, Россия). Источником линии RPMI8226 были В-лимфоциты периферической крови больного с множественной миеломой. Клетки культивировали в среде RPMI1640, содержащей 10% эмбриональной сыворотки телят (Биолот, Россия). Две линии МСК человека выделены из пунктата костного мозга (здорового донора — линия M032, и больного множествен-

ной миеломой — линия M022), одна линия (M002) получена из жировой ткани здорового донора. МСК получали из мононуклеарной фракции методом адгезии к поверхности культуральной посуды и культивировали в специализированной среде Mesencult (StemCellTechnologies, Канада). В работе использованы клетки 4–6 пассажей.

Лимфоциты периферической крови получены из мононуклеарной фракции, которую выделяли из периферической крови троих здоровых лиц. Отсутствие нарушений показателей клеточного иммунитета у доноров крови подтверждали на основании оценки субпопуляционного состава лимфоцитов методом многоцветной проточной цитометрии (Navios, Beckman Coulter, США). Весь клинический материал предоставлен в ходе проведения планового процедуры после подписания информированного согласия.

Оценка цитотоксичности АКС. Цитотоксичность АКС оценивали двумя методами: 1) по изменению активности митохондриальных дегидрогеназ в тесте с метилтетразолием (МТТ, Sigma–Aldrich, США); 2) по активности в среде культивирования цитозольного фермента лактатдегидрогеназы (ЛДГ, Pierce LDH Cytotoxicity Assay Kit, Thermo scientific, США). Для этого клетки в логарифмической фазе роста высевали в 96-луночные платы (Nunc, Дания) в количестве 50×10^3 клеток линии RPMI8226 и 4×10^3 МСК на 1 лунку в 100 мкл соответствующей культуральной среды. В случае клеток линии RPMI8226 сразу после нанесения клеток в 96-луночную плату добавляли в среду культивирования растворы АКС в культуральной среде в необходимой концентрации (10% от объема). В случае линий МСК клетки перед добавлением АКС оставляли на 24 ч для адгезии и распластывания. Затем инкубировали с АКС в течение 24 ч, после чего проводили реакцию выявления окраски в соответствии с инструкциями к наборам. Измерение оптической плотности растворов производили на спектрофотометре (Multilabel rider, Perkin Elmer, США) при длине волны 540 нм (для МТТ-теста) и 490 нм (для ЛДГ-теста).

В МТТ-тесте количество живых клеток определяли по калибровочной кривой в соответствии со значением оптической плотности окрашенного раствора в лунках и выражали в процентах относительно контроля (жизнеспособность клеток, %). В ЛДГ-тесте значение цитотоксичности (%) высчитывали по формуле:

Процент цитотоксичности = $[(\text{АКС-индуцированная ЛДГ активность} - \text{спонтанная ЛДГ активность}) / (\text{максимальная ЛДГ активность} - \text{спонтанная ЛДГ активность})] \times 100$.

Все расчеты по результатам МТТ и ЛДГ-тестов делали на основании данных 3 независимых экспериментов.

Оценка клеточной пролиферации. Кинетику клеточной пролиферации МСК определяли методом проточной цитофлуориметрии посредством измерения содержания ДНК в окрашенных ядрах в двух вариантах: сразу после 24-часового воздействия АКС в концентрациях 2 и 3 мкг/мл и через 24 ч после прекращения воздействия АКС (48 ч от начала эксперимента и внесения АКС). Плотность посева клеток в культуральных флаконах (Nunc, Дания) составила 6×10^3 клеток/см².

Лимфоциты периферической крови в количестве 50×10^3 клеток на лунку инкубировали в течение 24 ч в 96-луночной плате с преимущественно Т-клеточным митогеном фитогемагглютинином (ФГА) в концентрации 15 мкг/мл (Sigma, США, контроль), а также одновременно с ФГА и АКС в концентрации 0,5 мкг/мл, 1 мкг/мл, 2 мкг/мл и 3 мкг/мл. В пробах оценивали распределение клеток по фазам жизненного цикла методом проточной ДНК-цитофлуориметрии.

Окрашивание клеток для анализа ДНК включало использование детергента 1% тритона X-100 (ICN Biomedicals, Германия), флуоресцентного красителя 1% бромистого этидия (Sigma, США) в присутствии 1% рибонуклеазы А (Sigma, США) в течение 30 мин при 4 °С. После окрашивания пробы оценивали на проточном цитометре Cytoomics

FC500 (Beckman Coulter, США), соблюдая правила регистрации, анализа и интерпретации ДНК-гистограмм [15]. В каждой пробе оценивали 5 тысяч событий.

Оценку ДНК-гистограмм проводили в программе математической обработки данных MultiCycle AV for Windows version 328 USB (DNA Cell Cycle Analysis Software, Phoenix Flow Systems), которая позволяет рассчитать количество клеток в G₁, S и G₂/M фазах клеточного цикла. Индекс пролиферации (%) вычисляли как сумму клеток, находящихся в синтетической, постсинтетической фазах и в митозе.

Статистическая обработка результатов. Статистическую обработку результатов проводили с помощью программ Microsoft Excel и Statistica 10.0 с использованием параметрических критериев. Результаты представлены в виде значений средних арифметических и стандартных отклонений (mean±SD). Различия считали статистически значимыми при критерии p≤0,05.

Результаты

Цитотоксическое действие АКС на клетки линии RPMI8226. Было установлено, что препарат АКС обладает высокой степенью токсичности по отношению к опухолевым клеткам миеломной линии RPMI8226. После 24-часового воздействия препарата наблюдали резкое снижение жизнеспособности клеток в узком диапазоне концентраций АКС: при 1,5 мкг/мл — 84,7% живых клеток, а уже при 2–3 мкг/мл наблюдали почти полную гибель клеток (1–0% живых клеток) (рис. 1). Значение IC₅₀ для АКС по отношению к миеломным клеткам составило

1,75 мкг/мл. Образующие оболочку наночастиц поликремниевые кислоты в тех же концентрациях, что и АКС, цитотоксического действия не оказывали.

По результатам ЛДГ-теста также наблюдали дозозависимый характер развития цитотоксичности (табл. 1): при концентрации АКС 1 мкг/мл — 6,6% цитотоксичности; 2 мкг/мл — 11,9%; 3 мкг/мл — 38,2% цитотоксичности. По ЛДГ-тесту значение IC₅₀ не определяется в интервале исследованных концентраций АКС (1–3,0 мкг/мл).

Цитотоксическое воздействие АКС на линии МСК человека. Снижение жизнеспособности клеток линии M032 по результатам МТТ-теста имело дозозависимый характер и началось при концентрации АКС 8,0 мкг/мл (89,7% живых клеток). Значение IC₅₀ составило 15,0 мкг/мл (рис. 2). Раствор поликремниевых кислот в том же диапазоне концентраций, что и АКС (8,0–16,0 мкг/мл), вызывал дозозависимое снижение жизнеспособности клеток на 10–20%. У других протестированных линий МСК (M022 и M002) ответ на воздействие АКС был похожим: значение IC₅₀ определялось в диапазоне 12,0–16,0 мкг/мл (рис. 3).

Результаты ЛДГ-теста для линии M032 показали, что в отличие от клеток линии RPMI8226, значения цитотоксичности в диапазоне концентраций АКС 1–3 мкг/мл не отличались от контроля (см. табл. 1).

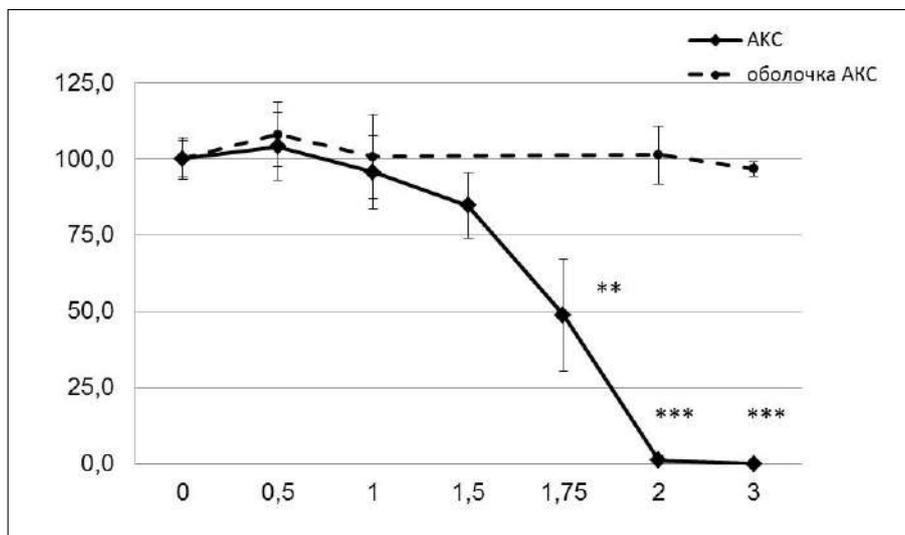


Рис. 1. Оценка жизнеспособности клеток миеломной линии RPMI8226 после инкубации с АКС и компонентами оболочки АКС в течение 24 ч МТТ-тестом, значения (mean±SD) статистически отличаются от контроля при ** p<0,01, *** p<0,001. По оси абсцисс: концентрация АКС, мкг/мл; по оси ординат: количество живых клеток, % от контроля

Таблица 1. Оценка цитотоксичности АКС ЛДГ-тестом после воздействия на RPMI8226 и МСК в течение 24 ч, %, mean±SD

Концентрация АКС, мкг/мл	0	1	2	3
Линии клеток				
RPMI8226	1,9±0,51	6,6±0,85*	11,9±2,77*	38,2±2,6*
МСК (M032)	4,2±0,81	4,7±0,51	3,7±0,47	4,0±0,54

* p<0,001 (по сравнению с контролем).

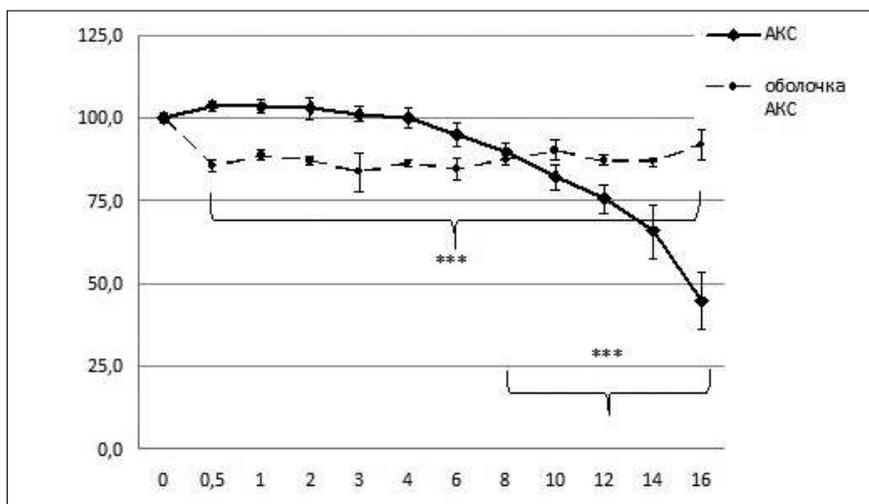


Рис. 2. Оценка жизнеспособности МСК костного мозга (линия M032, здоровый донор) после инкубации с АКС и компонентами оболочки АКС в течение 24 ч МТТ-тестом, значения (mean±SD) статистически отличаются от контроля при *** $p < 0,001$. По оси абсцисс: концентрация АКС, мкг/мл; по оси ординат: количество живых клеток, % от контроля

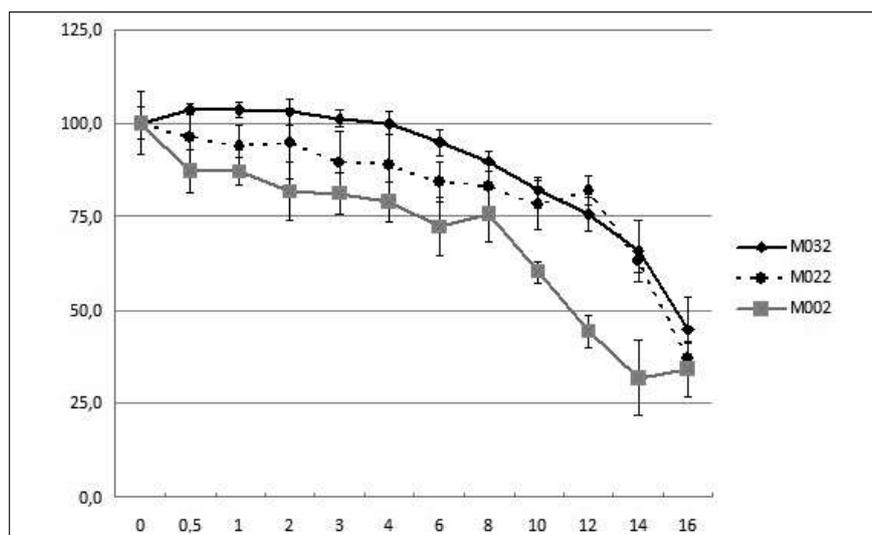


Рис. 3. Оценка жизнеспособности МСК разного происхождения после инкубации с АКС в течение 24 ч МТТ-тестом. M032 (костный мозг, здоровый донор); M022 (костный мозг, больной ММ); M002 (жировая ткань, здоровый донор). По оси абсцисс: концентрация АКС, мкг/мл; по оси ординат: количество живых клеток, % от контроля

Таблица 2. Распределение клеток МСК (линия M022) по фазам клеточного цикла при инкубации в течение 24 ч с АКС (24 ч) и последующей инкубации в течение 24 ч без АКС (48 ч), % от общего количества клеток

Условия культивирования	G1	S	G2/M	Индекс пролиферации
Контроль 24 ч	73,4±7,7	12,1±3,3	14,5±5,1	26,5
Контроль 48 ч	72,7±6,8	13,5±3,7	13,8±3,6	27,3
АКС 2 мкг/мл 24 ч	73,0±8,5	12,0±4,1	15,0±5,7	27,0
АКС 2 мкг/мл 48 ч	70,6±5,8	14,8±0,7	14,6±6,1	29,4
АКС 3 мкг/мл 24 ч	73,6±9,1	10,9±3,4	15,5±5,7	26,4
АКС 3 мкг/мл 48 ч	71,3±5,2	12,7±2,3	16,1±3,2	28,8

Таблица 3. Распределение лимфоцитов по фазам клеточного цикла при совместной инкубации с ФГА и АКС в течение 24 ч, % от общего количества клеток

Условия культивирования	G ₁	S	G ₂ /M	Индекс пролиферации
Контроль (ФГА)	86,7±0,8	9,6±0,2	3,7±0,8	13,3
ФГА+АКС 0,5 мкг/мл	88,5±1,3	7,7±1,7	3,8±0,8	11,5
ФГА+АКС 1 мкг/мл	86,7±1,1	10,5±1,8	2,9±0,9	13,3
ФГА+АКС 2 мкг/мл	87,7±1,1	8,8±1,6	4,0±0,3	12,3
ФГА+АКС 3 мкг/мл	87,9±1,0	9,2±1,2	3,0±0,9	12,1

Влияние АКС на пролиферативную активность МСК. Оценка распределения по фазам жизненного цикла МСК была проведена на одной из линий МСК (M022) при концентрациях АКС 2 и 3 мкг/мл, токсичных для миеломной линии. Показано, что присутствие АКС в среде культивирования в данных концентрациях не влияет на пролиферативную активность МСК (табл. 2): после 24-часового воздействия АКС относительное количество клеток в фазе синтеза S и фазах G₂/M (индекс пролиферации) не отличалось от контроля. Также не произошло изменения индекса пролиферации в последующие 24 ч после удаления АКС из среды.

Влияние АКС на пролиферативную активность лимфоцитов периферической крови. Поскольку у здоровых людей делящиеся клетки в периферической крови практически не выявляются, изменение пролиферативной активности лимфоцитов под воздействием АКС было изучено на фоне добавления митогена ФГА. В результате исследования было показано, что препарат АКС в диапазоне концентраций 0,5–3,0 мкг/мл не изменял распределение лимфоцитов по фазам жизненного цикла и не влиял на индекс пролиферации лимфоцитов (табл. 3).

Обсуждение

Сравнение показателей цитотоксичности АКС в отношении клеток миеломной линии RPMI8226, полученные МТТ и ЛДГ-тестами, выявило наличие между ними обратной зависимости: снижение митохондриальной активности клеток, которую отражает МТТ-тест, сопровождалось нарастанием активности фермента ЛДГ во внеклеточной среде (см. рис. 1, табл. 1). Этот факт указывает на одновременное развитие двух процессов: угнетение энергетического метаболизма и повышение степени проницаемости мембраны, что ведет к некрозу клеток при концентрациях АКС 2–3 мкг/мл. Развитие этих процессов происходит стремительно в узком диапазоне концентраций. Раствор поликремниевых кислот, составляющих оболочку АКС, не проявлял цитотоксических свойств. Таким образом, цитотоксические свойства АКС определяются целостной наноконструктивной структурой, а не отдельными составляющими, что подтверждают и литературные данные [3].

Стромальные клетки оказались в несколько раз менее чувствительны к действию АКС, чем миеломные клетки. Снижение жизнеспособности МСК по результатам МТТ-теста происходило не резко, а постепенно (см. рис. 3). По результатам ЛДГ-теста цитотоксичность АКС в отношении МСК не обнаружена. Известно, что механизм действия наночастиц серебра связы-

вают с развитием окислительного стресса и образованием АФК [8, 16]. Результаты наших исследований подтверждают обнаруженную ранее способность МСК к высокой степени антиоксидантной защиты [16]. В этом ключе становится понятной наблюдаемая в нашей работе более высокая степень устойчивости МСК к действию АКС по сравнению с линией RPMI8226. Причем МСК из разных источников (костный мозг, жировая ткань) показывают одинаковую степень чувствительности, что говорит об их общих свойствах. Цитотоксичность наночастиц серебра по отношению к МСК по литературным данным также зависит от дозы и времени воздействия [17–19]. Так, в одной из работ наночастицы серебра в диапазоне концентраций 25–50 мкг/мл после 24-часового воздействия вызывали апоптоз и некроз МСК, а в диапазоне концентраций 5–10 мкг/мл при длительном воздействии не влияли на жизнеспособность и дифференцировочный потенциал МСК [19]. Препарат АКС по результатам МТТ-теста также продемонстрировал дозозависимый характер действия на МСК в интервале концентраций 8–16 мкг/мл, но при концентрациях 1–8 мкг/мл, которые являются токсичными для миеломных клеток, цитотоксический эффект отсутствовал. Цитотоксичность может проявляться также и на уровне нарушения регуляции деления клеток, что в дальнейшем может привести к старению и гибели клеточной популяции. Поэтому мы провели оценку пролиферативной активности МСК после обработки АКС методом цитофлуориметрии. Неблагоприятного воздействия АКС не было обнаружено.

Такой же дозозависимый тип ответа на наносеребро описывается в литературе и в отношении лимфоцитов мононуклеарной фракции крови: наличие цитотоксического эффекта наблюдали при концентрациях выше 25 мкг/мл, а при концентрации ниже 25 мкг/мл влияние на пролиферацию отсутствовало [20]. В нашей работе препарат АКС в концентрациях 1–3 мкг/мл, токсичных для клеток линии RPMI8226, не оказал влияния, так же как и в случае с МСК, на пролиферативную активность лимфоцитов.

В различных исследованиях уже имеются данные о том, что порог чувствительности к наночастицам серебра для опухолевых клеток может быть ниже, чем для нормальных [11–13, 21–23]. Так, для клеток плоскоклеточного рака полости рта (линия HSC-4) IC50 составил 1,61 мкг/мл, а для нормальных клеток линии 3T3-L1 даже при концентрации 3 мкг/мл цитотоксического действия не наблюдалось [21]. В другой работе [22] для клеток фибросаркомы человека (линия HT-1080) и карциномы шейки матки (линия A431) цитотоксические эффекты (IC50) были зафиксированы при 10,6 и 11,6 мкг/мл, соот-

ветственно, а для первичных фибробластов и печеночных клеток мышей Swiss albino эффект (IC50) наступал только при 61,0 и 449,0 мкг/мл соответственно [12]. Одной из причин такого различия может быть быстрая деградация наночастиц в опухолевых клетках с высвобождением катиона серебра, который запускает образование различных АФК, в то время как в нормальных клетках наночастицы остаются интактны [11]. В связи с выделением большого количества АФК в клетках быстро истощаются запасы антиоксидантов, что и приводит к гибели раковой клетки от окислительного стресса.

В нашем случае препарат АКС в диапазоне концентраций 2–3 мкг/мл, цитотоксичных для клеток миеломной линии RPMI8226, также не влиял на жизнеспособность и пролиферацию нормальных клеток человека (МСК и лимфоцитов периферической крови).

Заключение

В работе было показано, что наночастицы бисиликата серебра (препарат АКС) при концентрациях 2–3 мкг/мл вызывают гибель клеток миеломной линии RPMI8226, но не влияют на жизнеспособность и пролиферативную активность нормальных МСК и лимфоцитов периферической крови человека. Препарат АКС представляется перспективным для дальнейшего изучения в качестве средства противоопухолевой терапии.

Вклад авторов:

Щербанюк А.Щ. — получение и анализ данных по цитотоксичности препарата, написание текста рукописи;

Бычкова Н.В. — получение и анализ данных по пролиферативной активности клеток;

Калмыкова Н.В. — разработка общего дизайна исследования, написание текста рукописи;

Моисеев С.И. — общее руководство проектом, анализ данных;

Германов Н.А., Голяндин С.Н., Улин В.П., Улин Н.В. — получение препарата и его анализ.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии в статье конфликта интересов.

Финансирование

Исследование не имело спонсорской поддержки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Станишевская И.Е., Стойнова А.М., Марахова А.И. и др. Наночастицы серебра: получение и применение в медицинских целях // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2016;1(14):66–69 [Stanishevskaya I.E., Stoinova A.M., Marakhova A.I. Silver nanoparticles: preparation and use for medical purposes // Razrbotka i registratsiya ltkarstvennykh sredstv. 2016;1(14):66–69. (In Russ.)].
2. Zhang XF, Liu ZG, Shen W et al. Silver Nanoparticles: Synthesis, Characterization, Properties, Applications, and Therapeutic Approaches // Int J Mol Sci. 2016;17(9):1534. <https://doi:10.3390/ijms17091534>
3. Carlson C, Hussain SM, Schrand AM et al. Unique cellular interaction of silver nanoparticles: size-dependent generation of reactive oxygen species // J Phys Chem B. 2008;112(43):13608–13619. <https://doi:10.1021/jp712087m>
4. Butler KS, Peeler DJ, Casey BJ et al. Silver nanoparticles: correlating nanoparticle size and cellular uptake with genotoxicity // Mutagenesis. 2015;30(4):577–591. <https://doi:10.1093/mutage/gev020>
5. Gurunathan S, Qasim M, Park C. Cytotoxic potential and Molecular Pathway Analysis of Silver Nanoparticles in Human Colon Cancer Cells HCT116 // Int J Mol Sci. 2018;19(8):2269. <https://doi:10.3390/ijms19082269>
6. Gurunathan S, Jeong JK, Han JW et al. Multidimensional effects of biologically synthesized silver nanoparticles in Helicobacter pylori, Helicobacter felis, and human lung (L132) and lung carcinoma A549 cells // Nanoscale Res Lett. 2015;10:35. <https://doi:10.1186/s11671-015-0747-0>
7. Majeed S, Aripin FHB, Shoeb NSB et al. Bioengineered silver nanoparticles capped with bovine serum albumin and its anticancer and apoptotic activity against breast, bone and intestinal colon cancer cell lines // Mater Sci Eng C Mater Biol Appl. 2019;102:254–263. <https://doi:10.1016/j.msec.2019.04.041>
8. Xiao H, Chen Y, Alnaggar M. Silver nanoparticles induce cell death of colon cancer cells through impairing cytoskeleton and membrane nanostructure // Micron. 2019;126:102750. <https://doi:10.1016/j.micron.2019.102750>
9. Graf C, Nordmeyer D, Sengstock C et al. Shape-Dependent Dissolution and Cellular Uptake of Silver Nanoparticles // Langmuir. 2018;34(4):1506–1519. <https://doi:10.1021/acs.langmuir.7b03126>
10. Тындык М.Л., Попович И.Г., Малек А.В. и др. Изучение противоопухолевого эффекта коллоидного бисиликата серебра в экспериментах in vitro и in vivo // Вопросы онкологии. 2019;65(5):760–765 [Tyndyk M.L., Popovich I.G, Malek A.B. et al. Antitumor effect of colloidal silver bisilicate in experimental in vitro and in vivo studies // Voprosy onkologii. 2019;65(5):760–765 (In Russ.)].
11. Swanner J, Fahrenholtz CD, Tenvooren I et al. Silver nanoparticles selectively treat triple-negative breast cancer cells without affecting non-malignant breast epithelial cells in vitro and in vivo // FASEB Bioadv. 2019;1(10):639–660. <https://doi:10.1096/fba.2019-00021>
12. Arora S, Jain J, Rajwade JM et al. Interactions of silver nanoparticles with primary mouse fibroblasts and liver cells // Toxicol Appl Pharmacol. 2009;236(3):310–318. <https://doi:10.1016/j.taap.2009.02.020>
13. Байдакова М.В., Германов Н.А., Голяндин С.Н. и др. Слабоупорядоченный наноструктурированный бисиликат серебра и его коллоидные растворы: получение и свойства // Журнал технической физики. 2019;89(6):944–53. <https://doi:10.21883/0000000000> [Baidakova MV, Germanov NA, Goliandin SN et al. Weakly ordered nanostructured silver bisilicate and its

- colloidal solutions: preparation and properties // Journal tekhnicheskoi fiziki. 2019;89(6):944–953 (In Russ.). <https://doi.org/10.21883/000000000001>.
14. Бычкова Н.В. Анализ содержания ДНК методом точной цитометрии. Возможности применения в клинической практике. Тверь: ООО «Издательство «Три-ада», 2015.
 15. Valle-Prieto A, Conget PA. Human mesenchymal stem cells efficiently manage oxidative stress // Stem Cells Dev. 2010;19(12):1885–1893. <https://doi.org/10.1089/scd.2010.0093>
 16. Greulich C, Kittler S, Epple M et al. Studies on the biocompatibility and the interaction of silver nanoparticles with human mesenchymal stem cells (hMSCs) // Langenbecks Arch Surg. 2009;394(3):495–502. <https://doi.org/10.1007/s00423-009-0472-1>
 17. Hackenberg S, Scherzed A, Kessler M et al. Silver nanoparticles: evaluation of DNA damage, toxicity and functional impairment in human mesenchymal stem cells // Toxicol Lett. 2011;201(1):27–33. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2010.12.001>
 18. He W, Kienzle A, Liu X et al. In Vitro Effect of 30 nm Silver Nanoparticles on Adipogenic Differentiation of Human Mesenchymal Stem Cells // J Biomed Nanotechnol. 2016;12(3):525–35. <https://doi.org/10.1166/jbn.2016.2182>
 19. Greulich C, Diendorf J, Gessmann J et al. Cell type-specific responses of peripheral blood mononuclear cells to silver nanoparticles // Acta Biomater. 2011;7(9):3505–3514. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2011.05.030>
 20. Yakop F, Abd Ghafar SA, Yong YK et al. Silver nanoparticles Clinacanthus Nutans leaves extract induced apoptosis towards oral squamous cell carcinoma cell lines // Artif Cells Nanomed Biotechnol. 2018;46(supl. 2):131–139. <https://doi.org/10.1080/21691401.2018.1452750>
 21. Arora S, Jain J, Rajwade JM et al. Cellular responses induced by silver nanoparticles: In vitro studies // Toxicol Lett. 2008;179(2):93–100. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2008.04.009>
 22. Azizi M, Ghourchian H, Yazdian F et al. Anti-cancerous effect of albumin coated silver nanoparticles on MDA-MB 231 human breast cancer cell line // Sci Rep. 2017;7(1):5178. Published 2017 Jul 12. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-05461-3>

A.V. Sherbanyuk¹, S.I. Moiseev¹, N.V. Bychkova^{1,2},
N.A. Germanov³, S.N. Golyandin³, V.P. Ulin³,
N.V. Ulin³, N.V. Kalmykova¹

Human myeloma RPMI8226 cells and normal cells have different sensitivity to bisilicate silver nanoparticles in vitro

¹ The Nikiforov Russian Center of Emergency and Radiation Medicine, St Petersburg

² Pavlov State Medical University, Ministry of health of Russia, St Petersburg

³ Ioffe Institute, St Petersburg, Russia

Introduction. Silver nanoparticles due to its pronounced cytotoxicity are regarded as promising agent for anticancer therapy. Determination of normal and transformed cells sensitivity to silver nanoparticles can be the basis for the application as an adjuvant cancer treatment.

The objective of the study was to investigate influence of atomic clusters of Argentum (ACA) in the form of silver bisilicate nanoparticles colloid solution on viability and proliferation of human myeloma cell line, mesenchymal stromal cells and blood lymphocytes.

Material and methods. Cell viability was evaluated by MTT and LDH assay. Cell proliferation was evaluated by flow cytometry.

Results. It was found that ACA had dose-depending cytotoxicity toward all investigated cell types, but normal and transformed cells varied significantly in the sensitivity to nanoparticles. IC₅₀ for myeloma cell line RPMI8226 was 1,75 µg/ml. For mesenchymal stromal cells (MSCs) of different origin IC₅₀ was in the range of 12 to 16 µg/ml. ACA in concentration from 2 to 3 µg/ml induced RPMI8226 cells metabolic disruption and death without influence on viability and cell cycle of mesenchymal stromal cells and blood lymphocytes.

Conclusion. Results of work has shown distinct differences in sensitivity to ACA between myeloma cells, mesenchymal stromal cells and blood lymphocytes. The optimal range of ACA concentration with anticancer effect without cytotoxic influence on normal cells has been determined *in vitro*.

Key words: silver nanoparticles; cytotoxicity; proliferation; multiple myeloma

Поступила в редакцию 26.04.2021 г.

