

Учреждение Российской академии медицинских наук
Российский онкологический научный центр
имени Н. Н. Блохина РАМН

ВЕСТНИК РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН

УДК 616
Ежеквартальный научно-практический журнал по онкологии
Основан в ноябре 1990 г.

**Том 22, №4 (86)
Октябрь — декабрь 2011 г.**

Учредитель:
Учреждение Российской академии медицинских наук
Российский онкологический научный центр
имени Н. Н. Блохина РАМН

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР:
М. И. Давыдов, академик РАН и РАМН, проф., г. м. н.

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:
В. Ю. Сельчук, проф., г. м. н. (зам. главного редактора)
В. М. Нечушкина, к. м. н. (отв. секретарь)
М. Д. Алиев, академик РАН и РАМН, проф., г. м. н.
А. Ю. Барышников, проф., г. м. н.
В. Н. Богатырев, проф., г. м. н.
Л. В. Демидов, проф., г. м. н.
Б. И. Долгушин, чл.-корр. РАМН, проф., г. м. н.
Д. Г. Заридзе, чл.-корр. РАМН, проф., г. м. н.
И. Б. Зборовская, к. б. н.
А. И. Карселадзе, проф., г. м. н.
Б. П. Копнин, проф., г. б. н.
В. В. Кузнецов, проф., г. м. н.
В. П. Летягин, проф., г. м. н.
В. Б. Матвеев, проф., г. м. н.
М. И. Нечушкин, проф., г. м. н.
Б. К. Поддубный, проф., г. м. н.
В. Г. Поляков, академик РАМН, проф., г. м. н.
С. Субраманиан
Н. Н. Тупицын, проф., г. м. н.
С. А. Тюляндин, проф., г. м. н.
Ю. В. Шишкин, проф., г. м. н.

Журнал зарегистрирован в Федеральной службе по надзору в сфере
связи, информационных технологий и массовых коммуникаций
Свидетельство ПИ № ФС77-36649 18.06.2009

Подписной индекс в каталоге агентства «Роспечать» 46782

Цена договорная

За публикацию журнала отвечает отдел международных связей
РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН

Редакторы: М. Н. Соловова, А. Я. Подольская, О. Б. Одинцева (англ. яз.)
Технический редактор: М. Г. Петров
Корректор: Н. Н. Юдина

Адрес редакции: 115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, д. 24
Тел.: +7-499-324-5537. E-mail: vestnikronc@mail.ru

Подписано в печать 20.12.2011. Формат 60 × 90/8. Усл. печ. л. 11,0.
Тираж 3000 экз. Заказ № 697

АНО «Усия», 125581, РФ, г. Москва, ул. Фестивальная, д. 22, к. 6
© РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, 2011

При перепечатке материалов ссылка на «Вестник РОНЦ
им. Н. Н. Блохина РАМН» обязательна

Russian Academy of Medical Sciences
N. N. Blokhin Russian Cancer Research Center

JOURNAL of N. N. Blokhin Russian Cancer Research Center RAMS

A quarterly journal of oncological science and practice
Founded in November 1990

**Volume 22, N 4 (86)
October – December 2011**

Founder:
N. N. Blokhin Russian Cancer Research Center RAMS

EDITOR-IN-CHIEF
M. I. Davydov, MD, PhD, DSc, Academician of RAS and RAMS, Professor

EDITORIAL BOARD:
V. Y. Selchuk, MD, PhD, DSc, Professor (Deputy Editor-in-Chief)
V. M. Nechushkina, MD, PhD (Executive Editor)
M. D. Aliev, MD, PhD, DSc, Academician of RAS and RAMS, Professor
A. Y. Baryshnikov, MD, PhD, DSc, Professor
V. N. Bogatyrev, MD, PhD, DSc, Professor
L. V. Demidov, MD, PhD, DSc, Professor
B. I. Dolgushin, MD, PhD, DSc, Associate Member of RAMS, Professor
A. I. Karseladze, MD, PhD, DSc, Professor
B. P. Kopnin, MD, PhD, DSc, Professor
V. V. Kuznetsov, MD, PhD, DSc, Professor
V. P. Letyagin, MD, PhD, DSc, Professor
V. B. Matveev, MD, PhD, DSc, Professor
M. I. Nechushkin, MD, PhD, DSc, Professor
B. K. Poddubniy, MD, PhD, DSc, Professor
V. G. Polyakov, MD, PhD, DSc, Academician of RAMS, Professor
Y. V. Shishkin, MD, PhD, DSc, Professor
S. Subramanian, MD
S. A. Tjulandin, MD, PhD, DSc, Professor
N. N. Tupitsyn, MD, PhD, DSc, Professor
D. G. Zaridze, MD, PhD, DSc, Associate Member of RAMS, Professor
I. B. Zborovskaya, MSc, PhD

The journal is registered with the Russian Federal Service for Supervision
in the Spheres of Telecommunications, Information Technologies and Mass
Communication. License ПИ N ФС77-36649 18.06.2009

Subscription index in catalogue of Rospechat Agency 46782

Price as per contract

Publishing in-charge: Office of International Affairs N. N. Blokhin Russian
Cancer Research Center RAMS

Editors: M. N. Solovova, A. Y. Podolskaya, O. B. Odintseva (English version)
Technical editor: M. G. Petrov
Proof-reader: N. N. Yudina

Address of the Editorial Office: 24, Kashirskoye sh., Moscow, RF, 115478.
Tel.: +7-499-324-5537. E-mail: vestnikronc@mail.ru

Permitted for print 20.12.2011. Format 60 × 90/8. Bulk 11.0 printed sheets.
Circulation 3000 copies. Order N 697

АНО «Усия», 22-6, Ulitsa Festivalnaya, Moscow, Russian Federation, 125581
© N. N. Blokhin Russian Cancer Research Center RAMS, 2011

No reproduction is permitted without reference to the Journal of
N. N. Blokhin Russian Cancer Research Center RAMS

СОДЕРЖАНИЕ

РЕКОМЕНДАЦИИ

- И. М. Шестопалова, М. В. Северов*
ПРОФИЛАКТИКА ИНФИЦИРОВАНИЯ МЕДИЦИНСКОГО ПЕРСОНАЛА ВИРУСАМИ ГЕПАТИТА В И С 4

ОБЗОРНЫЕ СТАТЬИ

- И. В. Нечушкина*
РЕПРОДУКТИВНОЕ ЗДОРОВЬЕ ЖЕНЩИН, ИЗЛЕЧЕННЫХ В ДЕТСТВЕ ОТ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ 7
- Т. А. Феготчева, Е. В. Огинцова, В. В. Баняц, Н. Л. Шимановский*
ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ СОПРЯЖЕННОЙ РЕГУЛЯЦИИ СИСТЕМЫ МНОЖЕСТВЕННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ И МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ПОРЫ ГЕСТАГЕНАМИ 12

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

- Н. В. Каверина, И. В. Уласов, И. А. Фаворская, И. Б. Зборовская,
А. Ю. Барышников, З. Г. Кагагидзе*
ВЛИЯНИЕ МЕТИЛИРОВАНИЯ ПРОМОТОРА KISS1 НА ПОДАВЛЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА В КЛЕТКАХ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И ЕГО МЕТАСТАЗОВ В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ 17
- В. С. Покровский, Н. Ю. Анисимова, М. В. Покровская, С. С. Александрова,
Н. Н. Соколов, Е. М. Трещалина*
АНТИПРОЛИФЕРАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ РЕКОМБИНАНТНОЙ L-АСПАРАГИНАЗЫ RHODOSPIRILLUM RUBRUM 24
- О. А. Симонова, Е. Б. Кузнецова, О. В. Бабенко, В. В. Руденко, Г. А. Франк, Л. Э. Завалишина,
Т. В. Кекеева, Л. Н. Любченко, Н. А. Горбань, Д. В. Залетаев, В. В. Стрельников*
МЕТИЛИРОВАНИЕ ГЕНОВ СУБЪЕДИНИЦ ЛАМИНИНА-5 В НОРМЕ И ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ 32

КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

- Л. В. Демидова, Е. А. Дунаева, А. В. Бойко, Е. Г. Новикова, О. Б. Дубовецкая*
ОСЛОЖНЕНИЯ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ ПРИ КОМБИНИРОВАННОМ ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ РАКОМ ТЕЛА МАТКИ I СТАДИИ 39
- Г. Н. Зубрихина, В. Н. Блиндарь, И. И. Матвеева, Т. З. Чернявская, К. Н. Мелкова*
ОЦЕНКА ЛАБОРАТОРНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ, ХАРАКТЕРИЗУЮЩИХ ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ГЕМОПОЭЗА У ОНКОГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ НА ФОНЕ ВЫСОКОДОЗНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ И АУТОТРАНСПЛАНТАЦИИ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТЕЛОВЫХ КЛЕТОК 46
- В. М. Нечушкина, К. Ю. Морхов, В. В. Кузнецов*
КЛАССИФИКАЦИЯ СТАДИЙ РАКА ТЕЛА МАТКИ (FIGO, 2009 г.): ПРЕИМУЩЕСТВА И НЕДОСТАТКИ 55

<i>С. А. Полозкова, Н. Ф. Орел, А. А. Маркович, В. А. Горбунова</i> АРАНОЗА В МОНОРЕЖИМЕ И В КОМБИНАЦИИ С КАПЕЦИТАБИНОМ В ЛЕЧЕНИИ РАСПРОСТРАНЕННЫХ НЕЙРОЭНДОКРИННЫХ ОПУХОЛЕЙ: ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ КЛИНИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ	60
<i>Е. Г. Родникова, З. П. Михина, В. А. Горбунова, С. А. Ткачев, А. Ф. Маренич</i> ПРЕИМУЩЕСТВА И НЕДОСТАТКИ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОЙ И ОДНОВРЕМЕННОЙ ХИМИОЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ЛЕГКОГО ПИВ СТАДИИ	67
<i>Г. Р. Сетдикова, О. В. Паклина, Р. Е. Израилов, С. Е. Цыганов</i> КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ КОРРЕЛЯЦИИ И ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ОНКОБЕЛКОВ P16, P53 И МЕТАСТИНА ПРИ ПРОТОВОКОВОЙ АДЕНОКАРЦИНОМЕ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ	73
<i>М. А. Скрыпникова, М. Б. Стенина, М. А. Фролова, И. А. Покатаев, А. В. Петровский, О. В. Крохина, Е. О. Игнатова, А. Д. Петрова, С. А. Тюляндин</i> КОМБИНАЦИЯ ДОКСОРУБИЦИНА, КАПЕЦИТАБИНА И ЦИКЛОФОСФАМИДА В ПЕРВОЙ ЛИНИИ ХИМИОТЕРАПИИ МЕСТНОРАСПРОСТРАНЕННОГО И МЕТАСТАТИЧЕСКОГО РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ С ТРОЙНЫМ НЕГАТИВНЫМ ФЕНОТИПОМ	78
<i>О. П. Сотникова, Е. Н. Сорокин, Е. В. Подгубская, Д. В. Комов, И. В. Подгубная</i> КЛИНИКА, ДИАГНОСТИКА И ЛЕЧЕНИЕ ПЕРВИЧНЫХ НЕХОДЖКИНСКИХ ЛИМФОМ ОКОЛОУШНОЙ СЛЮННОЙ ЖЕЛЕЗЫ	87
<i>И. Н. Туркин, М. М. Давыдов</i> ОСОБЕННОСТИ ХИРУРГИЧЕСКОЙ ТАКТИКИ У БОЛЬНЫХ РАКОМ ЖЕЛУДКА ПРИ НАЛИЧИИ КРАНИАЛЬНОЙ ПЕЧЕНОЧНОЙ АРТЕРИИ	91
ДИСКУССИЯ	
<i>А. И. Павловская, Т. Т. Конгратьева, С. В. Петров, Е. М. Аксель, Н. В. Балатенко, А. М. Беляев, Л. В. Болотина, В. И. Борисов, Н. П. Велижева, В. А. Горбунова, М. В. Дардык, В. В. Дворниченко, Н. А. Карасева, В. Н. Кирсанов, Г. М. Манихас, А. Н. Махсон, Д. А. Полежаев, Б. Е. Полоцкий, А. М. Сдвижков, Ю. И. Тюкалов, Р. Ш. Хасанов, Е. Л. Чойнзонов, М. Д. Лозано Эскарри, В. Ольшевски, С. Субраманиан</i> МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА В РАСПРЕДЕЛЕНИИ ГИСТОЛОГИЧЕСКИХ ТИПОВ И ВАРИАНТОВ РАКА ЛЕГКОГО: АНАЛИЗ ДАННЫХ В РАМКАХ ПРОЕКТА «ГИСТОЛОГИКА»	97

РЕКОМЕНДАЦИИ

Ирина Михайловна Шестопалова¹, Михаил Викторович Северов²

ПРОФИЛАКТИКА ИНФИЦИРОВАНИЯ МЕДИЦИНСКОГО ПЕРСОНАЛА ВИРУСАМИ ГЕПАТИТА В И С

¹ Д. м. н., заведующая, отделение функциональной диагностики и госпитальной терапии
НИИ клинической онкологии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

² К. м. н., научный сотрудник, отделение функциональной диагностики и госпитальной терапии
НИИ клинической онкологии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

Адрес для переписки: 115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, д. 24, НИИ клинической онкологии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, отделение функциональной диагностики и госпитальной терапии, Северов Михаил Викторович; e-mail: mvseverov@mail.ru

Приведена программа профилактики гепатита у медицинских работников, в частности хирургов, после случайного ранения кожи во время хирургического вмешательства у больного, являющегося носителем маркеров вируса гепатита В или С. Описаны универсальные профилактические меры предупреждения инфицирования медицинских работников вирусами гепатита и приведены индивидуальные алгоритмы помощи хирургам после случайных травм кожи при выполнении ими хирургических операций. Подчеркнута важная роль вакцинации от вирусного гепатита В всего медицинского персонала.

Ключевые слова: медицинский персонал, вирус гепатита В, вирус гепатита С, профилактика.

Носительство вирусов гепатита В (HBV) и гепатита С (HCV) среди пациентов обуславливает вероятность инфицирования медицинского персонала при выполнении профессиональных обязанностей, в частности при случайных уколах или порезах кожи во время проведения лечебно-диагностических процедур либо при попадании зараженного биологического материала (кровь, пот, моча и т. п.) на слизистые оболочки или поврежденные ранее участки кожи. Проведенные исследования [1—3] позволили уточнить частоту контактов с зараженным биологическим материалом и случайных травм кожи при выполнении своей работы специалистами различных областей медицины. Так, по сводным данным, подобные повреждения кожи чаще встречаются у хирургов (от 1,3 до 15,4% от общего количества выполняемых ими хирургических вмешательств) и акушеров (1,6%), реже — у рентгенологов, проводящих инвазивные исследования (0,6%), у врачей, оказывающих неотложную помощь (0,1%), и у стоматологов (0,1%). Контакты с инфицированным биологическим материалом, в том числе сопровождающиеся случайным повреждением кожи рук, происходят у других специалистов (ортопеды, патологоанатомы, медицинские сестры и т. д.).

Профилактика инфицирования медицинских работников HBV и HCV заключается как в проведении универсальных мероприятий, так и в применении индивидуальных алгоритмов помощи после контакта с зараженным биологическим материалом. Универсальные меры предупреждения инфицирования медицинских работников вирусами гепатита предусматривают следующее [4]:

- мытье рук после каждого контакта с больным;
- широкое применение «барьерных» мер защиты (перчатки, маски и т. д.);
- уменьшение частоты манипуляций с острым и режущим инструментом;
- хранение инструмента в устойчивых к проколу контейнерах;
- проведение занятий по отработке практических навыков обращения с инструментом;
- контроль по соблюдению профилактических мер.

Индивидуальный алгоритм помощи хирургу, получившему ранение кожи рук (укол иглой, порез и т. п.) во время проведения хирургического вмешательства у больного — носителя маркеров HBV, зависит от иммунного статуса врача и предусматривает следующие мероприятия.

Если хирург ранее эффективно вакцинирован и в сыворотке его крови имеются антитела к HBsAg, то он не нуждается в специфическом лечении.

Если иммунный статус врача неизвестен, то в течение ближайших 7 дней необходимо определить количество антител к HBsAg в его сыворотке крови. При низком содержании этих антител или в их отсутствие (в том числе у медицинских работников, не прошедших вакцинацию ранее) необходимо внутривенно ввести одну дозу иммуноглобулина G с HBs-антигенами (0,06 мл/кг) и одновременно начать вакцинацию против HBV [5].

Вакцинация от заражения HBV является существенным звеном профилактики. В настоящее время она обязательна для всех медицинских работников, начиная от студентов медицинских учебных заведений. В России зарегистрировано несколько рекомбинантных вакцин: отечественных — НПО «Комбиотех», Регевак-В и Эбербиовак, зарубежных — Эувакс В (Южная Корея), Энджерикс В (Бельгия), Н-В-VaxII (США), Шанвак (Индия), Биовак (Индия), Серум Институт оф Индия (Индия). Эти вакцины прошли испытание в Государственном НИИ стандартизации и контроля медицинских биологических препаратов им. Л. А. Тарасевича и признаны безопасными и высокоэффективными.

В случае контакта невакцинированного медицинского персонала с инфицированной кровью (а также при подготовке к хирургическим вмешательствам, при выезде в гиперэндемичные регионы и др.) применяется экстренная схема вакцинации с укороченными промежутками между введениями: 0 — 7 — 21 день и 12 мес. При этой схеме вакцинации удается получить максимальную эффективность и высокий уровень антител.

Для первичной профилактики вирусного гепатита В проводится стандартная схема вакцинации. Инъекции вводятся по схеме: 0 — 1 — 6 мес.

В США широкое внедрение указанных комплексных мер по предупреждению заболеваний вирусным гепатитом В позволило констатировать их высокую эффективность [6]. Так, ранее число медицинских работников, инфицированных за год, было значительным; например, в 1983 г. оно составляло 17 000. Спустя 12 лет (1995 г.), после широкого проведения профилактической программы было зафиксировано около 400 инфицированных. При расчете на 100 000 медицинских сотрудников заболеваемость гепатитом В снизилась: с 386 (1983 г.) до 9,1 (1995 г.).

Алгоритм помощи хирургу, получившему ранение кожи рук (укол иглой, порез и т. п.) во время проведения хирургического вмешательства у больного — носителя маркеров HCV, предусматривает определение антител к HCV в сыворотке крови в первые дни и спустя 6—12 нед после контакта с зараженным биологическим материалом. При обнаружении маркеров HCV (антитела к HCV и/или выявление репликации HCV с помощью полимеразной цепной реакции — ПЦР) в повторном анализе проводится дополнительное обследование для определения показаний к противовирусному лечению препаратами интерферона и рибавирина по индивидуальной программе.

По результатам эпидемиологических исследований частота инфицирования HCV медицинских работников больниц и частота инфицирования населения одних и тех же стран оказывается низкой [7; 8]. Доля медицинских работников в США, заболевших острым гепатитом С в период с 1991 по 1998 г., по данным I. T. Williams и

соавт., не превышает 4% случаев [9]. Частота анти-HCV-сероконверсии (появление антител к HCV в сыворотке крови) при длительном наблюдении за медицинскими работниками, имеющими высокий риск чрескожного проникновения HCV в их организм, составляет в среднем 1,8% случаев (от 0 до 10%) [10; 11]. Это подтверждает отсутствие эпидемиологического значимого пути распространения HCV среди медицинского персонала.

Количественное содержание вируса в плазме пациентов (по данным диагностики с применением ПЦР) не является фактором риска, повышающим вероятность заражения медицинского персонала, поскольку существует латентная вирусная инфекция, в том числе в отношении HCV, — состояние, при котором вирус не выявляется с помощью современных лабораторных методов исследования [12; 13]. Попытка проведения предварительного короткого курса противовирусной терапии больному, нуждающемуся в плановой операции, не оправдана, поскольку не гарантирует эффективной элиминации вируса (даже при получении отрицательного результата по данным ПЦР) [14], затягивает срок оказания хирургической помощи и, вероятно, способствует появлению устойчивых к лечению штаммов.

Следует подчеркнуть, что низкий эпидемиологический риск заражения хирургов вирусом HCV подтверждается малой вероятностью передачи вируса при случайных уколах или порезах кожи, поскольку «эффективное» инфицирование HCV наступает лишь при парентеральном введении больших объемов (более 1,0 мл) зараженной крови и ее продуктов [15; 16]. До настоящего времени отсутствуют эффективные меры специфической профилактики инфицирования HCV, поэтому основное внимание следует уделять указанным выше универсальным мерам предупреждения инфицирования медицинских работников вирусами гепатита. Разработанная международная система предупреждения контактов хирургов с биологическими материалами, содержащими HCV, придает большое значение применению барьерных технологий и повышению персональной техники выполнения хирургических вмешательств.

ЛИТЕРАТУРА

1. Risk and Management of Blood-Borne Infections in Health Care Workers / Beltrami E. M., Williams I. T., Shapiro C. N., Chamberland M. E. // *Clin. Microbiol. Rev.* — 2000. — Vol. 13, N 3. — P. 385—407.
2. Centers for Disease Control and Prevention. Recommendations for prevention of HIV transmission in health-care settings // *Morbidity and Mortality Weekly Report*. — 1987. — Vol. 36. — P. 1S—18S.
3. SHEA Guideline for Management of Healthcare Workers Who Are Infected with Hepatitis B Virus, Hepatitis C Virus, and/or Human Immunodeficiency Virus / Henderson D. K., Dembry L., Fishman N. O., Grady C., Lundstrom T., Palmore T. N., Sepkowitz K. A., Weber D. J. // *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* — 2010. — Vol. 31, N 3. — P. 203—232.
4. Garner J. S. and the Hospital Infection Control Practices Advisory Committee. Guideline for isolation precautions in hospitals // *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* — 1996. — Vol. 17, N 1. — P. 53—80.
5. Centers for Disease Control and Prevention. Immunization of healthcare workers: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) and the Hospital Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC) // *Morbidity and Mortality Weekly Report*. — 1997. — Vol. 46. — P. 1—42.
6. Progress toward elimination of hepatitis B virus transmission among health care workers in the United States / Mahoney F. J., Stewart K. H., Hu P. C., Alter M. // *Arch. Intern. Med.* — 1997. — Vol. 157. — P. 2601—2605.

7. Neal K. R., Dornan J., Irving W. L. Prevalence of hepatitis C antibodies among healthcare workers of two teaching hospitals: who is at risk? // Br. Med. J. — 1997. — Vol. 314. — P. 179—180.
8. Werman H. A., Gwinn R. Seroprevalence of hepatitis B and hepatitis C among rural emergency medical care personnel // Am. J. Emerg. Med. — 1997. — Vol. 15. — P. 248—251.
9. Williams I. T., Perz J. F., Bell B. P. Hepatitis C virus transmission from healthcare workers to patients in the United States [abstract] // J. Clin. Virol. — 2006. — Vol. 36. — S43—S44.
10. Centers for Disease Control and Prevention. Recommendations for follow-up of health-care workers after occupational exposure to hepatitis C virus // Morbid. Mortal. Weekly Rep. — 1998. — Vol. 47. — P. 1—39.
11. Alter M. J. The epidemiology of acute and chronic hepatitis C // Clin. Liver Dis. — 1997. — Vol. 1. — P. 559—568.
12. Лопаткина Т. Н. Латентная инфекция, вызванная вирусом гепатита В и С / Клинический журнал. — М.: ФармаПресс, 2009. — Т. 5, № 2. — С. 3—8.
13. Морозов И. А., Северов М. В., Ильченко Л. Ю. Алгоритм наблюдения медработника при контакте с биоматериалом, инфициро-

ванным вирусом гепатита С // Мир вирусных гепатитов. — 2010. — № 2. — С. 15—19.

14. Хирург при выполнении оперативного пособия больному, инфицированному вирусом гепатита В или С, случайно повредил кожу рук. Что делать? / Шестопалова И. М., Ильченко Л. Ю., Морозов И. А., Северова М. М., Северов М. В. // Клинический журнал. — 2010. — Т. 6, № 2. — С. 27—31.

15. Шахгильдян И. В., Михайлов М. И., Онищенко Г. Г. Парентеральные вирусные гепатиты (эпидемиология, диагностика, профилактика). — М.: ФГОУ «ВУНМЦ Росздрава», 2003. — 349 с.

16. Molecular biology of hepatitis C virus / Suzuki T., Aizaki H., Murakami K., Shoji I., Wakita T. // J. Gastroenterol. — 2007. — Vol. 42. — P. 411—423.

17. Risk factors for hepatitis C virus infection among healthcare personnel in a community hospital / Polish L. B., Tong M. J., Co R. L., Coleman P. J., Alter M. L. // Am. J. Infect. Control. — 1993. — Vol. 21. — P. 196—200.

Поступила 24.06.2011

Irina Mikhailovna Shestopalova¹, Mikhail Viktorovich Severov²

PREVENTION OF HEPATITIS B AND C VIRUS INFECTION IN HEALTHCARE WORKERS

¹ MD, PhD, DSc, Head, Functional Diagnosis and Hospital Therapy Department,
Clinical Oncology Research Institute, N. N. Blokhin RCRC RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, RF)

² MD, PhD, Researcher, Functional Diagnosis and Hospital Therapy Department,
Clinical Oncology Research Institute, N. N. Blokhin RCRC RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, RF)

Address for correspondence: Severov Mikhail Viktorovich, Functional Diagnosis and Hospital Therapy Department, Clinical Oncology Research Institute, N. N. Blokhin RCRC RAMS, 24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, RF; e-mail: mvseverov@mail.ru

A program for hepatitis prevention was accomplished in healthcare workers, particularly in surgeons, following accidental skin injury during surgical operation on a patient positive for hepatitis B and C virus markers. The paper describes universal approaches to prevention of hepatitis B and C virus infection in healthcare workers and individual algorithms for care of surgeons after accidental skin injury during surgical manipulations. The importance of vaccination of all healthcare workers against viral hepatitis B is emphasized.

Key words: healthcare workers, hepatitis B virus, hepatitis C virus, prevention.

ОБЗОРНЫЕ СТАТЬИ

Иннеса Викторовна Нечушкина¹

РЕПРОДУКТИВНОЕ ЗДОРОВЬЕ ЖЕНЩИН, ИЗЛЕЧЕННЫХ В ДЕТСТВЕ ОТ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ

¹ Д. м. н., ученый секретарь НИИ детской онкологии и гематологии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН
(115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

Адрес для переписки: 115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, д. 24,
НИИ детской онкологии и гематологии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН,
Нечушкина Иннеса Викторовна; e-mail: ivnechushkina@mail.ru

Успехи, достигнутые детской онкологией, позволяют оценивать качество жизни излеченных пациенток. Длительные сроки наблюдения дают возможность определить влияние химиотерапии и лучевой терапии на состояние репродуктивной функции у женщин, а также действие указанных видов лечения на течение беременности и родов у выздоровевших пациенток и на состояние здоровья их потомства.

Ключевые слова: дети, детская онкология, репродуктивное здоровье.

Достигнуты огромные успехи в лечении детей с онкологическими заболеваниями. Почти 70—75% больных, получавших лечение в детстве по поводу злокачественных опухолей, живы через длительные сроки после окончания специальной терапии. Увеличение выживаемости достигнуто в результате использования более агрессивных методов лечения с применением лучевой терапии (ЛТ) и сложных схем химиотерапии (ХТ), включающих несколько химиотерапевтических препаратов. ЛТ и ХТ, проводимые детям по поводу злокачественных опухолей, могут воздействовать как непосредственно на яичник, так и опосредованно на гипоталамо-гипофизарную систему, регулирующую развитие и функцию гонад. Таким образом, существует высокий риск нарушения функции яичников при проведении специальной терапии у детей с онкологическими заболеваниями [1].

Длительные сроки наблюдения (более 10 лет после окончания лечения) позволили констатировать ухудшение качества жизни выживших пациенток. Средний возраст обследованных в этом исследовании составил около 22,8 года. Оценка результатов лечения девочек, излеченных в детстве от злокачественных опухолей, позволила выявить, что у 58% из таких пациенток имеется по крайней мере одна медицинская проблема, почти у 32% выздоровевших — 2 медицинские проблемы и более. Более чем у 85% больных данные проблемы обусловлены полученной в детстве ХТ и ЛТ.

Наиболее частым осложнением в данной группе больных были гормональные нарушения (41%), токсические эффекты отмечены у 26% больных. Клинические проявления повреждений функции яичников после противоопухолевой терапии заключались в развитии острой яичниковой недостаточности или преждевременной аменореи, наступившей в возрасте моложе 40 лет.

Острой яичниковой недостаточностью называется отсутствие менархе или прекращение менструаций у детей, получивших специальную терапию по поводу злокачественной опухоли, которая развивается на фоне лечения или в пределах 5 лет с момента установления диагноза злокачественной опухоли. В крупном исследовании (3390 девочек) изучалась функция яичников после лечения по поводу злокачественной опухоли, при этом только у 6,3% пациенток диагностирована острая яичниковая недостаточность. Ранее приводились более высокие цифры — 12% [2]. Изучена частота преждевременной менопаузы у женщин, получавших в детстве лечение по поводу рака. Преждевременная менопауза отмечена у 8% женщин по сравнению с 0,8% женщин контрольной группы. В группе девочек, получивших алкилирующие препараты и ЛТ на область малого таза, доля пациенток с преждевременной менопаузой увеличивается до 30% [3].

Гормональные изменения приводили к нарушению полового созревания, отставанию в росте, что обуславливало необходимость для их коррекции назначения половых гормонов, гормонов щитовидной железы и гормона роста [4]. Неправильное развитие вторичных половых признаков у детей сопровождается большим

количеством психологических проблем и резко ухудшается качество их жизни, поэтому вопросы сохранения возможности правильного полового развития и детородной функции у выздоровевших детей приобрели в детской онкологии огромное значение.

РАЗВИТИЕ ГОНАДЫ

Изучение физиологии развития гонады показало, что количество фолликулов в яичнике устанавливается при рождении и уменьшается по мере увеличения возраста. При рождении в яичнике определяется около 1 000 000 фолликулов, в периоде половой зрелости — около 300 000 фолликулов, к периоду менопаузы их число уменьшается до 1000. Таким образом, при ненарушенном физиологическом развитии большинство фолликулов не созревают, а подвергаются атрезии. Развитие фолликулов находится под регулированием гормонов гипоталамо-гипофизарной системы: лютеотропного гормона (ЛГ) и фолликулостимулирующего гормона (ФСГ).

Во время репродуктивного периода женщины около 400 фолликулов в конечном счете созревают и в них происходит овуляция. Остающиеся фолликулы не развиваются и подвергаются атрезии.

СИНТЕЗ ГОРМОНОВ

Развитие фолликула зависит от уровня ФСГ. Клетки гранулезы, единственные клетки в репродуктивной системе женщины, имеют рецепторы ФСГ. Созревание фолликула заключается в размножении клеток гранулезы под воздействием роста уровня ФСГ, что влечет за собой рост ооцита. Наиболее чувствительный к повышенному уровню ФСГ в данный момент фолликул становится доминирующим, и в нем происходит овуляция. Синтез половых гормонов в фолликуле происходит под влиянием гормонов ФСГ и ЛГ. В дополнение к половым гормонам клетками гранулезы и тека-клетками фолликула синтезируется ингибин [5]. Уровни половых гормонов и ингибин путем обратной связи влияют на синтез ФСГ и ЛГ. Регулярные овуляторные менструальные циклы устанавливаются при налаживании сложных координационных связей между гипоталамусом, гипофизом и яичником, поэтому в течение первых нескольких лет после менархе 80% менструальных циклов ановуляторные.

РАЗВИТИЕ ФОЛЛИКУЛА

Правильное развитие фолликула — это взаимодействие ооцита и окружающих его клеток гранулезы и тека-клеток, функционирующих как единая сложная система. Нарушение биологического равновесия между ними ведет к гибели ооцита или клеток гранулезы. В любом случае нарушается единый биологический механизм развития фолликула, что вызывает его атрезиию.

В связи с анатомической и функциональной взаимосвязью между секрецией половых гормонов и состоянием ооцитов повреждение или разрушение их приводит к потере эндокринной функции, а также к бесплодию. В то же время разрушение клеток гранулезы приводит к недостатку эстрогенов и к гибели ооцита. Потеря яичником функций до начала половой зрелости проявляется отсутствием полового развития и первичной аменореей. Если функция яичников потеряна во время полового созревания

или после него, прекращается дальнейшее развитие вторичных половых признаков и наступает вторичная аменорея с развитием симптомов климактерического синдрома. Такие женщины предрасположены к развитию остеопороза и коронарной недостаточности [6]. Увеличенные концентрации гонадотропинов, особенно ФСГ, в плазме и сниженные уровни эстрадиола и ингибина В типичны для пациенток с яичниковой недостаточностью. Снижение ингибина В коррелирует с уменьшением количества фолликулов. Это один из самых ранних признаков начинающейся яичниковой недостаточности. У девочек младше 10—12 лет функцию яичников оценить невозможно.

ХИМИОТЕРАПИЯ

Большее количество фолликулов в яичниках у девочек по сравнению с яичниками взрослых делает их более резистентными к ХТ. Повреждающее действие на ткань яичника у девочек и подростков при проведении ХТ менее выражено, чем у взрослых пациенток [6]. У маленьких девочек возможно применение более высоких доз химиопрепаратов. Химиотерапевтические агенты оказывают разной выраженности токсическое действие на функцию яичников. Алкилирующие препараты (циклофосфамид, бусульфан) дают более выраженный токсический эффект [7]. Циклофосфамид способен повреждать не только делящиеся клетки, но и фолликулы, находящиеся в состоянии физиологического покоя. Повреждающее воздействие циклофосфамида на яичник пропорционально увеличению дозы препарата. Повреждающее воздействие на яичник также оказывают антимаетаболиты и платиновые соединения.

У большинства детей и подростков после ХТ стандартными дозами функция яичников восстанавливается [8]. Однако по данным исследования тканей яичника у детей после лечения по поводу злокачественных солидных опухолей и лейкозов в тканях яичника отмечены достоверное уменьшение количества фолликулов и замедление их развития. Концентрации ФСГ в плазме — объективный и чувствительный показатель состояния яичника. При повреждении яичника концентрация ФСГ в плазме резко увеличивается.

Через некоторое время после окончания лечения у большинства пациенток восстанавливаются нормальные уровни ФСГ. У детей препубертатного и пубертатного возраста менструальная функция восстанавливается в течение 6—8 мес после окончания химиотерапии. При изучении репродуктивной функции у женщин, в детстве излеченных от злокачественных герминогенных опухолей яичников, показано, что менструальная функция восстановилась в 77% случаев в течение 6 мес после окончания лечения, в 11,5% — в течение 6—12 мес, в 11,5% — в большие сроки.

Установлено, что у этой группы пациентов может наступить ранняя менопауза [9]. Возможны случаи нарушения функции яичника при проведении стандартной ХТ и даже наступления аменореи. Пациентки, получавшие высокие дозы миелоаблативной терапии с проведением трансплантации костного мозга, имеют высокий риск возникновения аменореи после лечения. Ряд исследователей указывает, что при применении бусульфана у 100%

девочек и молодых женщин после лечения развивается аменорея [10]. Наиболее частое развитие острой яичниковой недостаточности отмечено у детей, получавших лечение по поводу опухолей центральной нервной системы, лейкозов, болезни Ходжкина. В ряде исследований проведена попытка анализа токсических эффектов ХТ и ЛТ у больных с болезнью Ходжкина. Риск наступления преждевременной менопаузы у женщин составил 48%, если они получали ХТ, и только 2%, если получали только ЛТ [11].

ЛУЧЕВАЯ ТЕРАПИЯ

ЛТ — мощный фактор, приводящий к развитию аменореи у больных после лечения. В группу повышенного риска входят пациентки, получающие облучение брюшной полости, малого таза и позвоночника. Риск наступления аменореи увеличивается при облучении обоих яичников. Исследования показали, что для гибели 50% ооцитов достаточна доза менее 2 Гр [12]. Отрицательные эффекты ЛТ зависят от возраста и суммарной очаговой дозы, локализации и размеров полей облучения, а также от количества и величины разовой дозы ЛТ. Установлено, что для развития аменореи после ЛТ у женщин в возрасте старше 40 лет достаточно 6 Гр [13], а у детей и подростков аменорея может наступить при дозе ЛТ более 20 Гр [14]. При проведении на фоне ЛТ лечения алкилирующими препаратами аменорея может наступить при значительно меньших дозах ЛТ. Существенное повреждение яичников наблюдается при облучении спинного мозга у больных с острым лимфобластным лейкозом и у больных с опухолями головного мозга. При дозе ЛТ 18 Гр повышение уровней ФСГ в плазме отмечено у 19% пациенток, а при дозе 24 Гр — у 67% [15]. По данным длительного наблюдения за этими пациентками у большинства из них выявлены нормальное развитие вторичных половых признаков и наступление менархе в более старшем возрасте.

У большинства детей с болезнью Ходжкина, опухолью Вильмса, рабдомиосаркомой, нейробластомой, получивших облучение брюшной полости и малого таза в дозе 22—30 Гр, развитие вторичных половых признаков не наступило, диагностирована первичная аменорея. У оставшихся детей отмечено раннее наступление менопаузы (средний возраст 23,5 года) [14].

ЛТ оказывает серьезное негативное действие как на гипоталамо-гипофизарную область, так и на гонады. Наиболее выраженные отдаленные последствия негативного влияния на гонады выявлены у больных острым лимфобластным лейкозом, неходжкинскими лимфомами, с опухолями мозга, с опухолью Вильмса, а также после трансплантации костного мозга [16].

Необходимо также отметить повреждающее действие ЛТ на развитие и функционирование матки. При получении дозы от 14 до 30 Гр нарушается кровоснабжение матки, уменьшаются ее размеры [11].

Пациентки, которые получают ХТ, тотальное облучение и переносят трансплантацию костного мозга, подвержены высокому риску нарушения функции яичников как в виде острой недостаточности, так и в виде развития первичной или вторичной аменореи. Степень повреждения гонад зависит от разнообразных факторов, включая возраст, состояние полового развития в момент лечения

и дозу ЛТ. Фактически у 100% пациенток, у которых произведена пересадка костного мозга с тотальным облучением в возрасте 10 лет и старше, развивается первичная или вторичная аменорея, тогда как только у 50% девочек младше 10 лет будет диагностирована острая яичниковая недостаточность [17]. К. Sarafoglou и соавт. [18] показали, что у 56% девочек в препубертатном периоде половое развитие и менархе наступили в нормальные сроки после ХТ и облучения тела в дозе 13—15 Гр. Однако у $\frac{2}{3}$ пациенток с неповрежденной функцией яичников выявлены увеличенные концентрации гонадотропинов. Единственным достоверным фактором, прогнозирующим риск развития аменореи, был возраст, в котором больным проводилась трансплантация костного мозга. Дети, у которых в последующем развилась аменорея, во время трансплантации костного мозга были значительно старше, чем дети с нормальным половым развитием ($8,6 \pm 2,3$ года против $6,1 \pm 1,8$ года).

Таким образом, наличие нормального менструального цикла у женщин, получивших лечение в детстве по поводу злокачественных новообразований, не отражает истинное состояние репродуктивной системы. Диагностика нарушений функции яичников обуславливает необходимость ультразвукового исследования, которое дает возможность определить объем яичника, количество развивающихся фолликулов. Определение содержания α -фетопротейна, хорионического гонадотропина и ингибина В позволяет определить истинное состояние функции яичников [19].

ПРОФИЛАКТИКА И ЛЕЧЕНИЕ НАРУШЕНИЙ РЕПРОДУКТИВНОЙ ФУНКЦИИ

Объем планируемого лечения, возраст ребенка, а также локализация процесса позволяют прогнозировать развитие острой яичниковой недостаточности и преждевременной аменореи и определить риск и возможности медицинской коррекции данных нарушений [11].

В настоящее время существуют несколько подходов к лечению нарушений репродуктивной функции у девочек со злокачественными опухолями: транспозиция или овариопексия, криоконсервация ооцитов или эмбрионов, криоконсервация яичниковой ткани, а также проведение гормонотерапии.

По мнению некоторых авторов, если перемещение яичников выполнено до радиотерапии, то функция яичников сохранена у большинства девочек и девушек [2]. Транспозиция яичников или овариопексия, как пишут другие, только на 10% уменьшает суммарную дозу ЛТ. Дозы, полученные правым и левым яичниками, необходимо рассчитывать отдельно [2]. Кроме того, у пациенток после овариопексии возникают проблемы перемещения ооцита в полость матки, нарушается кровоснабжение яичника, наблюдаются боли и т. д.

Сохранение яйцеклетки или оплодотворенной яйцеклетки (эмбриона) по этическим мотивам у детей не может быть применено. Кроме того, для получения яйцеклетки необходимы сроки для искусственного получения овуляции, следовательно, могут быть сдвинуты сроки лечения. При индукции стимуляции овуляции у детей увеличивается риск прогрессирования процесса под действием вводимых гормонов.

Криоконсервация яичниковой ткани может быть применена у детей независимо от возраста, однако и она имеет ограничения — возможность развития рецидива заболевания в пересаженной яичниковой ткани. Развитие рецидива болезни возможно у больных острым лимфобластным лейкозом, не исключено развитие рецидива и у больных миелоидным лейкозом.

Одним из методов сохранения неповрежденной функции яичников является применение гормонов для подавления функции яичников, что, согласно гипотезе, может уменьшить токсический эффект ХТ. При нарушении функции яичников после лечения показана заместительная гормональная терапия, которая способствует правильному развитию вторичных половых признаков. Описаны случаи восстановления менструальной функции после длительной заместительной гормональной терапии. Констатируется возможность восстановления функции яичников у 10 % молодых женщин после тотального облучения тела [20]. При получении гормонального лечения улучшаются кровотоки и состояние эндометрия, что увеличивает шансы для развития оплодотворенной яйцеклетки [11].

Для детей с опухолями яичников следует выбирать химиотерапевтические режимы с меньшей яичниковой токсичностью, щадящие методы хирургического вмешательства без необоснованного вмешательства на контрастальном яичнике. При повышенном риске нарушения функции яичников или появлении симптомов климактерического синдрома показана заместительная гормональная терапия. В течение 2—3 лет при необходимости после окончания лечения больным показана контрацепция. Беременность нежелательна в первые 6 мес после лечения [21].

ТЕЧЕНИЕ БЕРЕМЕННОСТИ И РОДОВ У ВЫЗДОРОВЕВШИХ ПАЦИЕНТОК

Анализ течения беременности и родов у женщин, излеченных в детстве от рака, не показал увеличения риска развития уродств или смертности новорожденных. Подтверждено увеличение числа преждевременных родов и рождения детей с меньшей массой тела.

Для нормального течения беременности требуются неповрежденная гипоталамо-гипофизарно-яичниковая связь, достаточный запас фолликулов и неповрежденная матка. Установлено, что прерывание беременности на ранних сроках может быть вызвано недостаточной секрецией ЛГ и укорочением из-за этого второй фазы менструального цикла [11].

ЛТ не только отрицательно влияет на яичники, но и повреждает матку, изменяя ее структуру (мускулатуру и кровоснабжение). Этим объясняется тенденция к раннему прерыванию беременности (< 37 нед) или рождению детей массой тела < 2,5 кг [11, 22]. Частота преждевременных родов у леченных в детстве женщин почти в 2 раза выше, чем у их сестер (21 и 12,6% соответственно). Частота преждевременных родов достоверно зависит от полученной дозы и возрастает по мере увеличения дозы ЛТ. Такие же соотношения отмечены при анализе частоты рождения детей со сниженной массой тела у женщин, леченных в детстве по поводу злокачественных опухолей, и их здоровых сестер (9 и 4,2% соответствен-

но). Сниженная масса тела новорожденных отмечена у 7,6% женщин, излеченных в детстве от онкологического заболевания без применения ЛТ, у 25,5% женщин, получивших дозу 2,5—5 Гр, и у 36,2% пациенток, получивших дозу > 5 Гр.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенный анализ публикаций, посвященный вопросам состояния репродуктивной функции у женщин, которые в детском возрасте лечились от злокачественных новообразований, показывает сохранение репродуктивной функции у большинства пациенток. Однако эта функция имеет нарушения в виде возможного развития острой недостаточности яичников, преждевременной менопаузы и уменьшения детородного периода. При лечении детей следует учитывать возможные риски развития осложнений и проводить их своевременную коррекцию. Женщины должны иметь полную информацию о состоянии их репродуктивной системы и правильно планировать сроки наступления беременности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Sklar C. Reproductive physiology and treatment-related loss of sex hormone production // *Med. Pediatr. Oncol.* — 1999. — Vol. 33, N 1. — P. 2—8.
2. Acute ovarian failure in the childhood survivor study / Chemaitilly W., Mertens A. C., Mitby P., Whitton J., Stoval M., Yusui Y., Robison L. L., Sklar C. A. // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* — 2006. — Vol. 91, N 5. — P. 1723—1728.
3. Premature menopause in survivors of childhood cancer: a report from the childhood cancer survivors study / Sklar C. A., Mertens A. C., Mitby P., Whitton J., Stoval M., Kasper C., Mulder J., Green D., Nicholson S., Yasui Y., Robison L. L. // *J. Natl. Cancer Inst.* — 2006. — Vol. 98, N 13. — P. 890—896.
4. Skinner R., Wallace W. H., Levitt G. A. Long-term follow-up of people who have survived cancer during childhood // *Lancet Oncol.* — 2006. — Vol. 7, N 6. — P. 489—498.
5. Clinical review 96: Differential control of gonadotropin secretion in the human: endocrine role of inhibin / Hayes F. J., Hall J. E., Boppelle P. A., Crowley W. F. // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* — 1998. — Vol. 83. — P. 1835—1841.
6. Bone mineral density in young adult survivors of childhood cancer / Aisenberg J., Hsiah K., Kataitzioglou G., Whittman E., Heller G., Schneider R., Sklar C. // *J. Pediatr. Hematol. Oncol.* — 1998. — Vol. 20. — P. 241—245.
7. Rivkees S. A., Crawford J. D. The relationship of gonadal activity and chemotherapy-induced gonadal damage // *JAMA.* — 1988. — Vol. 259. — P. 2123—2125.
8. Efficacy and toxicity of multiagent chemotherapy and low-dose involved-field radiotherapy in children and adolescents with Hodgkin's disease / Hudson N. M., Greenwald C., Thompson E., Wilimas J., Marina N., Fairclough D., Kauffman W., Bozeman P., Mackert P. W., Abromowitch M. // *J. Clin. Oncol.* — 1993. — Vol. 11. — P. 100—108.
9. Early menopause in long-term survivors of cancer during adolescence / Byrne J., Fears T. R., Gail M. H., Pee D., Connelly R. R., Austin D. F., Holmes G. F., Holmes F. F., Latourette H. B., Meigs J. W. // *Am. J. Obstet. Gynecol.* — 1992. — Vol. 166. — P. 788—793.
10. Ovarian function after bone marrow transplantation during childhood / Thibaud E., Rodriguez-Macias K., Trivin C., Esperou H., Michon J., Brauner R. // *Bone Marrow Transplant.* — 1998. — Vol. 21. — P. 287—290.
11. Edgar A. B., Wallace W. H. B. Pregnancy in women who had cancer in childhood // *Eur. J. Cancer.* — 2007. — Vol. 43, N 13. — P. 1890—1894.
12. Sklar C. Maintenance of ovarian function and risk of premature menopause related to cancer treatment // *Oxford J.* — 2005. — Vol. 2005, N 34. — P. 25—27.
13. Lushbaugh C. C., Casarett G. W. The effect of gonadal irradiation in clinical radiation therapy: a review // *Cancer.* — 1976. — Vol. 37. — P. 1111—1120.

14. Ovarian failure following abdominal irradiation in childhood: natural history and prognosis / Wallace W. H. B., Shalet S. M., Crowne E. C., Morris-Jones P. H., Gattamaneni H. R. // *Clin. Oncol.* — 1989. — Vol. 1. — P. 75—79.

15. Menarche in a cohort of 188 long-term survivors of acute lymphoblastic leukemia / Mills G. L., Fears T. R., Robisson L. L., Nicholson H. S., Sklar C. A., Byrne J. // *J. Pediatr.* — 1997. — Vol. 131. — P. 598—602.

16. Muller J. Impact of cancer therapy on the reproductive axis // *Horm. Res.* — 2003. — Vol. 59, N 1. — P. 12—20.

17. Sklar C. Growth and endocrine disturbances after bone marrow transplantation in childhood // *Acta Paediatr.* — 1995. — Vol. 411. — P. 57—61.

18. Gonadal function after bone marrow transplantation for acute leukemia during childhood / Sarafoglou K., Boulad F., Gillio A., Sklar C. // *J. Pediatr.* — 1997. — Vol. 130. — P. 210—216.

19. Reduced ovarian function in long-term survivors of radiation- and chemotherapy-treated childhood cancer / Larsen E. C., Muller J.,

Schmiegelow K., Rechnitzer C., Andersen A. N. // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* — 2003. — Vol. 88, N 11. — P. 5307—5314.

20. Pregnancies following highdose cyclophosphamide with or without high-dose busulfan or total-body irradiation and bone marrow transplantation / Sanders J. E., Hawley J., Levy W., Gooley T., Buckner C. D., Deeg H. J., Doney K., Storb R., Sullivan K., Witherspoon R., Appelbaum F. R. // *Blood.* — 1996. — Vol. 87. — P. 3045—3052.

21. Reproductive function after treatment of malignant germ cell ovarian tumors / Sagae S., Sasaki H., Nishioka Y., Terasava K., Kudo R. // *Molec. Cell. Endocrinol.* — 2003. — Vol. 202, N 1—2. — P. 117—121.

22. Critchley H. O. Factors of importance for implantation and after treatment for childhood cancer // *Med. Pediatr. Oncol.* — 1999. — Vol. 33, N 1. — P. 9—14.

Поступила 09.08.2011

Innesa Viktorovna Nechushkina¹

REPRODUCTIVE HEALTH OF PEDIATRIC CANCER SURVIVORS

¹ MD, PhD, DSc, Scientific Secretary, Pediatric Oncology and Hematology Research Institute, N. N. Blokhin RCRC RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, RF)

Address for correspondence: Nechushkina Innesa Viktorovna, Pediatric Oncology and Hematology Research Institute, N. N. Blokhin RCRC RAMS, 24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, RF; e-mail: ivnechushkina@mail.ru

Recent advances in pediatric oncology put forward the issues of quality of life of pediatric cancer survivors. Long-term follow-up allows assessment of chemotherapy and radiotherapy effects on reproductive health of women treated for cancer in their childhood, physiology of pregnancy and delivery, health of their offspring.

Key words: children, pediatric oncology, reproductive health.

Татьяна Александровна Федотчева¹, Елена Валерьевна Огинцова²,
Виктор Васильевич Банин³, Николай Львович Шимановский⁴

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ СОПРЯЖЕННОЙ РЕГУЛЯЦИИ СИСТЕМЫ МНОЖЕСТВЕННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ И МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ПОРЫ ГЕСТАГЕНАМИ

¹ К. м. н., старший научный сотрудник, НИЛ молекулярной фармакологии
ГОУ ВПО РГМУ Росздрава (117997, РФ, г. Москва, ул. Островитянова, г. 1)

² Аспирант, кафедра молекулярной фармакологии и радиобиологии
ГОУ ВПО РГМУ Росздрава (117997, РФ, г. Москва, ул. Островитянова, г. 1)

³ Д. м. н., заместитель руководителя, НИЦ медицинских биотехнологий
ВИЛАР РАСН (123056, РФ, г. Москва, ул. Красина, г. 2)

⁴ Д. м. н., заведующий, кафедра молекулярной фармакологии и радиобиологии
ГОУ ВПО РГМУ Росздрава (117997, РФ, г. Москва, ул. Островитянова, г. 1)

Адрес для переписки: 117997, РФ, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1,
НИЛ молекулярной фармакологии ГОУ ВПО РГМУ Росздрава,
Федотчева Татьяна Александровна, e-mail:tfedotcheva@mail.ru

Обзор посвящен анализу имеющихся сведений о механизмах регуляции двух транспортных систем в клетках — Ca^{2+} -зависимой циклоспорин-чувствительной поры в митохондриях и АВС-транспортёров в клеточной мембране. Обе системы имеют фундаментальное значение в регуляции гомеостаза клеток в норме и при индукции гибели клеток. Раскрытие митохондриальной поры является ключевой стадией апоптоза. АВС-транспортёры защищают клетки от действия цитотоксичных веществ и ксенобиотиков, что лежит в основе множественной лекарственной устойчивости. Предположение о наличии общих механизмов регуляции этих транспортных систем в клетке основано на результатах проведенных нами исследований по влиянию прогестерона и его синтетических аналогов (гестагенов), применяемых в качестве средств противоопухолевой терапии, на активность митохондриальной поры и множественную лекарственную устойчивость.

Ключевые слова: митохондриальная пора, множественная лекарственная устойчивость, гестагены.

РОЛЬ ГЕСТАГЕНОВ В РЕГУЛЯЦИИ МНОЖЕСТВЕННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК

Одна из основных проблем химиотерапии опухолей — снижение эффективности цитостатиков вследствие развития в опухолевых клетках устойчивости к структурно и функционально разнородным противоопухолевым средствам. В целях повышения эффективности химиотерапевтического лечения ведется интенсивный поиск селективных модуляторов множественной лекарственной устойчивости (МЛУ) опухолевых клеток. Хотя с каждым годом количество таких соединений увеличивается, сенсibilизатор с ближайшей перспективой использования в клинической практике пока не найден и не исследовано возможное действие этих соединений на другие клеточные мишени. Поиск новых соединений, направленно влияющих на снижение МЛУ, представля-

ет актуальную проблему современной фундаментальной медицины и фармакологии.

Основными механизмами развития МЛУ служат увеличение экспрессии генов, кодирующих антиапоптотические белки, ферменты метаболизма лекарственных веществ и антиоксидантной защиты, а также увеличение экспрессии генов, ответственных за экспрессию зависимых от АТФ мембранных белков-переносчиков, относящихся к категории АВС-транспортёров (АТР-binding cassette transporter — АТФ-связывающий кассетный транспортёр). Это зависимые от АТФ насосы клеточной мембраны, которые выводят из клетки ксенобиотики, в том числе химиотерапевтические препараты [1]. АВС-транспортёры имеются во всех эукариотических клетках и используют энергию гидролиза АТФ для выведения различных соединений через клеточную мембрану. Физиологической функцией АВС-транспортёров этой группы является защита клетки от токсичных метаболитов, в том числе образуемых самой клеткой. Наибольшая экспрессия этих белков обнаруживается в клетках, формирующих различные гематотканевые барьеры.

Среди АТФ-транспортёров опухолевых клеток, выводящих ксенобиотики, идентифицирован Р-гликопротеин, который кодируется геном *MDR-1* и наиболее полно изучен. Его активация приводит к выбросу цитостатиков антрациклинового ряда (доксорубин, даунорубин), винкаалкалоидов (винкристин, винбластин), таксанов (паклитаксел, доцетаксел), митоксантрона, ингибиторов топоизомераз (этопозид), что снижает эффективность этих препаратов [1].

Среди ингибиторов Р-гликопротеина известны такие фармакологические вещества, как циклоспорин, верапамил, трастузумаб, вогонин (5,7-диокси-8-метоксифлавонон), тариквидар (XR9576) и др. [2—4].

В последние годы появились указания на возможность использования гестагенов в качестве ингибиторов Р-гликопротеина [5]. Гестагены применяются в качестве гормональной терапии при раке молочной железы, тела матки, эндометрия, предстательной железы, поскольку оказывают противоопухолевое действие как самостоятельные препараты [6]. Кроме того, некоторые гестагены оказывают сенсibiliзирующее действие, т. к. повышают чувствительность опухолевых клеток к цитостатикам [7]. Такое влияние оказывают, в частности, прогестерон, медроксипрогестерона ацетат (МПА), мегестрола ацетат и новый синтезированный гестаген бутерол.

Механизм сенсibiliзирующего действия гестагенов связан с ингибированием активности АВС-транспортёров — Р-гликопротеина [8], белка MRP (multidrugresistance-associated protein) [9], белка BCRP (breast cancer resistance protein) [10]. Кроме того, гестагены способны снижать экспрессию антиапоптотических белков семейства Bcl-2 и повышать активность каспаз, индуцируя таким образом апоптоз [11; 12]. Благодаря этим свойствам гестагены оказывают сенсibiliзирующий эффект, т. к. гиперэкспрессия Bcl-2 является одной из причин повышенной устойчивости опухолевых клеток к апоптозу, протекающему с участием митохондрий. В то же время механизмы противоопухолевого действия гестагенов на опухолевые клетки остаются недостаточно изученными. В связи с этим представляет несомненный интерес исследование их действия на другие мишени, в частности на митохондрии, которые могут эффективно регулировать процессы апоптоза.

МИТОХОНДРИАЛЬНАЯ ПОРА В РЕГУЛЯЦИИ АПОПТОЗА ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК

Митохондрии играют центральную роль в регуляции апоптоза. С выходом из митохондрий ключевых для активации апоптоза белков (цитохрома С, фактора, инициирующего апоптоз, и др.) связан митохондриальный путь гибели клетки. Преимущественно именно этот путь активируется противоопухолевыми препаратами. Кроме того, дыхательная цепь митохондрий служит основным источником активных форм кислорода (АФК), стимулирующих гибель клетки. Митохондрии обладают системой защиты от АФК, которая включает нейтрализацию супероксид-аниона в перекись водорода под действием супероксиддисмутазы и последующую деградацию перекиси водорода пероксидазой и глутатионпероксидазой. Уровень АФК снижается в присутствии глутатиона, коэнзима QH₂, аскорбиновой кислоты и других низкомо-

лекулярных антиоксидантов. Если концентрация АФК в митохондриях продолжает увеличиваться несмотря на перечисленные механизмы защиты, то в клетке развивается окислительный стресс. В частности, под действием АФК в белке внутренней мембраны митохондрий, который обеспечивает сопряженный перенос АТФ/АДФ, происходит окисление SH-группы Cys-56, что способствует образованию неспецифического канала, пронизываемого для низкомолекулярных веществ. Данный канал получил название «permeability transition pore», что в переводе означает «пора, изменяющая проницаемость мембраны митохондрий» [13]. Кроме окислительного стресса открытие поры стимулируется увеличением в матриксе митохондрий ионов кальция. Открытие поры во внутренней мембране сопровождается падением мембранного потенциала, набуханием митохондрий и разрывом внешней мембраны. В результате этого белки межмембранного пространства, в том числе цитохром С и другие проапоптотические белки, выходят в цитозоль, запуская один из наиболее эффективных путей апоптоза [14].

Современные исследования показали, что многие противоопухолевые лекарственные средства оказывают антипролиферативное действие за счет индукции апоптоза опухолевых клеток. Известно, что антрациклины индуцируют апоптоз благодаря продукции АФК и свободных радикалов в ходе их метаболизма. Проапоптотическое действие доксорубина и других антрациклинов в клетках блокируется циклоспорином, ингибитором митохондриальной Ca²⁺-зависимой поры (МТП) и увеличенной экспрессией митохондриальных антиапоптотических белков семейства Bcl-2, что указывает на участие МТП в механизме действия противоопухолевых средств [15].

ОБЩИЕ МЕХАНИЗМЫ СОЧЕТАННОЙ РЕГУЛЯЦИИ МТП И МЛУ ГЕСТАГЕНАМИ

Система МТП и система МЛУ, таким образом, имеют фундаментальное значение для выживания клеток в норме и патологической трансформации, т. к. МТП участвует в программируемой гибели клеток, являясь ключевой стадией в индукции апоптоза, а АВС-транспортёры защищают клетки от действия токсичных метаболитов и ксенобиотиков, что обуславливает МЛУ. Субстратами АВС-транспортёров могут быть аминокислоты, углеводы, пептиды, продукты перекисного окисления и другие соединения, в том числе такие стероиды, как прогестерон. АВС-транспортёры экспрессируются на самых ранних стадиях дифференциации клетки, очевидно, для защиты ее от потенциально токсичных метаболитов на разных стадиях развития.

В то же время митохондрии активно участвуют в ответе клеток на воздействие стероидных гормонов. Действуя через рецепторы, локализованные в цитоплазме, а также в ядерных, цитоплазматических и, как показано в последнее время, митохондриальных мембранах [16; 17], стероидные гормоны — глюкокортикоиды и половые гормоны — влияют на такие функции митохондрий, как дыхание, окислительное фосфорилирование, продукция АФК. Известно, что стероидные гормоны стимулируют биогенез митохондрий и биосинтез митохондриальных

белков и компонентов дыхательной цепи митохондрий, активируя транскрипцию соответствующих генов [18; 19]. Сигнальное действие стероидных гормонов, в частности гестагенов, распространяется также на регуляцию апоптоза за счет влияния на экспрессию и фосфорилирование про- и антиапоптотических митохондриальных белков семейства Bcl-2 и Вах, участвующих в регуляции МТП, открытие которой является ключевым фактором апоптоза [18; 19].

Некоторые стероидные гормоны оказывают непосредственное действие на митохондрии, что убедительно показано на изолированных митохондриях печени, сердца и мозга. К таким гормонам или их аналогам относятся дегидроэпиандростерон, эстрадиол и его производные, действующие как ингибиторы первого участка дыхательной цепи митохондрий, или тестостерон, активирующий зависимый от АТФ калиевый канал в мембране митохондрий [20—22]. Ингибированием комплекса I дыхательной цепи объясняется токсическое воздействие этих стероидов на митохондрии. Использование дегидроэпиандростерона в качестве цитотоксического предшественника гормонов в терапевтических целях приводит к ингибированию NAD-зависимого дыхания, стимуляции перекисного окисления липидов и индукции открытия Ca^{2+} -зависимой неспецифической поры во внутренней мембране митохондрий [23; 24]. Эстрадиол и его производные 2-метокси-эстрадиол и эстрон снижают мембранный потенциал митохондрий, стимулируют продукцию АФК и индуцируют гибель клеток. В то же время эстрадиол может связывать АФК, вступая в редокс-цикл с образованием хинона [21]. Некоторые стероидные гормоны восстанавливают сопряжение окисления и фосфорилирования в митохондриях, разобщенных низкими концентрациями протонофоров. Это свойство характерно для тестостерона и прогестерона и обусловлено, как предполагается, модификацией этими гормонами структуры митохондриальных мембран [23].

Среди физиологических факторов, индуцирующих открытие поры, можно выделить ионы кальция, АФК, снижение продукции АТФ митохондриями, снижение мембранного потенциала. Обычно эти факторы действуют кумулятивно и потенцируют действие друг друга. Например, чувствительность к ионам кальция повышается при окислительном стрессе. В результате открытие поры возможно даже при физиологических концентрациях кальция в матриксе митохондрий. В связи с этим существенное значение для повышения противоопухолевого эффекта имеет направленное на генерацию АФК действие антрациклинов, используемых в химиотерапии [25].

Роль активности МТП в регуляции МЛУ ранее не исследовалась. Неясным остается также действие прогестерона и его синтетических аналогов — гестагенов на активность МТП.

При исследовании влияния прогестерона и его синтетических аналогов ацетомепрегенола и бутерола (17 α -ацетокси-3 β -бутаноилокси-6-метил-прегна-4,6-диен-20-он) на открытие МТП было установлено, что прогестерон активирует, а бутерол и ацетомепрегенол ингибируют открытие поры [26]. В отличие от прогестерона и МПА, бутерол в концентрации 20—100 мкМ бло-

кировал открытие поры, повышая кальциевую емкость митохондрий более чем в 2 раза. В этих концентрациях бутерол и МПА не влияли на дыхание митохондрий, в то время как прогестерон вызывал 100% ингибирование NAD-зависимого дыхания. Действие бутерола специфично по отношению к поре, т. к. снималось в присутствии N-этилмалеимида, окисляющего тиоловые группы, и карбоксиатрактилозида, селективно связывающего тиоловые группы аденилаттранслоказы — компонента МТП. Поскольку ацетомепрегенол и бутерол, в отличие от прогестерона, МПА и других гестагенов, содержат в своей структуре карбонильную группу при атоме C_3 , они действуют, возможно, как тиолсвязывающие вещества, образуя нековалентно связанный стабильный комплекс за счет формирования водородных связей между SH-группами цистеинов и карбонилами стероида. В формировании МТП участвуют, предположительно, переносчик адениновых нуклеотидов аденилаттранслоказа, белки циклофилин D и фосфатный переносчик [27]. Антиапоптотические белки Bcl-2 и Bcl-x(L), находящиеся во внешней мембране митохондрий, ингибируют открытие МТП за счет прямого подавления активности потенциалзависимых анионных каналов (VDAC) (рис. 1) [28]. Поскольку ингибиторное действие бутерола на МТП снималось селективным ингибитором аденилаттранслоказы — карбоксиатрактилозидом, то предположительной мишенью действия бутерола могут являться SH-группы этого компонента поры. Другой возможной мишенью бутерола могут быть SH-группы белков систем транспорта МЛР (в частности, нуклеотидсвязывающего сайта Р-гликопротеина) и других тиолсодержащих соединений в митохондриях и клетках — тиоредоксина, глутатиона и т. д. (рис. 2). Блокирование SH-групп Р-гликопротеина нарушает связывание АДФ, образуемого в АТФазной

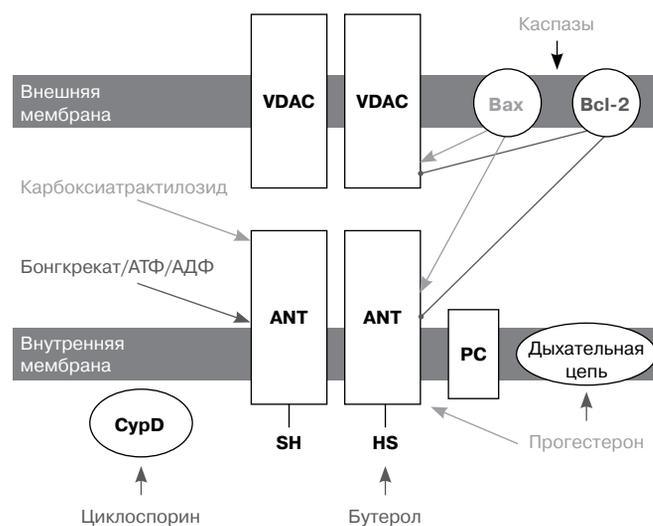


Рисунок 1. Схема функционирования МТП. Прогестерон активирует открытие поры и ингибирует дыхательную цепь; циклоспорин, бутерол, бонгкрекат (специфический ингибитор аденилаттранслоказы), антиапоптотические белки Bcl-2 ингибируют открытие поры. ANT — аденилаттранслоказа; CypD — циклофилин D; PC — фосфатный переносчик; VDAC — потенциалзависимый анионный канал.

реакции Р-гликопротеина. В результате ингибируются связывание и выход из клетки антрациклинов и, следовательно, снижается МЛР опухолевых клеток.

Таким образом, некоторые гестагены, в частности бутерол, влияя на различные белки-транспортёры плазматической и митохондриальной мембран, могут или повышать цитостатическую активность химиотерапевтических препаратов благодаря ингибированию системы транспорта их из клетки, или уменьшать ее за счет ингибирования открытия МТП. Результирующее действие будет определяться концентрацией бутерола в области плазматической мембраны и в митохондриях опухолевых и нетрансформированных клеток. Ингибирование открытия МТП может оказаться очень полезным в плане снижения кардиотоксичности ряда противоопухолевых средств. Недавние исследования показали, что ингибиторы проницаемости мембран митохондрий (внутренней или внешней) дают кардиопротекторный эффект [29; 30]. Поэтому можно предположить, что бутерол, ингибируя открытие МТП, может существенно снизить кардиотоксичность цитостатиков, связанную с инициацией апоптоза, и в то же время, ингибируя активность Р-гликопротеина, повысить их цитостатическую активность в отношении резистентных опухолевых клеток.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследования влияния прогестерона и его синтетических аналогов, применяемых в качестве противоопухолевых средств, на активность МТП показали, что замещение 3-кето-группы в молекуле стероида карбониллом принципиально меняет свойства гестагенов, делая их активными не только по отношению к МЛУ, но и к Ca^{2+} -зависимой циклоспоринчувствительной поре митохондрий. Предположительно мишенью действия бутерола являются SH-группы нуклеотидсвязывающих доменов Р-гликопротеина и компонента МТП — аденилаттрансферазы. Недавние исследования показали, что ингибиторы проницаемости мембран митохондрий (внутренней или внешней) обладают кардиопротекторным эффектом, а кардиопротекторный эффект прогестерона связан также с индукцией синтеза антиапоптотического белка Bcl-xL. Таким образом, можно предположить, что бутерол, ингибируя открытие МТП, может существенно снизить кардиотоксичность цитостатиков, связанную с инициацией апоптоза, и в то же время, ингибируя активность Р-гликопротеина, повысить их цитостатическую активность в отношении резистентных опухолевых клеток. Будущие эксперименты призваны уточнить выбор оптимальной дозы того или иного гестагена для повышения его способности увеличивать противоопухолевую активность цитостатиков при снижении выраженности их побочных эффектов.

ЛИТЕРАТУРА

1. The structure and functions of P-glycoprotein / Li Y., Yuan H., Yang K., Xu W., Tang W., Li X. // *Curr. Med. Chem.* — 2010. — Vol. 17, N 8. — P. 786—800.
2. The mechanism of action of multidrug-resistance-linked P-glycoprotein / Sauna Z. E., Smith M. M., Müller M., Kerr K. M., Ambudkar S. V. // *J. Bioenerg. Biomembr.* — 2001. — Vol. 33, N 6. — P. 481—491.
3. Inhibition of P-glycoprotein by wogonin is involved with the potentiation of etoposide-induced apoptosis in cancer cells / Lee E.,

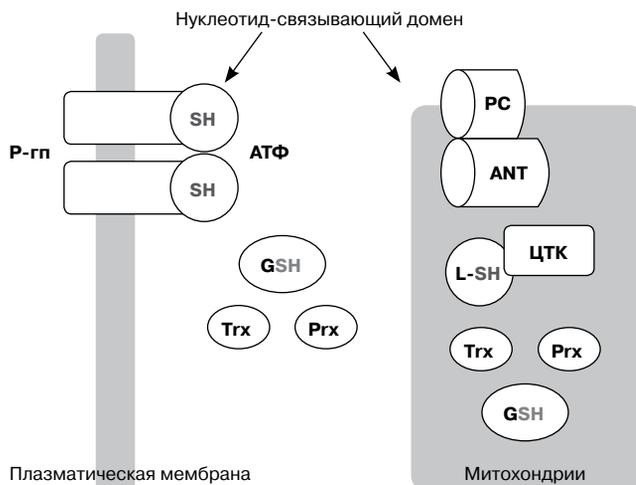


Рисунок 2. Мишени действия бутерола — SH-группы нуклеотидсвязывающего домена Р-гликопротеина и компонентов МТП. ЦТК — цикл трикарбоновых кислот; ANT — аденилаттрансфераза; GSH — глутатион; L-SH — восстановленный липоамид, кофактор пируватдегидрогеназы, альфакетоглутаратдегидрогеназы; Р-гп — Р-гликопротеин; PC — фосфатный переносчик; Prx — пероксиредоксин; Trx — тиоредоксин.

Enomoto R., Koshiha C., Hirano H. // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* — 2009. — Vol. 1171, N 1. — P. 132—136.

4. Fox E., Bates S. E. Tariquidar (XR9576): a P-glycoprotein drug efflux pump inhibitor // *Expert Rev. Anticancer Ther.* — 2007. — Vol. 7, N 4. — P. 447—459.

5. Федотчева Т. А., Одинцова Е. В., Шимановский Н. Л. Молекулярные механизмы цитостатического и химиосенсибилизирующего действия гестагенов // *Вестн. РАМН.* — 2010. — № 9. — С. 42—50.

6. Yang S., Thiel K. W., Leslie K. K. Progesterone: the ultimate endometrial tumor suppressor // *Trends Endocrinol. Metab.* — 2011. — Vol. 22, N 4. — P. 145—152.

7. Множественная лекарственная резистентность опухолевых клеток: возможности фармакологической регуляции гестагенами / Сергеев П. В., Федотчева Т. А., Семейкин А. В., Шимановский Н. Л. // *Вестн. РОНЦ.* — 2002. — № 2. — С. 37—47.

8. Down-regulation of pregnane X receptor contributes to cell growth inhibition and apoptosis by anticancer agents in endometrial cancer cells / Masuyama H., Nakatsukasa H., Takamoto N., Hiramatsu Y. // *Mol. Pharmacol.* — 2007. — Vol. 72, N 4. — P. 1045—1053.

9. A phase II trial of mitomycin C, 5'-deoxy-5-fluorouridine, etoposide and medroxyprogesterone acetate (McVD-MPA) as a salvage chemotherapy to anthracycline-resistant tumor in relapsed breast cancer and its mechanism(s) of antitumor action / Kim R., Osaki A., Tanabe K., Kojima J., Toge T. // *Oncol. Rep.* — 2001. — Vol. 8, N 3. — P. 597—603.

10. Dexamethasone down-regulates ABCG2 expression levels in breast cancer cells / Honorat M., Mesnier A., Di Pietro A., Lin V., Cohen P., Dumontet C., Payen L. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* — 2008. — Vol. 375, N 3. — P. 308—314.

11. Chaudhry P., Asselin E. Resistance to chemotherapy and hormone therapy in endometrial cancer // *Endocr. Relat. Cancer.* — 2009. — Vol. 16, N 2. — P. 363—380.

12. Сочетанное действие гестагенов и доксорубина на клетки культур опухолевых линий HeLa и MCF-7 / Атрошкин К. А., Шимановский Н. Л., Семейкин А. В., Ржезников В. М., Секирина М. А., Кирсанова Е. А., Федотчева Т. А. // *Вестн. РГМУ.* — 2009. — № 1. — С. 20—24.

13. Halestrap A. P. What is the mitochondrial permeability transition pore? // *J. Mol. Cell Cardiol.* — 2009. — Vol. 46, N 6. — P. 821—831.

14. Скулачев В. П. Явления запрограммированной смерти. Митохондрии, клетки и органы: роль активных форм кислорода // *Сороковский образовательный журн.* — 2001. — Т. 7, № 6. — С. 4—10.

15. Effects of permeability transition inhibition and decrease in cytochrome c content on doxorubicin toxicity in K562 cells / De Oliveira F., Chauvin C., Ronot X., Mousseau M., Leverre X., Fontaine E. // *Oncogene*. — 2006. — Vol. 25, N 18. — P. 2646—2655.

16. Scheller K., Sekeris C. E. The effects of steroid hormones on the transcription of genes encoding enzymes of oxidative phosphorylation // *Exp. Physiol.* — 2003. — Vol. 88, N 1. — P. 129—140.

17. Estradiol stimulates transcription of nuclear respiratory factor-1 and increases mitochondrial biogenesis / Mattingly K. A., Ivanova M. M., Riggs K. A., Wickramasinghe N. S., Barch M. J., Klinge C. M. // *Mol. Endocrinol.* — 2008. — Vol. 22, N 3. — P. 609—622.

18. 17beta-estradiol signaling in skeletal muscle cells and its relationship to apoptosis / Boland R., Vasconsuelo A., Milanesi L., Ronda A. C., de Boland A. R. // *Steroids*. — 2008. — Vol. 73, N 9—10. — P. 859—863.

19. Androgen and its receptor promote Bax-mediated apoptosis / Lin Y., Kokontis J., Tang F., Godfrey B., Liao S., Lin A., Chen Y., Xiang J. // *Mol. Cell Biol.* — 2006. — Vol. 26, N 5. — P. 1908—1916.

20. Dehydroepiandrosterone inhibits complex I of the mitochondrial respiratory chain and is neurotoxic in vitro and in vivo at high concentrations / Safiulina D., Peet N., Seppet E., Zharkovsky A., Kaasik A. // *Toxicol. Sci.* — 2006. — Vol. 93, N 2. — P. 348—356.

21. Tamoxifen and estradiol interact with the flavin mononucleotide site of complex I leading to mitochondrial failure / Moreira P. I., Custódio J., Moreno A., Oliveira C. R., Santos M. S. // *J. Biol. Chem.* — 2006. — Vol. 281, N 15. — P. 10 143—10 152.

22. Testosterone induces cytoprotection by activating ATP-sensitive K⁺ channels in the cardiac mitochondrial inner membrane / Er F., Michels G., Gassanov N., Rivero F., Hoppe U. C. // *Circulation*. — 2004. — Vol. 110, N 19. — P. 3100—3107.

23. Regulation of the energy coupling in mitochondria by some steroid and thyroid hormones / Starkov A. A., Simonyan R. A., Dedukho-

va V. I., Mansurova S. E., Palamarchuk L. A., Skulachev V. P. // *Biochim. Biophys. Acta*. — 1997. — Vol. 1318, N 1—2. — P. 173—183.

24. Dehydroepiandrosterone as an inducer of mitochondrial permeability transition / Correa F., Garcia N., Garcia G., Chavez E.J. // *Steroid Biochem. Mol. Biol.* — 2003. — Vol. 87. — P. 279—284.

25. Kuo M. T. Redox regulation of multidrug resistance in cancer chemotherapy: molecular mechanisms and therapeutic opportunities // *Antioxid. Redox Signal.* — 2009. — Vol. 11, N 1. — P. 99—133.

26. Effect of progesterone and its synthetic analogues on the activity of mitochondrial permeability transition pore / Fedotcheva N. I., Teplova V. V., Fedotcheva T. A., Rzhazhnikov V. M., Shimanovskii N. L. // *Biochem. Pharmacol.* — 2009. — Vol. 78, N 8. — P. 1060—1069.

27. Tsujimoto Y., Nakagawa T., Shimizu S. Mitochondrial membrane permeability transition and cell death // *Biochim. Biophys. Acta*. — 2006. — Vol. 1757, N 9—10. — P. 1297—1300.

28. Inhibition of mitochondrial membrane permeability as a putative pharmacological target for cardioprotection / Morin D., Assaly R., Paradis S., Berdeaux A. // *Curr. Med. Chem.* — 2009. — Vol. 16, N 33. — P. 4382—4398.

29. Stabilization of mitochondrial membrane potential prevents doxorubicin-induced cardiotoxicity in isolated rat heart / Montaigne D., Marechal X., Baccouch R., Modine T., Preau S., Zannis K., Marchetti P., Lancel S., Neviere R. // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* — 2010. — Vol. 244, N 3. — P. 300—307.

30. Inhibition of apoptosis by progesterone in cardiomyocytes / Morrissy S., Xu B., Aguilar D., Zhang J., Chen Q. M. // *Aging. Cell*. — 2010. — Vol. 9, N 5. — P. 799—809.

Поступила 05.09.2011

*Tatiana Alexandrovna Fedotcheva¹, Elena Valerievna Odintsova²,
Viktor Vasilievich Banin³, Nikolay Lvovich Shimanovskiy⁴*

PHARMACOLOGICAL SIGNIFICANCE OF GESTAGEN REGULATION OF MULTIDRUG RESISTANCE SYSTEM AND MITOCHONDRIAL PORE

¹ MD, PhD, Senior Researcher, Molecular Pharmacology Research Laboratory, RSMU, RF Health Ministry (1, Ostrovityanova ul., Moscow, 117997, RF)

² Postgraduate Student, Chair of Molecular Pharmacology and Radiobiology, RSMU, RF Health Ministry (1, Ostrovityanova ul., Moscow, 117997, RF)

³ MD, PhD, DSc, Deputy Head, VILAR Medical Biotechnology Research Center (2, Krasina ul., Moscow, 123056, RF)

⁴ MD, PhD, DSc, Head, Chair of Molecular Pharmacology and Radiobiology, RSMU, RF Health Ministry (1, Ostrovityanova ul., Moscow, 117997, RF)

Address for correspondence: Fedotcheva Tatiana Alexandrovna, Molecular Pharmacology Research Laboratory, RSMU, RF Health Ministry, 1, Ostrovityanova ul., Moscow, 117997, RF; e-mail: tfedotcheva@mail.ru

This is an overview of data concerning regulatory mechanisms of two cell transport systems, i. e. Ca²⁺-dependent cyclosporine-sensitive mitochondrial pore and cell membrane ABC-transporters. Both systems are of basic importance for normal cell homeostasis regulation and induction of cell death. Mitochondrial pore opening is a key stage of apoptosis. ABC-transporters protect cells from cytotoxic and xenobiotic effects that underlie development of multidrug resistance. Basing on our study of the effects of progesterone and its synthetic analogs (gestagens) used as anticancer therapies on mitochondrial pore activity and multidrug resistance we propose that common regulatory mechanisms may exist for these two cell transport systems.

Key words: mitochondrial pore, multidrug resistance, gestagens.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Наталья Владимировна Каверина¹, Илья Валентинович Уласов²,
Ирина Алексеевна Фаворская³, Ирина Борисовна Зборовская⁴,
Анатолий Юрьевич Барышников⁵, Заира Григорьевна Кадагигзе⁶

ВЛИЯНИЕ МЕТИЛИРОВАНИЯ ПРОМОТОРА *KISS1* НА ПОДАВЛЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА В КЛЕТКАХ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И ЕГО МЕТАСТАЗОВ В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ

¹ Аспирант, лаборатория клинической иммунологии опухолей

РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

² К. б. н., ведущий научный сотрудник, центр опухолей головного мозга,

Университет Чикаго (5841 Мариленг Авеню, Чикаго, Иллинойс, 60637, США)

³ Научный сотрудник, лаборатория регуляции онкогенов НИИ канцерогенеза
РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

⁴ К. б. н., заведующая, лаборатория регуляции онкогенов НИИ канцерогенеза

РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

⁵ Профессор, г. м. н., директор, НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей

РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

⁶ Профессор, г. м. н., заведующая, лаборатория клинической иммунологии опухолей

РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

Адрес для переписки: 115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, д. 24,
НИИ клинической онкологии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, лаборатория клинической
иммунологии опухолей, Каверина Наталья Владимировна; e-mail: kaverinan@yahoo.com

Проведено исследование экспрессии и метилирования гена — супрессора опухолевого роста *KISS1* в клетках рака молочной железы и его метастазов в головном мозге. Иммуногистохимический анализ экспрессии гена *KISS1* проведен на 44 образцах первичного инвазивного протокового рака молочной железы и 44 образцах его метастазов в головном мозге. Обнаружено, что экспрессия белка *KISS1* в клетках метастазов рака молочной железы в головном мозге значительно ниже, чем в клетках первичного рака молочной железы ($p = 0,002$). Для выявления взаимосвязи между экспрессией белка и уровнем мРНК проведен сравнительный анализ содержания мРНК гена-мишени методом количественной полимеразной цепной реакции. Выявлено, что уровень экспрессии мРНК гена *KISS1* в клетках метастазов в головном мозге в 11 раз ниже, чем в клетках первичного рака молочной железы ($p = 0,038$). С помощью метилчувствительной полимеразной цепной реакции выявлена высокая частота метилирования гена *KISS1* в клетках метастазов рака молочной железы в головном мозге (90,9%) и первичного рака молочной железы (41%). В качестве контроля изучены 5 образцов морфологически нормальной ткани молочной железы, в которых метилирование не выявлено. Полученные результаты подтверждают, что метилирование промотора *KISS1* может быть одной из причин снижения экспрессии мРНК и белка *KISS1* в клетках метастазов рака молочной железы в головном мозге.

Ключевые слова: рак молочной железы, инвазивный протоковый рак молочной железы, церебральные метастазы рака молочной железы, *KISS1*, ген — супрессор опухолевого роста и метастазирования, метилчувствительная полимеразная цепная реакция.

Рак молочной железы (РМЖ) занимает лидирующие позиции по заболеваемости злокачественными новообразованиями у женщин. Среди данной популяции смертность, вызываемая РМЖ, достигает 25—40% от числа за-

болевших [1]. Метастатическая болезнь обуславливает повышение смертности при РМЖ. В общей группе больных с метастатическим поражением головного мозга (ГМ) РМЖ находится на 2-м месте, уступая только раку

легкого. Так, по данным литературы, частота метастазирования в ГМ при РМЖ составляет 10—20% [2]. При аутопсии метастазы в ГМ диагностируют в 30% случаев [3]. Прогноз для жизни больных с метастазами в ГМ в большинстве случаев неблагоприятен: независимо от возможных методов лечения продолжительность жизни пациентов не превышает 12—24 мес. Таким образом, необходимость поиска и внедрения в клиническую практику новых специфических маркеров ранней диагностики метастазирования при РМЖ очевидна.

В настоящее время помимо онкогенов и генов — супрессоров опухолевого роста, положительно или отрицательно регулирующих формирование первичной опухоли, выделяют новый класс генов, функцией которых является регуляция метастазирования. Изучение данного класса генов расширяет понимание механизмов опухолевой прогрессии, а также представляет практический интерес с точки зрения поиска новых мишеней для терапии онкологических заболеваний. Среди генов — супрессоров метастазирования известны *KAI*, *NM23*, а также *KISS1*. Впервые ген-супрессор *KISS1* был обнаружен в клетках метастазирующей меланомы в 1996 г. [4]. Позднее М. Е. Miele и соавт. [5] и F. Shirasaki и соавт. определили локализацию данного гена в локусе 6q16.3-q23 и выяснили, что в результате мутаций гена *KISS1* способность к метастазированию клеток меланомы увеличивается [5; 6].

Известно, что наряду с генетическими событиями, обуславливающими инактивацию клеточных генов вследствие изменения последовательности ДНК, важную роль в процессе канцерогенеза играют эпигенетические явления, не затрагивающие первичную структуру ДНК, но значительно изменяющие экспрессию генов [7]. Одним из таких эпигенетических механизмов является aberrантное гиперметилирование специфических последовательностей островков CpG, расположенных в 5-регуляторных районах многих генов, которое влечет за собой подавление экспрессии гена. Практически половина молчащих генов-супрессоров и генов репарации инактивируются в результате метилирования промоторного района. Метилирование ДНК — важнейший механизм инактивации генов — супрессоров опухолей самых различных морфологических типов [8]. Анализ наиболее часто метилируемых генов способствует созданию систем диагностических и прогностических маркеров и при РМЖ.

Основная задача нашей работы состояла в проведении сравнительного анализа активности гена *KISS1* в клетках метастазов в ГМ и первичного РМЖ, а также в исследовании статуса метилирования промотора гена в указанных выше клинических образцах.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании использованы 44 образца метастазов в ГМ, полученных от больных РМЖ, и 44 образца инвазивного протокового РМЖ. В качестве контроля в реакции метилчувствительной полимеразной цепной ре-

акции (МЧ-ПЦР) использованы 5 образцов морфологически нормальной ткани молочной железы, взятых от доноров без онкологических заболеваний в анамнезе. Все клинические образцы получены в клинике РОНЦ РАМН им. Н. Н. Блохина в результате хирургических вмешательств (см. табл. 1).

Иммуногистохимический анализ

Иммуногистохимический анализ проводили на срезах (4 мм) с предназначенных для морфологического исследования парафиновых блоков опухолей. Первичные антитела *KISS1* были любезно предоставлены разработчиком (проф. Д. Велш, Университет Алабамы, Бирменгем, США). Парафиновые срезы депарафинизировали и регидратировали по стандартной методике. Для «демаскировки» антигенов срезы прогревали на водяной бане в предварительно нагретом до 95—99 °С 0,01 М цитратном буфере (рН 6,0) в течение 40 мин. Затем стекла охлаждали при комнатной температуре в течение 20—30 мин, инкубировали в фосфатном буфере (рН 7,6) 5 мин и 20 мин в темноте с 3% водным раствором перекиси водорода для блокирования эндогенной пероксидазы. Затем срезы промывали на протяжении 5 мин в 0,01 М фосфатном буфере (рН 7,6) и инкубировали 15 мин с 5% водным рас-

Таблица 1
Характеристика клинических образцов, полученных от больных РМЖ^{а,б}

Характеристика	РМЖ	Метастазы РМЖ в ГМ	р
Возраст, годы			
Средний	50,6 ± 13,4	51 ± 10,5	0,325
Моложе 35	4 (9,1)	2 (4,54)	
35—55	16 (36,3)	26 (59)	
Старше 55	24 (54,6)	16 (36,4)	
Степень злокачественности			
1	16 (36,3)	0	<0,001
2	12 (27,4)	2 (4,5)	
3	16 (36,3)	42 (95,45)	
Отдаленные метастазы			
Нет	30 (65)	7 (16)	0,001
Есть	14 (35)	37 (84)	

^а В скобках указаны проценты.

^б Для определения различий по возрасту использован критерий Манна—Уитни, для оценки различий групп по качественным признакам — односторонний критерий Фишера.

твором обезжиренного молока (Sigma) для блокирования неспецифического связывания антител.

Инкубацию с первичным антителом KISS1 (1/200) проводили при комнатной температуре в течение 60 мин. Впоследствии стекла промывали 3 раза по 5 мин в фосфатном буфере. Инкубацию с проявочной тест-системой [DAKO Envision® + kit] проводили при комнатной температуре в течение 40 мин, затем срезы промывали 2 раза по 5 мин. Для визуализации иммуногистохимической реакции использовали систему DAB + [DAKO]. Реакцию проводили в течение 5—10 мин. Срезы докрашивали гематоксилином Майера и заключали в канадский бальзам. Интенсивность реакций, локализованных в цитоплазме, оценивали полуколичественным способом по балльной шкале от 0 до 3 с помощью анализатора изображения «Leica Q550», учитывая выраженность реакции и ее локализацию: 0 — отсутствие реакции, 1 — слабая реакция (от 5—20% окрашенных клеток), 2 — умеренная реакция (20—50% окрашенных клеток), 3 — сильная реакция (более 50% окрашенных клеток).

Выделение ДНК

ДНК выделяли из архивных парафиновых блоков с использованием набора «DNeasy Blood and Tissue Kit» по методике, рекомендованной производителем («Qiagen»). Качество выделенной ДНК контролировали путем электрофореза в 1% агарозном геле и измерения концентрации с помощью спектрофотометра «Thermo Scientific NanoDrop 1000». Полученный раствор ДНК хранили при температуре -20°C .

Метилирование гена *KISS1* определяли с помощью МЧ-ПЦР. При подготовке к бисульфитному секвенированию геномную ДНК обрабатывали бисульфитом натрия, который вызывает переход неметилированных остатков цитозина в урацил, но не изменяет метилированные цитозины. Таким образом, генерируется разница в нуклеотидной последовательности между метилированной и неметилированной ДНК.

Позитивный контроль для бисульфитной реакции был получен от компании «ZYMED» (образец с универсальной метилированной ДНК, № D5011). Бисульфитную обработку проводили при помощи набора «EZ DNA Methylation™ Kit, Zymo Research» по протоколу, оптимизированному для полученных из архивных парафиновых срезов образцов ДНК. Обработанную бисульфитом натрия ДНК амплифицировали в ПЦР объемом 25 мкл. Реакционная смесь содержала 1x HotStar Taq буфер, 2,0 единицы активности полимеразы «Hot Star Taq» («Qiagen»), 1,6 mM MgCl₂, 5 пмоль каждого праймера из соответствующей пары, 200 мкмоль каждого дезоксирибонуклеотидтрифосфата, 2 мкл обработанной бисульфитом натрия ДНК. ПЦР-циклирование состояло из активации полимеразы в течение 10 мин при температуре 95°C ; 50 циклов, включающих шаги денатурации (95°C , 15 с), отжига праймеров ($52\text{--}60^{\circ}\text{C}$, 30 с), элонгации (72°C , 30 с); а также шага завершающего синтеза при температуре 72°C в течение 5 мин. Праймеры для ПЦР были подобраны к промоторному району гена *KISS1*, соответствующие модифицированной бисульфитом матрице. Продукты ПЦР подвергали электрофорезу в 2% агарозном геле.

Выделение РНК и ПЦР, совмещенная с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР)

Тотальная РНК была выделена из 88 архивных патоморфологических образцов ткани РМЖ и его метастазов в ГМ. Архивные срезы депарафинизировали с помощью ксилола, регидратировали путем последовательной инкубации в 96, 80 и 70% этаноле и проводили дальнейшее лизирование и экстракцию РНК с использованием набора «RNeasyR Mini kit» («Qiagen»). Качество выделенной РНК контролировали с помощью анализатора («Agilent Technologies»). Для реакции обратной транскрипции использовали набор компании «iScript™ с DNA Synthesis Kit» («Bio-Rad»). Реакция проходила в объеме 20 мкл и включала 1 мкл фермента обратной транскриптазы («iScript reverse transcriptase»), 4 мкл 5-кратного раствора реакционной смеси и 15 мкл тотальной РНК.

Использовали следующий температурный режим: 42°C в течение 30 мин с последующей инактивацией фермента при температуре 85°C в течение 15 мин. Полученную кДНК хранили при температуре -20°C .

Количественная ПЦР

Экспрессию гена *KISS1* измеряли при помощи количественного ПЦР-анализа на приборе «OPTICON 2 Detection System» («Bio-Rad Laboratories», США). В качестве контрольного гена выбран ген *GAPDH*. Праймеры были подобраны с помощью программы Primer Design и проверены на специфичность. Последовательность праймеров указана в табл. 2. ПЦР (суммарный объем 10 мкл) содержала 1 мкл раствора кДНК, 300 нмоль/л праймеров и смесь ДНК-полимеразы, флуоресцентного красителя, однократного буфера ПЦР (pH 8,3) и MgCl₂ («SYBR GreenERTM Super Mix», «Invitrogen»). Реакцию начинали с 10-минутной активации ДНК-полимеразы при температуре 95°C ; затем проводили 45 циклов амплификации (денатурация: 15 с при температуре 95°C ; отжиг: 30 с при температуре 60°C ; синтез: 30 с при температуре 72°C). Уровень экспрессии оценивали путем вычисления соотношения относительных количеств копий кДНК гена-мишени и контрольного гена (*GAPDH*). Анализ результатов проводили с использованием метода ΔCt и программного обеспечения, предоставленного фирмой «Applied Biosystems».

Статистический анализ данных проводили с использованием программы «PRISM» (v. 4.0). Для оценки различий групп с нормальным распределением признака использовали критерий Стьюдента для независимых переменных, для оценки различий между группами в отсутствие нормального распределения признака — критерий Манна—Уитни, для оценки различий групп по качественным признакам — односторонний критерий Фишера, для анализа распределения изучаемых признаков — критерий согласия Колмогорова—Смирнова. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$ (95% точности).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При иммуногистохимическом исследовании образцов экспрессия белка KISS1 выявлялась в виде гомогенного окрашивания цитоплазмы опухолевых клеток. Интенсивность реакции и процент антигенположитель-

Таблица 2

Последовательности праймеров для ОТ-ПЦР и бисульфитного секвенирования

Метод	Последовательность праймеров		Ссылка
ОТ-ПЦР	Прямая	Обратная	Ikeguchi M., 2003
	ACTCACTGGTTTCTTGGCAGC	ACCTTTTCTAATGGCTCCCA	
Бисульфитное секвенирование	Метилированные		Satoshi Yamashita., 2005
	Прямая	Обратная	
	AAAGTTTCGTTTCGGAGGGTTC	CTTTTATAAAACCCGAAATAACG	
	Неметилированные		
	Прямая	Обратная	
	AAAGTTTGTTCGGAGGGTTT	CCTTTTATAAAACCCAAAATAACA	

ных клеток варьировали в различных опухолях и иногда в различных участках одной и той же опухоли (рис. 1). В клетках первичного РМЖ отсутствие экспрессии белка *KISS1* наблюдали в 3 (6,8%) случаях, слабую интенсивность реакции — в 8 (18,2%). Умеренная интенсивность окраски выявлена в 21 (47,7 %) образце, сильная — в 12 (27,3%). В клетках метастазов РМЖ в ГМ обнаружена слабая реакция в 13 (29,5%) образцах, умеренная — в 20 (45,5%), сильная — в одном (2,3%); в 10 (22,7%) образцах реакция отсутствовала.

При статистической обработке результатов показано, что экспрессия белка *KISS1* в клетках метастазов РМЖ в ГМ значительно ниже, чем в клетках первичного РМЖ ($p = 0,002$; рис. 2).

Для выявления взаимосвязи между экспрессией белка *KISS1* и уровнем мРНК мы провели сравнительный анализ содержания мРНК методом ОТ-ПЦР в клетках метастазов РМЖ в ГМ и первичного РМЖ. Результаты представлены с помощью логарифмической шкалы с основанием 10, уровень экспрессии мРНК гена *KISS1* в клетках метастазов РМЖ в ГМ в 11 раз ниже, чем в клетках первичного РМЖ ($p = 0,038$; рис. 3).

По данным литературы, анализ с помощью ОТ-ПЦР при раке легкого позволяет выявлять минимальную экспрессию гена *KISS1* либо ее полное отсутствие не только в опухолях, но и в прилегающих условно нормальных тканях. Таким образом, отмечено соответствие между экспрессией мРНК гена *KISS1* и уровнем белка в клетках первичного РМЖ и метастазов РМЖ в ГМ.

В дальнейшем исследовании с помощью МЧ-ПЦР проведен анализ метилирования островков CpG промотора гена *KISS1* в 44 образцах РМЖ, 44 образцах метастазов РМЖ в ГМ и 5 образцах нормальной ткани молочной железы (рис. 4). При этом обнаружен высокий уровень метилирования промотора гена *KISS1* в образцах РМЖ — в 18 (41%) случаях и достоверно высокий — в образцах метастазов РМЖ в ГМ — в 40 (90,9%; $p < 0,001$) (рис. 5). В нормальной ткани молочной железы не выявлено метилирования промотора гена *KISS1*.

Как показано ранее, *KISS1* является одним из основных генов — супрессоров опухолевого роста, экспрессия которого снижена в клетках злокачественной меланомы и РМЖ [9]. Отмечается, что выраженная экспрессия белка связана с менее агрессивным фенотипом первич-

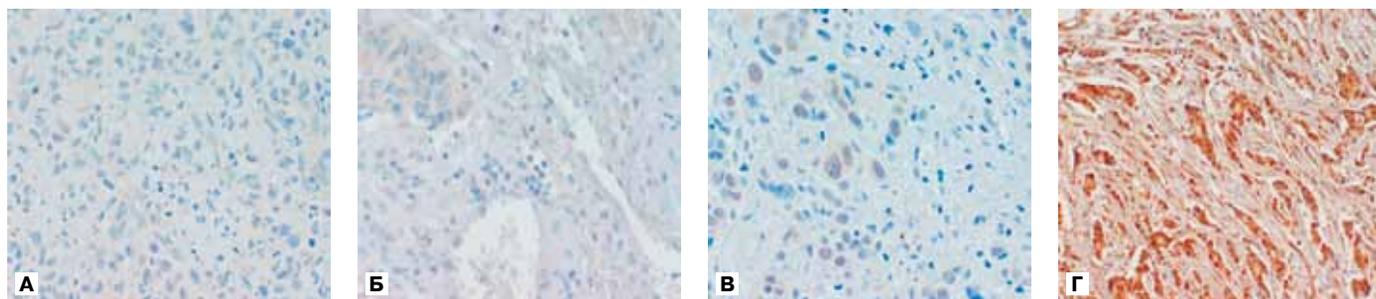


Рисунок 1. Метастазы РМЖ в ГМ. Иммуногистохимическая реакция с антителами к белку *KISS1* (×40).

А. Отсутствие экспрессии *KISS1*. **Б.** Слабая экспрессия *KISS1*. **В.** Умеренная экспрессия *KISS1*. **Г.** Положительный контроль (инвазивный протоковый РМЖ).

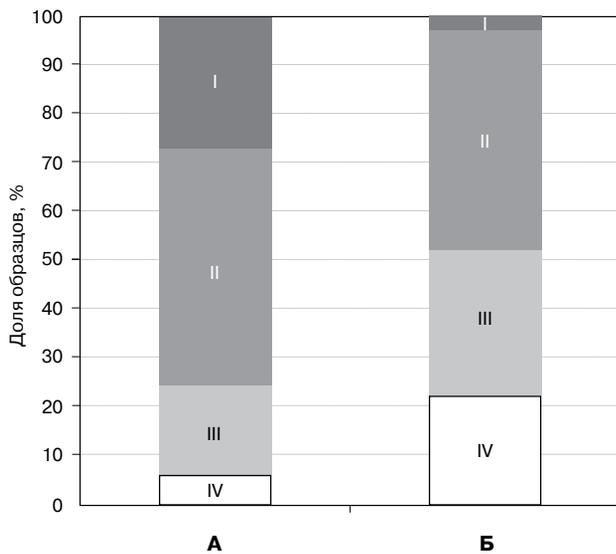


Рисунок 2. Экспрессия гена *KISS1* в клетках метастазов РМЖ в ГМ и первичного РМЖ ($p = 0,002$, односторонний критерий Фишера). I — сильная реакция (более 50% окрашенных клеток); II — умеренная реакция (20—50% окрашенных клеток); III — слабая реакция (5—20% окрашенных клеток); IV — отсутствие реакции.

А. РМЖ. **Б.** Метастазы РМЖ в ГМ.

ной опухоли [10]. При исследовании уровня экспрессии мРНК гена *KISS1* в тканях рака мочевого пузыря, рака щитовидной железы, рака молочной железы и гепатоцеллюлярной карциномы выявлена обратно пропорциональная зависимость между экспрессией гена *KISS1* и метастатической прогрессией [11]. Результаты настоящего исследования согласуются с этими данными. Однако причины снижения экспрессии гена *KISS1* еще во многом неясны. В последнее десятилетие установлено, что в многостадийном процессе образования опухолей нарушение функции клеточных генов возможно в результате не только генетических событий (точечные мутации, делеции, амплификация), но и эпигенетических изменений [12]. Доказано, что потеря экспрессии генов — супрессоров опухолевого роста в результате аномального гиперметилирования островков CpG, расположенных в промоторных областях, является одним из самых ранних событий, происходящих в злокачественной клетке. Это позволяет использовать аномальное метилирование данных генов в качестве раннего маркера злокачественного процесса [13].

Число генов, для которых обнаружен эпигенетический механизм инактивации экспрессии в опухолях, постоянно растет, что свидетельствует о широком распространении этого механизма в процессе канцерогенеза [14]. В ряде исследований изучено метилирование генов — супрессоров опухолевого роста при метастазирующем раке молочной железы [15]. В. J. Metge и соавт. показали, что промотор гена-супрессора BRMS1 гиперметилирован в клетках метастазов рака молочной железы в регионарных лимфатических узлах [16]. В немногочисленных исследованиях изучено метилирование некоторых генов-супрессоров в клетках метастазов

РМЖ в ГМ [17]. Показано, что при РМЖ частота метилирования гена *DAPK* также коррелирует с метастазированием опухолевых клеток в ГМ [18].

Таким образом, полученные результаты подтверждают, что метилирование промотора гена *KISS1* может быть одной из причин снижения экспрессии как мРНК, так и белка гена в клетках церебральных метастазов РМЖ. Идентификация генов с высокой частотой метилирования может быть использована для ранней диагностики злокачественного процесса и определения прогноза развития и поведения опухоли. Поскольку многочисленные метилированные гены (в частности, *p16*) обнаруживаются в мокроте курящих и в сыворотке крови задолго до постановки клинического диагноза, молекулярно-генетическое определение aberrантного метилирования промоторов генов применяется в ряде передовых клиник мира для ранней диагностики рака легкого [19]. Разработан ряд технологий для массового скрининга профиля метилирования в целях как ранней диагностики, так и мониторинга опухолевого процесса [15].

Предпринята попытка оценить конкордантные взаимодействия в метилировании 20 различных генов и дать общий эпигеномный анализ для разных стадий развития аденокарциномы пищевода. При исследовании 104 образцов метаплазированных и дисплазированных тканей кишечника при болезни Баррета, большая часть из которых впоследствии малигнизируется, обнаружен разный уровень метилирования генов. Несмотря на отсутствие морфологических отличий, образцы нормальной слизистой оболочки и метапластических участков при дисплазии и раке демонстрируют значительно более высокий общий уровень метилирования, чем в отсутствие прогрессирования основного заболевания. В таких образцах нормальной слизистой оболочки пищевода и желудка наиболее часто выявлялось метилирование гена *APC*, а также генов *CALCA*, *MGMT* и *TIMP3*. Aberrантное ме-

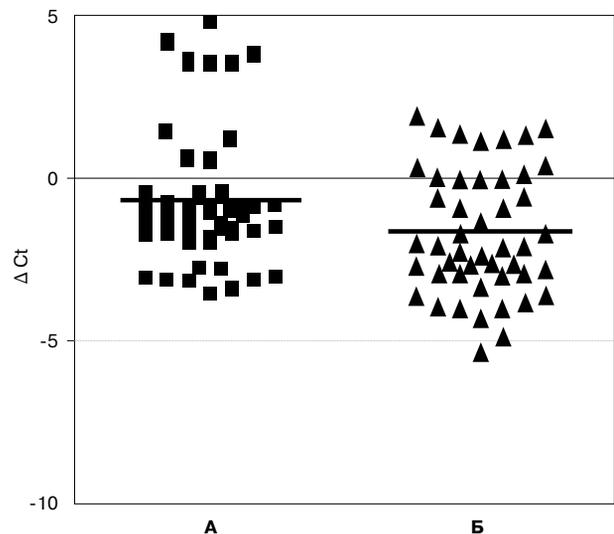


Рисунок 3. Экспрессия мРНК гена *KISS1* в клетках метастазов РМЖ в ГМ и первичного РМЖ ($p = 0,038$, критерий Стьюдента).

А. РМЖ. **Б.** Метастазы РМЖ в ГМ.

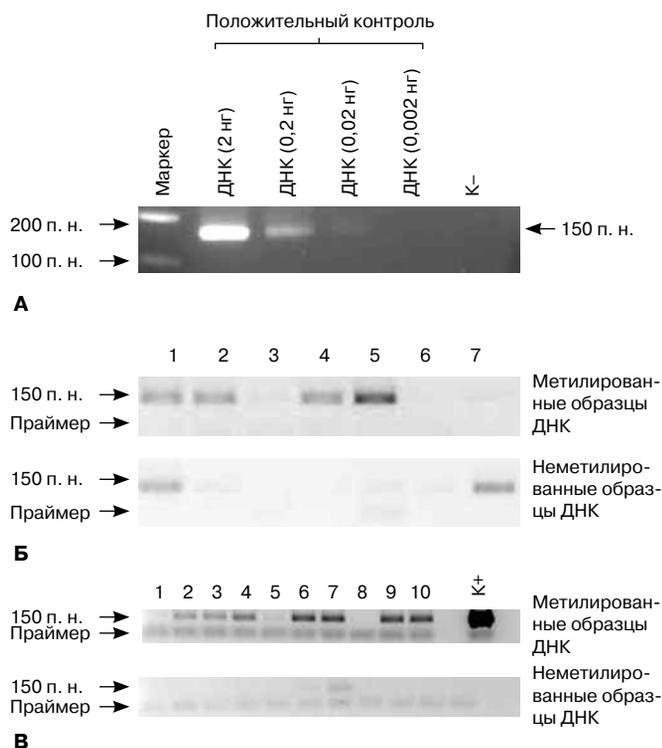


Рисунок 4. Анализ метилирования промоторной области гена *KISS1* в клетках метастазов РМЖ в ГМ. К+ — положительный контроль; К- — отрицательный контроль
А. Определение чувствительности МЧ-ПЦР на контрольных образцах (образец с универсальной метилированной ДНК, «ZYMED», №D5011); Маркер — маркер молекулярной массы.
Б. Оценка метилирования гена *KISS1* в тканях РМЖ (7 образцов, №1—7). **В.** Оценка метилирования гена *KISS1* в метастазах РМЖ в ГМ (10 образцов, №1—10).

тирование наблюдалось в самых различных участках одних и тех же тканей, что свидетельствует об общем нарушении контроля метилирования при онкогенезе в пищеводе. Авторы не обнаружили доказательств существования групп опухолей с определенным фенотипом метилирования островков CpG [20].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные в настоящем исследовании данные свидетельствуют о достоверном снижении уровня экспрессии белка и мРНК гена-супрессора *KISS1* в клетках метастазов РМЖ в ГМ по сравнению с таковым в первичном РМЖ.

При анализе статуса метилирования гена *KISS1* наиболее высокая частота aberrантного метилирования промоторного региона обнаружена в клетках метастазов РМЖ в ГМ (90,9%), при этом достаточно высокий уровень метилирования отмечен в первичном РМЖ (41%).

ЛИТЕРАТУРА

1. Аксель Е. М. Статистика злокачественных образований женских половых органов // Опухоли женск. репрод. сист. — 2009. — № 1—2. — С. 79—82.
2. Cheng X., Hung M. C. Breast cancer brain metastases. // Cancer

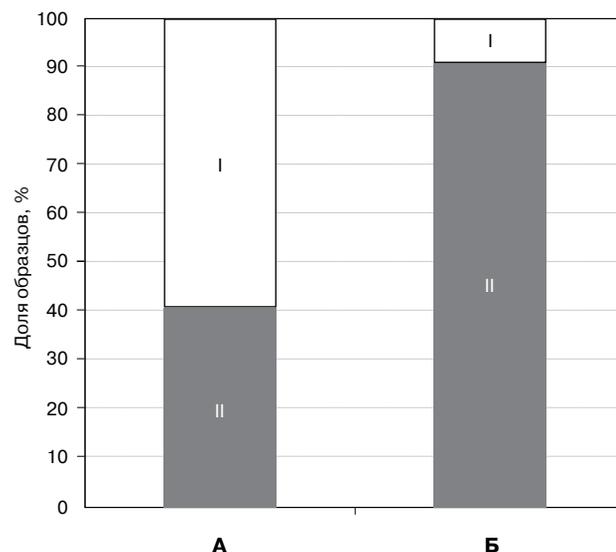


Рисунок 5. Сравнение частоты метилирования гена — супрессора опухолевого роста *KISS1* в клетках метастазов РМЖ в ГМ и первичного РМЖ ($p < 0,001$, критерий согласия Колмагорова—Смирнова). I — положительные по метилированию образцы ДНК; II — отрицательные по метилированию образцы ДНК.
А. РМЖ. **Б.** Метастазы РМЖ в ГМ.

Metastasis Rev. — 2007. — Vol. 3—4. — P. 635—643.

3. Gonzales-Angulo A. M., Hortobagyi G. N. Brain metastases and breast cancer subtypes // Onkologie. — 2010. — Vol. 33. — P. 143—144.
4. KISS-1, a novel human malignant melanoma metastasis-suppressor gene / Lee J. H., Miele M. E., Hicks D. J., Phillips K. K., Trent J. M., Weissman B. E., Welch D. R. // J. Natl. Cancer. Inst. — 1996. — Vol. 88. — P. 1731—1737.
5. A human melanoma metastasis suppressor locus maps to 6q16.3-q23 / Miele M. E., Jewett M. D., Goldberg S. F., Hyatt D. L., Morelli C., Gualandi F., Rimessi P., Hicks D. J., Weissman B. E., Barbanti-Brodano G., Welch D. R. // Int. J. Cancer. — 2000. — Vol. 86. — P. 524—528.
6. Loss of expression of metastasis suppressor gene *KISS1* during melanoma progression and its association with LOH of chromosome 6q16.3-q23 / Shirasaki F., Takata M., Hatta N., Takehara K. // Cancer Res. — 2001. — Vol. 61. — P. 7422—7425.
7. Karpf A. R., Jones D. A. Reactivating the expression of methylation silenced genes in human cancer // Oncogene. — 2002. — Vol. 21. — P. 5496—5503.
8. Guarneri V., Conte P. F. The curability of breast cancer and the treatment of advanced disease // Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging. — 2004. — Vol. 31. — Suppl. 1. — P. 149—160.
9. Lee J. H., Welch D. R. Suppression of metastasis in human breast carcinoma MDA-MB-435 cells after transfection with metastasis suppressor gene, *KISS-1* // Cancer Res. — 1997. — Vol. 57. — P. 2384—2387.
10. Новые маркеры метилирования и экспрессии генов при раке молочной железы / Кузнецова Е. В., Кекеева Т. В., Ларин С. С., Землякова В. В., Бабенко О. В., Немцова М. В., Залетаев Д. В., Стрельников В. В. // Мол. биол. — 2007. — Т. 41. — № 4. — С. 624—633.
11. Requirement of *KISS1* secretion for multiple organ metastasis suppression and maintenance of tumor dormancy / Nash K. T., Phadke P. A., Navenot J. M., Hurst D. R., Accavitti-Loper M. A., Sztul E., Vaidya K. S., Frost A. R., Kappes J. C., Peiper S. C., Welch D. R. // J. Natl. Cancer Inst. — 2007. — Vol. 99. — P. 309—321.
12. Сравнительный анализ аномального метилирования CpG-островков, расположенных в промоторных областях генов *p16/CDKN2A* и *p14/ARF* при немелкоклеточном раке легкого и остром лимфобластном лейкозе / Землякова В. В., Стрельников В. В., Зборовская И. Б., Балукова О. В., Майорова О. А., Васильев Е. В., Залетаев Д. В., Немцова М. В. // Мол. биол. — 2004. — Т. 38, № 6. — С. 966—972.

13. Aberrant methylation of gene promoter in cancer-concepts, mis-concepts and promise / Baylin S. B., Belinsky S. A., Herman J. G. // *J. Natl. Cancer. Inst.* — 2000. — Vol. 92. — P. 1460.

14. Диагностика эпигенетической патологии при наследственных и онкологических заболеваниях / Залетаев Д. В., Немцова М. В., Стрельников В. В., Бабенко О. В., Васильев Е. В., Землякова В. В., Жевлова А. И., Дрозд О. В. // *Мол. биол.* — 2004. — Т. 38, № 2. — С. 213—223.

15. Methylation and gene silencing of the Ras-related GTPase gene in lung and breast cancers / Suzuki M., Shigematsu H., Shames D. C., Sunaga N., Takahashi T., Shivapurkar N., Iizasa T., Minna J. D., Fujisawa T., Gazdar A. F. // *Ann. Surg. Oncol.* — 2007. — Vol. 4. — P. 1397—1404.

16. Epigenetic silencing contributes to the loss of BRMS1 expression in breast cancer / Metge B. J., Frost A. R., King J. A., Dyess D. L., Welch D. R., Samant R. S., Shevde L. A. // *Clin. Exp. Metastasis.* — 2008. — Vol. 25. — P. 753—763.

17. Reduced metastasis-suppressor gene mRNA-expression in breast cancer brain metastases / Stark A. M., Tongers K., Maass N., Meh-

dorn H. M., Held-Feindt J. // *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* — 2005. — Vol. 131. — P. 191—198.

18. Promoter methylation status of multiple genes in brain metastasis of solid tumors / Gonzalez-Gomez P., Bello M. J., Alonso M. E., Aminoso C., Lopez-Marin I., De Campos J. M., Isla A., Gutierrez M., Rey J. A. // *Int. J. Mol. Med.* — 2004. — Vol. 13. — P. 93—98.

19. Enhancing effect of connexin 32 gene on vinorelbine-induced cytotoxicity in A549 lung adenocarcinoma cells / Sato H., Fukumoto K., Hada S., Hagiwara H., Hagiwara H., Fujimoto E., Negishi E., Ueno K., Yano T. // *Cancer Chemother. Pharmacol.* — 2007. — Vol. 60. — P. 449—457.

20. Epigenetic patterns in the progression of esophageal adenocarcinoma / Eads C. A., Lord R. V., Wickramasinghe K., Long T. I., Kurumboor S. K., Bernstein L., Peters J. H., DeMeester S. R., DeMeester T. R., Skinner K. A., Laird P. W. // *Cancer Res.* — 2001. — Vol. 61. — P. 3410—3418.

Поступила 11.12.2011

*Natalia Vladimirovna Kaverina*¹, *Ilya Valentinovich Ulasov*²,
*Irina Alexeyevna Favorskaya*³, *Irina Borisovna Zborovskaya*⁴,
*Anatoliy Yurievich Baryshnikov*⁵, *Zaira Grigoryevna Kadagidze*⁶

THE EFFECT OF KISS1 PROMOTOR METHYLATION ON DOWNREGULATION OF GENE EXPRESSION IN CELLS OF BREAST CANCER AND CEREBRAL METASTASES FROM BREAST CANCER

¹ *Postgraduate Student, Tumor Clinical Immunology Laboratory, N. N. Blokhin RCRC RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, RF)*

² *MSc, PhD, Group Leader, Brain Tumor Center, The University of Chicago (5841 Maryland Avenue, Chicago, IL 60673, USA)*

³ *Researcher, Oncogene Regulation Laboratory, Carcinogenesis Research Institute, N. N. Blokhin RCRC RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, RF)*

⁴ *MSc, PhD, Head, Oncogene Regulation Laboratory, Carcinogenesis Research Institute, N. N. Blokhin RCRC RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, RF)*

⁵ *MD, PhD, DSc, Professor, Director, Tumor Experimental Diagnosis and Therapy Research Institute, N. N. Blokhin RCRC RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, RF)*

⁶ *MD, PhD, DSc, Professor, Head, Tumor Clinical Immunology Laboratory, N. N. Blokhin RCRC RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, RF)*

Address for correspondence: Kaverina Natalia Vladimirovna, Tumor Clinical Immunology Laboratory, N. N. Blokhin RCRC RAMS, 24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, RF; e-mail: kaverinan@yahoo.com

In this study we determined the expression and methylation of KISS1 metastasis suppressor gene in breast cancer and cerebral metastases. To investigate whether KISS1 suppressor is associated with breast cancer progression, we applied immunohistochemistry and evaluated the expression of target protein in primary invasive ductal carcinoma and brain lesions. Tumor tissues were collected from a total of 88 cases with histologically confirmed breast cancer. We detected that expression of KISS1 marker was higher in primary breast cancer tissue compared to the metastases ($p < 0.002$). To verify correlation between mRNA and protein expression the total RNA was isolated from primary cases and analyzed via quantitative PCR. The quantitative analysis of tumor samples revealed that KISS1 mRNA was significantly upregulated in breast cancer cases, which correlated with IHC data. Then, the methylation-specific PCR analysis showed strong methylation of KISS1 promoter region in metastatic cases (90.9%) which was significantly associated with a loss of KISS1 mRNA expression. These observations suggest that the downregulation of KISS1 expression in brain metastatic lesions is associated with KISS1 promoter methylation. Our data indicate that promoter-methylated loss of KISS1 suppressor may contribute to breast cancer progression and invasion.

Key words: breast cancer, invasive ductal carcinoma (IDC), cerebral metastases from breast cancer, metastasis-suppressor gene KISS1, methyl-sensitive polymerase chain reaction (MS-PCR).

Вадим Сергеевич Покровский¹, Наталья Юрьевна Анисимова²,
Марина Владимировна Покровская³,
Светлана Серебеджановна Александрова⁴, Николай Николаевич Соколов⁵,
Елена Михайловна Трещалина⁶

АНТИПРОЛИФЕРАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ РЕКОМБИНАНТНОЙ L-АСПАРАГИНАЗЫ RHODOSPIRILLUM RUBRUM

¹ К. м. н., младший научный сотрудник, лаборатория комбинированной терапии опухолей
НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей

РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

² К. б. н., старший научный сотрудник, лаборатория клеточного иммунитета

НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей

РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

³ К. б. н., старший научный сотрудник, лаборатория медицинской биотехнологии

НИИ биомедицинской химии им. В. Н. Ореховича РАМН (119121, РФ, г. Москва, ул. Погодинская, г. 10)

⁴ К. б. н., старший научный сотрудник, лаборатория медицинской биотехнологии

НИИ биомедицинской химии им. В. Н. Ореховича РАМН (119121, РФ, г. Москва, ул. Погодинская, г. 10)

⁵ Профессор, г. б. н., заведующий, лаборатория медицинской биотехнологии

НИИ биомедицинской химии им. В. Н. Ореховича РАМН (119121, РФ, г. Москва, ул. Погодинская, г. 10)

⁶ Профессор, г. м. н., заведующая, лаборатория комбинированной терапии опухолей

НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей

РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

Адрес для переписки: 115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, д. 24,
НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН,
лаборатория комбинированной терапии опухолей,
Покровский Вадим Сергеевич, e-mail: vadimpokrovsky@yandex.ru

Представлены результаты сравнительного изучения антипролиферативной активности L-аспарагиназы *Rhodospirillum rubrum* (RrA) на культурах клеток опухолей человека: хронического миелолейкоза K562, рака предстательной железы DU 145, рака молочной железы MDA-MB-231 и MCF7, а также на модели лимфаденоза Фишера L5178у мышей. Значимый цитотоксический эффект RrA выявлен на клеточных линиях K562 ($IC_{50} = 1,80$ МЕ/мл), DU145 ($IC_{50} = 9,19$ МЕ/мл) и MDA-MB-231 ($IC_{50} = 34,62$ МЕ/мл). По сравнению с L-аспарагиназой *Escherichia coli* II типа (EcA) и *Erwinia carotovora* (EwA) цитотоксичность на этих клеточных линиях убывает в ряду EcA>RrA>EwA. На мышах с L5178у при 10-кратном внутривентральном введении RrA в разовых дозах 4000 и 8000 МЕ/кг обладает высокой антипролиферативной активностью, близкой к таковой EcA и превышающей эффект EwA.

Ключевые слова: L-аспарагиназа *Rhodospirillum rubrum*, антипролиферативная активность, лимфаденоз Фишера.

На протяжении последних 30 лет L-аспарагиназы (КФ 3.5.1.1.) из *Escherichia coli* (EcA) и *Erwinia chrysanthemii* (ErA) включают в схемы стандартной индукционной терапии острого лимфобластного лейкоза [1]. EcA также используют при лечении экстранодальной НК/Т-клеточной лимфомы [2; 3]. Вопросы получения рекомбинантных штаммов-продуцентов, оптимизации экспрессии и очистки, а также физико-химические, каталитические и антипролиферативные свойства L-аспарагиназ различ-

ного происхождения проанализированы и обобщены в ряде обзорных работ [4—6].

Традиционно считалось, что противоопухолевый эффект оказывают только бактериальные L-аспарагиназы II типа, характеризующиеся периплазматической локализацией, высоким сродством к L-аспарагину ($K_m = 10^{-5}$ М), высокой сопутствующей L-глутаминазной активностью и рядом особенностей первичной структуры [7; 8]. Практически все изученные в эксперименте или в клинике L-аспарагиназы с доказанным антипролиферативным эффектом относятся к L-аспарагиназам II типа. Основным фактором, ограничивающим клиническое применение этих препаратов, является широкий

спектр побочных эффектов, обусловленный низкой субстратной специфичностью и иммуногенностью [9].

Бактериальные L-аспарагиназы I типа представляют собой локализованные в цитоплазме конститутивно экспрессирующиеся ферменты с высоким K_m (10^{-3} М) в отношении L-аспарагина. В отличие от аспарагиназ II типа, они имеют, как правило, более короткую аминокислотную цепочку и более высокую субстратную специфичность, определяющие относительно мягкое побочное действие [8; 10]. Отсутствие противоопухолевого эффекта у некоторых ферментов I типа, например из *Pseudomonas geniculata* и L-глутаминазы-L-аспарагиназы *Pseudomonas acidovorans* на модели лимфомы Гарднера 6СЗНED, стало причиной временного снижения интереса к ним [11; 12]. Однако лимитирующее побочное действие ферментов II типа послужило новым толчком к поиску активных антипролиферативных аспарагиназ I типа.

Нами выделена L-аспарагиназа I типа из *Rhodospirillum rubrum* (RrA), имеющая в 2 раза более короткую аминокислотную последовательность (172 аминокислотных остатка) и низкую гомологию по сравнению с таковыми у EсA и EгA. Получен рекомбинантный штамм-продуцент, охарактеризованы его свойства и крайне низкая L-глутаминазная активность [13]. Оценка антипролиферативной активности нового фермента стала целью настоящего исследования.

Цель работы — сравнительное изучение антипролиферативного эффекта новой рекомбинантной L-аспарагиназы *Rhodospirillum rubrum* *in vitro* и *in vivo*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Ферменты

Для получения RrA использован охарактеризованный ранее рекомбинантный штамм-продуцент *E. coli*/BL-21 (DE3), который культивировали на среде LB при pH $7,2 \pm 0,1$ в колбах емкостью 1 л, содержащих 250 мл среды на качалке со скоростью перемешивания 180 об/мин при температуре 37 °С [13]. Индуктор (лактозу) добавляли в среду с оптической плотностью 0,9—1,9 при 600 нм до конечной концентрации 0,2%, наработку биомассы продолжали в течение 17—20 ч.

После окончания инкубации клетки собирали центрифугированием (15 мин, 2500 g). Биомассу ресуспендировали в буфере А (10 мМ NaH_2PO_4 , 1 мМ глицина, 1 мМ ЭДТА, pH 7,5) и подвергали ультразвуковой обработке (дезинтегратор УЗДН-2Т, Россия) в течение 10 мин (1 мин озвучивания, 1 мин перерыв). Клеточный экстракт получали центрифугированием озвученной суспензии (60 мин, 35 000 g) и наносили на колонку с Q-Sepharose (2 × 30 см), уравновешенную буфером А. Фракции, содержащие RrA, разбавляли в 10 раз буфером А, объединяли и наносили на колонку с DEAE-Toyopearl 650m (1,5 × 20 см), уравновешенную буфером А. В обоих случаях белок элюировали линейным градиентом концентрации NaCl (0—1 М). Скорость элюции составляла 78 и 30 мл/ч соответственно. На заключительном этапе выделения раствор фермента обесоливали и концентрировали в ячейке «Amicon», содержащей фильтр «Millipore» (NMWL 18 000). Все стадии очистки проводили при температуре +4 °С.

В качестве контрольных препаратов использовали коммерческий лиофилизированный препарат EсA

(«Medak», Германия), а также аналогичную EгA рекомбинантную L-аспарагиназу *Erwinia carotovora* (EwA), выделенную и охарактеризованную в предыдущих работах [14].

Концентрацию белка определяли модифицированным методом Лоури [15], ферментативную активность — методом прямой несселеризации [16]. За единицу активности L-аспарагиназы (1 МЕ) принимали количество фермента, которое высвобождает 1 мкмоль аммиака за 1 мин при температуре 37 °С.

Культуры клеток

Активность RrA тестировали по сравнению с EсA и EwA на линии клеток хронического миелолейкоза человека K562 (коллекция опухолевых штаммов РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН), линии клеток рака предстательной железы человека линии DU 145 (АТСС, США) и двух линиях клеток рака молочной железы человека линии MDA-MB-231 и MCF7 (АТСС, США). Клетки K562, DU 145, MDA-MB-231 и MCF7 культивировали при температуре 37 °С и 5% CO_2 в среде RPMI 1640 («ПанЭко», Россия), содержащей 10% фетальной бычьей сыворотки (HyClone Laboratories, Logan, UK), инактивированной при температуре 56 °С в течение 30 мин, 2 мМ L-глутамина, 100 мкг/мл пеницилина и 100 мкг/мл сульфата стрептомицина («ПанЭко», Россия). Достижение логарифмической фазы роста клетки пассировали в плоскостонные 96-луночные микропланшеты («Costar») по (5—6) × 10⁴ клеток на лунку и преинкубировали в течение 24 ч перед добавлением тестируемых ферментов в указанных выше условиях. Световую микроскопию клеток проводили с помощью системы «AxioVision 4» («Zeiss», Германия). Жизнеспособность клеток определяли по исключению красителя трипанового синего («ПанЭко», Россия). Подсчет клеток проводили в камере Горяева.

Оценка цитотоксичности *in vitro*

Препараты L-аспарагиназ в растворе Хенкса («ПанЭко», Россия) в широком диапазоне прогрессивно уменьшающихся концентраций добавляли в лунки с клеточной культурой и коинкубировали в течение 72 ч. Диапазон концентраций ферментов в среде культивирования соответствовал 50, 10, 2, 0,4, 0,08, 0,016, 0,0031 и 0,00062 МЕ/мл. В контрольные лунки добавляли раствор Хенкса в том же объеме. Уровень клеточного метаболизма по окончании периода инкубации определяли с помощью стандартного МТТ-колориметрического метода (МТТ — 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-5-(3-карбоксиметоксифенил)-2-(4-сульфопенил)-2Н-тетразолиум) [17]. Оптическое поглощение окрашенных растворов диметилсульфоксида измеряли на планшетном фотометре «Multiskan MS» («Labsystem», Финляндия) при $\lambda = 540$ нм. Влияние тестируемых растворов соединений на жизнеспособность клеточной культуры оценивали по формуле: $(\text{No}/\text{Nк}) \times 100\%$, где No — оптическое поглощение в опытных пробах; Nк — оптическое поглощение в контроле. Для каждого фермента методом нелинейной регрессии рассчитывали ингибирующую концентрацию фермента в среде, которая вызывала снижение количества живых клеток на 50% (IC₅₀).

Животные

В опытах использовали мышей-самок линии DBA2 массой тела 18—24 г разведения РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, которых содержали в виварии при естественном освещении на брикетированном корме и постоянном доступе к воде.

Перед лечением мышей распределяли на группы (п 7—13). Одну группу оставляли без специфического лечения и считали контрольной (п 6—10).

Опухолевая модель

Штамм лимфаденоза Фишера L5178у получен из банка опухолевых штаммов РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, в опытах использованы 3—5-й пассажи *in vivo*. Опухоль трансплантировали мышам подкожно по стандартной методике [18].

Дозы и режимы введения

Эффективность RrA сравнивали с эффективностью EcA и EwA в сопоставимом диапазоне доз. Препараты вводили внутривентриально на 1—10-е сутки после трансплантации опухолевых клеток в разовых дозах 500—8000 МЕ/кг в концентрации 50—200 МЕ/мл, растворитель — 0,9% раствор натрия хлорида. Мышам контрольной группы вводили 0,3 мл растворителя внутривентриально в том же режиме.

Оценка противоопухолевого эффекта

Эффективность лечения оценивали по увеличению продолжительности жизни (УПЖ) по сравнению с контрольной группой, которое рассчитывали как отношение средней продолжительности жизни (СПЖ) и выражали в процентах. Излеченными считали мышей, проживших более 60 сут без признаков процессирования опухоли на аутопсии (асцит, узловый рост, поражение брыжеечных лимфатических узлов) [18]. При расчете СПЖ излеченных мышей не учитывали.

Оценка переносимости лечения

О побочном действии препаратов судили по состоянию и поведению животных, достоверному уменьшению массы тела (косвенный признак общей токсичности). Учитывали гибель и результаты аутопсии павших или умерщвленных передозировкой эфирного наркоза мышей.

Статистическая обработка результатов

Статистический анализ результатов экспериментов *in vitro* проводили, рассчитывая медианы и размах 25-го и 75-го квартилей данных в группах (Med, 25—75%). Данные опытов *in vivo* подвергали статистической обработке по методу Стьюдента в модификации Р. Б. Стрелкова, рассчитывая доверительные интервалы средних сравниваемых величин. Достоверными считали различия при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Цитотоксичность RrA *in vitro*

В ходе экспериментов установлено, что RrA проявляет наиболее значимую цитотоксичность на клеточных линиях K562 и DU 145. На K562 достоверный цитотокси-

ческий эффект наблюдался при воздействии RrA в концентрациях 0,016—50 МЕ/мл. Как следует из данных, представленных на рис. 1 и 2, RrA обладает выраженной цитотоксической активностью, немного уступающей EcA ($IC_{50} = 1,80$ против 0,82), но значительно превосходящей эффективность EwA ($IC_{50} = 11,06$).

Аналогично RrA в концентрациях 0,4—50 МЕ/мл демонстрировала достоверный цитотоксический эффект в отношении DU 145 (рис. 3, 4). При этом следует отметить сопоставимый эффект RrA и EcA в концентрациях 10 и 50 МЕ/мл. Расчетные значения IC_{50} соответствуют 9,19 МЕ/мл для RrA, 2,33 МЕ/мл для EcA и 19,61 МЕ/мл для EwA.

Тестирование цитотоксичности испытуемого фермента на клетках линии MDA-MB-231 показало, что диапазон эффективно действующих концентраций находится в пределах 2—50 МЕ/мл. Интенсивность цитотоксичности RrA и EcA в области высоких концентраций (10, 50 МЕ/мл) примерно одинакова и соответствует 44—48% и 51—54%, однако диапазон эффективных концентраций EcA существенно шире и составил 0,0016—50 МЕ/мл. Согласно проведенным расчетам на культуре клеток MDA-MB-231 значения IC_{50} составили для RrA — 34,62 МЕ/мл, для EcA — 14,32 МЕ/мл, для EwA — 50,01 МЕ/мл (рис. 5).

Из всех использованных в проведенном исследовании культур клеток MCF7 оказалась менее чувствительной к RrA, $IC_{50} = 43,30$ МЕ/мл. Диапазон эффективных концентраций этого фермента достигал 10—50 МЕ/мл, т. е. был меньше чем 0,016—50 МЕ/мл для EcA или 2—50 МЕ/мл для EwA. В данном исследовании не удалось обнаружить значимого угнетения жизнеспособности клеток этой культуры при коинкубации с EwA в испытанном концентрационном диапазоне, в отличие от EcA: $IC_{50} > 50$ МЕ/мл против 10,94 МЕ/мл соответственно (рис. 6, 7).

В целом анализ критерия IC_{50} протестированных ферментов на клеточных линиях K562, MDA-MB-231, DU145 дает основание сделать заключение о том, что RrA оказывает более выраженный, чем EwA, цитотоксический эффект, но уступает EcA (табл. 1).

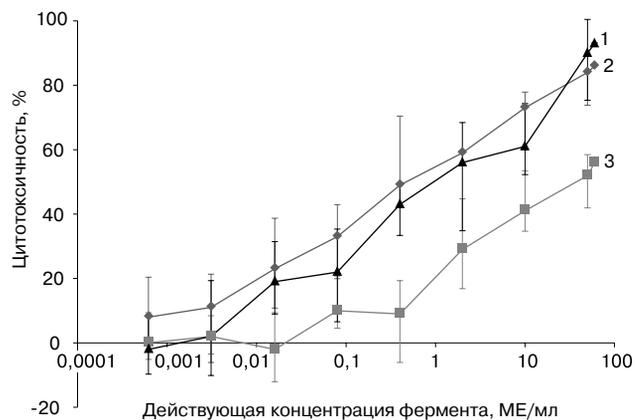


Рисунок 1. Антипролиферативная активность RrA на клетках линии K562 по сравнению с EcA и EwA. 1 — RrA; 2 — EcA; 3 — EwA.

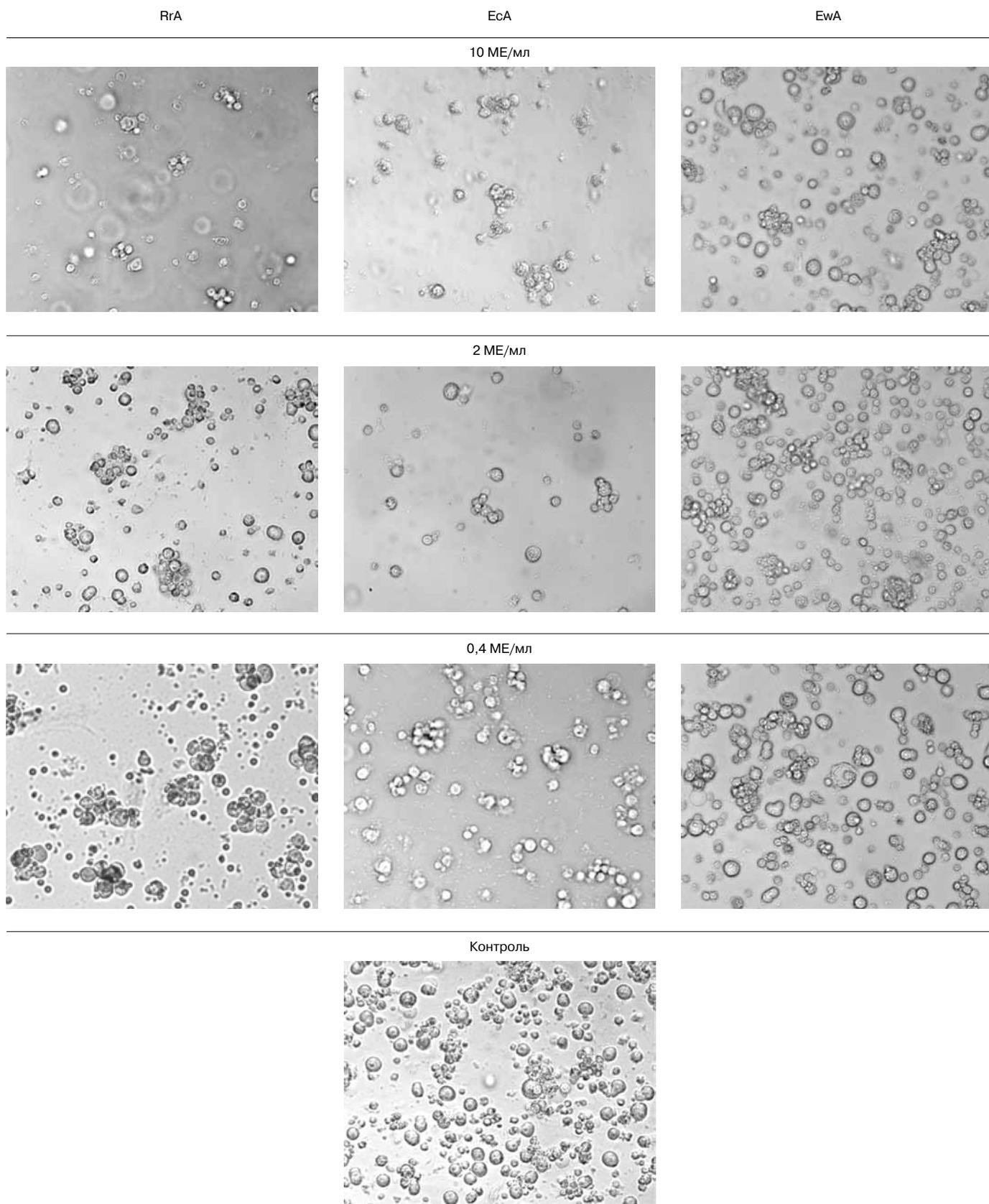


Рисунок 2. Цитотоксическое воздействие RrA, EcA, EwA на клетки линии K562 по сравнению с интактным контролем (окраска МТТ, $\times 200$).

Таблица 1

Значения IC₅₀ RrA по сравнению с EсA и EwA на различных культурах клеток

Линии опухолевых клеток	IC ₅₀ , ME/мл		
	RrA	EcA	EwA
MDA-MB-231	34,6	14,3	50,0
MCF7	43,3	10,9	35,1
DU 145	9,2	2,3	19,6
K562	1,8	0,8	11,1

Эффективность и переносимость RrA у мышей с лимфаденозом Фишера

Для сравнительной оценки противоопухолевой активности *in vivo* использовали охарактеризованные ранее эффективные разовые дозы EcA в диапазоне от 500 до 8000 ME/кг [19]. В аналогичных дозах вводили RrA и второй фермент сравнения — EwA. Результаты представлены в табл. 2.

Из полученных данных следует, что эффективность RrA и EwA в изученном диапазоне доз была практически одинаковой, при максимальной разовой дозе 8000 ME/кг УПЖ 86 и 71%, а излечение — 25 и 13% соответственно. Уменьшение дозы приводило к снижению эффекта, но при этом EwA в разовой дозе 4000 ME/кг была неэффективной (УПЖ = 12%), а RrA вызывала достоверное УПЖ = 72% ($p < 0,05$) и излечение 14% мышей. EcA была более эффективной, чем EwA или RrA, вызывая УПЖ 84—123% независимо от величины примененной дозы в диапазоне 1000—8000 ME/кг с излечением 31—75% мышей. Снижение разовой дозы до 500 ME/кг приводило к пропорциональному уменьшению эффекта как по критерию УПЖ, так и по излечению мышей. Таким образом, эффективные дозы RrA и EcA различаются примерно на порядок.

Переносимость всех видов лечения была удовлетворительной. При применении препаратов в разовой дозе ≤ 4000 ME/кг масса тела мышей практически не снижалась: уменьшение $\leq 10\%$ ($p > 0,05$). Через сутки после окончания лечения RrA, EcA и EwA в дозе 8000 ME/кг потеря массы тела мышей составила $\leq 19\%$ ($p < 0,05$), масса селезенки практически не менялась. Максимальное снижение массы тела на уровне 19% было отмечено в группе EcA. Полученные данные свидетельствуют, что в дозе 8000 ME/кг переносимость EcA ухудшается, в то время как лечение RrA или EwA переносится мышами удовлетворительно.

Таким образом, L-аспарагиназа *Rhodospirillum rubrum* проявляет достоверно высокую цитотоксичность в культурах опухолевых клеток человека (хронического миелолейкоза K562, рака предстательной железы DU 145 и рака молочной железы MDA-MB-231 и MCF7) и значительно ингибирует развитие лимфаденоза Фишера у мышей. В изученном диапазоне доз 4000—8000 ME/кг антипролиферативная активность RrA сопоставима с таковой

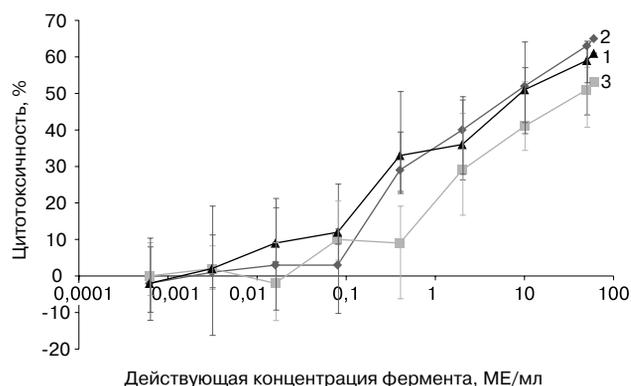


Рисунок 3. Антипролиферативная активность RrA на клетках линии DU 145 по сравнению с EcA и EwA. 1 — RrA; 2 — EcA; 3 — EwA.

EcA и превышает эффект EwA. Полученные результаты позволяют считать RrA перспективной для углубленного изучения иммуногенности, сопоставления токсических эффектов по сравнению с EcA и прогнозирования клинической перспективности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Van den Berg H. Asparaginase revisited // *Leuk. Lymphoma*. — 2011. — Vol. 52, N 2. — P. 168—178.
2. Efficacy of L-asparaginase with methotrexate and dexamethasone (AspaMetDex regimen) in patients with refractory or relapsing extranodal NK/T-cell lymphoma, a phase 2 study / Jaccard A., Gachard N., Marin B., Rogez S., Audrain M., Suarez F., Tilly H., Morschhauser F., Thieblemont C., Ysebaert L., Devidas A., Petit B., de Leval L., Gaulard P., Feuillard J., Bordessoule D., Hermine O. // *Blood*. — 2011. — Vol. 117, N 6. — P. 1834—1839.
3. Yok-Lam K. The Diagnosis and Management of Extranodal NK/T-Cell Lymphoma, Nasal-Type and Aggressive NK-Cell Leukemia // *J. Clin. Exp. Hematol.* — 2011. — Vol. 51, N 1. — P. 21—28.
4. Соколов Н. Н., Занин В. А., Александрова С. С. Бактериальные L-аспарагиназы и глутамин(аспарагин)азы: некоторые свойства, строение и противоопухолевая активность // *Вопр. мед. химии*. — 2000. — Т. 6, вып. 46. — С. 531—548.

Таблица 2

Эффективность RrA по сравнению с EcA и EwA на модели лимфаденоза Фишера

Разовая доза, ME/кг	УПЖ, %			Излечение		
	RrA	EcA	EwA	RrA	EcA	EwA
500	12	45	—	0/7	2/8	—
1000	21	84 ^a	7	0/8	4/13	0/8
2000	26	118	8	0/8	6/8	0/8
4000	72 ^a	102	12	1/7	4/7	0/8
8000	86 ^a	123	71	2/8	5/8	1/8

^a Различия по сравнению с контролем достоверны ($p < 0,05$).

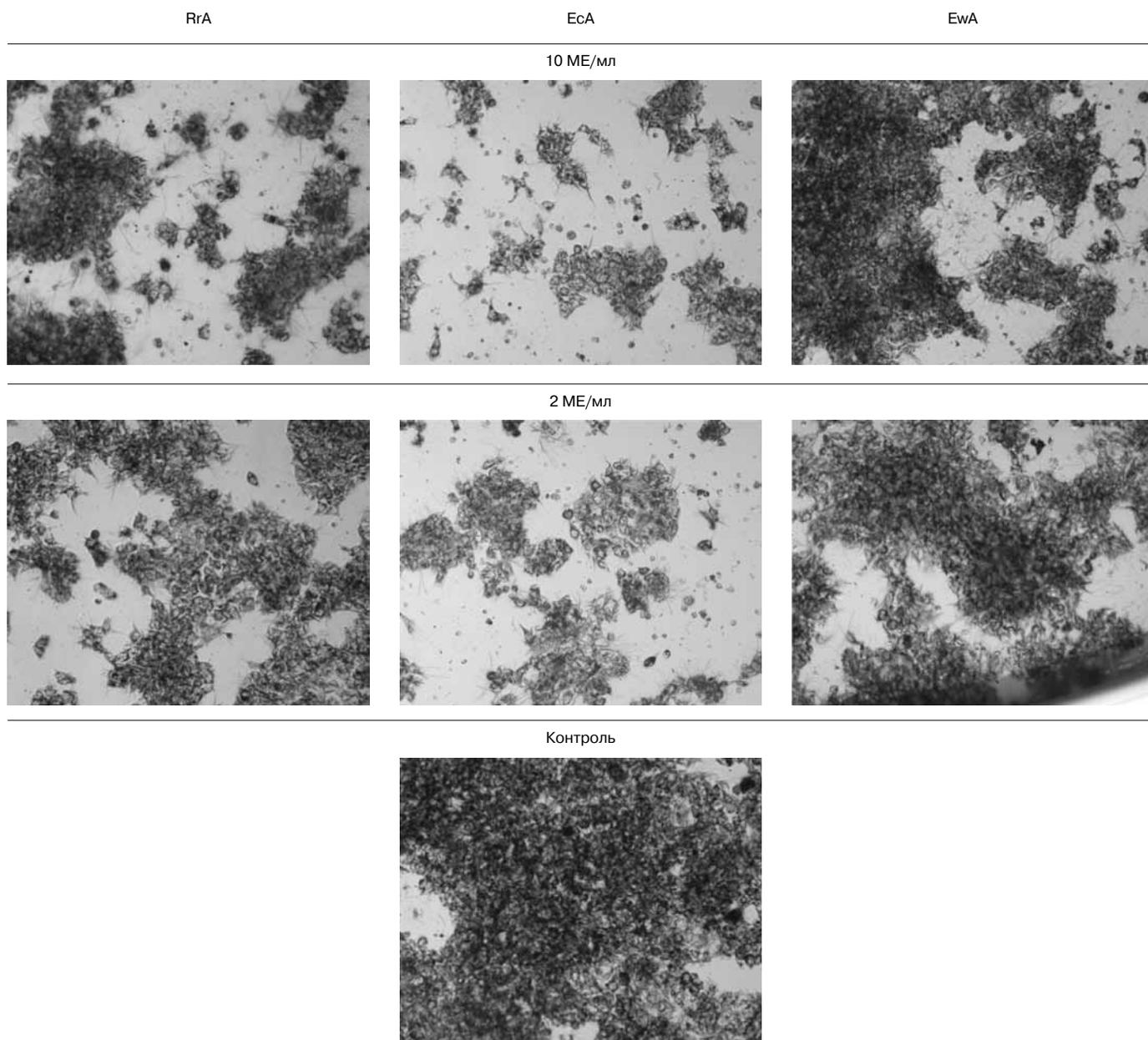


Рисунок 4. Цитотоксическое воздействие RrA, ЕсА, ЕwА на клетки линии DU 145 по сравнению с интактным контролем (окраска МТТ, $\times 100$).

5. Labrou N. E., Papageorgiou A. C., Avramis V. I. Structure-function relationships and clinical applications of L-asparaginases // *Curr. Med. Chem.* — 2010. — Vol. 17, N 20. — P. 2183—2195.

6. L-asparaginase: a promising chemotherapeutic agent / Verma N., Kumar K., Kaur G., Anand S. // *Crit. Rev. Biotechnol.* — 2007. — Vol. 27, N 1. — P. 45—62.

7. Crystal structure and allosteric regulation of the cytoplasmic *Escherichia coli* L-asparaginase I / Yun M. K., Nourse A., White S. W., Rock C. O., Heath R. J. // *J. Mol. Biol.* — 2007. — Vol. 369, N 3. — P. 794—811.

8. Bonthron D. T., Jaskolski M. Why a «benign» mutation kills enzyme activity. Structure-based analysis of the A176V mutant of *Saccharomyces cerevisiae* L-asparaginase I // *Acta Biochim. Pol.* — 1997. — Vol. 44, N 3. — P. 491—504.

9. Role of glutamine depletion in directing tissue-specific nutrient stress responses to L-asparaginase / Reinert R. B., Oberle L. M.,

Wek S. A., Bunpo P., Wang X. P., Mileva I., Goodwin L. O., Aldrich C. J., Durden D. L., McNurlan M. A., Wek R. C., Anthony T. G. // *J. Biol. Chem.* — 2006. — Vol. 281, N 42. — P. 31 222—31 233.

10. Structure of the type I L-asparaginase from the hyperthermophilic archaeon *Pyrococcus horikoshii* at 2.16 angstroms resolution / Yao M., Yasutake Y., Morita H., Tanaka I. // *Acta Crystallogr.* — 2005. — Vol. 61. — P. 294—301.

11. Tumor inhibitory and non-tumor inhibitory L-asparaginases from *Pseudomonas geniculata* / Kitto G. B., Smith G., Thiet T., Mason M., Davidson L. // *J. Bacteriol.* — 1979. — Vol. 137, N 1. — P. 204—212.

12. Purification and properties of L-glutaminase-L-asparaginase from *Pseudomonas acidovorans* // Davidson L., Brear D. R., Wingard P., Hawkins J., Kitto G. B. // *J. Bacteriol.* — 1977. — Vol. 129, N 3. — P. 1379—1386.

13. Физико-химические и каталитические свойства рекомбинантной L-аспарагиназы *Rhodospirillum rubrum* / Покровский В. С.,

Methods. — 1983. — Vol. 65. — P. 55—63.

18. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под ред. Р. У. Хабриева. — 2-е изд. — М.: Медицина, 2005. — С. 637—651.

19. Трещалина Е. М. Противоопухолевая активность веществ

природного происхождения. — М.: Практическая медицина, 2005. — 270 с.

Поступила 05.09.2011

Vadim Sergeevich Pokrovsky¹, Natalia Yurievna Anisimova²,
Marina Vladimirovna Pokrovskaya³, Svetlana Serebedjanovna Alexandrova⁴,
Nikolay Nikolayevich Sokolov⁵, Elena Mikhailovna Treschalina⁶

ANTIPROLIFERATIVE ACTIVITY OF RECOMBINANT L-ASPARAGINASE FROM RHODOSPIRILLUM RUBRUM

¹ MD, PhD, Junior Researcher, Tumor Combination Therapy Laboratory, Tumor Experimental Diagnosis and Therapy Research Institute, N. N. Blokhin RCRC RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, RF)

² MSc, PhD, Senior Researcher, Cell Immunity Laboratory, Tumor Experimental Diagnosis and Therapy Research Institute, N. N. Blokhin RCRC RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, RF)

³ MSc, PhD, Senior Researcher, Medical Biotechnology Laboratory, V. N. Orekhovich Biomedical Chemistry Research Institute, RAMS (10, Pogodinskaya ul., Moscow, 119121, RF)

⁴ MSc, PhD, Senior Researcher, Medical Biotechnology Laboratory, V. N. Orekhovich Biomedical Chemistry Research Institute, RAMS (10, Pogodinskaya ul., Moscow, 119121, RF)

⁵ MSc, PhD, DSc, Professor, Head, Medical Biotechnology Laboratory, V. N. Orekhovich Biomedical Chemistry Research Institute, RAMS (10, Pogodinskaya ul., Moscow, 119121, RF)

⁶ MD, PhD, DSc, Professor, Head, Tumor Combination Therapy Laboratory, Tumor Experimental Diagnosis and Therapy Research Institute, N. N. Blokhin RCRC RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, RF)

Address for correspondence: Pokrovsky Vadim Sergeevich, Tumor Combination Therapy Laboratory, Tumor Experimental Diagnosis and Therapy Research Institute, N. N. Blokhin RCRC RAMS, 24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, RF; e-mail: vadimpokrovsky@yandex.ru

The paper compares antiproliferative activity of L-asparaginase from *Rhodospirillum rubrum* (RrA) on cell cultures of the following human tumors: chronic myeloleukemia K562, prostate carcinoma DU145, breast carcinoma MDA-MB-231 and MCF7, and on a mouse model of Fisher lymphadenosis L5178y. RrA produced significant cytotoxic effect on cell lines K562 (IC₅₀ = 1.80 IU/ml), DU145 (IC₅₀ = 9.19 IU/ml) and MDA-MB-231 (IC₅₀ = 34.62 IU/ml). As compared to L-asparaginase type II from *Escherichia coli* (EcA) and from *Erwinia carotovora* (EwA) the cytotoxicity on these cell lines decreased as EcA>RrA>EwA. In mice with L5178y RrA at 4,000 and 8,000 IU/kg after 10 intraperitoneal administrations demonstrated a high antiproliferative activity close to that of EcA and higher than that of EwA.

Key words: L-asparaginase from *Rhodospirillum rubrum*, antiproliferative activity, Fisher lymphadenosis.

Ольга Анатольевна Симонова¹, Екатерина Борисовна Кузнецова²,
Ольга Владимировна Бабенко³, Виктория Владимировна Руденко⁴,
Георгий Авраамович Франк⁵, Лариса Эдуардовна Завалишина⁶,
Татьяна Владимировна Кекеева⁷, Людмила Николаевна Любченко⁸,
Нина Ангреевна Горбань⁹, Дмитрий Владимирович Залетаев¹⁰,
Владимир Викторович Стрельников¹¹

МЕТИЛИРОВАНИЕ ГЕНОВ СУБЪЕДИНИЦ ЛАМИНИНА-5 В НОРМЕ И ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

¹ *Ординатор, лаборатория эпигенетики Учреждения Российской академии медицинских наук
Медико-генетический научный центр РАМН (115478, РФ, г. Москва, ул. Москворечье, г. 1)*

² *К. б. н., старший научный сотрудник, лаборатория молекулярной генетики человека
ГОУ ВПО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздравсоцразвития России
(119991, РФ, г. Москва, ул. Трубецкая, г. 8); старший научный сотрудник, лаборатория эпигенетики
Учреждения Российской академии медицинских наук Медико-генетический научный центр РАМН
(115478, РФ, г. Москва, ул. Москворечье, г. 1)*

³ *К. б. н., ведущий научный сотрудник, лаборатория молекулярной генетики человека
ГОУ ВПО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздравсоцразвития России
(119991, РФ, г. Москва, ул. Трубецкая, г. 8); ведущий научный сотрудник, лаборатория эпигенетики
Учреждения Российской академии медицинских наук Медико-генетический научный центр РАМН
(115478, РФ, г. Москва, ул. Москворечье, г. 1)*

⁴ *Ординатор, лаборатория эпигенетики Учреждения Российской академии медицинских наук
Медико-генетический научный центр РАМН (115478, РФ, г. Москва, ул. Москворечье, г. 1)*

⁵ *Академик РАМН, профессор, г. м. н., руководитель, патологоанатомическое отделение
МНИОИ им. П. А. Герцена (125284, РФ, г. Москва, 2-й Боткинский проезд, г. 3)*

⁶ *Д. б. н., ведущий научный сотрудник, патологоанатомическое отделение
МНИОИ им. П. А. Герцена (125284, РФ, г. Москва, 2-й Боткинский проезд, г. 3)*

⁷ *К. м. н., старший научный сотрудник, лаборатория молекулярной генетики человека
ГОУ ВПО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздравсоцразвития России
(119991, РФ, г. Москва, ул. Трубецкая, г. 8);*

*научный сотрудник, патологоанатомическое отделение МНИОИ им. П. А. Герцена
(125284, РФ, г. Москва, 2-й Боткинский проезд, г. 3)*

⁸ *Д. м. н., заведующий, лаборатория клинической онкогенетики НИИ клинической онкологии
ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское ш., г. 24)*

⁹ *К. м. н., старший научный сотрудник, патологоанатомическое отделение
ФГБУ МРНЦ Минздравсоцразвития России (249036, РФ, г. Обнинск, Калужская обл., ул. Королева, г. 4)*

¹⁰ *Профессор, г. б. н., заведующий, лаборатория молекулярной генетики человека
ГОУ ВПО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздравсоцразвития России
(119991, РФ, г. Москва, ул. Трубецкая, г. 8);*

*заведующий, лаборатория эпигенетики Учреждения Российской академии медицинских наук
Медико-генетический научный центр РАМН (115478, РФ, г. Москва, ул. Москворечье, г. 1)*

¹¹ *К. б. н., ведущий научный сотрудник, лаборатория молекулярной генетики человека
ГОУ ВПО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздравсоцразвития России
(119991, РФ, г. Москва, ул. Трубецкая, г. 8); ведущий научный сотрудник, лаборатория эпигенетики
Учреждения Российской академии медицинских наук Медико-генетический научный центр РАМН
(115478, РФ, г. Москва, ул. Москворечье, г. 1); e-mail: vstrel@list.ru*

Адрес для переписки: 115478, РФ, г. Москва, ул. Москворечье, д. 1,
Медико-генетический научный центр РАМН, лаборатория эпигенетики,
Стрельников Владимир Викторович; e-mail: vstrel@list.ru

Особенности метилирования генов субъединиц ламинина-5 LAMA3, LAMB3 и LAMC2 в норме и при злокачественных новообразованиях ранее исследовались только одной научной группой (U. G. Sathyanarayanan и соавт., 2003—2004). Эти авторы показали наличие аномального метилирования указанных генов в 5—40% случаев рака молочной железы. При этом в ДНК из нормальных лимфоцитов, клеток буккального эпителия и клеток немалигнизированной ткани молочной железы метилирование

тех же локусов не наблюдалось или же наблюдалось в 0—7% случаев. Отмечены значимые ассоциации между аномальным метилированием, экспрессией мРНК и клинико-морфологическими характеристиками опухолей. Приведенные исследования не были повторены другими группами; соответственно результаты не были подтверждены либо опровергнуты. Тем не менее благодаря многочисленным обзорам, опубликованным за прошедшие годы, положение об аномальном метилировании генов *LAMA3*, *LAMB3* и *LAMC2* как об одном из основных элементов молекулярной патологии ламинина-5 при раке стало общепринятым. Примененный в нашей работе метод метилчувствительной полимеразной реакции позволил выявить метилирование промоторных областей генов *LAMA3*, *LAMB3* и *LAMC2* в 96—100% образцов рака молочной железы, прилежащей условно нормальной ткани молочной железы и секционного материала молочной железы. Метилирование промоторов *LAMA3* и *LAMB3* выявлено также во всех образцах буккального эпителия и крови. Наши результаты, подтвержденные секвенированием бисульфит-конвертированной ДНК, свидетельствуют о невозможности использования метилирования ранее предложенных участков промоторных областей генов субъединиц ламинина-5 в качестве диагностического маркера и ставят вопрос о пересмотре представлений о механизмах молекулярной патологии этого типа ламинина при раке.

Ключевые слова: ламинин, рак молочной железы, метилирование ДНК.

Инвазия в окружающие ткани является основным свойством злокачественных солидных опухолей, способствующим их распространению и метастазированию. В процессе инвазии опухолевые клетки, проходя через базальную мембрану, мигрируют в соединительнотканную строму. Это явление подразумевает тесные взаимоотношения опухолевых клеток с внеклеточным матриксом и перестройку его структур [1]. Эпителий и подлежащая строма функционируют в активном взаимодействии как единое целое. Двусторонние взаимодействия опосредуются внеклеточными белками — ламининами — и их трансмембранными рецепторами — интегринами. Прикрепление клеток нормального эпителия к базальной мембране обеспечивается гемидесмосомами, основными структурными элементами которых являются интегрин $\alpha 6 \beta 4$ и его лиганд ламинин-5. В составе дольковых и протоковых структур молочной железы (МЖ) гемидесмосомы формируются как миоэпителиальными, так и люминальными клетками [2]. Ламинин-5 — член семейства белков-ламининов, характерный для эпителиальных тканей, представляет собой гетеротример, который состоит из субъединиц $\alpha 3$, $\beta 3$ и $\gamma 2$, кодируемых соответственно генами *LAMA3*, *LAMB3* и *LAMC2* [3].

В ряде работ описано нарушение экспрессии цепей ламинина в опухолях. Для цепей ламинина-5 отмечалось тканеспецифическое нарушение регуляции экспрессии: в глиомах и карциномах желудка обнаружено увеличение экспрессии, при раке предстательной железы и раке молочной железы (РМЖ) — ее снижение [4—6].

Одним из механизмов регуляции экспрессии генов — супрессоров опухолевого роста является метилирование их промоторных областей. Для генов субъединиц ламинина-5 особенности метилирования в норме и при злокачественных новообразованиях исследовались только одной группой и опубликованы за первым авторством U. G. Sathyanarayanan в 2003—2004 гг. [7—10]. Авторы выявили аномальное метилирование генов *LAMA3*, *LAMB3* и

LAMC2 в 5—40% случаев РМЖ и мочевого пузыря и в 13—77% случаев рака легкого. При этом в ДНК из нормальных лимфоцитов периферической крови, клеток буккального эпителия и клеток немалигнизированной ткани МЖ метилирования тех же локусов не наблюдалось или же наблюдалось в 0—7% случаев. Для всех 3 субъединиц отмечены значимые ассоциации между аномальным метилированием, экспрессией мРНК и клинико-морфологическими характеристиками опухолей [7—10].

В настоящей работе исследован характер метилирования генов субъединиц ламинина-5 в образцах РМЖ, парных им образцах прилежащей морфологически неизменной ткани, образцах секционного материала нормальной МЖ, образцах периферической крови и буккального эпителия здоровых доноров.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проведено на 50 образцах РМЖ, 50 парных им образцах прилежащей морфологически неизменной ткани, 2 образцах секционного материала нормальной МЖ, 30 образцах периферической крови и 7 образцах буккального эпителия здоровых доноров. Образцы клинического материала предоставлены РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, ФГУ МНИОИ им. П. А. Герцена, ФГБУ МРНЦ Минздравсоцразвития России. После взятия образцы тканей замораживали и хранили в жидком азоте. Геномную ДНК выделяли по стандартной методике фенол-хлороформной экстракции.

Метилчувствительная полимеразная цепная реакция (МЧ-ПЦР)

Метод основан на способности метилчувствительных рестриктаз гидролизовать ДНК, не содержащую модифицированные основания, и оставлять негидролизованной участки, содержащие метилцитозин. В качестве матрицы использовали ДНК исследуемых образцов, предварительно гидролизованную рестриктазой HpaII. Для исключения ложноотрицательных результатов в ходе исследования для каждого локуса была разработана схема ПЦР с 2 парами праймеров: один фрагмент принадлежал исследуемому гену, а другой служил положительным контролем (облигатно метилированный участок

гена *CUX1*). Для оценки полноты гидролиза ДНК проводили МЧ-ПЦР фрагмента гена *ING1*, содержащего сайты узнавания рестриктазы *HpaII*, для которого доказано отсутствие метилирования как в норме, так и в опухоли.

Гидролиз ДНК производили в смеси: 1,5 мкг геномной ДНК, 10 ед. акт. фермента *HpaII*, 2 мкл буфера *SEBufferB/Y* (10×) («СибЭнзим», Новосибирск). Объем смеси доводили до 20 мкл деионизированной водой и инкубировали в течение 16 ч при температуре 37 °С.

ПЦР проводили по следующей схеме: к 0,1 мкг ДНК добавляли 0,05 мкМ каждого олигопраймера, 200 мкМ каждого дезоксинуклеотидтрифосфата, 2,5 мкл десятикратного буфера для ПЦР (50 мМ *KCl*, 30 мМ *MgCl₂*, 10 мМ *tris-HCl* pH 8,4), деионизированной воды до 25 мкл. Затем добавляли 40–60 мкл вазелинового масла, прогревали смесь при температуре 95 °С в течение 10 мин, вносили под слой масла термофильную ДНК-полимеразу (1 ед. акт.) и проводили 33 цикла ПЦР с параметрами: 95 °С — 40 с, 66 °С — 40 с, 72 °С — 40 с. Финальная элонгация проводилась при температуре 72 °С в течение 10 мин. Последовательности используемых праймеров и размеры продуктов ПЦР приведены в табл. 1.

Продукты МЧ-ПЦР разделяли в 8% полиакриламидном геле и окрашивали нитратом серебра.

Метилспецифическое секвенирование

Для подтверждения результатов анализа метилирования промоторных областей исследуемых генов, полученных с помощью МЧ-ПЦР, проведено метилспецифическое секвенирование этих последовательностей. Дизайн праймеров (табл. 2) был выполнен при помощи программы «MethPrimer» [11].

Подготовка образцов геномной ДНК к метилспецифическому секвенированию заключалась в их обработке бисульфитом натрия и проведении метилспецифической ПЦР (МС-ПЦР), формирующей матрицу для секвенирования.

Обработка ДНК бисульфитом натрия вызывает превращение неметилированных остатков цитозина в урацил, но не изменяет метилированные остатки цитозина. Геномную ДНК денатурировали с помощью *NaOH* (конечная концентрация 0,3 М) с последующей инкубацией при температуре 37 °С в течение 15 мин. Модификацию ДНК осуществляли при помощи бисульфита натрия и гидрохинона в конечных концентрациях соответственно 2 М и 0,5 М в течение 15 ч при температуре 55 °С. Модифицированную ДНК очищали от бисульфита с помощью колонок для очистки ДНК согласно прилагаемой инструкции («Wizard DNA Clean-up system»; «Promega»).

Реакционная смесь для МС-ПЦР объемом 25 мкл включала 10 мМ *Tris-HCl* pH 8,4, 50 мМ *KCl*, 4 мМ *MgCl₂*, по 200 мкМ *dNTP*, 10% ДМСО, 5% глицерина, 2% деионизированного формамида, 50–100 нг обработанной бисульфитом ДНК и 1 ед. термофильной ДНК-полимеразы. Смесь прогревали при температуре 95 °С в течение 6 мин и проводили 33 цикла с параметрами: 94 °С — 40 с, 57 °С — 60 с, 72 °С — 60 с. Финальную элонгацию проводили при температуре 72 °С в течение 7 мин.

Секвенирование продуктов ПЦР проводили на генетическом анализаторе ABI310 методом терминирующих дидезоксинуклеотидов в соответствии с протоколом ABI

Prism 310 Genetic Analyzer Kits («Applied Biosystems», США).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Анализ промоторной области гена *LAMA3* методом МЧ-ПЦР выявил метилирование в 100% образцов РМЖ и прилежащей условно нормальной ткани МЖ. Метилирование исследуемой области также было выявлено во всех образцах буккального эпителия, крови и секционного материала МЖ.

Метилирование участка промотора *LAMB3* было определено в 98% (49 из 50) образцов тканей первичных опухолей. Метилирование этого участка выявлено также во всех образцах условно нормальной ткани МЖ, в лейкоцитах крови, буккальном эпителии и секционном материале МЖ.

Анализ участка промотора *LAMC2* показал метилирование в 96% (48 из 50) образцов тканей первичных опухолей. Метилированное состояние определено во всех образцах условно нормальной ткани МЖ и образцах секционного материала МЖ. В то же время во всех образцах крови и буккального эпителия констатировано отсутствие метилирования промоторной области гена *LAMC2*.

Примеры результатов анализа метилирования генов *LAMA3*, *LAMB3* и *LAMC2* методом МЧ-ПЦР представлены на рис. 1. Результаты полностью подтвердились при метилспецифическом секвенировании соответствующих геномных участков. Частота метилирования промоторных областей 3 исследованных генов в различных тканях и сравнение результатов, полученных в настоящем исследовании и в работах U. G. Sathyanarayana и соавт. [7–10], приведены в табл. 3.

ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящее время для ген-специфического анализа метилирования, когда объектом исследования, как правило, является аномальное метилирование обогащенных *CpG* промоторных участков генов, применяют два подхода: МЧ-ПЦР, основанную на обработке ДНК метилчувствительными рестриктазами, и МС-ПЦР, которую проводят на ДНК, подвергнутой бисульфитной конверсии [12].

Протоколы, основанные на бисульфитной модификации ДНК, характеризуются высокой эффективностью, но при этом сложны в исполнении и могут иметь погрешности в плане четкости и воспроизводимости результатов. Ряд артефактов может возникать вследствие неполной конверсии цитозина и случайной конверсии 5-метилцитозина исходной матрицы. Эффективность исследований, основанных на анализе бисульфит-модифицированной ДНК, в значительной степени зависит от дизайна праймеров для МС-ПЦР. При этом следует учитывать, что результаты, получаемые при использовании МС-ПЦР, отражают характер метилирования только пар *CG*, входящих в состав праймеров.

Эффективность методов, основанных на использовании МЧ-ПЦР, сопоставима с таковой для МС-ПЦР [13]. При этом несомненными достоинствами МЧ-ПЦР являются меньшая техническая сложность и трудоемкость, а также возможность оценки статуса метилирования всех пар *CG* в составе анализируемого фрагмента, входящих

Таблица 1

Праймеры, используемые для проведения МЧ-ПЦР

Исследуемый ген	Последовательности праймеров 5'—3'	Размер продукта ПЦР, п. н.	Число исследуемых динуклеотидов CpG
<i>LAMA3</i>	F: GCT TGC AGT TGA CTT TGA CCG R: CGC AGA CAG CCT TCC TCA CCT	257	3
<i>LAMB3</i>	F: AGA TTC CT GAGA CCC GCC CTG R: GCC AGC CCA CCC TTC TCA CTT	410	3
<i>LAMC2</i>	F: CGC ACA TTC CAG GCA AAG GCT R: GGG CAG GAG GAG CGA GAA GCA	413	5
<i>CUX1</i>	F: GCC CCC GAG GAC GCC GCT ACC R: AAG CGG TCC AGG GGT CCA GGC	565	6
<i>ING1</i>	F: TAT TTC GCG TCG ATC TCC R: CAG CCC CGC CGC AT GAGA G	416	9

в сайты узнавания применяемой метилчувствительной рестриктазы. При разработке протокола необходимо учитывать возможность неполного гидролиза ДНК ферментами рестрикции. Для исключения ложноположительных результатов в систему включают дополнительную пару праймеров, фланкирующих участок какого-либо гена, который имеет несколько сайтов узнавания используемой метилчувствительной рестриктазы и характеризуется отсутствием метилирования во всех тканях. Для исключения ложноотрицательных результатов в ходе исследования в систему также необходимо ввести локус, который послужит в качестве положительного контроля ПЦР (как правило, это облигатно метилированный участок генома). При обеспечении указанных контролей достоверность метода МЧ-ПЦР выше, чем достоверность МС-ПЦР, при котором исключение артефактов реакции посредством внутренних контролей затруднено и, как правило, не применяется. В связи с этим метод МЧ-ПЦР принят нами за основу при разработке систем для анализа метилирования промоторных областей генов *LAMA3*, *LAMB3* и *LAMC2*.

Таблица 2

Последовательности праймеров, используемых для метилспецифического секвенирования

Исследуемый ген	Нуклеотидная последовательность праймеров 5'—3'
<i>LAMA3</i>	F: GTT GTA ATA TTT AGT TTA TAG GTT GTT T R: CTC CTC AAT CCA CCC ATT TAC TC
<i>LAMB3</i>	F: TTT TAT AGG TAG GTG GGT ATT GTG G R: AAT AAA TCA AAC CCT AAA ACC AAA C
<i>LAMC2</i>	F1: ATT GGG TTT TTT AGT TTG AGG A R1: ACC TTC CTT TTC CTT AAT CAA A F2: TTT GTG TTT TGT GTG TTT GTT T R2: AAA AAC AAA TTC TCA ACC CAA

Напротив, исследователи, ранее проводившие анализ метилирования промоторных областей генов *LAMA3*, *LAMB3* и *LAMC2*, использовали метод МС-ПЦР. Следует учитывать, что при проведении ПЦР с обработанной бисульфитом ДНК для некоторых пар праймеров показана неодинаковая эффективность амплификации метилированной и неметилированной последовательностей. Авторы проводили МС-ПЦР метилированной и неметилированной последовательностей исследуемых генов в

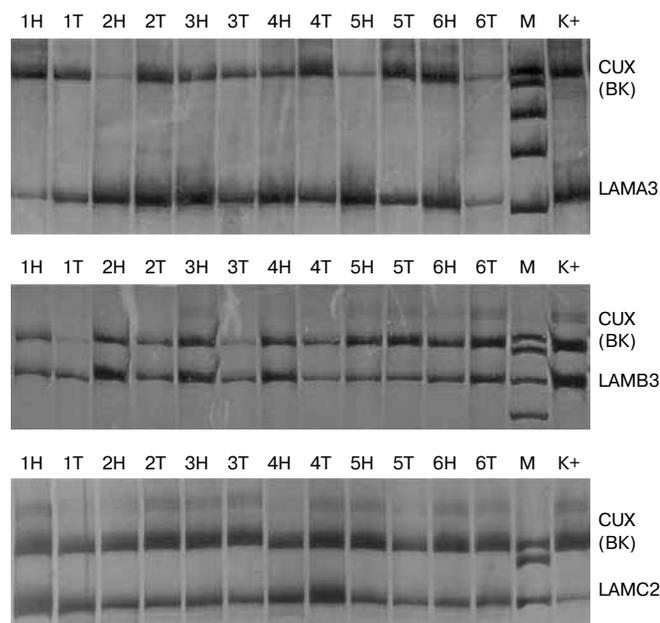


Рисунок 1. Метилирование промоторных областей генов *LAMA3*, *LAMB3* и *LAMC2*. Во всех образцах наблюдается метилирование исследуемых промоторных областей. BK — внутренний контроль; K+ — положительный контроль; M — маркер молекулярного веса; 1—6 номера парных образцов ДНК (H — условно нормальная ткань, T — ткань опухоли).

Таблица 3

Частота метилирования промоторных областей генов *LAMA3*, *LAMB3* и *LAMC2* в различных тканях человека

Ген	Исследование	PMЖ	Условно нормальная ткань MЖ	Секционный материал MЖ	Лимфоциты крови	Буккальный эпителий
LAMA3	Настоящее	50/50 (100%)	50/50 (100%)	2/2 (100%)	30/30 (100%)	7/7 (100%)
	[6—9]	33/74 (44%)	2/30 (7%)	Н/а	0—1/14 (0—7%)	0/12 (0)
LAMB3	Настоящее	49/50 (98%)	50/50 (100%)	2/2 (100%)	30/30 (100%)	7/7 (100%)
	[6—9]	3/74 (4%)	0/30 (0)	Н/а	0—1/14 (0—7%)	0/12 (0)
LAMC2	Настоящее	48/50 (98%)	50/50 (100%)	2/2 (100%)	0/30 (0)	0/7 (0)
	[6—9]	15/74 (20%)	2/30 (7%)	Н/а	0—1/14 (0—7%)	0/12 (0)

Н/а — не анализировался.

формате отдельных реакций, что не позволяет провести адекватную оценку наличия/отсутствия метилирования ДНК. Кроме того, не было проведено подтверждения соответствия последовательностей продуктов ПЦР исследуемым участкам генома [7—10]. Перечисленные недостатки дизайна экспериментов могли привести к ошибочным оценкам характера метилирования исследованных участков генома.

Во избежание голословности приведенных оценок представим пример неудачного дизайна праймера для МС-ПЦР промоторного участка гена *LAMA3* в работе U. G. Sathyanarayana и соавт. [9]. Последовательность праймера представлена на рис. 2. На 3'-конце отмечены две пары CpG, метилирование которых определяется при использовании этого праймера в МС-ПЦР. Отмечены также позиции однонуклеотидных замен, описанных в базе данных коротких генетических вариаций (dbSNP Short Genetic Variations [14]) под идентификационными кодами rs28413178 и rs77542553. Полиморфизм rs28413178 представляет собой замену G > C, которая с учетом близкого расположения к 3'-концу праймера может снижать эффективность амплификации как метилированного, так и неметилированного аллелей. Полиморфизм rs77542553 заключается в замене C > T, мимикрирующей результатом обработки неметилированного участка ДНК бисульфитом натрия. В этом случае присутствие минорного аллеля должно приводить к ошибочному определению состояния аллеля как неметилированного. Не исключено, что

именно присутствие этой однонуклеотидной замены в образцах ДНК заставило U. G. Sathyanarayana и соавт. сделать ложный вывод о неметилированном состоянии промотора *LAMA3* в исследованных тканях [7—10].

Полученные нами результаты позволяют предполагать, что статус метилирования изученных участков промоторов генов *LAMA3*, *LAMB3* и *LAMC2* не является определяющим фактором регуляции уровня их экспрессии. Недавние исследования показали, что экспрессия всех 3 субъединиц ламинина-5 находится под положительным контролем опухолевого супрессора SMAD4, транслирующего сигналы от цитокинов суперсемейства TGFβ [16]. Нарушенную экспрессию ламинина-5 в клетках солидных опухолей, дефицитных по SMAD4, удавалось нормализовать восстановлением функции SMAD4 [16].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные нами результаты свидетельствуют о невозможности использования метилирования ранее предложенных участков промоторных областей генов субъединиц ламинина-5 в качестве диагностического маркера и ставят вопрос о пересмотре представлений о механизмах молекулярной патологии этого типа ламинина при раке.

Очевидный вывод из представленной работы заключается в необходимости дополнительного независимого исследования по изучению состояния метилирования генов субъединиц ламинина-332 в норме и при злокачественных новообразованиях.

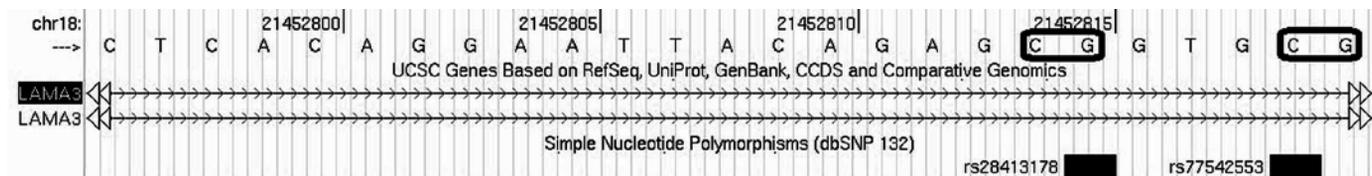


Рисунок 2. Анализ последовательности праймера для МС-ПЦР промоторной области гена *LAMA3*. Обведены пары CpG, метилирование которых определяется при использовании этого праймера. Черными прямоугольниками отмечены положения однонуклеотидных полиморфизмов. Рисунок сформирован с помощью компьютерной программы просмотра геномов «UCSC Genome Browser» [15].

Работа проводилась при поддержке Федерального агентства по науке и инновациям в рамках ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» (ГК №02.740.11.0089).

ЛИТЕРАТУРА

1. Любимов А. В., Блэк К. Л., Любимова Ю. Ю. Изоформы ламинина в диагностике и прогнозировании течения опухолей мозга и молочной железы // Вестн. РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН. — 2003. — Т. 14, № 3. — С. 83—91.
2. Expression of hemidesmosomes and component proteins is lost by invasive breast cancer cells / Bergstraesser L. M., Srinivasan G., Jones J. C., Stahl S., Weitzman S. A. // *Am. J. Pathol.* — 1995. — Vol. 147. — P. 1823—1839.
3. Stahl S., Weitzman S., Jones J. C. The role of laminin-5 and its receptors in mammary epithelial cell branching morphogenesis // *J. Cell Sci.* — 1997. — Vol. 110. — P. 55—63.
4. Down-regulation of laminin-5 in breast carcinoma cells / Martin K. J., Kwan C. P., Nagasaki K., Zhang X., O'Hare M. J., Kaelin C. M., Burgeson R. E., Pardee A. B., Sager R. // *Mol. Med.* — 1998. — Vol. 4, N 9. — P. 602—613.
5. Expression of hemidesmosomal and extracellular matrix proteins by normal and malignant human prostate tissue / Nagle R. B., Hao J., Knox J. D., Dalkin B. L., Clark V., Cress A. E. // *Am. J. Pathol.* — 1995. — Vol. 146. — P. 1498—1507.
6. Giannelli G., Antonaci S. Biological and clinical relevance of laminin-5 in cancer // *Clin. Exp. Metastasis.* — 2000. — Vol. 18. — P. 439—443.
7. Molecular Detection of Noninvasive and Invasive Bladder Tumor Tissues and Exfoliated Cells by Aberrant Promoter Methylation of Laminin-5 Encoding Genes / Sathyanarayana U. G., Maruyama R., Padar A., Suzuki M., Bondaruk J., Sagalowsky A., Minna J. D., Frenkel E. P., Grossman H. B., Czerniak B., Gazdar A. F. // *Cancer Res.* — 2004. — Vol. 64. — P. 1425—1430.
8. Aberrant Promoter Methylation and Silencing of Laminin-5-Encoding Genes in Breast Carcinoma / Sathyanarayana U. G., Padar A., Huang C. X., Suzuki M., Shigematsu H., Bekele B. N., Gazdar A. F. // *Clin. Cancer Res.* — 2003. — Vol. 9. — P. 6389—6394.

9. Epigenetic Inactivation of Laminin-5-encoding Genes in Lung Cancers / Sathyanarayana U. G., Toyooka S., Padar A., Takahashi T., Brambilla E., Minna J. D., Gazdar A. F. // *Clin. Cancer Res.* — 2003. — Vol. 9. — P. 2665—2672.
10. Aberrant Promoter Methylation of Laminin-5—Encoding Genes in Prostate Cancers and Its Relationship to Clinicopathological Features / Sathyanarayana U. G., Padar A., Suzuki M., Maruyama R., Shigematsu H., Hsieh J.-H., Frenkel E., Gazdar A. F. // *Clin. Cancer Res.* — 2003. — Vol. 9. — P. 6395—6400.
11. Li L. C., Dahiya R. MethPrimer: designing primers for methylation PCRs // *Bioinformatics.* — 2002. — Vol. 18, N 11. — P. 1427—1431.
12. Кузнецова Е. Б., Стрельников В. В. // Методы анализа метилирования ДНК // *Мед. генетика.* — 2006. — Т. 5, № 11. — С. 3—11.
13. Сравнительный анализ аномального метилирования CpG-островков, расположенных в промоторных областях генов p16/CDKN2A и p14/ARF при немелкоклеточном раке легкого и остром лимфобластном лейкозе / Землякова В. В., Стрельников В. В., Зборовская И. Б., Балукова О. В., Майорова О. А., Васильев Е. В., Залетаев Д. В., Немцова М. В. // *Мол. биол.* — 2004. — Т. 38, № 6. — С. 966—972.
14. dbSNP: the NCBI database of genetic variation / Sherry S. T., Ward M.-H., Kholodov M., Baker J., Phan L., Smigielski E. M., Sirotkin K. // *Nucleic Acids Res.* — 2001. — Vol. 29. — P. 308—311.
15. The UCSC Genome Browser database: update 2011 / Fujita P. A., Rhead B., Zweig A. S., Hinrichs A. S., Karolchik D., Cline M. S., Goldman M., Barber G. P., Clawson H., Coelho A., Diekhans M., Dreszer T. R., Gardine B. M., Harte R. A., Hillman-Jackson J., Hsu F., Kirkup V., Kuhn R. M., Learned K., Li C. H., Meyer L. R., Pohl A., Raney B. J., Rosenbloom K. R., Smith K. E., Haussler D., Kent W. J. // *Nucleic Acids Res.* — 2011. — Vol. 39. — P. 876—882.
16. Divergent mechanisms underlie Smad4-mediated positive regulation of the three genes encoding the basement membrane component laminin-332 (laminin-5) / Zboralski D., Böckmann M., Zapatka M., Hoppe S., Schöneck A., Hahn S. A., Schmiegel W., Schwarte-Waldhoff I. // *BMC Cancer.* — 2008. — Vol. 8 — P. 215.

Поступила 05.09.2011

*Olga Anatolievna Simonova¹, Ekaterina Borisovna Kuznetsova²,
Olga Vladimirovna Babenko³, Viktoria Vladimirovna Rudenko⁴,
Georgiy Avraamovich Frank⁵, Larisa Eduardovna Zavalishina⁶,
Tatiana Vladimirovna Kekeyeva⁷, Lyudmila Nikolayevna Lyubchenko⁸,
Nina Andreyevna Gorban⁹, Dmitriy Vladimirovich Zaletayev¹⁰,
Vladimir Viktorovich Strelnikov¹¹*

METHYLATION OF LAMININ-5 ENCODING GENE SUBUNITS IN NORMAL AND BREAST CANCER TISSUES

¹ *Attending Physician, Epigenetics Laboratory, Medical Genetics Research Center, RAMS
(1, Moscvorechye ul., Moscow, 115478, RF)*

² *MSc, PhD, Senior Researcher, Human Molecular Genetics Laboratory, I. M. Sechenov 1st MSMU,
Russian Health Ministry (8, Trubetskaya ul., Moscow, 119991, RF); Senior Researcher, Epigenetics Laboratory,
Medical Genetics Research Center, RAMS (1, Moscvorechye ul., Moscow, 115478, RF)*

³ *MSc, PhD, Leading Researcher, Human Molecular Genetics Laboratory,
I. M. Sechenov 1st MSMU, Russian Health Ministry (8, Trubetskaya ul., Moscow, 119991, RF);
Leading Researcher, Epigenetics Laboratory, Medical Genetics Research Center, RAMS
(1, Moscvorechye ul., Moscow, 115478, RF)*

⁴ *Attending Physician, Epigenetics Laboratory, Medical Genetics Research Center, RAMS
(1, Moscvorechye ul., Moscow, 115478, RF)*

⁵ *MD, PhD, DSc, Professor, Academician of RAMS, Professor, Head, Pathological Anatomy Department,
P. A. Hertzen MORI (3, 2 Botkinsky pr., Moscow, 125284, RF)*

⁶ *MSc, PhD, DSc, Leading Researcher, Pathological Anatomy Department,
P. A. Hertzen MORI (3, 2 Botkinsky pr., Moscow, 125284, RF)*

⁷ *MD, PhD, Senior Researcher, Human Molecular Genetics Laboratory, I. M. Sechenov 1st MSMU,
Russian Health Ministry (8, Trubetskaya ul., Moscow, 119991, RF); Researcher, Pathological Anatomy Department,
P. A. Hertzen MORI (3, 2 Botkinsky pr., Moscow, 125284, RF)*

⁸ *MD, PhD, DSc, Head, Clinical Oncogenetics Laboratory, Clinical Oncology Research Institute,
N. N. Blokhin RCRC RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, RF)*

⁹ *MD, PhD, Senior Researcher, Pathological Anatomy Department, MRRC, Russian Health Ministry
(4, Koroleva ul., Obninsk, Kaluzhskaya obl., 249036, RF)*

¹⁰ *MSc, PhD, DSc, Professor, Head, Human Molecular Genetics Laboratory, I. M. Sechenov 1st MSMU,
Russian Health Ministry (8, Trubetskaya ul., Moscow, 119991, RF); Head, Epigenetics Laboratory,
Medical Genetics Research Center, RAMS (1, Moscvorechye ul., Moscow, 115478, RF)*

¹¹ *MSc, PhD, Leading Researcher, Human Molecular Genetics Laboratory, I. M. Sechenov 1st MSMU,
Russian Health Ministry (8, Trubetskaya ul., Moscow, 119991, RF); Leading Researcher, Epigenetics Laboratory,
Medical Genetics Research Center, RAMS (1, Moscvorechye ul., Moscow, 115478, RF)*

Address for correspondence: Strelnikov Vladimir Victorovich, Epigenetics Laboratory, Medical Genetics Research Center, RAMS, 1, Moscvorechye ul., Moscow, 115478, RF; e-mail: vstrel@list.ru

Methylation of laminin-5-encoding genes LAMA3, LAMB3 and LAMC2 in normal and malignant tissues were studied by a single group of researchers (U. G. Sathyanarayana et al., 2003—2004) only. They demonstrated aberrant methylation of these genes in 5 to 40% of breast cancer cases. While methylation of the same loci in DNA from normal lymphocytes, buccal epithelial cells and nonmalignant breast tissue cells was observed in 0 to 7% of cases. Significant associations were found between the aberrant methylation, mRNA expression and clinicomorphological features of the tumors. This study was not repeated by other authors and the results were therefore neither confirmed nor refuted. Nevertheless, the concept of aberrant methylation of LAMA3, LAMB3 and LAMC2 as a principal feature of laminin-5 molecular pathology in cancer became commonly adopted owing to multiple recent reviews. Methyl-sensitive polymerase reaction used in our study detected promoter methylation in LAMA3, LAMB3 and LAMC2 in 96 to 100% of breast cancer specimens, adjacent normal breast tissue and breast sections. Promotor methylation of LAMA3, LAMB3 and LAMC2 was also discovered in all buccal epithelium and blood specimens. Our findings as confirmed by sequencing of bisulfate-converted DNA suggest that the promoter methylation of laminin-5 encoding genes should not be used as a diagnostic marker and that the concept of molecular pathology mechanisms of this laminin type in cancer should be revised.

Key words: laminin, breast cancer, DNA methylation.

КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Людмила Владимировна Демидова¹, Елена Анатольевна Дунаева²,
Анна Владимировна Бойко³, Елена Григорьевна Новикова⁴,
Оксана Борисовна Дубовецкая⁵

ОСЛОЖНЕНИЯ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ ПРИ КОМБИНИРОВАННОМ ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ РАКОМ ТЕЛА МАТКИ I СТАДИИ

¹ Д. м. н., старший научный сотрудник, отделение высоких технологий лучевой терапии отдела лучевой терапии ФГБУ МНИОИ им. П. А. Герцена Минздравсоцразвития России (125284, РФ, г. Москва, 2-й Боткинский проезд, г. 3)

² К. м. н., научный сотрудник, отделение высоких технологий лучевой терапии отдела лучевой терапии ФГБУ МНИОИ им. П. А. Герцена Минздравсоцразвития России (125284, РФ, г. Москва, 2-й Боткинский проезд, г. 3)

³ Профессор, г. м. н., руководитель, отдел лучевой терапии ФГБУ МНИОИ им. П. А. Герцена Минздравсоцразвития России (125284, РФ, г. Москва, 2-й Боткинский проезд, г. 3)

⁴ Профессор, г. м. н., руководитель, отделение онкогинекологии ФГБУ МНИОИ им. П. А. Герцена Минздравсоцразвития России (125284, РФ, г. Москва, 2-й Боткинский проезд, г. 3)

⁵ К. м. н., научный сотрудник, отделение высоких технологий лучевой терапии отдела лучевой терапии ФГБУ МНИОИ им. П. А. Герцена Минздравсоцразвития России (125284, РФ, г. Москва, 2-й Боткинский проезд, г. 3).

Адрес для переписки: 125284, РФ, г. Москва, 2-й Боткинский проезд, д. 3, ФГУ МНИОИ им. П. А. Герцена Минздравсоцразвития России, отделение высоких технологий лучевой терапии отдела лучевой терапии, Дунаева Елена Анатольевна; e-mail: onkoDEA@yandex.ru

Изучены частота развития и структура лучевых реакций и осложнений при комбинированном лечении с послеоперационной лучевой терапией у 66 больных раком тела матки I стадии: из них у 53 пациенток после экстирпации матки с придатками и у 13 — после экстирпации матки с придатками с газовой лимфаденэктомией. Используются две методики облучения у равного числа больных ($n = 32$): дистанционная лучевая терапия с суммарной очаговой дозой 40—44 Гр и сочетанная лучевая терапия 50—55 Гр. Оценка лучевых реакций и осложнений выполнена по системе RTOG/EORTC (1995). У 47 (71,2%) больных лечение проведено без перерыва, лучевые реакции II степени развились у 11 (16,6%), III степень — у 4 (6,1%) пациенток. У 4 (6,1%) женщин не завершён полный курс облучения из-за возникших реакций. Отмечена тенденция к увеличению частоты лучевых реакций при расширении объема операции до лимфаденэктомии и при проведении дистанционной лучевой терапии. Поздние лучевые осложнения возникли у 7,7% больных и соответствовали I—II степени токсичности. Они зависели от характера сопутствующей патологии (колит, цистит) и возникали в среднем на 6 мес раньше, чем в отсутствие изменений критических органов.

Ключевые слова: рак тела матки I стадии, комбинированное лечение, лучевые реакции, лучевые осложнения.

Рак тела матки (РТМ) в настоящее время занимает лидирующее место в структуре онкологической заболеваемости женских половых органов и составляет в Российской Федерации 41,4%, а в Северной Америке — 48,8%. Последние десятилетия отмечены значительным ростом заболеваемости РТМ. Так, в России за 15-летний период с 1995 по 2010 г. заболеваемость увеличилась на

55,2%. Число больных, у которых выявлено это новообразование в 2010 г., достигло 18 731, что составило 15,8 на 100 000 женщин, а в крупных промышленных центрах, таких, как Москва, — 16,4 на 100 000 [1; 2].

Больные РТМ в 59,3% случаев получают комбинированное лечение, состоящее преимущественно из операции и послеоперационной лучевой терапии (ЛТ). У 78,6%

пациенток констатируется РТМ I—II стадии [1]. В связи с этим важным показателем эффективности лечения является оценка переносимости метода.

Цели и задачи исследования: изучить частоту развития и степень тяжести лучевых реакций (ЛР) и поздних лучевых осложнений (ПЛО) при комбинированном методе лечения с послеоперационной ЛТ у больных РТМ I стадии (FIGO 2003).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В период с 1994 по 2003 г. в МНИОИ им. П. А. Герцена проведено комбинированное лечение с послеоперационной ЛТ 66 больным РТМ I стадии (FIGO 2003): 53 пациентки после хирургического вмешательства в объеме простой экстирпации матки с придатками (ЭМП) и 13 — после ЭМП и тазовой лимфаденэктомии (ЛЭ).

Средний возраст пациенток составил 58,6 года (от 36 до 72 лет).

У больных РТМ I стадии риск развития рецидива заболевания расценен как промежуточный и высокий (табл. 1).

Облучение начинали через 2—4 нед после операции, что отвечало одному из принципов комбинированного лечения — соблюдению сроков между компонентами комбинированного лечения.

Были использованы две методики облучения у равного числа больных ($n = 32$): дистанционная лучевая терапия (ДЛТ) и сочетанная лучевая терапия (СЛТ). Суммарная очаговая доза (СОД) при ДЛТ составила 40—44 Гр, при СЛТ — 55 Гр в культе влагалища, 46—50 Гр в точке В. Для уменьшения воздействия ионизирующего излучения на критические органы использовали режим ежедневного мультифракционирования, при котором разовую очаговую дозу (РОД) 1—1,25 Гр подвели 2 раза в день с интервалом 4—5 ч, 5 раз в неделю. Дневная доза составляла 2—2,5 Гр. ДЛТ проводили на гамма-терапевтическом аппарате «РОКУС-АМ», линейном и циклическом ускорителях электронов «ФИЛИПС SL-20» и «Микротрон-М».

Внутриполостную гамма-терапию осуществляли на шланговых аппаратах «АГАТ-ВУ» (источник высокой мощности дозы, ^{60}Co), «ГАММАМЕД 12и» (источник высокой мощности дозы, ^{192}Ir) путем подведения системы ооидов к культе влагалища. РОД составила 5 Гр на глубину 1 см от поверхности слизистой оболочки культы влагалища, число сеансов — 4—5, ритм облучения — 2 раза в неделю, в остальные дни ДЛТ.

Оценку ЛР и ПЛО проводили по системе RTOG/EORTC (1995) [3].

ЛР считались реакции, возникшие во время проведения и сразу по окончании курса послеоперационной ЛТ (в течение 90 дней). ПЛО оценивали спустя 90 дней после облучения и в более поздние сроки. ЛР подразделяли на местные, которые были представлены изменениями органов, входящих в зону облучения (энтероколит, ректит, цистит, эпителиит), и общие. Кроме того, учитывали больных с обострением хронических заболеваний. ЛР, при которых требовался перерыв в лечении, также раз-

Таблица 1

Распределение больных РТМ I стадии в зависимости от групп риска и метода лечения

Группа риска	Число больных	ЭМП + ЛТ	ЭМП + ЛЭ + ЛТ
Промежуточный			
IA G3 или неэндометриоидная карцинома	14	14	—
IB (глубина инвазии $\geq 1/3$ толщины миометрия), G1			
IB, G2			
IB, поражение всей полости матки			
Высокий			
IC, любая G	52	39	13
G3 или неэндометриоидная карцинома при любой инвазии миометрия			
Лимфоваскулярная инвазия			
Переход на внутренний зев			
Всего	66	53	13

личали по степени интенсивности: 0—I степени — не требовали перерыва в лечении; II степени — перерыв в лечении составлял 2—3 дня, во время которого проводили симптоматическую терапию; III степени — перерыв в лечении не менее 7 дней с применением интенсивной медикаментозной, дезинтоксикационной терапии.

Изменения слизистой оболочки влагалища, которые возникали у всех больных в силу сочетанного хирургического и лучевого воздействия, определяли по степеням: I — катаральный эпителиит (гиперемия слизистой оболочки); II — островковый эпителиит; III — сливной эпителиит; IV — некротический эпителиит.

К общим ЛР относили изменения крови (лейкопению и анемию) и диспепсию, которые оценивали по критериям CTC NCIC.

ОБСУЖДЕНИЕ

На ЛР, которые возникают в процессе лечения, и на ПЛО влияет много параметров. Так, частота развития и степень тяжести ЛР и ПЛО зависят от объема облучения (дистанционного, внутриполостного или сочетанного), разовой и суммарной очаговой дозы, сопутствующих заболеваний критических органов (мочевой пузырь, ректосигмоидный отдел толстой кишки), объема выполненной операции и общего состояния больной.

При использовании ДЛТ, при которой границами полей облучения являются сверху L_{IV-V} , снизу — obturatorные отверстия, в зону облучения входят мочевого пузыря, практически на всем своем протяжении мочеоточники, ректосигмоидный отдел толстой кишки, часть петель тонкой кишки. При внутриволостном облучении лучевая нагрузка приходится на мочевого пузыря и прямую кишку.

ЛУЧЕВЫЕ РЕАКЦИИ

У 47 (71,2%) больных послеоперационный курс облучения проведен без перерывов. Тем не менее при послеоперационном облучении возникли 30 местных ЛР и 34 реакции общего характера у 42 (63,6%) больных. У 17 из них отмечено по 2—3 реакции.

Однако степень выраженности ЛР была различной. Большинство из них относились к реакциям I степени, которые не препятствовали проведению курса ЛТ и наблюдались у 23 (34,8%) больных; реакции II степени, при которых требовался перерыв в лечении на 2—3 дня, отмечены у 11 (16,6%) пациенток. Только у 4 (6,1%) женщин развились выраженные реакции (III степени), обусловившие необходимость интенсивной медикаментозной и дезинтоксикационной терапии с перерывом в лечении на 7 дней и более. Еще у 4 (6,1%) больных не завершен полный курс послеоперационной ЛТ (табл. 2).

У 26 (39,4%) пациенток наблюдались местные ЛР. Среди них наибольшее число пришлось на долю лучевых энтероколитов — 18 (27,3%) из 66. При этом 10 реакций соответствовали I степени (по RTOG) и купированы с помощью зубиотиков, спазмолитиков, диеты без перерыва в лечении. В 5 (7,6%) случаях отмечен умеренный энтероколит (II степени), который повлек перерыв в лечении на 2—3 дня. В 3 (4,5%) случаях развился выраженный энтероколит с тяжелой диареей до 10 эпизодов в сутки, со схваткообразными болями в животе и с синдромом мальабсорбции. У одной из женщин энтероколит III степени сочетался с лейкопенией II степени ($2 \times 10^9 \text{ л}^{-1}$), в связи с чем ЛТ завершена на СОД 31 Гр.

Ранний лучевой цистит (I степени), при котором перерыв в лечении не потребовался, развился в 5 (7,6%) случаях.

Ректит возник всего в 3 (4,5%) случаях, соответствовал I степени токсичности и был предотвращен с помощью лечебных микроклизм в течение 2—3 дней, без потери времени в лечении.

Поскольку культя влагалища являлась центром облучения, то к концу ЛТ возникли различной степени интенсивности реакции слизистой оболочки.

Эпителиит I степени определялся у 23 (34,8%) пациенток и представлял собой катаральные изменения на слизистой оболочке. После санирующих обработок влагалища явления гиперемии стихали через 3—4 нед. Эпителиит II степени встретился у 17 (25,8%) женщин, восстановительный период до нормализации слизистой оболочки составил около 2 мес. Пленчатый или сливной эпителиит (III степени) отмечен у 11 (16,7%) больных, при этом реабилитационный период занимал более продолжительное время.

У единственной (1,5%) пациентки при проведении курса внутриволостной гамма-терапии после 3-го сеан-

са возник эпителиит IV степени. Развившийся некроз слизистой оболочки купола влагалища обусловил необходимость завершения облучения. СОД составила 15 Гр на глубину 1 см от слизистой оболочки культи влагалища. Анализ причины возникновения столь серьезного осложнения показал, что у данной больной с сахарным диабетом до ЛТ имелись послеоперационные некротические наложения на слизистой оболочке культи влагалища, вследствие чего начало облучения оказалось преждевременным. Интервал между компонентами лечения составил 2 нед. В связи с этим рекомендуется соблюдение оптимальных сроков между операцией и началом ЛТ не менее 4 нед.

У 14 (21,2%) пациенток слизистая оболочка влагалища была без изменений.

В целом число реакций слизистой оболочки купола влагалища при сравнении различных объемов облучения было практически одинаковым и составило: 25 у 32 женщин после ДЛТ и 26 у 32 после СЛТ. Однако степень тяжести лучевых эпителиитов зависела от методики облучения. Так, эпителиит II и III степени возник соответственно у 7 (21,9%) и у 3 (9,4%) женщин после ДЛТ и у 10 (31,3%) и у 8 (25,0%) больных после СЛТ ($p = 0,000$).

У 2 (3%) больных ЛТ была прекращена на СОД 38 Гр: у одной пациентки в связи с воспалением лимфокисты в малом тазу больших размеров, у другой — из-за нагноившейся прикультевой гематомы.

Лейкопения I степени [$(3-3,9) \times 10^9 \text{ л}^{-1}$], которая не мешала продолжению ЛТ, отмечена у 18 (27,3%) больных. Лейкопения II степени [$(2-2,9) \times 10^9 \text{ л}^{-1}$] наблюдалась у 7 (10,6%) пациенток, перерыв в лечении составил 2—3 дня, при этом одновременно проводилась гемостимулирующая терапия. У 1 из 7 больных одновременно с лейкопенией II степени возник энтероколит III степени, сочетание которых не позволило завершить полный курс ЛТ. Лейкопения III степени [$(1-1,9) \times 10^9 \text{ л}^{-1}$] — у 2 (3%) больных; после 5-дневного перерыва, в течение которого больные получали гемостимулирующие препараты, ЛТ была продолжена.

Таблица 2
Выраженность ЛР у больных РТМ I стадии с послеоперационной ЛТ

Степень выраженности ЛР	Число ЛР	Число больных с ЛР	
		абс.	%
I	40	23	34,8
II	13	11	16,6
III	6	4	6,1
Не завершен полный курс ЛТ	5	4	6,1
Всего (n = 66)	64	42 ^a	63,6

^a У 17 из 42 больных имелось по 2—3 реакции.

У одной больной во время облучения развилась анемия I степени. У другой пациентки при исходной анемии I степени отмечено снижение уровня гемоглобина менее 100 г/л (анемия II степени).

Диспепсия во время курса облучения I степени (СТС NCIC) наблюдалась всего у 3 (4,5%) больных.

У 2 пациенток при проведении облучения отмечено обострение хронических заболеваний: у одной — сердечно-сосудистого заболевания в виде гипертонического криза, у другой — хронического гайморита. После симптоматической терапии через 2—3 дня лечение было продолжено.

При анализе влияния объема выполненного хирургического вмешательства на частоту развития ЛР прослеживалась тенденция к их увеличению при расширении операции до лимфаденэктомии (табл. 3).

Так, после ЭМП число больных с ЛР составило 20 (37,7%) из 53, после ЭМП + ЛЭ — 6 (46,2%) из 13 ($p = 0,57$). Вместе с тем реакции в большинстве своем носили преходящий характер (I—II степени) и успешно купировались консервативной терапией.

В ходе оценки частоты возникновения местных ЛР при различных объемах облучения выявлена тенденция к ее снижению до 34,4% при СЛТ по сравнению с 43,8% при ДЛТ ($p = 0,44$). Это происходило преимущественно за счет лучевых энтероколитов, что, по-видимому, обусловлено меньшим объемом облучаемых тканей при наружном облучении при СЛТ (табл. 4).

У 64 больных РТМ с наружным компонентом облучения изучена частота развития ЛР в зависимости от режима фракционирования дозы (табл. 5).

Использование нетрадиционного фракционирования дозы с ее дроблением в течение дня сопровождалось увеличением числа больных с местными ЛР. Однако при детальном анализе выяснилось, что облучение в режиме мультифракционирования было методом выбора для пациенток с анамнезом, отягощенным заболеваниями желудочно-кишечного тракта (хронический колит, язвенная болезнь желудка или двенадцатиперстной кишки) и мочевой системы (хронический цистит, пиелонефрит,

мочекаменная болезнь). Так, фоновая патология у больных, получавших мультифракционирование, встречалась в 3,4 раза чаще, чем у пациенток с классическим режимом — 40% (18 из 45) против 11,8% (2 из 17) соответственно ($p = 0,03$) (табл. 6).

Несмотря на это, использование режима нетрадиционного фракционирования позволило у 88,9% (40 из 45) соматически отягощенных больных провести курс послеоперационного облучения без выраженных ЛР (III степени). Кроме того, применение режима с дроблением дозы (РОД по 1,25 Гр 2 раза в день) оказалось экономически более эффективным, чем классический режим, за счет сокращения сроков пребывания больных в стационаре в среднем на 7 дней.

ПОЗДНИЕ ЛУЧЕВЫЕ ОСЛОЖНЕНИЯ

Оценить ПЛО, которые возникли спустя 3 мес после окончания ЛТ, было возможно у 65 из 66 больных. Одна пациентка выбыла из наблюдения через 3 мес после окончания комбинированного лечения.

ПЛО отмечены у 5 (7,7%) больных (табл. 7).

Преобладающей формой ПЛО был лучевой энтероколит. Он возник у 3 (4,6%) больных в сроки от 4 до 14 мес. При этом ПЛО со стороны тонкой и толстой кишки, соответствующие II степени токсичности, с умеренной диареей, со спастическими болями в животе и стулом более 5 раз в сутки отмечены у 2 больных из них и энтероколит I степени — у одной.

У одной (1,5%) пациентки спустя 8 мес развился лучевой ректит I степени, проявившийся эпизодически возникающими тенезмами и слизью в кале и купированный местными лекарственными средствами (микроклизмами).

ПЛО I степени со стороны мочевого пузыря возникли у одной (1,5%) женщины, у которой проведено курсовое симптоматическое лечение с положительным эффектом.

Следует отметить, что у 2 из 4 больных с ПЛО со стороны кишечника различной локализации наблюдалась сопутствующая патология в виде хронического колита. У единственной пациентки с лучевым циститом в анам-

Таблица 3

Местные ЛР у больных РТМ I стадии с послеоперационной ЛТ в зависимости от объема хирургического вмешательства

Объем операции	Число больных с местными ЛР		Число местных ЛР										эпителиит IV степени
			энтероколит (RTOG)			ректит (RTOG)			цистит (RTOG)			воспалительный инфильтрат в малом тазу	
	абс.	%	I	II	III	I	II	III	I	II	III		
ЭМП (n = 53)	20	37,7	7	5	3	2	-	-	3	-	-	2	-
			22										
ЭМП + ЛЭ (n = 13)	6	46,2	3	-	-	1	-	-	2	-	-	1	1
			8										
Всего (n = 66)	26	39,4	30										

Таблица 4

Местные ЛР у больных РТМ I стадии в зависимости от методики облучения

Методика ЛТ	Всего больных	Энтероколит (RTOG)			Ректит (RTOG)			Цистит (RTOG)			Воспалительный инфильтрат в малом тазу	Эпителиит IV степени	Число местных реакций	Число больных с местными реакциями
		I	II	III	I	II	III	I	II	III				
СЛТ	32	5	2	–	–	–	–	3	–	с	2	–	12	11 (34,4%)
		7			–			3						
ДЛТ	32	5	3	3	3	–	–	2	–	–	1	–	17	14 (43,8%)
		11			3			2						
Внутриполостная ЛТ	2	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	1	1	1 (50%)
Итого	66	18			3			5			3	1	30	26 (39,4%)

незе имелось указание на хронический цистит и мочекаменную болезнь.

Отмечено, что более обширное хирургическое вмешательство оказывает наибольший вклад в последующее развитие ПЛО. Так, после ЭМП + ЛЭ ПЛО возникли у 2 (15,4%) из 13 больных, после ЭМП — у 3 (5,8%) из 52 прослеженных пациенток. В то же время малая выборка больных в группе ЭМП + ЛЭ не позволяет констатировать достоверность различий ($p = 0,24$).

Поскольку СЛТ по сравнению с ДЛТ предполагает подведение большей СОД, было изучено влияние величины СОД на частоту ПЛО. Выявлено, что после СЛТ они развиваются несколько чаще, чем после ДЛТ (9,4 и 6,5% соответственно; $p = 0,6$).

Как уже указывалось, фоновая патология наблюдалась у 18 из 45 больных при режиме мультифракционирования и только у 2 из 17 пациенток при классическом фракционировании. При таком неравном «качественном» распределении частота ПЛО у больных с дроблением дневной дозы составила 8,9% (4 из 45), при классиче-

ском режиме — 6,3% (1 из 16; $p = 0,7$), что свидетельствует о несомненном преимуществе использования режима мультифракционирования дозы у больных с анамнезом, отягощенным патологией критических органов.

Частота и характер ПЛО не зависели от частоты и тяжести ЛР. Только у 2 из 5 больных с ПЛО развились ЛР во время курса ЛТ. У остальных 3 пациенток облучение проходило без реакций и осложнений.

Ни в одном случае ПЛО не явились причиной смерти. Мы также не наблюдали ПЛО III степени и таких грозных осложнений, как пузырьно-влагалищные и прямокишечно-влагалищные свищи.

Обращают на себя внимание сроки возникновения ПЛО. В отсутствие фонового заболевания ПЛО возникали в сроки от 11 до 14 мес (в среднем 12,5 мес), тогда как при соответствующей соматической патологии — значительно раньше, в интервале от 4 до 8 мес (в среднем 6 мес). Эти особенности у больных с отягощенным анамнезом обуславливают необходимость наряду с динамическим наблюдением по поводу основного онкологического за-

Таблица 5

Местные ЛР в зависимости от фракционирования дозы

Режим фракционирования дозы	Число больных	Степень выраженности местных ЛР (RTOG)			Воспалительный инфильтрат в малом тазу	Число больных с местными ЛР
		I	II	III		
Классический (2 Гр в день)	17	2 (11,8%)	1 (5,9%)	–	–	3 (17,6%)
Мультифракционирование (1—1,25 Гр 2 раза в день)	45	11 (24,4%)	4 (8,9%)	3 (6,7%)	2 (4,4%)	20 (44,4%)
2,5 Гр однократно	2	1	–	–	1	2 (100%)
Всего	64	14	5	3	3	25 (39,1%)

Таблица 6

Распределение больных РТМ с фоновой патологией в зависимости от режима фракционирования дозы при наружном облучении

Режим фракционирования дозы	Число больных	Число больных с неблагоприятным фоном	
		абс.	%
«Классический» 2 Гр	17	2	11,8
Мультифракционирование 1—1,25 Гр 2 раза в день	45	18	40
2,5 Гр	2	1	1 (50%)
Всего	64	21	32,8

болевания проведения профилактических мероприятий для предупреждения ПЛО.

ВЫВОДЫ

Отмечена удовлетворительная переносимость адьювантной ЛТ в целом. У большинства больных послеоперационный курс лечения проведен без перерывов — 47 (71,2%). У 23 из них наблюдались ЛР I степени, у 11 (16,6%) женщин — II степени, при которой требовался перерыв

в лечении на 2—3 дня. Выраженные ЛР (III степени), сопровождавшиеся интенсивной медикаментозной терапией с перерывом 7 дней и более, отмечались у 4 (6,1%) пациенток. Еще у 4 (6,1%) больных не завершён полный курс облучения в связи с возникшими реакциями.

Отмечена тенденция к увеличению частоты ЛР при расширении объема хирургического вмешательства до лимфаденэктомии и при ДЛТ. Число больных с фоновой патологией критических органов при режиме мультифракционирования дозы в 3,4 раза превышало число пациенток без таковой при классическом режиме. Несмотря на это, у 88,9% больных с дроблением дневной дозы адьювантная ЛТ проведена без выраженных ЛР.

ПЛО (RTOG/ EORTC) в целом возникли у 7,7% больных (энтероколит — у 4,6%, ректит — у 1,5%, цистит — у 1,5%). По выраженности они не превышали I—II степени токсичности (4,6 и 3,1% соответственно). ПЛО зависели от характера сопутствующей патологии (хронический колит, хронический цистит, мочекаменная болезнь; $p = 0,02$) и возникали в среднем на 6 мес раньше, чем в отсутствие предшествующих изменений критических органов. Наличие фоновой патологии являлось основанием для дробления дневной дозы. ПЛО при этом соответствовали I и II степени и составили 8,9% (у 4 из 45), тогда как у пациенток с классическим режимом облучения — 6,3% (1 из 16; $p = 0,7$).

ЛИТЕРАТУРА

1. Чиссов В. И., Старинский В. В., Петрова Г. В. Состояние онкологической помощи населению России в 2010 году. — М.: ФГУ МНИОИ

Таблица 7

Характеристики больных с ПЛО

Больная, возраст, годы	Характер ПЛО	Сроки возникновения, мес	Сопутствующая патология (фон)	Объем операции	Объем ЛТ	Дробление дозы	СОД	ЛР	Исход
Г., 55	Энтероколит II степени	11	—	ЭМП + ЛЭ	СЛТ	Да	На точку В 50Гр	—	Умерла от метастазов в парааортальных лимфатических узлах
В., 40	Энтероколит I степени	14	—	ЭМП + ЛЭ	СЛТ	Нет	На точку В 50Гр	—	Жива
Ж., 59	Энтероколит II степени	4	Хронический	ЭМП	ДЛТ	Да	На точку В 42Гр	Энтероколит I степени	Жива
Ч., 67	Ректит I степени	8	Хронический колит	ЭМП	ДЛТ	Да	На точку В 41Гр	Энтероколит III степени	Жива
О., 68	Цистит I степени	6	Хронический пиелонефрит, нефролитиаз	ЭМП	СЛТ	Да	На точку В 48Гр, на мочевой пузырь 24Гр	—	Жива

им. П. А. Герцена Минздравоохранения России, 2011. — 188 с.
2. American Cancer Society. Cancer Facts & Figures. — Atlanta, 2004. — P. 4.
3. Cox J. D., Stetz J., Pajak T. F. Toxicity of the Radiation Therapy Oncology Group (RTOG) and the European organization for research

and treatment of cancer (EORTC) // Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. — 1995. — Vol. 31, N 5. — P. 1341—1346.

Поступила 08.11.2011

*Lyudmila Vladimirovna Demidova¹, Elena Anatolyevna Dunayeva²,
Anna Vladimirovna Boyko³, Elena Grigoryevna Novikova⁴,
Oxana Borisovna Dubovetskaya⁵*

COMPLICATIONS AFTER ADJUVANT RADIATION IN PATIENTS WITH STAGE I ENDOMETRIAL CANCER

¹ MD, PhD, DSc, Senior Researcher, Radiotherapy High Technology Department, Radiotherapy Division, P. A. Herzen MORI, RF Health Ministry (3, 2 Botkinsky pr., Moscow, 125284, RF)

² MD, PhD, Researcher, Radiotherapy High Technology Department, Radiotherapy Division, P. A. Herzen MORI, RF Health Ministry (3, 2 Botkinsky pr., Moscow, 125284, RF)

³ MD, PhD, DSc, Professor, Head, Radiotherapy Division, P. A. Herzen MORI, RF Health Ministry (3, 2 Botkinsky pr., Moscow, 125284, RF)

⁴ MD, PhD, DSc, Professor, Head, Oncogynecology Department, P. A. Herzen MORI, RF Health Ministry (3, 2 Botkinsky pr., Moscow, 125284, RF)

⁵ MD, PhD, Researcher, Radiotherapy High Technology Department, Radiotherapy Division, P. A. Herzen MORI, RF Health Ministry (3, 2 Botkinsky pr., Moscow, 125284, RF)

Address for correspondence: Dunayeva Elena Anatolyevna, Radiotherapy High Technology Department, Radiotherapy Division, P. A. Herzen MORI, RF Health Ministry, 3, 2 Botkinsky pr., Moscow, 125284, RF; e-mail: onkoDEA@yandex.ru

We studied frequency and character of radiation complications in women with stage I endometrial cancer undergoing adjuvant radiation after hysterectomy and bilateral salpingo-oophorectomy (53) or hysterectomy and bilateral salpingo-oophorectomy with pelvic lymphadenectomy (13). Equal groups of patients (n = 32) received external beam radiation at a total tumor dose 40 to 44 Gy or external beam radiation with vaginal brachytherapy at 50 to 55 Gy. RTOG/EORTC (1995) system was used to evaluate radiation complications. In majority of patients (47/71.2%) the treatment was not interrupted. Grade II beam reactions were reported in 11 (16.6%) and grade III events were observed in 4 (6.1%) cases. Radiotherapy was discontinued due to complications in 4 (6.1%) women. Radiation reactions tended to develop more frequently in cases undergoing hysterectomy and bilateral salpingo-oophorectomy with pelvic lymphadenectomy and in those receiving external beam radiotherapy. Late grade I or II complications were reported in 7.7% of patients. They depended on character of concomitant disease (colitis, cystitis) and developed at an average of 6 months earlier than in cases free from changes in critical organs.

Key words: stage I endometrial cancer, multimodality treatment, radiation reactions, radiation complications.

Галина Николаевна Зубрихина¹, Валентина Николаевна Блиндарь²,
Ирина Ивановна Матвеева³, Татьяна Захаровна Чернявская⁴,
Капитолина Николаевна Мелкова⁵

ОЦЕНКА ЛАБОРАТОРНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ, ХАРАКТЕРИЗУЮЩИХ ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ГЕМОПОЭЗА У ОНКОГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ НА ФОНЕ ВЫСОКОДОЗНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ И АУТОТРАНСПЛАНТАЦИИ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

¹ Д. м. н., ведущий научный сотрудник, клиничко-диагностическая лаборатория централизованного клиничко-лабораторного отдела НИИ клинической онкологии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24).

² Д. б. н. ведущий научный сотрудник, клиничко-диагностическая лаборатория централизованного клиничко-лабораторного отдела НИИ клинической онкологии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24).

³ Д. м. н., заведующая, клиничко-диагностическая лаборатория централизованного клиничко-лабораторного отдела НИИ клинической онкологии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24).

⁴ Врач, отделение реанимации и интенсивной терапии № 3 (отделение трансплантации костного мозга и интенсивной химиотерапии) РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

⁵ К. м. н., заведующая, отделение реанимации и интенсивной терапии № 3 (отделение трансплантации костного мозга, интенсивной химиотерапии) РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

Адрес для переписки: 115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе д. 24,
клиничко-диагностическая лаборатория централизованного клиничко-лабораторного отдела
НИИ клинической онкологии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН,
Зубрихина Галина Николаевна; e-mail: zubrikhina@yandex.ru

Изучены показатели периферической крови у 34 больных (276 исследований) на разных этапах после высокодозной полихимиотерапии и аутотрансплантации гемопоэтических стволовых клеток. У большинства больных было резистентное течение заболевания. Изучали анализы крови по 26 параметрам, включая число ретикулоцитов, ретикулоцитарные и тромбоцитарные индексы. Определяли содержание ферритина, растворимых рецепторов трансферрина, уровень эндогенного эритропоэтина иммуноферментным методом. У большинства больных до высокодозной полихимиотерапии выявлена анемия, которая характеризовалась как анемия хронических заболеваний с высоким или нормальным уровнем ферритина и неадекватной степени анемии продукцией эритропоэтина. Показана высокая информативность определения молодых форм тромбоцитов, ретикулоцитов и их индексов для оценки начала восстановления гемопоэза.

Ключевые слова: гемобластозы, высокодозная полихимиотерапия, показатели крови.

Список сокращений

EPO	эндогенный эритропоэтин
Ferr	ферритин
HCT	гематокрит
HGB	гемоглобин
IFR	число незрелых ретикулоцитов (MFR + HFR)
IPF	число незрелых (молодых) тромбоцитов (immature platelet fraction)
MCN	среднее содержание HGB в эритроците
MCV	средний объем эритроцита
MPV	средний объем тромбоцита
PLT	тромбоциты

RBC	эритроциты
RET-He	концентрация HGB в ретикулоците
Rtl	ретикулоциты
RtIabc	абсолютное число ретикулоцитов
sRTF	растворимые рецепторы трансферрина
WBC	лейкоциты

Ретикулоцитарные индексы:

LFR	мелкие формы (зрелые Rtl; low fraction of reticulocytes)
MFR	средние формы (medium fraction of reticulocytes)

HFR	крупные (молодые Rtl; high fraction of reticulocytes)
IFR	число незрелых Rtl (HFR + MFR; immature fraction of reticulocytes)
ВХТ	высокодозная полихимиотерапия
ИФА	иммуноферментный анализ
ЛХ	лимфома Ходжкина
ММ	множественная миелома
НХЛ	неходжкинская лимфома
ТКМ	трансплантация костного мозга

Лечение онкологического больного остается сложной проблемой. В последние годы при прогностически неблагоприятном течении болезни в целях преодоления резистентности злокачественных клеток к стандартным дозам применяется ВХТ с трансплантацией аутологичного гемопоэтического материала из костного мозга и периферической крови [1; 2]. В связи с этим актуальным в клинической практике является внедрение в лабораторную диагностику показателей, отражающих функциональное состояние гемопоэза, что может способствовать пониманию процессов, происходящих в организме не только при опухолевом росте, но и при противоопухолевых воздействиях.

Целью настоящего исследования было изучение лабораторных показателей периферической крови на разных этапах ВХТ после аутотрансплантации стволовых гемопоэтических клеток для выявления прогностических критериев восстановления гемопоэза.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведен ретроспективный анализ лабораторных показателей 34 больных (табл. 1), лечившихся в ОТКМ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН. Всего было 14 мужчин и 20 женщин, средний возраст $33,6 \pm 1,1$ года (17—70 лет). У большинства пациентов констатированы резистентное течение заболевания или прогностически неблагоприятные рецидивы. До поступления в ОТКМ эти больные получали многочисленные курсы химиотерапии.

Степень угнетения кроветворения и его восстановление анализировали и во всей группе больных в целом, и в зависимости от нозологической формы заболевания.

После ВХТ 34 больным выполняли аутоТКМ криоконсервированными с диметилсульфоксидом (ДМСО) клетками костного мозга, или сочетанную трансплантацию аутологичного криоконсервированного с ДМСО костного мозга с клетками — предшественниками гемопоэза (ГСК) из периферической крови, или только ГСК в день 0 (день трансплантации костного мозга и периферических ГСК). Сбор клеток для аутологичной трансплантации осуществляли в сроки от 1 до 9 мес до аутоТКМ. Режим кондиционирования у больных ЛХ и НХЛ осуществляли с помощью курса химиотерапии по схеме ВЕАМ (кармустин, эпопозид, цитарабин, мелфалан), у 2 больных НХЛ этот курс дополняли ритуксимабом. Больным ММ кондиционирование проводили мелфаланом (200 мг/м²).

Кровь больных исследовали по 26 показателям на гематологическом анализаторе «Sysmex ХЕ-2100-1» (РОШ, Москва). Определяли число RBC и содержание в них HGB, HCT, а также расчетные показатели: MCV, MCH, среднюю концентрацию HGB в эритроците, кривую распределения RBC по объему, число Rtl в процентах и Rtlabc, ретикулоцитарные индексы, характеризующие степень зрелости Rtl: LFR, MFR, HFR и IFR, RET-He. Определяли число PLT и тромбоцитарные индексы: MPV и IPF. Исследовали содержание Ferr с помощью наборов фирмы «Orgentec Diagnostika GmbH» (Германия), sRTF фирмы «BioVendor» (Греция) и EPO фирмы «Biomerica» (США) методом иммуноферментного анализа. Всем больным ставили прямую пробу Кумбса на основе гелевых технологий (прямой антиглобулиновый тест), исследовали показатели свободного гемоглобина в плазме крови гемиглобинцианидным методом на спектрофотометре «Multiskan Spectrum» («Thermo LabSystem», Финляндия), подсчитывали лейкоцитарную формулу и оценивали морфологию эритроцитов.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

До начала ВХТ с ТКМ у всех больных ЛХ и НХЛ выявлена анемия в основном легкой степени: уровень HGB $96,3 \pm 4,5$ г/л с диапазоном показателей 95—104 г/л, медиана (Me) 96,5 г/л. У 3 больных анемия была умеренной (80—91 г/л). У больных ММ анемия отмечена только у одного больного (96 г/л), у остальных 9 содержание HGB было в пределах нормы (139—149 г/л).

Анемия у большинства больных носила нормоцитарный нормохромный характер: MCV и MCH были в пределах нормы (MCV 80—100 фл, MCH 27—31 пг). Уровень Ferr у больных с анемией был высоким ($240,0 \pm 110,1$ нг/мл, Me 225 нг/мл), показатели варьировали в пределах 40,0—1300 нг/мл. У больных без анемии уровень Ferr также оказался высоким ($312,0 \pm 119,0$ нг/мл) с колебаниями 78,0—1900,0 нг/мл. В норме содержание Ferr составляет у мужчин 34—310 нг/мл, у женщин — 22—112 нг/мл. Содержание sRTF было в норме (0,9—2,8 мкг/мл) или несколько сниженным (0,5—0,7 мкг/мл). В среднем в группе содержание sRTF составило $0,85 \pm 0,24$ мкг/мл. Анемия в данной группе больных по лабораторным показателям была расценена как АХЗ [3]. У 2 больных ЛХ анемию можно было охарактеризовать как железодефицитный эритропоэз. Анемия была микроцитарная гипохромная

Таблица 1
Характеристика больных

Нозологическая форма	Число больных	Число исследований	Возраст, годы	
			$\bar{X} \pm m$	диапазон
ЛХ	15	112	$27,4 \pm 1,2$	17—49
НХЛ	9	59	$36,0 \pm 5,3$	18—70
ММ	10	105	$45,0 \pm 1,0$	32—51
Всего	34	276	$33,6 \pm 1,1$	17—70

(MCV 73,5 и 76,4 фл; MCH 24,4 и 25,4 пг) с высоким содержанием sRTF (3,88 и 5,20 мкг/мл) и относительно сохранной концентрацией Ferr (54 и 74 нг/мл). Показатель RET-He был также низким и составил соответственно 23,2 и 24,0 пг при норме 28,9—35,0 пг.

У больных с ММ без анемии содержание Ferr в среднем составило $261,4 \pm 76,9$ нг/мл. У 3 больных он не превышал 50 нг/мл (30—45 нг/мл), у остальных 6 уровень Ferr оказался выше 200 нг/мл (210—500 нг/мл). В среднем во всей группе больных до ТКМ уровень Ferr был равен $138,0 \pm 36,5$ нг/мл. Уровень EPO у большинства больных с анемией не соответствовал степени гипоксии (табл. 2). Лишь у 2 из них уровень EPO был выше 150 мЕ/мл (460 и 820 мЕ/мл). В среднем во всей группе больных до ТКМ уровень EPO составил $117,0 \pm 33,8$ мЕ/мл (3,6—820 мЕ/мл), Me 27 мЕ/мл. У больных ММ без анемии уровень EPO был до начала ТКМ в пределах нормы и составил $41,7 \pm 9,2$ мЕ/мл (8—156 мЕ/мл), Me 23 мЕ/мл.

Число WBC у большинства обследованных больных до начала ТКМ было в пределах нормы [$(4,0—9,3) \times 10^9 \text{ л}^{-1}$]. У 3 больных оно было несколько сниженным [$(3,4—3,9) \pm 10^9 \text{ л}^{-1}$]. В среднем в группе число WBC составило $(5,75 \pm 1,2) \times 10^9 \text{ л}^{-1}$, Me $5,58 \times 10^9 \text{ л}^{-1}$. Число PLT также было в пределах нормы и составило $(242,0 \pm 19,3) \times 10^9 \text{ л}^{-1}$, средний объем MPV — $8,6 \pm 0,3$ фл, IPF — $3,02 \pm 1,89\%$ с колебаниями от 0,7 до 7,3%. Число Rtl было нормальным: Rtl% $1,8 \pm 0,01\%$, Rtlabc $83,3 \times 10^9 \text{ л}^{-1}$. Основную массу Rtl, как и в норме, составляли зрелые формы (LFR 90,5%). RET-He была равна $31,9 \pm 0,2$ пг.

Прямая проба Кумбса была отрицательной, а уровень свободного гемоглобина в плазме крови не превышал нормы как до, так и в процессе терапии.

Таким образом, на момент проведения ТКМ у 25 (73,5%) больных отмечалась легкая и умеренная анемия с высокой, реже нормальной, концентрацией Ferr, нормальным или низким содержанием sRTF (у 23 больных). По лабораторным показателям анемии можно было расценить как АХЗ. У большинства больных отмечен низкий уровень EPO, не соответствующий степени анемии.

Характерной особенностью миелосупрессивного воздействия ВХТ во всех исследуемых группах больных была цитопения, которая чаще выявлялась на 4—6-е сутки после трансплантации аутологичного костного мозга или ГСК (день 0) и продолжалась от 10 до 27 дней, в среднем 11 дней, Me 9,5 дня. У 6 больных агранулоцитоз выявился с 1—2-го дня после ТКМ. Число WBC у больных ЛХ и НХЛ с 4-го по 10-й день после ТКМ колебалось от $0,01$ до $3,05 \times 10^9 \text{ л}^{-1}$, в среднем $(0,44 \pm 0,18) \times 10^9 \text{ л}^{-1}$, Me $0,12 \times 10^9 \text{ л}^{-1}$. В последующем (начиная с 11-х суток) отмечалось постепенное восстановление числа WBC. К 15—17-м суткам в группе больных ЛХ и НХЛ число WBC составило $(2,0 \pm 0,20) \times 10^9 \text{ л}^{-1}$ [$(0,07—6,75) \times 10^9 \text{ л}^{-1}$], Me $1,58 \times 10^9 \text{ л}^{-1}$. У больных ММ число WBC восстанавливалось быстрее: с 4-го по 10-й день оно составило $(1,22 \pm 0,31) \times 10^9 \text{ л}^{-1}$ [$(0,01—4,55) \times 10^9 \text{ л}^{-1}$], Me $0,37 \times 10^9 \text{ л}^{-1}$, а к 15—17-м суткам — $(3,77 \pm 0,20) \times 10^9 \text{ л}^{-1}$ [$(0,16—7,87) \times 10^9 \text{ л}^{-1}$], Me $4,21 \times 10^9 \text{ л}^{-1}$. На рис. 1 представлено среднее число WBC в динамике в исследуемых группах больных.

Снижение числа WBC сопровождалось агранулоцитозом. В мазках крови выявлялись только единичные лимфоциты. При подсчете формулы крови на автоматическом

Таблица 2

Уровень эритропоэтина при анемии, считающийся адекватным степени гипоксии [4]

Степень анемии (по данным ВОЗ)	HGB, г/л	EPO, мЕ/мл (по данным F. Hoffman-La Roche)
Легкая (I)	≥ 95 , но < 120	70—100
Умеренная (II)	$< 95—80$	> 180
Выраженная (III)	$< 80—65$	> 200
Тяжелая (IV)	< 65	250—300

анализаторе число нейтрофилов колебалось от 0 до 24%, в абсолютных числах это было близким к нулю (в среднем число нейтрофилов составило $0,09 \times 10^9 \text{ л}^{-1}$).

У всех больных в период лейкопении и агранулоцитоза отмечено дальнейшее снижение содержания HGB (рис. 2). У больных ММ, у которых до ТКМ анемии не было, к 4—6-му дню уровень HGB снизился и в среднем составил $96,2 \pm 3,0$ г/л (79,0—110,0 г/л), Me 98,0 г/л. Анемия в среднем в группе сохранялась до 20-го дня ($92,0 \pm 0,2$ г/л). У отдельных больных она прослеживалась до 30-го дня после ТКМ. Стойкое восстановление до 118—120 г/л начиналось с 20-го дня после ТКМ. У 2 больных ММ восстановление HGB выявлено на 6—8-й день (124 и 127 г/л).

Содержание Ferr в крови у больных после ТКМ сохранялось, как и до лечения, на высоком уровне (рис. 3). Особенно высокие уровни Ferr отмечены у больных ММ: к 10-м суткам Ferr составил 1096 ± 172 нг/мл (25—2300 нг/мл), Me 900 нг/мл и к 15—25-м суткам — 970 ± 205 нг/мл (119—6400 нг/мл), Me 550 нг/мл. У больных ЛХ уровень Ferr был значительным к 15-му дню после ТКМ: $1012 \pm 105,5$ нг/мл (14—2800 нг/мл), Me 825 нг/мл, что оказалось достоверно выше, чем в первые 10 дней после ТКМ: $577,0 \pm 77,7$ нг/мл (87—2000 нг/мл), Me 550 нг/мл.

Содержание sRTF на протяжении всего периода исследования оставалось в пределах нормальных колебаний, у отдельных больных эпизодически повышалось до 2,9—3,1 мкг/мл, в среднем в группе оно составило $1,4 \pm 0,3$ мЕ/мл (0,17—3,1), Me 1,3 мкг/мл. У 2 больных ЛХ с явным дефицитом железа анемия была микроцитарной гипохромной. Содержание sRTF у них оказалось выше, чем в остальной группе больных ($1,83 \pm 0,21$ мкг/мл), и сохранялось таковым в течение всего периода наблюдения (1,3—6,75 мкг/мл), Me 1,65 мкг/мл.

Уровень EPO у больных ЛХ, НХЛ за время наблюдения колебался в довольно широких пределах (3—1800 мЕ/мл), однако в среднем в группе оказался невысоким: 182 ± 25 мЕ/мл, а медиана была равна 60 мЕ/мл. У больных ММ содержание EPO $56,0 \pm 8,39$ мЕ/мл (2—312 мЕ/мл), Me 43 мЕ/мл ($p < 0,001$) было достоверно ниже, чем у остальных больных. Средние уровни EPO во всей группе больных в динамике представлены на рис. 4.

Число PLT, также как и число WBC, у больных ЛХ и НХЛ начинало снижаться с 4-го дня после ТКМ.

Минимальным оно было с 4-го по 10-й день и составило $(19,6 \pm 1,21) \times 10^9 \text{ л}^{-1}$ $[(4,0—90,0) \times 10^9 \text{ л}^{-1}]$, Ме $14,0 \times 10^9 \text{ л}^{-1}$. В последующие сутки число PLT начало постепенно восстанавливаться и к 25-му дню составило $(68,2 \pm 9,22) \times 10^9 \text{ л}^{-1}$ $[(14,0—444,0) \times 10^9 \text{ л}^{-1}]$, Ме $20,0 \times 10^9 \text{ л}^{-1}$. У больных ММ тромбопения была менее выраженной, число PLT начало снижаться с 5-го дня и к 10-му дню составило $(81,6 \pm 15,3) \times 10^9 \text{ л}^{-1}$ $[(5,0—265,0) \times 10^9 \text{ л}^{-1}]$, Ме $54,0 \times 10^9 \text{ л}^{-1}$, а к 15-му дню у всех больных ММ оно восстановилось и было более $100,0 \times 10^9 \text{ л}^{-1}$ $[(123,0—353,0) \times 10^9 \text{ л}^{-1}]$, Ме $150,0 \times 10^9 \text{ л}^{-1}$. Среднее число PLT по всей группе в динамике отражено на рис. 5.

MPV в начале восстановления кроветворения оказался достоверно выше ($p < 0,001$), чем при числе PLT более $100,0 \times 10^9 \text{ л}^{-1}$, и составил $10,6 \pm 0,1$ фл по сравнению с $8,6 \pm 0,3$ фл при числе PLT $100 \times 10^9 \text{ л}^{-1}$ и более, т. е. в начале восстановления из костного мозга поступают более крупные (более молодые) тромбоциты.

Особенно четко за восстановлением числа тромбоцитов можно проследить по IPF. При глубокой тромбоцитопении (менее $20,0 \times 10^9 \text{ л}^{-1}$) этот показатель тоже был низким ($4,8—6,1\%$) и начинал повышаться еще до появления первых признаков восстановления числа PLT (от 13 до 33% при числе PLT $12,0 \times 10^9 \text{ л}^{-1}$). В случае восстановления числа PLT показатель IPF постепенно возвращался к норме (рис. 5), т. е. IPF повышается раньше, чем число PLT, и поэтому может служить критерием восстановления кроветворения.

Число Rtl точно отражало степень угнетения эритропоэза. С 4-го по 10-й день после ТКМ число Rtl практически было нулевым — $0,08 \pm 0,002\%$, Ме $0,08\%$. Первые признаки восстановления числа Rtl появлялись раньше, чем восстановления числа WBC и PLT. Восстановление числа Rtl начиналось с появления незрелых форм, тогда как в период глубокой цитопении число их было практически нулевым, и Rtl были представлены на 98—100% только LFR. Начиная с 8—10-х суток после ТКМ появлялись незрелые формы Rtl (IFR 16,7%). С восстановлением эритропоэза число их постепенно возрастало, превышая норму. Однако даже к 30-м суткам полного восстановления ретикулоцитарных индексов не было (табл. 3), число LFR ($78,8 \pm 1,6\%$) не достигло нормы ($91,8 \pm 0,3\%$), а число молодых форм (HFR) превышало норму в 10 раз ($8,6$ и $0,8\%$ соответственно).

Показательным также было изменение числа Rtl в абсолютных цифрах: так, среднее Rtlabc в первые 10 дней составило $(5,4 \pm 1,8) \times 10^9 \text{ л}^{-1}$, медиана была значительно ниже (Ме $0,39 \times 10^9 \text{ л}^{-1}$). Начиная с 11-х суток Rtlabc постепенно увеличивалось и к 15-му дню составляло $(25,4 \pm 3,6) \times 10^9 \text{ л}^{-1}$, к 30-му дню Rtlabc приблизилось к норме — $(43,2 \pm 14,9) \times 10^9 \text{ л}^{-1}$ (табл. 3).

Таким образом, число Rtl в крови и ретикулоцитарные индексы, определяемые на автоматическом анализаторе, точно отражают степень угнетения эритропоэза. Восстановление числа Rtl начиналось с выхода в периферическую кровь значительного числа незрелых форм (IRF), и такой напряженный эритропоэз сохранялся до конца наблюдения.

Концентрация HGB в ретикулоците (RET-He) после ТКМ ни у одного больного не была ниже нормы и даже несколько превышала ее: в среднем по группе составила $34,5 \pm 3,6$ пг с колебаниями от 28,7 до 36,5 пг.

ОБСУЖДЕНИЕ

В последние десятилетия использование ВХТ с последующей аутотрансплантацией клеток — предшественников гемопоэза стало стандартом при лимфопролиферативных заболеваниях, особенно в случае рефрактерного течения болезни [5].

Ретроспективно проанализированы показатели кроветворения больных, получивших лечение по программам ВХТ с последующей аутотрансплантацией ГСК. Основная задача данной работы состояла в исследовании наиболее информативных показателей, с помощью которых можно оценить как степень угнетения кроветворения, так и наиболее важные прогностические критерии восстановления.

ВХТ сопровождается лейкопенией и агранулоцитозом. Цитопения с агранулоцитозом отмечалась с 4-х суток после ТКМ и сохранялась от 7 до 11 сут, в среднем 9,5 сут, после чего появлялись первые признаки восстановления кроветворения.

О первых признаках восстановления кроветворения можно было судить по появлению незрелых PLT. Они крупнее, чем зрелые, и содержат значительное количество РНК [8]. Это различие способствовало разработке метода определения данной фракции с помощью автоматического гематологического анализатора. В нашем исследовании IPF повышалось раньше, чем число PLT, что отражалось и на показателе MPV, который был при тромбопении достоверно выше, чем при нормальном числе PLT.

Особенно интересной с точки зрения восстановления кроветворения была оценка числа Rtl и ретикулоцитарных индексов.

Оснащение лабораторий современными гематологическими анализаторами, которые позволяют дополнительно ко всем параметрам определять число Rtl [9; 10], увеличивает диагностические возможности выявления начала восстановления гемопоэза, что важно в условиях проведения ВХТ. В период аплазии кроветворения число Rtl равно нулю. Появление первых молодых (IFR) форм свидетельствует о начале восстановления кроветворения [11; 12], когда еще и число лейкоцитов и тромбоцитов остается на прежних низких уровнях. Изменение Rtlabc достаточно точно отражает степень угнетения кроветворения: так, среднее Rtlabc в первые 10 дней составило $(5,4 \pm 1,8) \times 10^9 \text{ л}^{-1}$ при медиане $0,39 \times 10^9 \text{ л}^{-1}$. Начиная с 11-х суток Rtlabc начинало постепенно расти, к 15-му дню составляло $(25,4 \pm 3,6) \times 10^9 \text{ л}^{-1}$ и только к 30-му дню приблизилось к норме — $(43,2 \pm 14,9) \times 10^9 \text{ л}^{-1}$. Поскольку содержание Rtl отражает скорость образования RBC, мониторинг этого показателя позволяет четко определять степень восстановления эритропоэза и гемопоэза в целом.

Изучение показателя RET-He не выявило каких-либо существенных отклонений от нормы у обследуемых больных, за исключением единичных случаев ЖДА, при которой он был значительно ниже нормы. Показатель RET-He используется, как правило, при лечении ЖДА [13—15], так как уже в первые дни после начала лечения препаратами железа идет увеличение RET-He, четко демонстрируя эффективность проводимой терапии. У больных на фоне ВХТ при частой трансфузии донорских

Таблица 3

Число ретикулоцитов и ретикулоцитарные индексы в норме, в период аплазии после ВХТ с последующей ТКМ и на разных этапах восстановления гемопоэза

Показатель	Число Rtl, %	Число Rtl, $\times 10^9 \text{ л}^{-1}$	Ретикулоцитарные индексы, %			
			LFR	MFR	HFR	IFR (MFR + HFR)
Норма						
X ± m	1,0 ± 0,03	51,7 ± 1,6	91,8 ± 0,3	7,4 ± 0,31	0,8 ± 0,1	8,2
Диапазон	0,5—1,7	21,3—94,0	83,4—98,2	1,8—14,2	0—2,4	1,8—16,6
Медиана	1,2	57,0	92,0	8,0	0,7	—
4—10-й день						
X ± m	0,08 ± 0,02	5,4 ± 1,8	83,3 ± 0,5	12,4 ± 0,6	4,3 ± 0,2	16,7
Диапазон	0—0,5	0—32,4	75,9—91,8	2,0—16,2	0—9,2	—
Медиана	0,08	0,39	85,0	11,6	3,7	—
20-й день						
X ± m	0,9 ± 0,1	24,5 ± 3,6	75,9 ± 0,6	15,7 ± 0,7	8,4 ± 0,33	24,1
Диапазон	0,5—5,0	0—140,8	72,0—92,1	1,8—17,2	0—9,5	—
Медиана	0,5	10,8	77,0	16,5	8,1	—
30—35-й день						
X ± m	1,36 ± 0,4	43,2 ± 14,9	78,8 ± 1,6	12,6 ± 1,1	8,6 ± 1,5	21,2
Диапазон	0,1—4,5	0,42—156,4	76,0—97,0	1,5—19,2	0—11,2	—
Медиана	1,15	29,1	83,0	13,1	8,8	—

эритроцитов этот показатель не отличался от нормы, вследствие чего он не всегда отражает при данной ситуации состояние гемопоэза.

Одним из наиболее интересных прогностических критериев, обсуждаемых в многочисленных, особенно в зарубежных работах, является уровень Ferr в сыворотке крови. В клинической практике определение уровня Ferr в сыворотке крови широко используется для оценки запасов железа в организме. Общеизвестно, что уровень Ferr — наиболее ранний и достоверный признак тканевого дефицита железа, предшествующий развитию собственно ЖДА [16; 17].

В последние годы обнаружены другие функции Ferr, не связанные непосредственно с обменом железа. В настоящее время много работ посвящено исследованию уровня Ferr при разнообразных опухолях: раке яичников, молочной железы, предстательной железы, гепато-

целлюлярном раке, раке яичка и раке поджелудочной железы, ЛХ и НХЛ. Имеются единичные публикации, отмечающие увеличение уровня Ferr в сыворотке крови при ММ [16]. Значительное увеличение уровня Ferr коррелирует со стадией процесса и в некоторой степени с прогнозом [18]. Отмечают, что при достижении полной ремиссии уровень Ferr возвращается к норме. Таким образом, уровень Ferr может использоваться как опухолевый маркер.

В настоящее время накапливаются сведения о биологической и клинической значимости уровня Ferr, который займет свое место среди ценных опухолевых маркеров из класса «тумор-ассоциированных продуктов синтеза», которые принято использовать для мониторинга при лечении онкологических заболеваний.

По данным литературы [19], уровни Ferr до лечения выше 1000 и 1500 нг/мл являются важными прогности-

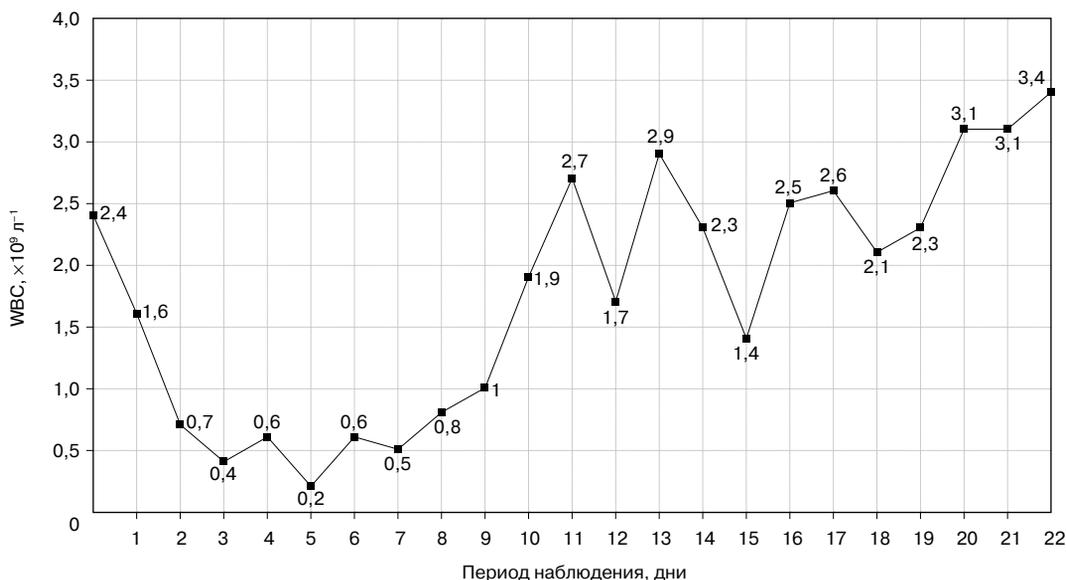


Рисунок 1. Число WBC в динамике у больных после ВХТ и ТКМ.

ческими критериями. У большинства больных до начала аутоТКМ отмечался высокий уровень Ferrt, который, однако, не превышал 1100 нг/мл. Мониторинг уровня Ferrt в сыворотке крови в динамике на разных этапах ВХТ позволил выявить тенденцию к его увеличению. Так, у отдельных больных НХЛ, ММ после ТКМ на протяжении всего периода наблюдения после ВХТ отмечались очень высокие (1000—6400 нг/мл) значения этого параметра. По мнению некоторых авторов [20; 21], повышение уровня Ferrt в 1,5—2 раза на фоне лечения можно расценить как увеличение неэффективного эритропоэза. По данным других авторов [22], высокие уровни Ferrt при инфекционной патологии свидетельствуют об эффективности функционирования противовоспалительной и антиоксидантной системы. Однозначно оценить эти

данные поможет только дальнейшее накопление материала.

Уровень продукции ЕРО при АХЗ влияет на качество жизни больных [23; 24]. По данным некоторых авторов, содержание эндогенного ЕРО прямо коррелирует со стадией [25] злокачественной опухоли и с выживаемостью больных [26; 27].

Выработка ЕРО зависит от содержания кислорода в тканях. При анемии в условиях гипоксии должно следовать повышение уровня ЕРО. Имеются данные, в которых представлены исследования по определению уровня ЕРО, адекватного степени анемии [28].

В нашем исследовании уровень ЕРО у больных ЛХ, НХЛ колебался в довольно широких пределах (3—1800 мЕ/мл), однако в среднем по группе оказался невы-

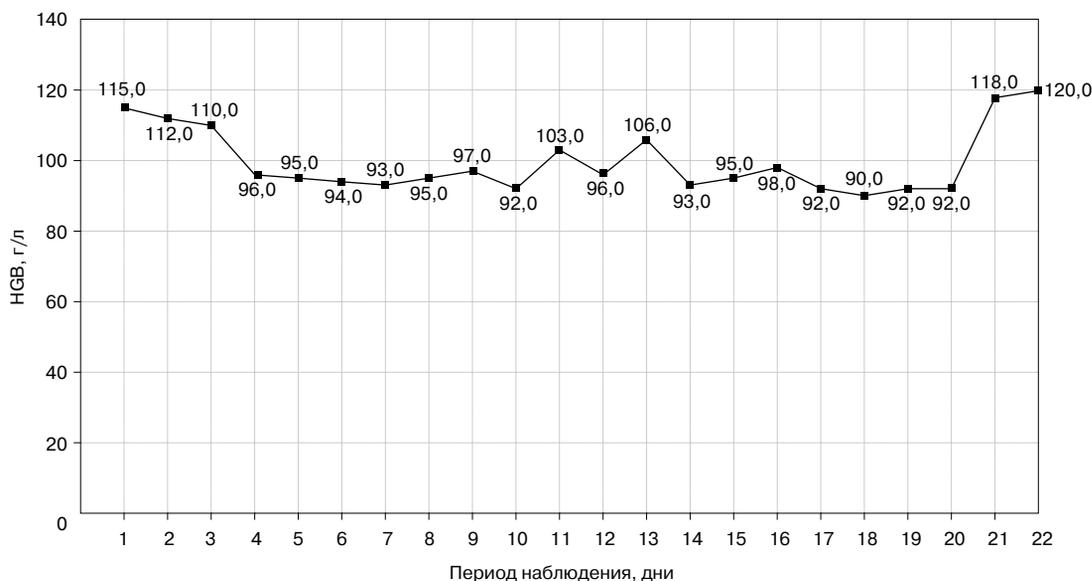


Рисунок 2. Содержание HGB в динамике у больных после ВХТ и ТКМ.

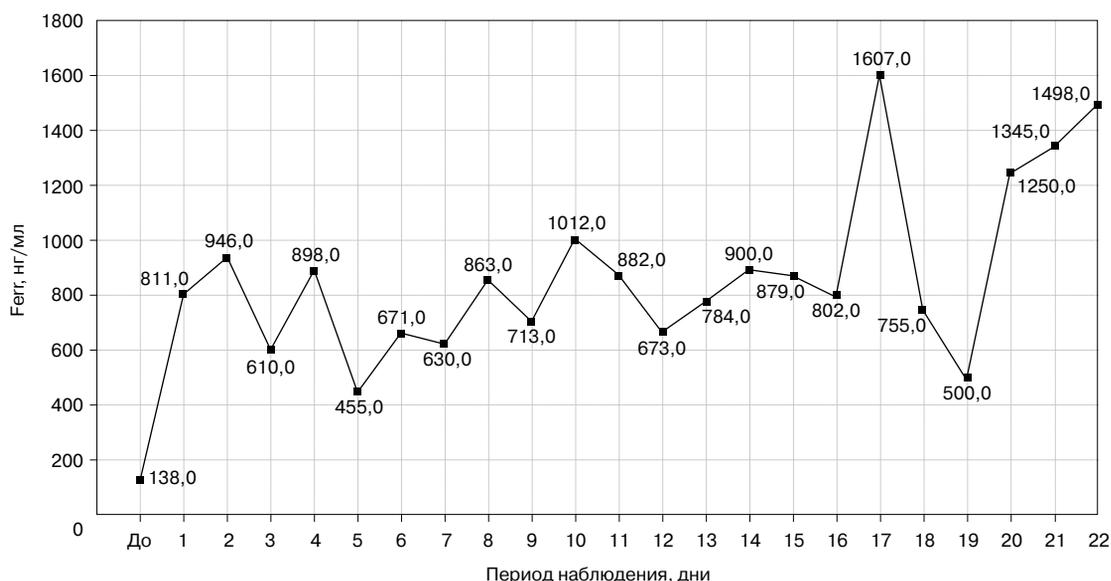


Рисунок 3. Уровень Ferr в динамике у больных после ВХТ и ТКМ.

соким: 182 ± 25 мЕ/мл. В то же время у больных ММ уровень ЕРО был достоверно ниже, чем в других группах, и составил $56,0 \pm 8,39$ мЕ/мл ($p < 0,001$).

При ММ поражение почек является наиболее закономерным и серьезным осложнением болезни. Обычно используется термин «миеломная нефропатия». При ММ патологические изменения могут затрагивать практически все отделы нефрона. Моноклональные белки, секретируемые миеломными клетками, могут привести к повреждению всех структур почки: клубочков, канальцев, интерстициальной ткани и сосудов [29]. В этих условиях естественно снижается выработка ЕРО как гормона, продуцируемого в основном почками [30]. Согласно результатам мониторинга ЕРО по дням мы

наблюдали значительное повышение уровня ЕРО в отдельные дни, несмотря на то что у большинства больных исходно, до начала ТКМ, уровни ЕРО были довольно низкими. Это вызывает много вопросов, например, являются ли исходно низкие уровни ЕРО результатом функционального угнетения или, возможно, при поражении паренхимы почки включаются другие, резервные, механизмы его выработки [31]. Определение эндогенного ЕРО необходимо проводить у онкологических больных, так как это дополнительный показатель состояния миелопоэза: при наличии АХЗ нормальные и высокие показатели ЕРО больше свидетельствуют о прямом угнетении (сокращении плацдарма) кроветворения [20].

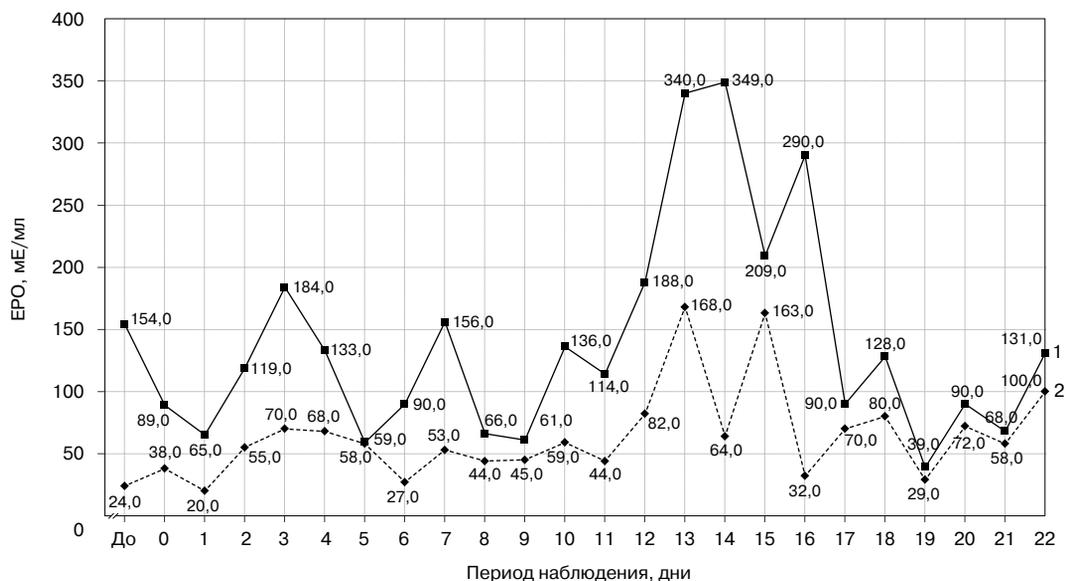


Рисунок 4. Содержание эндогенного ЭПО в динамике у больных после ВХТ и ТКМ. 1 — среднее; 2 — медиана.

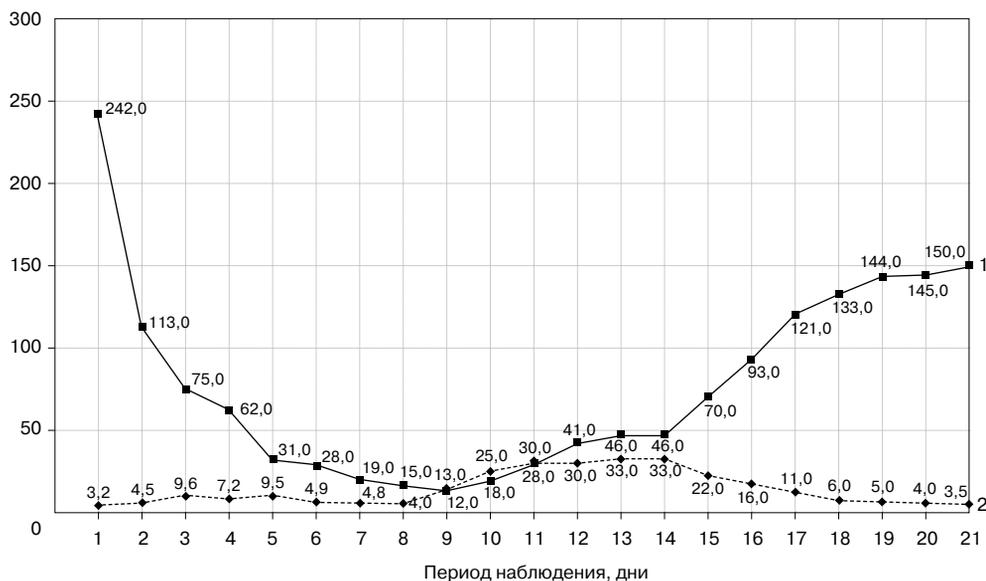


Рисунок 5. Общее число PLT и IPF в динамике у больных после ВХТ и ТКМ. 1 — PLT ($\times 10^9 \text{ л}^{-1}$); 2 — IPF (%).

Таким образом, проведя мониторинг основных гематологических параметров у больных после ВХТ, можно сделать вывод, что исследуемые показатели крови могут быть использованы для адекватной оценки морфологического и функционального состояния кроветворения у больных в условиях ВХТ; могут быть рекомендованы для раннего выявления как восстановления гемопоэза, так и его отсутствия; незрелые формы тромбоцитов, ретикулоцитов и их индексы являются прогностическими критериями начала восстановления гемопоэза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Роль высокодозной химиотерапии с трансплантацией клеток — предшественников гемопоэза в лечении множественной миеломы / Миненко С. В., Попов А. Ю., Жуков Н. В., Вотякова О. М., Птушкин В. В. // Онкогематология. — 2008. — № 4. — С. 119—125.
2. Градация интенсивности и подходы к оптимизации сопроводительной терапии при трансплантации костного мозга / Абдусаламов С. Н., Мелкова К. Н., Чернявская Т. З., Афанасенков А. А. // Клини. онкогематол. — 2009. — Том 2, № 4. — С. 334—342.
3. Бредер В. В., Горбунова В. А., Бесова Н. С. Анемия в онкологической практике // Этюды химиотерапии / Под ред. В. А. Горбуновой. — М.: Литтерра, 2006. — С. 308—328.
4. Рекормон. Инструкция по медицинскому применению препарата. Регистрационный номер 14262/02. Одобрено ФК МЗ РФ 14.03.2002, приказ № 5.
5. High dose therapy and autologous stem cell transplantation does not increase the risk of second neoplasms for patients with Hodgkin's lymphoma: A comparison of conventional therapy alone versus conventional therapy followed by autologous hematopoietic stem cell transplantation / Forrest D. L., Hogge D. E., Nevill T. J., Nantel S. H., Barnett M. J., Shepherd J. D., Sutherland H. J., Toze C. L., Smith C. A., Lavoive J. C., Song K. W., Voss N. J., Gascoyne R. D., Connors J. M. // J. Clin. Oncol. — 2005. — Vol. 23. — P. 7994—8002.
6. Late effects in survivors of Hodgkin and non-Hodgkin lymphoma treated with autologous hemopoietic cell transplantation: A report from the bone marrow transplant survivor study / Majhail N. S., Ness K. K., Burns L. J., Sun C. L., Carter A., Francisco L., Forman S. J., Bhatia S., Baker K. S. // Biol. Blood Marrow Transplant. — 2007. — Vol. 13. — P. 1153—1159.
7. Домникова Н. П., Петрусенко Е. Е., Мальцева Н. А. Клинико-морфологическая характеристика эритронов при лимфопролифе-

ративных заболеваний // Бюл. Сиб. отд. РАМН. — 2008. — Т. 134, № 6. — С. 35—37.

8. A simple technique to determine thrombopoiesis level using immature platelet fraction (IPF) / Abe Y., Wada H., Tamatsu H., Sakaguchi A., Nishioka J., Yabu Y., Onishi K., Nakatani K., Morishita Y., Oguni S., Nobori T. // Thrombosis Res. — 2006. — Vol. 118. — P. 463—469.

9. Коленкин С. М. Референтные величины параметров автоматизированного анализа ретикулоцитов // Клини. лаб. диагн. — 2003. — № 1. — С. 40—42.

10. Reticulocyte maturity as an indicator for estimating quantitative abnormality of erythropoiesis / Watanabe K., Kawai Y., Takeuchi K., Shimizu N., Iri H., Houwen B. // J. Clin. Pathol. — 1994. — Vol. 47. — P. 736—739.

11. RET-Y a measure of reticulocyte size: a sensitive indicator of iron deficiency anemia / Kickler T. S., Borowitz M. J., Thompson R. E., Charintranon N., Law R. // Clin. Lab. Haemat. — 2004. — Vol. 26, N 6. — P. 423—427.

12. Urreschaga E., Borgue L., Escanero J. F. Analysis of reticulocyte parameters on the Sysmex XE 5000 and LH 750 analyzers in the diagnosis of inefficient erythropoiesis // Int. J. Lab. Hemat. — 2011. — Vol. 33, N 1. — P. 37—44.

13. Clinical utility of the new Sysmex XE 2100 parameter — reticulocyte hemoglobin equivalent — in the diagnosis of anemia / Canals C., Remacha A. F., Sarda M. P., Piazuolo J. M., Royo M. T., Romero M. A. // Haematologica. — 2005. — Vol. 90, N 8. — P. 1133—1134.

14. Brugnara C., Schiller B., Moran J. Reticulocyte hemoglobin equivalent (Ret He) and assessment of iron-deficient states // Clin. Lab. Haematol. — 2006. — Vol. 83, N 4. — P. 307—310.

15. Mast A. E., Blinder M. A., Dietzen D. J. Reticulocyte hemoglobin content // Am. J. Hematol. — 2008. — Vol. 83, N 4. — P. 307—310.

16. Смирнова А. А., Марцев С. П. Ферритин и его клиническое значение // Мед. новости. — 1996. — № 7. — С. 11—15.

17. Блиндарь В. Н., Зубрихина Г. Н. Дифференциальная диагностика анемий у онкологических больных // Вестн. РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН. — 2006. — № 2. — С. 19—21.

18. The transplant iron score as a predictor of stem cell transplant survival / Storey J. A., Connor R. F., Lewis Z. T., Hurd D., Pomper G., Keung Y. K., Grover M., Lovato J., Torti S. V., Torti F. M., Molnar I. // J. Hematol. Oncol. — 2009. — Vol. 2. — P. 44.

19. Elevated ferritin is associated with relapse after autologous hemopoietic stem cell transplantation for lymphoma / Mahindra F., Bolwell B., Sobacks R., Rybicki L., Pohlman B., Dean R., Andresen S., Sweetenham J., Kalaycio M., Copelan E. // Biol. Blood Marrow Transpl. — 2008. — Vol. 14. — P. 1239—1244.

20. Сараева Н. О. Механизмы развития анемии при гемобластозах // Гематол. трансфузиол. — 2007. — Т. 52, № 1. — С. 31—37.
21. Регуляторные механизмы обмена железа у больных острым лейкозом / Макешова А. Б., Левина А. А., Мамукова Ю. И., Савченко В. Г. // Тер. арх. — 2009. — № 7. — С. 16—20.
22. Сумная Д. Б. Ферритин в остром периоде черепно-мозговой травмы // Известия Челябинского науч. центра. — 2003. — № 20, вып. 3. — С. 121—124.
23. Anemia as an independent prognostic factor for survival in patients with cancer: a systemic, quantitative review / Caro J. J., Salas M., Ward A., Goss G. // Cancer. — 2001. — Vol. 91. — P. 2214—2221.
24. Milano Morgan, Schneider Maurice EPO in cancer anemia: Benefits and potential risk // Critical Rev. Oncol. Hematol. — 2007. — Vol. 62. — P. 119—125.
25. Expression of erythropoietin and its receptor in human renal cell carcinoma / Papworth K., Bergh A., Grankvist K., Ljungberg B., Rasmussen T. // Tumor Biol. — 2009. — Vol. 30, N 2. — P. 86—92.
26. Prognostic value of plasma erythropoietin on mortality in patients with chronic heart failure / Van der Meer P., Voors A. A., Lipsic E., Smilde T. D., van Gilst W. H., van Veldhuisen D. J. // J. Am. Coll. Cardiol. — 2004. — Vol. 44, N 1. — P. 63—67.

27. Prognostic significance of erythropoietin in pancreatic adenocarcinoma / Welsch T., Zsch bitz S., Becker V., Giese T., Bergmann F., Hinz U., Keleg S., Sipos B., Klingmüller U., Büchler M. W. // PloS. One. — 2011. — Vol. 6, N 8. — P. 23 151.
28. Roque M. E., Sandoval M. J., Aggio M. C. Serum erythropoietin and its relation with soluble transferrin receptor in patients with different types of anaemia in a locally defined reference population // Clin. Lab. Haematol. — 2001. — Vol. 23, N 5. — P. 291—295.
29. Почечная недостаточность при множественной миеломе. Обзор литературы и собственные данные / Рыжко В. В., Бирюкова А. С., Чавынчак Р. Б., Клодзинский А. А. // Клини. онкогематол. — 2009. — Т. 2, № 4. — С. 316—325.
30. Блиндарь В. Н., Зубрихина Г. Н. Диагностическая значимость определения уровня эритропоэтина в клинической практике // Вестн. РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН. — 2007. — Т. 18, № 1. — С. 10—15.
31. Erythropoietin and erythropoietin receptor expression in human cancer / Acs G., Acs P., Beckwith S. M., Pitts R. L., Clements E., Wong K., Verma A. // Cancer Res. — 2001. — Vol. 61, N 9. — P. 3561—3565.

Поступила 26.09.2011

*Galina Nikolayevna Zubrikhina¹, Valentina Nikolayevna Blindar²,
Irina Ivanovna Matveyeva³, Tatiana Zakharovna Chernyavskaya⁴,
Kapitolina Nikolayevna Melkova⁵*

EVALUATION OF LABORATORY FINDINGS CHARACTERIZING HEMOPOIESIS FUNCTIONING IN PATIENTS WITH HEMATOLOGY MALIGNANCY ON HIGH-DOSE CHEMOTHERAPY AND AUTOLOGOUS HEMOPOIETIC STEM CELL TRANSPLANTATION

¹ MD, PhD, DSc, Leading Researcher, Clinical Diagnosis Laboratory, Centralized Clinical Laboratory Division, Clinical Oncology Research Institute, N. N. Blokhin RCRC RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, RF)

² MSc, PhD, DSc, Leading Researcher, Clinical Diagnosis Laboratory, Centralized Clinical Laboratory Division, Clinical Oncology Research Institute, N. N. Blokhin RCRC RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, RF)

³ MD, PhD, DSc, Head, Clinical Diagnosis Laboratory, Centralized Clinical Laboratory Division, Clinical Oncology Research Institute, N. N. Blokhin RCRC RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, RF)

⁴ Physician, Resuscitation and Intensive Care Unit No.3 (Bone Marrow Transplantation and Intensive Care), N. N. Blokhin RCRC RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, RF)

⁵ MD, PhD, Head, Resuscitation and Intensive Care Unit No.3 (Bone Marrow Transplantation and Intensive Care), N. N. Blokhin RCRC RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, RF)

Address for correspondence: Zubrikhina Galina Nikolayevna, Clinical Diagnosis Laboratory, Centralized Clinical Laboratory Division, Clinical Oncology Research Institute, N. N. Blokhin RCRC RAMS, 24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, RF; e-mail: zubrikhina@yandex.ru

The paper analyzes peripheral blood findings from 34 patients (276 tests) at different time points following high-dose polychemotherapy and autologous hemopoietic stem cell transplantation. Most patients had resistant disease. Blood samples were tested for 26 parameters including reticulocytes, reticulocyte and platelet indices. Ferritin, soluble transferrin receptor contents, endogenous erythropoietin were measured. Most patients had anemia before high-dose chemotherapy identified as chronic anemia with high or normal ferritin levels and erythropoietin production not adequate to anemia degree. Testing for young platelet, reticulocyte forms and their indices was shown highly informative for prediction of hemopoiesis recovery start.

Key words: hematology malignancy, high-dose polychemotherapy, hematology parameters.

Валентина Михайловна Нечушкина¹, Константин Юрьевич Морхов²,
Виктор Васильевич Кузнецов³

КЛАССИФИКАЦИЯ СТАДИЙ РАКА ТЕЛА МАТКИ (FIGO, 2009 г.): ПРЕИМУЩЕСТВА И НЕДОСТАТКИ

¹ К. м. н., старший научный сотрудник, гинекологическое отделение НИИ клинической онкологии
РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

² К. м. н., старший научный сотрудник, гинекологическое отделение НИИ клинической онкологии
РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

³ Д. м. н., профессор, заведующий, гинекологическое отделение НИИ клинической онкологии
РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

Адрес для переписки: 115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, д. 24,
НИИ клинической онкологии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, гинекологическое отделение,
Нечушкина Валентина Михайловна; e-mail: drnechushkina@mail.ru

В 2009 г. Международная федерация акушеров и гинекологов (FIGO) приняла пересмотренную классификацию стадий рака тела матки. Цель данного исследования — оценить выживаемость больных раком тела матки в зависимости от стадий по классификациям FIGO 1988 и 2009 гг. Стадии рака тела матки по обеим классификациям были определены у 1043 больных эндометриодным раком тела матки, получавших лечение в РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН в 1990—2000 гг.. Пятилетняя общая выживаемость больных раком тела матки IA стадии по классификации FIGO 1988 г. была 92,6%, IB стадии — 89,9%. При использовании классификации 2009 г. выживаемость больных составила 90,4 и 77,1% соответственно. Пятилетняя общая выживаемость больных раком тела матки II стадии по классификации FIGO 2009 г. была ниже выживаемости больных раком тела матки IA и IB стадий. Существенные различия отмечены при анализе выживаемости больных раком тела матки III C1 и III C2 стадий. Она составила 70,0 и 0% соответственно. Классификация FIGO 2009 г. позволяет выделить группы больных раком тела матки, существенно различающиеся по прогнозу.

Ключевые слова: рак тела матки, классификация стадий FIGO, выживаемость.

Повышенное внимание к проблемам диагностики и лечения рака тела матки (РТМ) объясняется ростом распространенности этой опухоли. В 2008 г. в России стандартизованная заболеваемость РТМ (мировой стандарт) составила 15,1 на 100 000 женщин. РТМ занимал 3-е место в структуре заболеваемости женщин злокачественными новообразованиями (7,2%) и 4-е место по приросту заболеваемости за период с 2003 по 2008 г. (14,8%). Несмотря на то что у 85—90% больных РТМ распространенность опухоли соответствует I—II клиническим стадиям по классификации FIGO, в России в 2008 г. в структуре смертности женщин от злокачественных новообразований РТМ занимал 2-е место среди опухолей женских половых органов после рака яичников. РТМ — единственная опухоль женских половых органов, для которой за период с 2003 по 2008 г. в России отмечен прирост смертности (на 2,3%) [1].

Определение стадий злокачественных новообразований — один из основополагающих принципов клиниче-

ской онкологии. Оно создает основу для планирования лечения и оценки его результатов, оценки прогноза, обмена данными между медицинскими учреждениями и научных исследований. Именно определение прогностически разнородных групп больных, характеризующихся статистически достоверно разной выживаемостью, и является основным принципом разработки классификаций стадий [2].

Классификации стадий злокачественных опухолей женских половых органов разрабатывает Международная федерация акушеров и гинекологов (International Federation of Gynecology and Obstetrics, FIGO). Классификации FIGO являются основой для классификаций TNM по соответствующим нозологиям, разрабатываемым Международным противораковым союзом (Union for International Cancer Control, UICC) и его национальными комитетами, самым известным из которых является Американская объединенная комиссия по злокачественным новообразованиям (American Joint Commission on Cancer, AJCC), выпускающая собственную классификацию TNM.

Существуют две классификации стадий РТМ. Клиническая классификация, или классификация FIGO 1971 г.,

сегодня используется у больных, которым по каким-либо причинам не проводят хирургическое лечение. Во всех остальных случаях применяют хирургическую классификацию, впервые принятую FIGO в 1988 г. Именно она и основанная на ней классификация TNM 6-го пересмотра по сей день применяются в подавляющем большинстве онкологических учреждений нашей страны, несмотря на то что с начала 2009 г. во многих других странах уже используется классификация FIGO 2009 г. и соответствующая ей классификация TNM 7-го пересмотра (табл. 1) [3].

По сравнению с классификацией 1988 г. в классификацию 2009 г. внесен ряд существенных изменений. Во-первых, объединены IA и IB стадии. Во-вторых, в данной классификации при определении стадии больше не учитывается переход опухоли на слизистую цервикального канала и наличие опухолевых клеток в смывах из брюшной полости. В-третьих, внесены уточнения в описание IIIB стадии. Согласно классификации FIGO 2009 г., сейчас к ней относятся не только опухоли с поражением влагалища, но и опухоли с распространением на параметрий (ранее такое распространение не оговаривалось в классификации). В четвертых, III стадия в настоящее время подразделяется на III C1 и III C2 стадии в зависимости от поражения тазовых или поясничных лимфатических узлов соответственно. Кроме того, из классификации FIGO 2009 г. изъята 0 стадия, ранее соответствующая стадии Tis в классификации TNM (соответствующий пункт в классификации TNM 7-го пересмотра сохранен). Это единственное отличие классификации FIGO 2009 г. и классификации TNM 7-го пересмотра.

Поскольку определение стадии чрезвычайно важно как для оценки прогноза, так и для планирования адъювантного лечения, мы решили оценить выживаемость больных РТМ разных стадий по классификациям 1988 и 2009 гг., а также сравнить полученные данные с результатами аналогичных исследований, недавно опубликованных исследователями из США [4; 5].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проанализированы результаты лечения 1043 больных эндометриоидным РТМ. Все больные находились на лечении в РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН в 1990—2000 гг. У всех больных, включенных в исследование, в медицинской документации было достаточно данных для применения классификации хирургических стадий РТМ по классификациям 1988 и 2009 г. Анализировали 5-летнюю общую выживаемость больных, рассчитанную по методу Каплана—Мейера. Статистический анализ проводили с помощью пакета «IBM SPSS Statistics» (версия 19).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

I стадия

В классификации FIGO 2009 г. объединены между собой IA и IB стадии. Таким образом, согласно классификации 2009 г. к IA стадии относятся опухоли, ограниченные телом матки, без инвазии миометрия, а также опухоли с инвазией < 1/2 толщины миометрия, а к IB стадии — опухоли с инвазией < 1/2 толщины миометрия. Это обусловлено сходными выживаемостью, частотой поражения регионарных лимфатических узлов и результатами хирургического и комбинированного лечения больных РТМ IA и

Таблица 1

Хирургические стадии РТМ (FIGO, UICC, 2009 г.)

FIGO	Описание	TNM (7-й пересмотр)
	Оценить первичную опухоль невозможно	Tx
	Первичная опухоль не определяется	T0
	Pak in situ	Tis
I	Опухоль ограничена телом матки ^a	T1
IA	Опухоль в пределах эндометрия или инвазия < 1/2 толщины миометрия	T1a
IB	Инвазия ≥ 1/2 толщины миометрия	T1b
II	Опухоль распространяется на строму шейки матки, но не выходит за пределы матки	T2
III		T3 и/или N1
IIIA	Прорастание серозной оболочки матки, метастазы в маточных трубах или яичниках (непосредственное распространение или метастазы) ^b	T3a
IIIB	Распространение на влагалище или параметрий (непосредственное распространение или метастазы)	T3b
IIIC1	Метастазы в тазовых лимфатических узлах	N1
IIIC2	Метастазы в поясничных лимфатических узлах, независимо от наличия метастазов в тазовых лимфатических узлах	N1
IV		
IVA	Прорастание слизистой мочевого пузыря или прямой кишки ^c	T4
IVB	Отдаленные метастазы, в том числе метастазы в пределах брюшной полости, а также метастазы в паховых лимфатических узлах, за исключением поражения влагалища, придатков матки, тазовой брюшины, тазовых и поясничных лимфатических узлов	M1

^a Опухоли с распространением на эндоцервикальные железы относятся к I стадии.

^b Наличие опухолевых клеток в асците или смывах из брюшной полости отмечается в медицинской документации, но не меняет стадию.

^c Наличие буллезного отека недостаточно для отнесения опухоли к T4. Прорастание слизистой должно быть подтверждено при биопсии.

IV стадий по классификации FIGO 1988 г. [6; 7]. Согласно 26-му ежегодному отчету о результатах лечения злокачественных опухолей женских половых органов FIGO, 5-летняя общая выживаемость больных РТМ IA стадии по классификации 1988 г. составляет 90,8%, IV стадии — 91,1%, причем она существенно выше, чем аналогичный показатель у больных IC стадии (85,4%) [7]. Существенный прирост частоты метастазов как в тазовых, так и в поясничных лимфатических узлах отмечается при поражении наружной половины миометрия, что соответствовало IC стадии по классификации FIGO 1988 г. [6; 7]. Еще одним доводом в пользу объединения IA и IV стадий были сходные результаты хирургического и комбинированного лечения и существенно более низкие результаты комбинированного и хирургического лечения больных РТМ IC стадии [7].

Пятилетняя общая выживаемость больных РТМ IA и IV стадий, лечившихся в РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, по классификации FIGO 1988 г. составила 92,6 и 89,9%, по классификации 2009 г. — 90,4 и 77,1% (табл. 2). По данным S. N. Lewin и соавт., 5-летняя общая выживаемость больных РТМ IA и IV стадий по классификациям FIGO 1988 и 2009 гг. составила 90,7 и 88,9%; 89,6 и 77,6% соответственно. Причем эта закономерность сохранялась в подгруппе больных, которым выполнена лимфаденэктомия (91,9 и 89,6; 90,1 и 80,0% соответственно) [4]. Однако по мнению N. R. Abu-Rustum и соавт. (2011), использование классификации FIGO 2009 г. устраняет наиболее прогностически благоприятную группу — больных РТМ без инвазии миометрия, что снижает информативность классификации [5].

II стадия

Из классификации FIGO 2009 г. изъята II стадия. Ранее относившиеся к ней больные распределяются между IA и IV стадиями. Таким образом, согласно классификации FIGO 2009 г. II стадия не подразделяется на подстадии и к ней относятся только опухоли, распространяющиеся на строму шейки матки, но не выходящие за пределы матки. Это обусловлено сходными выживаемостью и результатами хирургического и комбинированного лечения больных РТМ IC и II стадий по классификации FIGO 1988 г. [7]. Так, по данным 26-го ежегодного отчета о результатах лечения злокачественных опухолей женских половых органов FIGO, 5-летняя общая выживаемость больных РТМ IC и II стадий составляет 85,4 и 83,3%, а при IIB стадии — 74,2%. При этом результаты хирургического и комбинированного лечения РТМ II стадии (5-летняя общая выживаемость 85,7 и 83,6% соответственно) близки и существенно выше таковых при РТМ IIB стадии (56,4 и 76,8% соответственно) [7].

Пятилетняя общая выживаемость больных РТМ IC и II стадий по классификации FIGO 1988 г., по данным S. N. Lewin и соавт., составила 77,6 и 78,9%, в то время как 5-летняя общая выживаемость больных IV и II стадий по классификации 2009 г. отличалась более заметно (77,6 и 73,5% соответственно) [4]. По данным РОНЦ им. Н. Н. Блохина, при использовании классификации FIGO 1988 г. 5-летняя общая выживаемость больных РТМ IC и II стадий различалась более существенно (78,0 и 72,2%), однако различия становились более заметными при применении классификации 2009 г. (больные РТМ IV

Таблица 2

Пятилетняя общая выживаемость больных РТМ в зависимости от стадий по классификациям FIGO 1988 и 2009 гг.^a, %

Стадия	S. N. Lewin и соавт. (2010 г.)		Собственные данные	
	FIGO (1999 г.)	FIGO (2009 г.)	FIGO (1999 г.)	FIGO (2009 г.)
IA	90,7 (18 960)	89,6 (48 353)	92,6 (199)	90,4 (699)
IV	88,9 (29 393)	77,6 (8404)	89,9 (478)	77,1 (184)
IC	77,6 (8404)	—	78,0 (162)	—
II	—	73,5 (1618)	—	63,6 (60)
IIA	78,9 (1660)	—	72,2 (38)	—
IIB	73,5 (1618)	—	63,6 (60)	—
IIIA	58,9 (3003)	56,3 (2137)	60,7 (50)	55,1 (44)
IIIB	36,2 (332)	36,2 (332)	14,3 (7)	14,3 (7)
IIIC	53,8 (3120)	—	58,3 (15)	—
IIIC1	—	57,0 (1842)	—	70,0 (13)
IIIC2	—	49,4 (1010)	—	0 (2)
IVA	22,0 (146)	22,0 (146)	—	—
IVB	21,1 (3338)	21,1 (3338)	23,1 (34)	23,1 (34)

^a В скобках указано число больных.

и II стадий; см. табл. 2). По данным S. N. Lewin и соавт., в подгруппе больных, которым выполнена лимфаденэктомия, эта закономерность исчезала (классификация 1988 г.: IC стадия — 80,0%, II стадия — 84,7%; классификация 2009 г.: IV стадия — 80,0%, II стадия — 80,5%) [4]. По-видимому, на выживаемость больных РТМ с поражением стромы шейки матки влияют прежде всего метастазы в регионарных лимфатических узлах, частота которых при поражении стромы шейки матки, по данным W. T. Creasman и соавт. (1987), составляет 16% [6].

III стадия

Согласно классификации FIGO 2009 г., к IIIA стадии РТМ больше не относятся опухоли, при которых обнаружены опухолевые клетки в асците или смывах из брюшной полости. Стадию в этих случаях теперь следует определять без учета этого фактора. Данное изменение классификации, по-видимому, определяется отсутствием единого мнения о прогностической роли обнаружения опухолевых клеток в асците или смывах при РТМ. Между тем, 5-летняя общая выживаемость больных при опухолях IIIA стадии с опухолевыми клетками в смывах

из брюшной полости, отнесенных согласно классификации FIGO 2009 г. к I стадии, оказывается ниже таковой у больных РТМ I стадии по классификации FIGO 1988 г., по крайней мере при IA стадии (75,3 и 89,2% соответственно) [5].

В классификации FIGO 2009 г. IIIС стадия разделена на две подстадии. Таким образом, к IIIС1 стадии относятся опухоли с метастазами в тазовых лимфатических узлах, а к IIIС2 — опухоли с метастазами в поясничных лимфатических узлах независимо от поражения тазовых (согласно классификации TNM 7-го пересмотра в обоих случаях определяется индекс N1). Данное изменение внесено в связи с тем, что поражение поясничных лимфатических узлов при РТМ прогностически более неблагоприятно, чем поражение тазовых, и характеризуется более низкой выживаемостью. Так, 5-летняя общая выживаемость при IIIС стадии по классификации FIGO 1988 г. составляла 53,8%, при IIIС1 стадии по новой классификации — 57,0%, при IIIС2 стадии — 49,4% [4]. По данным РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, 5-летняя общая выживаемость больным РТМ III стадии по классификации FIGO 1988 г. составила 58,3%, при IIIС1 стадии по классификации 1988 г. — 70,0%, при IIIС2 стадии — 0%.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изменение классификации FIGO привело к существенному увеличению числа наблюдений, которые должны относиться к IA и IB стадиям. Так, к IA стадии сейчас относятся опухоли, ранее относившиеся к IA, IB, IIA (при инвазии < 1/2 толщины миометрия), а также к IIIA (при наличии опухолевых клеток в смывах из брюшной полости и инвазии < 1/2 толщины миометрия) стадии, а к IB стадии — опухоли, ранее относившиеся к IC, IIA (при инвазии ≥ 1/2 толщины миометрия), а также к IIIA (при наличии опухолевых клеток в смывах из брюшной полости и инвазии ≥ 1/2 толщины миометрия) стадии. Это существенно увеличивает число вариантов лечения, назначаемых больным РТМ I стадии, что снижает информативность классификации, однако на выбор метода лечения РТМ всегда влияла не только стадия, но и многие другие факторы прогноза, в частности гистологический тип опухоли, степень дифференцировки, наличие опухолевых эмболов в лимфатических щелях и т. д.

Гораздо больше вопросов возникает при анализе IIIС стадии. Дискуссия относительно лимфаденэктомии при РТМ продолжается уже более 20 лет. К сожалению, ни в 1988, ни в 2009 г. FIGO не дала точных рекомендаций, о том, как оценивать состояние лимфатических узлов при определении хирургической стадии РТМ. Кому и когда выполнять лимфаденэктомию при РТМ? Какой риск метастазов в лимфатических узлах при РТМ следует считать клинически значимым? Когда выполнять тазо-

вую, а когда тазовую и поясничную лимфаденэктомию? Однозначных ответов на эти вопросы пока нет.

Переход на новую классификацию неизбежен, потому что она позволяет говорить на одном языке и сравнивать результаты лечения. Определение хирургической стадии позволяет намного точнее оценивать прогноз при РТМ, потому что данные предоперационного обследования и определенная на их основании клиническая стадия не совпадают с операционными находками и результатами гистологического исследования у половины больных [8]. Распространение опухоли за пределы матки выявляется во время операции у 19—38% больных РТМ [6; 9; 10]. Все это, а также продолжающаяся дискуссия о роли лимфаденэктомии при РТМ объясняют важность разработки рекомендаций по определению хирургической стадии РТМ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Давыдов М. И., Аксель Е. М. Статистика злокачественных новообразований в России и странах СНГ в 2008 г. // Вестн. РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН. — 2010. — Т. 21, № 2 (прил. 1). — 160 с.
2. History of the FIGO cancer staging system / Odicino F., Pecorelli S., Zigliani L., Creasman W. T. // Int. J. Gynaecol. Obstet. — 2008. — Vol. 101, N 2. — P. 205—210.
3. Pecorelli S. Revised FIGO staging for carcinoma of vulva, cervix, and endometrium // Int. J. Gynec. Obstet. — 2009. — Vol. 105. — P. 103—104.
4. Comparative Performance of the 2009 International Federation of Gynecology and Obstetrics' Staging System for Uterine Corpus Cancer / Lewin S. N., Herzog T. J., Barrena Medel N. I., Deutsch I., Burke W. M., Sun X., Wright J. D. // Obstet. Gynecol. — 2010. — Vol. 116, N 5. — P. 1141—1149.
5. The Revised 2009 FIGO Staging System for Endometrial Cancer. Should the 1988 FIGO Stages IA and IB Be Altered? / Abu-Rustum N. R., Zhou Q., Iasonos A., Alektiar K. M., Leitaio, Jr., M. M., Chi D. S., Sonoda Y., Soslow R., Hensley M., Barakat R. R. // Int. J. Gynecol. Cancer. — 2011. — Vol. 21. — P. 511—516.
6. Surgical Pathologic Spread Patterns of Endometrial Cancer. A Gynecologic Oncology Group Study / Creasman W. T., Morrow C. P., Bundy B. N., Homesley H. D., Graham J. E., Heller P. B. // Cancer. — 1987. — Vol. 60. — P. 2035—2041.
7. Carcinoma of the Corpus Uteri / Creasman W. T., Odicino F., Maisonneuve P., Quinn M. M., Beller U., Benedet J. L., Heintz A. P. M., Ngan H. Y. S., Pecorelli S. // Int. J. Gynec. Obstet. — 2006. — Vol. 95 (suppl. 1). — P. S105—S143.
8. Comparison of clinical and surgical staging in patients with endometrial carcinoma / Cowles T. A., Magrina J. F., Masterson B. J., Capen C. V. // Obstet. Gynecol. — 1985. — Vol. 66, N 3. — P. 413—416.
9. Chen S. S. Extruterine spread in endometrial carcinoma clinically confined to the uterus // Gynecol. Oncol. — 1985. — Vol. 21, N 1. — P. 23—31.
10. The value of exploratory laparotomy in patients with endometrial carcinoma according to the new International Federation of Gynecology and Obstetrics staging / Vardi J. R., Tadros G. H., Anselmo M. T., Rafila S. D. // Obstet. Gynecol. — 1992. — Vol. 80, N 2. — P. 204—208.

Поступила 15.12.2011

*Valentina Mikhailovna Nechushkina¹, Konstantin Yurievich Morkhov²,
Viktor Vasilievich Kuznetsov³*

FIGO STAGING SYSTEM 2009 FOR ENDOMETRIAL CANCER: ADVANTAGES AND DISADVANTAGES

¹ MD, PhD, Senior Researcher, Department of Gynecology, Clinical Oncology Research Institute,
N. N. Blokhin RCRC RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, RF)

² MD, PhD, Senior Researcher, Department of Gynecology, Clinical Oncology Research Institute,
N. N. Blokhin RCRC RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, RF)

³ MD, PhD, DSc, Professor, Head, Department of Gynecology, Clinical Oncology Research Institute,
N. N. Blokhin RCRC RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, RF)

Address for correspondence: Nechushkina Valentina Mikhailovna, Department of Gynecology,
Clinical Oncology Research Institute, N. N. Blokhin RCRC RAMS, 24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, RF;
e-mail: drnechushkina@mail.ru

In 2009, FIGO (International Federation of Gynecology and Obstetrics) proposed a revised staging classification system for endometrial cancer. The objective of the study was to compare the survival of endometrial cancer patients according to the 1988 and 2009 FIGO staging systems. One-thousand and forty-three women with endometrioid adenocarcinoma of the uterus treated in N. N. Blokhin RCRC RAMS between 1990 and 2000 were classified based on 1988 and 2009 staging systems. Based on the 1988 staging system, 5-year overall survival for stage IA was 92.6% compared with 89.9% for stage IB. In the 2009 system, survival was 90.4% for stage IA and 77.1% for stage IB. The survival for FIGO 2009 stage II was inferior to all stage I patients. The newly defined IIIC substages are prognostically different. Survival for stage IIIC1 was 70.0% compared with 0% for stage IIIC2. The 2009 FIGO staging system for uterine corpus cancer is highly prognostic.

Key words: endometrial cancer, FIGO staging system, survival.

Светлана Александровна Полозкова¹, Надежда Федоровна Орел²,
Алла Анатольевна Маркович³, Вера Андреевна Горбунова⁴

АРАНОЗА В МОНОРЕЖИМЕ И В КОМБИНАЦИИ С КАПЕЦИТАБИНОМ В ЛЕЧЕНИИ РАСПРОСТРАНЕННЫХ НЕЙРОЭНДОКРИННЫХ ОПУХОЛЕЙ: ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ КЛИНИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

¹ Аспирант, отделение химиотерапии НИИ клинической онкологии
РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

² Д. м. н., ведущий научный сотрудник, отделение химиотерапии НИИ клинической онкологии
РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

³ К. м. н., старший научный сотрудник, отделение амбулаторных методов диагностики и лечения
НИИ клинической онкологии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН
(115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

⁴ Профессор, г. м. н., заведующая, отделение химиотерапии НИИ клинической онкологии
РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

Адрес для переписки: 115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, д. 24, отделение химиотерапии
НИИ клинической онкологии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН,
Полозкова Светлана Александровна; e-mail: elevana@list.ru

Целью исследования является разработка новых режимов лекарственной терапии на основе Аранозы в целях повышения эффективности лечения метастатических нейроэндокринных опухолей. Для этого был проведен анализ эффективности и токсичности двух схем химиотерапии в 1-й и последующих линиях лечения: (1) Араноза, 480—690 мг/м² внутривенно в 1—3-й дни каждые 3 нед; (2) Араноза, 500—760 мг/м² внутривенно в 1—2-й дни + капецитабин, 2 г/м²/сут в 1—14-й дни. В исследование были включены 30 пациентов. Определена эффективность схем лечения в зависимости от локализации первичной опухоли, степени дифференцировки ткани опухоли, индекса пролиферации Ki-67. Оценена токсичность Аранозы в монорежиме и в комбинации с капецитабином. Изучены симптоматический и биохимический ответы на лечение. Показано, что Араноза достаточно эффективна при обоих режимах лечения в 1-й и последующих линиях терапии и обладает умеренной токсичностью.

Ключевые слова: Араноза, нейроэндокринные опухоли, капецитабин, химиотерапия.

К нейроэндокринным опухолям (НЭО) относятся новообразования, которые происходят из клеток диффузной эндокринной системы, способных продуцировать пептидные гормоны и биологически активные амины [1].

Заболеваемость НЭО составляет 2—5 случаев на 100 000 населения. НЭО встречаются чаще у мужчин, чем у женщин (соотношение 2,6:1,8), и составляют 0,5—1% от всех злокачественных опухолей человека [2]. Молекулярные основы патогенеза НЭО недостаточно изучены. Зачастую возникновение НЭО носит спорадический характер, в 10% случаев опухоль может быть ассоциирована с генетическими синдромами: множественная эндокринная неоплазия 1-го типа (синдром Вернера), синдром Гиппеля—Линдау, нейрофиброматоз 1-го типа (болезнь Реклингхаузена) [3]. НЭО являются производными различных эмбриональных отделов пер-

вичной кишки — верхнего (foregut), из которого дифференцируются бронхи, легкие, желудок, проксимальный отдел двенадцатиперстной кишки, поджелудочная железа; среднего (midgut), предшественника дистального отдела двенадцатиперстной кишки, тощей, подвздошной, слепой и восходящей ободочной кишки, а также червеобразного отростка; нижнего (hindgut), из которого развиваются дистальные отделы толстой кишки и прямая кишка. Наиболее частая локализация НЭО — желудочно-кишечный тракт (73%) и бронхолегочная система (25%). В желудочно-кишечном тракте НЭО часто развиваются в тонкой кишке (45%), затем по частоте следуют прямая кишка (20%), червеобразный отросток (17%), ободочная кишка (11%) и желудок (7%) [4; 5].

Наиболее частым секретируемым биологически активным веществом при НЭО является серотонин. Высвобождение биологически активных веществ в кровоток вызывает так называемый карциноидный синдром, проявляющийся диареей (70%), приливами (90%), болью в животе (40%), бронхоспазмом и со временем из-

менением клапанов правых отделов сердца. Однако часто клинические признаки отсутствуют. На этом основано разделение НЭО на функционирующие и нефункционирующие. В настоящее время, по данным ряда авторов, около 60% НЭО являются нефункционирующими [3; 6].

Диагноз НЭО ставится на основании характерных клинических проявлений, например карциноидного синдрома, оценки уровня маркеров сыворотки, данных морфологического исследования и тканевых маркеров, определяемых при иммуногистохимическом исследовании. Лечение и прогноз заболевания зависят от степени дифференцировки опухоли [7; 8].

Основной метод лечения больных с НЭО — хирургический. К сожалению, из-за позднего выявления опухоли выполнение операции часто оказывается невозможным, так как заболевание диагностируется при наличии метастазов. В случае метастатического НЭО (мНЭО) используются методы интервенционной радиологии (химиоэмболизация и радиочастотная абляция), а также лекарственное лечение для контроля симптомов болезни, торможения роста опухоли, в целях улучшения качества жизни и, возможно, увеличения выживаемости.

Лекарственная терапия включает аналоги соматостатина, иммуно- и химиотерапию, а также таргетные препараты. Эффективность химиотерапии при НЭО зависит от степени злокачественности, определяемой по классификации Всемирной организации здравоохранения и индексу пролиферации опухолевых клеток Ki-67 (MIB-1), а также локализации опухоли [9—11].

За рубежом для лечения НЭО применяют стрептозотоцин-2-дезоксид-2(3-метил-3-нитрозомочевина)-глюкозамин, однако в РФ этот препарат не поставляется. Наиболее близким по химической структуре аналогом стрептозотоцина в РФ является Араноза — 3-(α -L-арабинопиранозил-1)-1-метил-1-нитрозомочевина, представляющая собой метильное производное нитрозомочевины, в котором носителем цитотоксической группы служит моносахарид L-арабиноза. Араноза синтезирована в 1975 г. в РОНЦ АМН СССР [12; 13]. Как и стрептозотоцин, Араноза является сахаросодержащим производным нитрозомочевины. Структурные формулы стрептозотоцина и Аранозы представлены на рисунке.

Механизм действия Аранозы обусловлен ингибированием синтеза ДНК в опухолевых клетках. В эксперименте выявлены высокая противоопухолевая активность и преимущество Аранозы перед производными нитрозо-

мочевины, такими, как нитрозометилмочевина и стрептозотоцин [14].

В дальнейшем на основании результатов клинических исследований Араноза разрешена для применения у взрослых и детей в качестве противоопухолевого средства при меланоме кожи как в монотерапии, так и в комбинации с другими противоопухолевыми препаратами.

Близость химической структуры Аранозы и стрептозотоцина, который входит в стандарты лечения НЭО за рубежом, послужила основанием для начала исследования данного препарата при лечении пациентов с мНЭО в отделении химиотерапии РОНЦ им. Н. Н. Блохина.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование за период 2010—2011 г. включены 30 пациентов, характеристика которых представлена в табл. 1.

В ходе исследования 14 пациентов получили лечение с использованием Аранозы в монорежиме (480—690 мг/м² в 1—3-й дни каждые 3 нед) и 16 пациентов — Аранозу, 500—760 мг/м² в 1—2-й дни, в комбинации с капецитабином, 2 г/м²/сут в 1—14-й дни.

Перед началом лечения Аранозой 12 пациентам была проведена химиотерапия (от 1 до 5 линий), включающая практически весь спектр используемых для лечения НЭО цитостатиков (этопозид, цисплатин, оксалиплатин, капецитабин, фторурацил, гемцитабин, таксаны, темозоломид, иринотекан).

Клинические признаки карциноидного синдрома наблюдались у 14 (46,7%) больных, биохимические признаки карциноидного синдрома (повышение уровня хотя бы одного из показателей: хромогранин А, 5-гидроксииндолуксусная кислота, серотонин) — у 26 (86,7%). Пациенты с клиническим или биохимическим карциноидным синдромом (n = 22) одновременно с химиотерапией получали аналоги соматостатина, начиная с первого курса (n = 17) или в процессе лечения (3 получали препараты с третьего курса, 2 — с пятого). Пациентов обследовали до начала химиотерапии и через каждые 2 курса до момента ее окончания с использованием методов визуализации (ультразвукового исследования, компьютерной томографии, магнитно-резонансной томографии). Лечение проводили до достижения максимального эффекта, после чего назначали 2 курса консолидирующей химиотерапии в тех же режимах. В случае достижения стабилизации после 4 курсов химиотерапии без нарастания положи-

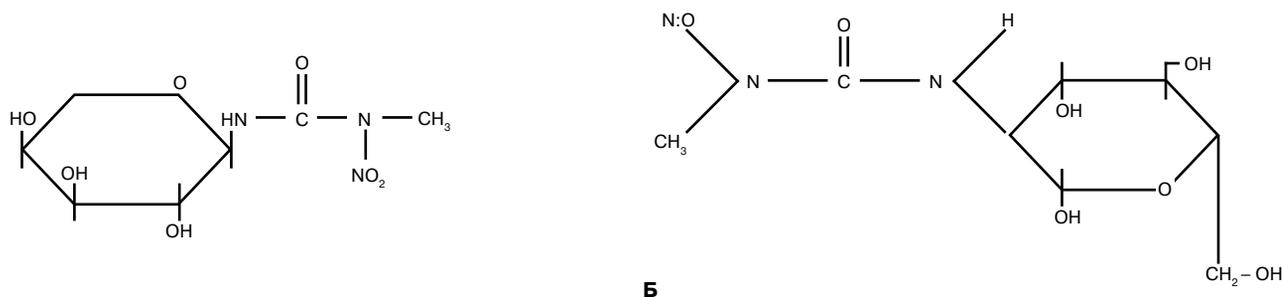


Рисунок. Структурные формулы препаратов. А. Араноза (3-(α -L-арабинопиранозил-1)-1-метил-1-нитрозомочевина; разработана и синтезирована в РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН). **Б.** Стрептозотоцин.

Таблица 1

Характеристика пациентов, включенных в исследование

Характеристика	Абс. число	%
Пол		
Мужчины	9	30
Женщины	21	70
Средний возраст, годы	54 (26—75)	
Исходное общее состояние по шкале ECOG, баллы		
0	6	20
1	22	73,3
2	2	6,7
Локализация первичного очага		
Поджелудочная железа	14	46,7
Тонкая кишка	5	16,7
Слепая кишка	3	10
Печень	1	3,3
Прямая кишка	1	3,3
Почка	3	10
Метастазы в печени без выявленного первичного очага	3	10
Подтверждение диагноза		
Цитологическое	1	3
Гистологическое	29	96,7
Иммуногистохимическое	27	90
Индекс пролиферации Ki-67 (n = 25)		
Менее 3%	4	16
От 3 до 20% включительно	18	72
Более 20%	3	12
Карциноидный синдром		
Биохимические проявления	26	86,7

Таблица 1. Окончание.

Характеристика	Абс. число	%
Клинические проявления	14	46,7
Локализация метастазов		
Печень	26	86,7
Кости	3	10
Регионарные лимфатические узлы	21	70
Брюшина	1	3,3
Поджелудочная железа	1	3,3
Легкие	1	3,3
Предшествующее лечение		
Химиотерапия	12	–
Аналоги соматостатина	13	–
Интерферон α	11	–
Хирургическое лечение	21	–
Режимы		
Араноза	14	46,7
Араноза + капецитабин	16	53,3
Линии лечения Аранозой		
1-я	18	60
2-я	5	16,7
3-я	4	13,3
4-я	2	6,7
5-я	1	3,3

тельной динамики проводили еще 2—3 курса; при подтверждении стабилизации химиотерапию завершали. Основаниями для прекращения лечения являлись также прогрессирование опухолевого процесса, непереносимая токсичность, отказ больного от лечения.

В случае развития побочных эффектов либо уменьшали дозу препарата, либо увеличивали интервал между

введениями. Оценку объективного эффекта проводили в соответствии с RECIST (Response Evaluation Criteria in Solid Tumors — критерии оценки реакции при солидных опухолях), версия 1.0. Эффект терапии оценивали каждые 2 курса, после завершения лечения каждые 2—3 мес до прогрессирования. Токсичность определяли по критериям токсичности шкалы NCI-CTCAE, версия 3.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Лечение с использованием Аранозы в монорежиме получили 14 пациентов, комбинацию Аранозы с капецитабином — 16. Всего проведено 154 курса химиотерапии. При этом 73 курса по схеме Араноза в монорежиме, 81 — по схеме Араноза в комбинации с капецитабином. Эффективность лечения представлена в табл. 2.

Эффективность Аранозы в монорежиме при мНЭО оценена у 14 больных. Частичный эффект достигнут у 3 (21%), из них 2 получили Аранозу в 1-й линии, один — в 3-й линии. Стабилизация достигнута у 9 (65%) больных, из них 3 получили Аранозу в 1-й линии, 6 пациентов во 2—5-й линиях. Минимальный эффект в группе со стабилизацией наблюдался в диапазоне от 1 до 14% и от 15 до 29% по RECIST у 6 пациентов (из них по 2 получили Аранозу в 1-й и 2-й линии, по одному пациенту в 3-й и 5-й линиях) и у 3 пациентов (в 1-й, 3-й и 4-й линиях) соответственно. Прогрессирование зафиксировано у 2 (14%) больных (2-я и 3-я линии лечения).

Эффективность Аранозы в комбинации с капецитабином при мНЭО оценена у 16 (81%) больных. Частичный эффект достигнут у 1 (6%) больного, получившего Аранозу в 1-й линии, стабилизация — у 13 (43,3%), из них 10 получили Аранозу в 1-й линии, 3 — во 2—5-й линиях. Минимальный эффект составил 1—14% по RECIST у 9 пациентов (из них 7 получили Аранозу в 1-й и 2 — во 2-й линии), 15—29% — у 4 пациентов (из них 3 получили Аранозу в 1-й и один — в 5-й линии). Прогрессирование заблевагна констатировано у 2 (13%) больных (1-я линия терапии).

Таблица 2

Эффективность Аранозы в монорежиме и в комбинации с капецитабином при мНЭО

Оценка по RECIST	Араноза (n = 14)	Араноза + капецитабин (n = 16)
Полный эффект	0	0
Частичный эффект	3 (21%)	1 (6%)
1-я линия	2	1
3-я линия	1	0
Стабилизация	9 (64,3%)	13 (81,2%)
1-я линия	3	10
2—5-я линии	6	3
1—14% (RECIST)	6	9
15—29% (RECIST)	3	4
Прогрессирование	2 (14%)	2 (12,5%)

Совокупная эффективность лечения мНЭО Аранозой в монорежиме и в комбинации с капецитабином в зависимости от локализации первичной опухоли представлена в табл. 3.

Из 14 пациентов с локализацией первичной опухоли в поджелудочной железе частичный эффект получен у 2, стабилизация — у 10, прогрессирование зафиксировано у 2. Из 5 больных с локализацией первичной опухоли в тонкой кишке у одного наблюдался частичный эффект, у

Таблица 3

Эффективность лечения мНЭО Аранозой в монорежиме и в комбинации с капецитабином в зависимости от локализации первичной опухоли

Локализация процесса	Араноза			Араноза + капецитабин		
	Частичный эффект	Стабилизация	Прогрессирование	Частичный эффект	Стабилизация	Прогрессирование
Поджелудочная железа (n = 14)	2	3	1	—	7	1
Тонкая кишка (n = 5)	1	1	—	—	3	—
Печень (n = 1)	—	1	—	—	—	—
Толстая кишка (n = 4)	—	2	1	—	1	—
Метастазы НЭО в печени без выявленного первичного очага (n = 3)	—	1	—	1	—	1
Почка (n = 3)	—	1	—	—	2	—

4 — стабилизации процесса. У одного пациента с локализацией первичной опухоли в печени достигнута стабилизация. Из 4 пациентов с локализацией первичной опухоли в толстой кишке у 3 достигнута стабилизация, у одного отмечено прогрессирование процесса. Среди 3 больных с метастазами НЭО в печени без выявленного первичного очага у одного удалось добиться частичного ответа, у другого — стабилизации процесса, а у третьего отмечено прогрессирование заболевания. У всех пациентов с локализацией первичной опухоли в почке достигнута стабилизация процесса.

Эффективность лечения Аранозой в монорежиме и в комбинации с капецитабином в зависимости от индекса пролиферации отражена в табл. 4.

Большинство опухолей характеризовались средним пролиферативным индексом — у 18 больных. У 16 (88,9%) из них удалось достигнуть контроля роста опухоли (полный эффект + частичный эффект + стабилизация). Анализ продемонстрировал зависимость эффективности от индекса пролиферации Ki-67.

Эффективность химиотерапии с использованием Аранозы в зависимости от степени дифференцировки ткани опухоли (критерий G) представлена в табл. 5. У 17 больных с G2 удалось добиться контроля роста опухоли.

У 12 из 14 пациентов получен симптоматический эффект в виде уменьшения частоты стула, приливов жара, интенсивности болевого синдрома. У 22 из 26 больных с биохимическими признаками карциноидного синдрома наблюдался биохимический ответ.

В настоящее время 17 пациентов продолжают лечение, 9 находятся в состоянии ремиссии без признаков прогрессирования. Среднее время до прогрессирования у больных, достигших эффекта от лечения, не достигнуто (наблюдение в течение 4—7 мес). Выбыли из исследования в связи с прогрессированием заболевания 4 пациента.

Следует отметить удовлетворительную субъективную переносимость Аранозы в монорежиме и в комбинации с капецитабином. Всего проведено 154 курса химиотерапии. Наиболее частым побочным эффектом химиотерапии с Аранозой была гематологическая токсичность: тромбоцитопения, нейтропения, гипербилирубинемия, повышение уровня аланинаминотрансферазы (АлАТ), аспартатаминотрансферазы — АсАТ (табл. 6).

Гематологические осложнения были обратимыми, и прекращение химиотерапии при них не требовалось.

Таблица 4

Эффективность лечения в зависимости от индекса пролиферации Ki-67

Оценка по RECIST	Ki-67 < 3% (n = 4)	Ki-67 3—20% (n = 18)	Ki-67 > 20% (n = 3)
Частичный эффект	0	3	1
Стабилизация	3	13	1
Прогрессирование	1	2	1

Исходно доза Аранозы была уменьшена на 25—40% у 3 пациентов в связи с низким индексом массы тела (ИМТ), большим объемом опухолевой ткани в печени, оценкой общего состояния по шкале ECOG (Eastern Cooperative Oncology Group — шкала оценки общего состояния) 2 балла.

В связи с развитием в процессе лечения тромбоцитопении III—IV степени доза Аранозы была уменьшена на 30% у 3 пациентов в группе, получавшей Аранозу в монорежиме (при этом доза препарата составила 530—690 мг/м² в 1—3-й дни), и на 25% у 2 пациентов, получавших Аранозу в комбинации с капецитабином (при этом доза Аранозы составила 600—650 мг/м² в 1—2-й дни). В группе, получавшей Аранозу в монорежиме в дозе 480—530 мг/м² в 1—3-й дни, случаев тромбоцитопении III—IV степени не было. Следует отметить, что тромбоцитопения чаще возникала у пациентов, получавших исследуемый препарат в 3—5-й линиях терапии: у 3 пациентов (3—5-я линия) против 2 пациентов (1—2-я линия) в группе Аранозы в монорежиме.

Максимальное снижение уровня нейтрофилов и тромбоцитов приходилось на 15—22-й день от начала химиотерапии. До нормализации показателей периферической крови на срок от 1 до 2 нед были отложены 16 курсов в группе, получавшей Аранозу в монорежиме, и 3 в группе, получавшей Аранозу с капецитабином.

Случаев фебрильной нейтропении при обоих режимах зарегистрировано не было, колониестимулирующие факторы не применялись. Одному пациенту из-за длительно сохраняющейся тромбоцитопении III—IV степени в течение 5 сут проведено переливание 1 дозы

Таблица 5

Эффективность режимов с Аранозой в зависимости от степени дифференцировки ткани опухоли

Степень дифференцировки ткани опухоли	Араноза (n = 12)			Араноза + кселода (n = 14)		
	Частичный эффект	Стабилизация	Прогрессирование	Частичный эффект	Стабилизация	Прогрессирование
G1	—	2	1	1	1	—
G2	2	6	1	1	8	1
G3	—	—	—	—	1	1

Таблица 6

Токсичность режимов с Аранозой (по курсам: n = 154)

Токсичность	Степень	Араноза (n = 73)	Араноза + капецитабин (n = 81)
Гематологическая			
Нейтропения	1	2	4
	2	0	6
	3	2	1
	4	5	0
Тромбоцитопения	1	10	11
	2	2	1
	3	2	1
	4	4	1
Анемия	1	1	2
Гепатотоксичность			
Повышение активности АсАТ/АлАТ	1	12	8
	2	1	0
	3	0	0
	4	0	0
Гипербилирубинемия	1	6	13
	2	0	1
	3	0	1
	4	0	0
Негематологическая			
Кардиотоксичность	1	0	2
Тошнота	1	1	2
Астения	1	1	1
	2	0	3

тромбоконцентраата для соблюдения интервала между введениями цитостатиков.

Наиболее частым видом негематологической токсичности при химиотерапии Аранозой в комбинации с капецитабином были астения I—II степени (n = 5), кардиологическая токсичность в виде частых желудочковых экстрасистол на двух курсах лечения (n = 1). Данный вид токсичности, вероятно, был связан с использованием капецитабина и обусловил необходимость перехода на монотерапию Аранозой. При лечении Аранозой в монорежиме эпизодов желудочковой экстрасистолии не было. Результаты анализа токсичности Аранозы в монорежиме и в комбинации с капецитабином по курсам отражены в табл. 6.

Случаев токсического действия химиотерапии на функцию почек не зафиксировано. По данным литературы, при использовании стрептозотоцина нефротоксичность наблюдается в 65% случаев [15].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Применение Аранозы в монорежиме и в комбинации с капецитабином дало объективный эффект в 21 и 6% случаев соответственно, контроль роста опухоли достигнут в 86 и 87,5% случаев соответственно, отмечен приемлемый уровень токсичности в 1-й и последующих линиях терапии при лечении метастатических НЭО с различной локализацией первичного очага и степенью дифференцировки. Среднее время до прогрессирования у больных, получивших эффект от лечения, не достигнуто (наблюдение в течение 4—7 мес). Частота объективных ответов была относительно невысокой, однако следует учитывать, что в настоящем исследовании преобладали пациенты с неблагоприятными факторами (высоким уровнем хромогранина А, с резистентностью к цитостатикам в группе пациентов, подвергавшихся ранее интенсивной лекарственной терапии, со сниженным ИМТ, с массивным опухолевым поражением внутренних органов). При этом даже в группе больных с исчерпанными ранее возможными лекарственной терапией (многokратно получавших цитостатики, а также иммунотерапию) возможно достижение объективного, биохимического и симптоматического эффектов. Частота побочных эффектов при применении Аранозы в монорежиме и в комбинации с капецитабином невысокая, что позволяет проводить лечение не только в стационаре, но и в амбулаторных условиях. Отмечается хорошая субъективная переносимость лечения. В отличие от стрептозотоцина, при использовании Аранозы не выявлено случаев нефротоксичности.

К настоящему времени раскрыты не все возможности использования Аранозы при лечении больных с распространенными НЭО, что обуславливает необходимость продолжения исследования и более широкого использования препарата в практике.

ЛИТЕРАТУРА

- Oberg K. A. Chemotherapy and biotherapy in neuroendocrine tumours // *Curr. Opin. Oncol.* — 1993. — Vol. 5. — P. 110—120.
- Yao J., Hassan M., Phan A. One hundred years after «carcinoid»: Epidemiology of and prognostic factors for neuroendocrine tumors in 35,825 cases in the United States // *J. Clin. Oncol.* — 2008. — Vol. 26. — P. 3063—3072.
- Modlin I. M., Lye K. D. 5-decade analysis of 13,715 carcinoid tumors // *Cancer.* — 2003. — Vol. 97. — P. 934—59.

4. Делекторская В. В., Павловская А. И. Морфологическая характеристика основных типов нейроэндокринных опухолей (отдел патологической анатомии опухолей человека РОНЦ им. Н. Н. Блохина) // Вестн. Моск. онкол. о-ва. — 2010. — № 10. — С. 3—6.
5. Williams E. D., Sandler M. The classification of carcinoid tumors // *Lancet*. — 1963. — Vol. 1. — P. 238—239.
6. Modlin I. M., Oberg K. A Century of Advances in Neuroendocrine Tumor. — Felsenstein C. C. P., 2007. — P. 86—99.
7. Егоров А. В., Васильев И. А. Диагностика и лечение нейроэндокринных опухолей органов брюшной полости и забрюшинного пространства (обзор литературы) // Фарматека. — 2009. — № 2. — С. 23—27.
8. Орел Н. Ф. Новые производные нитрозомочевины // Новые цитостатики в лечении злокачественных опухолей / Горбунова В. А. (ред.). — М., 1998. — С. 25—40.
9. Янкин А. В. Диагностика и лечение нейроэндокринных опухолей билиопанкреатодуоденальной зоны // *Практ. онкол.* — 2004. — Т. 5, № 2. — С. 145—150.
10. Pamela L. Kunz, George A. Fisher Advances in the treatment of

gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors // *Clin. Exper. Gastroenterol.* — 2010. — Vol. 3. — P. 79—86.

11. Mansour J. C., Chen H. Pancreatic endocrine tumors // *J. Surg. Res.* — 2004. — Vol. 120. — P. 139—161.

12. Горбунова В. А., Орел Н. Ф., Кузьминов А. Е. Применение Аранозы при нейроэндокринных опухолях // *Совр. онкол.* — 2009. — Т. 11, № 3. — С. 62—63.

13. Перетолчина Н. М., Семина О. В. Араноза — новый отечественный противоопухолевый препарат из группы нитрозомочевины // *Экспериментальная онкология на рубеже веков / М. И. Давыдов, А. Ю. Барышников (ред.).* — М., 2003. — С. 199—211.

14. Муханов В. И., Платонова Г. Н., Перетолчина Н. М. Новый противоопухолевый препарат Араноза // *Химиотерапия опухолей в СССР.* — М., 1980. — С. 133—139.

15. Eriksson B., Oberg K. Neuroendocrine tumours of the pancreas // *Br. J. Surg.* — 2000. — Vol. 87. — С. 129—131.

Поступила 23.11.2011

*Svetlana Alexandrovna Polozkova¹, Nadezhda Fedorovna Ore²,
Alla Anatolyevna Markovich³, Vera Andreyevna Gorbunova⁴*

ARANOSE AS SINGLE-AGENT THERAPY AND IN COMBINATION WITH CAPECITABINE IN THE TREATMENT OF ADVANCED NEUROENDOCRINE TUMORS: PRELIMINARY RESULTS OF A CLINICAL STUDY

¹ Postgraduate Student, Chemotherapy Department, Clinical Oncology Research Institute,
N. N. Blokhin RCRC RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, RF)

² MD, PhD, DSc, Leading Researcher, Chemotherapy Department, Clinical Oncology Research Institute,
N. N. Blokhin RCRC RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, RF)

³ MD, PhD, Senior Researcher, Chemotherapy Department, Clinical Oncology Research Institute,
N. N. Blokhin RCRC RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, RF)

⁴ MD, PhD, DSc, Professor, Head, Chemotherapy Department, Clinical Oncology Research Institute,
N. N. Blokhin RCRC RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, RF)

Address for correspondence: Polozkova Svetlana Alexandrovna, Chemotherapy Department,
Clinical Oncology Research Institute, N. N. Blokhin RCRC RAMS, 24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, RF;
e-mail: elevana@list.ru

The purpose of this study was to develop new Aranose-based chemotherapy regimens in order to improve treatment efficacy in patients with metastatic neuroendocrine tumors. We analyzed efficacy and toxicity of two chemotherapy schedules in the first and the following lines of treatment: (1) Aranose 480—690 mg/m² intravenously on days 1 to 3 every 3 weeks; (2) Aranose 500—760 mg/m² intravenously on days 1 and 2 + capecitabine 2 g/m²/d on days 1 to 14. A total of 30 patients were enrolled. Efficacy of treatment schedules was assessed with respect to site of the primary, tumor tissue differentiation, proliferation marker Ki-67. Toxicity of Aranose as a single-agent and in combination with capecitabine was assessed. Symptomatic and biochemical responses to treatment were evaluated. Aranose was shown to be sufficiently effective in both regimens in the first and the following lines of therapy while being associated with moderate toxicity.

Key words: Aranose, neuroendocrine tumors, capecitabine, chemotherapy.

Екатерина Геннадьевна Родникова¹, Зоя Петровна Михина²,
Вера Ангреевна Горбунова³, Сергей Алексеевич Ткачев⁴,
Александр Фегорович Маренич⁵

ПРЕИМУЩЕСТВА И НЕДОСТАТКИ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОЙ И ОДНОВРЕМЕННОЙ ХИМИОЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ЛЕГКОГО IIIВ СТАДИИ

¹ Аспирант, отделение химиотерапии НИИ клинической онкологии
РОНЦ им. Н. Н. Блохина (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

² Д. м. н., ведущий научный сотрудник, отделение лучевых методов лечения НИИ клинической онкологии
РОНЦ им. Н. Н. Блохина (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

³ Профессор, г. м. н., заведующая, отделение химиотерапии НИИ клинической онкологии
РОНЦ им. Н. Н. Блохина (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

⁴ Профессор, г. м. н., заведующий, отделение лучевых методов лечения НИИ клинической онкологии
РОНЦ им. Н. Н. Блохина (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

⁵ К. м. н., ведущий научный сотрудник, отделение химиотерапии НИИ клинической онкологии
РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

Адрес для переписки: 115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, д. 24,
НИИ клинической онкологии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, отделение химиотерапии,
Родникова Екатерина Геннадьевна; e-mail: rodnikova@eesg.ru

Цель исследования — сравнительная оценка эффективности и переносимости одновременной и последовательной химиолучевой терапии у 123 больных с местнораспространенными формами немелкоклеточного рака легкого IIIА—IIIВ стадий. Из этих больных 81 получил одновременную химиолучевую терапию (основная группа), 42 последовательную химиолучевую терапию (контрольная группа). Выявлено, что по частоте и степени гематологической токсичности, возникновению эзофагитов и симптомов, обусловленных опухолью (кровохарканье и повышение температуры тела), токсичность одновременной химиолучевой терапии была выше, чем при последовательном использовании двух методов. Продолжительность жизни в основной группе составила 13,5 мес, в контрольной — 19,7 мес. Однако при использовании консолидирующих курсов химиотерапии общая и годовая выживаемость сравнялись с таковыми в контрольной группе. В настоящее время не вызывает сомнений целесообразность использования химио- и лучевого методов в лечении больных неоперабельным немелкоклеточным раком легкого, но остаются нерешенными вопросы о времени использования каждого метода, схемах химиотерапии, об объеме и о разовых и суммарных дозах лучевой терапии, что обуславливает необходимость более детального изучения.

Ключевые слова: рак легкого, химиолучевое лечение, переносимость, общая выживаемость.

Немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ) — самая распространенная форма рака, которая встречается преимущественно у мужчин в возрасте 60 лет и старше, у лиц, длительно курящих, и остается основной причиной смерти от онкологических заболеваний в мире.

Неудовлетворительные результаты лечения больных НМРЛ связаны, прежде всего, с поздним выявлением опухоли, а также с частыми рецидивами и отдаленными метастазами после радикальных операций даже на ранних стадиях процесса. Именно курение, кашель ку-

рительщиков препятствуют выявлению рака легкого (РЛ) на ранних стадиях, когда возможно использовать хирургический метод как самостоятельный либо в сочетании с химио- или лучевой терапией. В наибольшей степени это относится к центральной форме рака, при которой общепринятые методы исследования легких не дают необходимой информации для продолжения обследования с использованием специальных методов, таких, как рентгеновская компьютерная томография (РКТ), магнитно-резонансная томография (МРТ) грудной клетки, бронхоскопия с морфологическим подтверждением диагноза, ультразвуковое исследование (УЗИ) брюшной полости и надключичных областей, при необходимости позитронно-эмиссионная томография (ПЭТ) и др.

В 70% случаев НМРЛ выявляется при III—IV стадии, когда возможности хирургического метода ограничены или операция не показана, что вынуждает использовать консервативное лечение, такое, как лекарственное и лучевое [1].

Высокая заболеваемость и смертность от РЛ, а также большой процент больных с диссеминированным опухолевым процессом обуславливают необходимость изучения и разработки новых схем и режимов лечения с применением современных противоопухолевых препаратов в различных комбинациях.

Справедливо отметить, что, несмотря на множество рандомизированных исследований [2—7], нет достаточных оснований для выделения одной, наиболее эффективной, комбинации лекарственных препаратов для лечения больных НМРЛ. Все режимы, включающие новые препараты, с учетом непосредственного эффекта и отдаленных результатов оказываются сходными, хотя в отдельных исследованиях [8] получено преимущество какой-либо комбинации.

Интерпретируя данные всех исследований, включающих новые лекарственные средства, можно сделать вывод об отсутствии существенных различий между изученными комбинациями химиотерапевтических препаратов. Каждая из новых комбинаций может быть выбрана для химиотерапии (ХТ) 1-й линии при НМРЛ III—IV стадии. Для всех этих режимов доказательность рекомендаций соответствует уровню IA, так как эффективность комбинаций оценена в рандомизированных контролируемых исследованиях или основана на результатах метаанализа.

Лучевая терапия (ЛТ) при НМРЛ используется более 50 лет, и ее эффективность зависит от распространенности и размеров опухоли, а также от вовлечения регионарных лимфатических узлов, состояния больного по Карновскому, от характеристики лучевого метода.

В России ЛТ при НМРЛ длительное время использовалась в виде расщепленного курса. При этом весь курс разделяли на 2 части: первичная опухоль, корень и средостение, а при показаниях — надключичные области, облучались единым объемом до суммарной очаговой дозы (СОД) 40—50 Гр с использованием стандартного фракционирования. После этого делали перерыв на 3—4 нед, оценивали эффект и в отсутствие прогрессирования продолжали ЛТ в виде локального облучения остающихся узлов. Второй характерной чертой было использование рентгенологического метода при постановке первичного диагноза, особенно при оценке эффекта лечения.

При планировании нового исследования поставлены следующие цели и задачи:

- проводить ЛТ одновременно с ХТ, без перерыва;
- изучить переносимость и токсичность курсов химиолучевой терапии (ХЛТ), частоту и причину вынужденных перерывов, влияние перерывов на непосредственный эффект и выживаемость по сравнению с химио- и лучевой терапией в последовательном режиме.

Для решения поставленных задач проанализированы истории болезни 123 больных с локализованной формой НМРЛ, находившихся на лечении в РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН с 1998 по 2009 г.

В нашем исследовании ведущими методиками лечения были ХТ и облучение первичной опухоли и зон регионарного метастазирования.

Выделены 2 группы пациентов: основная (1-я) и контрольная (2-я).

Основную группу составил 81 пациент. Всем больным этой группы проводили раннюю одновременную ХЛТ в 2000—2009 гг. В контрольную группу включены 42 больных, лечившихся с 1998 по 2009 г. с использованием ХТ и ЛТ в последовательном режиме.

В основной группе планировалось изучить токсичность трех платиносодержащих схем ХТ в комбинации с гемцитабином, паклитаксолом или доцетаксолом, которые вводились одновременно с ЛТ. Схемы фракционирования ЛТ были рассчитаны таким образом, чтобы сократить время лечения, подводя СОД 60—70 Гр за 5—6 нед. Все больные были учтены независимо от того, удалось им провести ХЛТ по плану или нет.

Контрольная группа была сформирована из больных, которые получили с 1999 г. последовательную химио-, а затем лучевую терапию. Лечение начиналось с индукционной ХТ в комбинации с одним из платиносодержащих препаратов (гемцитабин, таксаны, этопозид) с оценкой эффекта через каждые 2—4 курса. Как правило, проводили 4—6 курсов ХТ и в среднем через 1,1 мес больных переводили на ЛТ. Главное условие заключалось в том, что все больные должны были получить СОД в пределах 60—70 Гр. У отдельных больных контрольной группы запланированы перерывы, как было представлено выше; у других ЛТ планировалась без перерыва.

Больные основной и контрольной групп были сопоставимы по общему состоянию, возрасту, частоте морфологических форм, локализации опухоли в легком (центральная, периферическая форма), по стадии заболевания, сопутствующим процессам в легком на стороне поражения. Первичную опухоль диагностировали с использованием РКТ грудной клетки у 78 (96,3%) больных основной группы и у 24 (57,2%) контрольной. Однако оценку непосредственного эффекта лечения и динамическое наблюдение осуществляли преимущественно с использованием рентгенологического исследования грудной клетки, особенно у больных контрольной группы (25,8% против 59% в основной).

У 24 (29,6%) пациентов из 81 лечение было начато с проведения 2—4 курсов индукционной ХТ, которую назначали в связи с наличием больших новообразований, локализующихся в паренхиме легкого, наличием ателектазов, затрудняющих определение границ опухоли при ЛТ, деструкцией костных структур, подрастанием опухоли к крупным сосудам, пищеводу. ХТ проводили с использованием платиносодержащих схем в сочетании с гемцитабином в 9 (37,5%) случаях, доцетаксолом — в 4 (16,6%), паклитаксолом — в 6 (25%), этопозидом — в 4 (16,6%); один пациент получил схему САФ.

После оценки эффекта 24 пациента, получавших индукционную ХТ, а также 57 больных, не получавших лечения, были включены в группу ХЛТ (основная группа). У данных больных ХТ проводили одновременно с ЛТ. В еженедельном режиме ХТ в количестве 4—6 введений выполняли у 69 (85,2%) больных в 1, 8, 15 и 22-й дни, у 12 (14,8%) — в 1, 8, 29 и 36-й дни, по 3 схемам: доцетаксел

(25 мг/м²) + цисплатин (25 мг/м²) (n = 27); паклитаксел (50 мг/м²) + карбоплатин (AUC = 2) (n = 28), гемцитабин (800 мг/м²) + цисплатин (25 мг/м²) (n = 11). В целях снижения токсичности двух мощных радиосенсибилизаторов 16 пациентам назначили гемцитабин в дозе 300 мг/м² в комбинации с цисплатином в дозе 25 мг/м².

За период исследования в основной группе были апробированы 3 схемы фракционирования дозы ЛТ: динамическая с расщеплением суточной дозы на 2—3 фракции (у 36 больных), гиперфракционирование 1,5 Гр 2 раза (у 15), стандартная 2—2,5 Гр (у 30). После завершения ХЛТ у 42 пациентов основной группы проведена консолидирующая ХТ, среднее число курсов при этом составило 3. Использовали те же схемы ХТ, что и при ХЛТ с удлинением интервала до 21 дня и увеличением курсовой дозы до стандартной.

В контрольной группе у 42 больных использованы 2 схемы ЛТ: стандартная (у 22) и ускоренная (у 20, ежедневно 3 Гр, 5 раз в неделю) без суточного расщепления дозы. ЛТ по объему облучения, суммарным дозам не различалась в сравниваемых группах. После ХЛТ и ЛТ оценивали непосредственный эффект в среднем через 1,1 и 1,2 мес соответственно. Частота положительного эффекта (полная и частичная регрессия) в указанные сроки в контрольной группе была достоверно выше, чем в основной. Однако при динамическом наблюдении отмечались увеличение частоты положительного ответа опухоли в основной группе (отсроченный эффект) и исчезновение различий между показателями в двух группах.

Мы связываем полученные данные с числом курсов ХТ, временем их проведения по отношению к ЛТ, которые были в контрольной группе и, возможно, повлияли на ближайшие и отдаленные результаты лечения.

Так, в контрольной группе сроки от начала ХТ до начала ЛТ составили 1,1—23,8 мес (медиана 5,5 мес), число курсов ХТ 1-й линии от 2 до 12 (медиана 4 курса). ХТ 2-й линии получили 10 больных из 42 (1—6 курсов, медиана 4 курса), 3-й линии — 3 больных. Суммарно проведено от 2 до 6 курсов ХТ до начала ЛТ. В процессе индукционной терапии у 42 больных контрольной группы при использовании ХТ трех линий достигнуто следующее: полный и частичный эффект в 62% случаев, стабилизация в 28,6%,

прогрессирование в 9,5%. ЛТ начинали после окончания ХТ в сроки 0,2—5 мес (медиана 1,1 мес).

У 24 больных основной группы сроки до начала ХЛТ составили 1,2—12,3 мес (медиана 2,3 мес), число курсов от 1 до 10 (медиана 2 курса).

После ХТ частичный эффект достигнут у 16,7% больных, стабилизация — у 75%, прогрессирование — у 8,3%.

Обращает на себя внимание высокий процент объективного ответа на ХТ (положительный эффект + частичный эффект) в контрольной группе по сравнению с 24 больными основной группы (62% против 16,7%; p = 0,0007) с аналогичными показателями частоты прогрессирования (9,5 и 8,3% соответственно).

Причиной подобных различий могли быть только число курсов ХТ и их дозы. Все химиопрепараты использовали в стандартных дозах. В случае неэффективности 10 больных были переведены на препараты 2-й линии.

Медиана числа курсов ХТ достигла 6, т. е. в контрольной группе было достаточно времени для реализации максимального эффекта от ХТ.

Большинство больных НМРЛ переносили ХЛТ удовлетворительно, основной причиной нарушения схемы лечения была гематологическая токсичность препаратов (табл. 1).

При оценке токсичности ХТ в зависимости от используемых схем в основной группе выявлено, что степень различных видов гематологической токсичности была выше у 27 больных при схеме гемцитабин + цисплатин, особенно при дозах 800 мг/м² по сравнению с 300 мг/м². Однако в связи с малочисленностью подгрупп статистическая значимость различий не достигнута.

Негематологическая токсичность в основной и контрольной группах проявлялась эзофагитом. Частота развития и степень выраженности его в основной группе были статистически значимо выше, чем в контрольной. Эзофагит III степени в контрольной группе не наблюдался, в то время как в основной группе отмечен в 12,3% случаев (p = 0,019).

При анализе зависимости возникновения эзофагита от схемы ХТ в основной группе выявлено, что он возникал одинаково часто независимо от схемы лечения, однако степень его статистически значимо различалась

Таблица 1

Вид и степень токсичности у больных основной группы (n = 81)

Вид токсичности ^а	Степень токсичности ^б			
	I	II	III	IV
Лейкопения (n = 15; 18,5%)	5 (33,3%)	7 (46,6%)	2 (13,3%)	1 (6,6%)
Нейтропения (n = 14; 17,3%)	3 (21,4%)	4 (28,6%)	5 (35,7%)	2 (14,3%)
Анемия (n = 4; 4,9%)	2	1	1	
Тромбоцитопения (n = 16; 19,7%)	6 (37,5%)	6 (37,5%)	2 (12,5%)	2 (12,5%)

^а Указан процент от общего числа больных (n = 81).^б Указан процент от числа больных с токсичностью I—IV степени.

(табл. 2). Всего после окончания ХЛТ эзофагит выявлен у 76 (93,8%) пациентов из 81.

У пациентов, получавших гемцитабин с цисплатином, эзофагит III степени был отмечен в 28% случаев (статистически значимые различия отмечены между всеми группами, табл. 2).

Несмотря на то что в процессе одновременной ХЛТ эзофагит развился более чем у 90% больных, перерыв в лечении на 6—10 дней был сделан только у 9 (11,8%) из 76 пациентов по причине эзофагита, ларингофарингита (у 7 одновременно облучали надключичные области) в сочетании с гематологической токсичностью ХТ (3 больных). Еще в 2 случаях перерыв в лечении был обусловлен обострением сахарного диабета и организационными причинами. В то же время у 17 (21%) больных из 81 причинами нарушения планов лечения были жалобы на повышение температуры тела, усиление кашля, одышки, появление или возобновление кровохарканья. Данные симптомы появлялись после подведения СОД 13—42 Гр (медиана 28 Гр), но они не отражают постлучевые изменения в легких. В контрольной группе у 6 (14,2%) пациентов перерывы были сделаны по семейным и техническим причинам и только у 3 (7,1%) — в связи с появлением симптоматики, обусловленной опухолью (кровохарканье, повышение температуры тела). Указанные жалобы возникали при ХЛТ в основной группе статистически значимо чаще, чем в контрольной (21 и 7,1% соответственно; $p = 0,0498$).

В контрольной группе гематологическая токсичность во время ЛТ не отмечалась. Курс ЛТ планировался без перерыва у 25 больных, у 17 запланирован перерыв от 2 до 4 нед. В подгруппе с перерывом план лечения не нарушался. В процессе лечения без перерыва у 9 из 25 больных отмечены вынужденные перерывы продолжительностью 5—99 дней (медиана 8 дней).

Проявлением негематологической токсичности также был эзофагит. К концу ЛТ в контрольной группе он выявлен у 19 из 42 (45,2%) больных, из них у 5 (26,3%) был сделан запланированный перерыв, а 14 (73,7%) облучали без перерыва ($p = 0,0060$).

Таким образом, снижение частоты побочных реакций при лечении НМРЛ в контрольной группе связано с перерывами после подведения дозы ЛТ 40 Гр.

В то же время планирование лечения без перерыва с одновременным введением системных препаратов обосновывалось неблагоприятным влиянием перерывов на общую выживаемость (ОВ), причиной чего является

репопуляция опухолевых клеток при более длительных курсах облучения.

При планировании исследования мы предполагали увеличение непосредственного эффекта в основной группе, в которой использовалась ХЛТ.

Первичная оценка местного эффекта в основной группе была проведена у 72 больных в сроки 0,4—13,1 мес (медиана 1,1 мес). Из 9 неочевидных пациентов 4 умерли от легочного кровотечения и предполагаемой тромбоэмболии после окончания ХЛТ, 5 не явились на обследование. В процессе динамического наблюдения за больными основной группы отмечено увеличение положительного ответа (отсроченный эффект). Частота полных эффектов увеличилась с 5 (7%) до 12 (17%) — все больные из группы частичного ответа, у 3 зафиксирован частичный эффект после стабилизации.

Из 42 больных контрольной группы эффект последовательной ЛТ был оценен у 33 в сроки 0,6—27,3 мес (медиана 1,2 мес). У 9 больных эффект ЛТ не оценен, но из них у 4 имелись сведения о дате смерти, а 5 выбыли из под наблюдения после окончания ЛТ.

По сравнению с эффектом, полученным в результате индукционной ХТ, после ЛТ статистически значимо увеличилась частота полных ответов с 2,4 до 21,2% ($p = 0,0108$) и значительно снизилась частота прогрессирования с 35,7 до 3% ($p = 0,001$).

Сравнение непосредственного эффекта, оцененного в среднем через 1,1 мес после окончания ХЛТ, и эффекта в контрольной группе после окончания ЛТ в сроки 1,2 мес позволило выявить статистически значимо более высокую частоту полных регрессий в контрольной группе (22,6% против 7%; $p = 0,0266$). В то же время максимальный эффект, определенный в более поздние сроки в основной группе, по всем показателям не отличался от непосредственного эффекта контрольной группы (15,5% против 22,6%; $p = 0,3799$).

Наиболее наглядным был результат анализа медиан ОВ и продолжительности жизни 1—3 года. Продолжительность жизни в основной группе у 81 больного составила от 0,9 до 96,9 мес (медиана 13,5 мес). Год прожили 45 (55,5%) пациентов, 2 года — 17 (21,0%), 3 года — 9 (11,1%) и 5 лет — 5 (6,2%).

В контрольной группе продолжительность жизни 42 больных была в пределах от 3,4 до 96,0 мес (медиана 19,7 мес). Год прожили 30 (71,4%) пациентов, 2 года — 15 (37,5%), 3 года — 6 (14,3%) и 5 лет — один (2,4%). Сравнение 1-, 2- и 3-летней продолжительности жизни в основной и

Таблица 2

Степень эзофагита в зависимости от схемы ХТ у 76 больных, получавших ХЛТ

Схема ХТ	Степень эзофагита, абс. число больных (%)		
	I	II	III
1. Гемцитабин + цисплатин (n = 25)	10 (40,0)	8 (32,0)	7 (28,0)
2. Доцетаксел + цисплатин или карбоплатин (n = 25)	20 (80,0)	3 (12,0)	2 (8,0) $p = 0,033$ при сравнении с 1-й схемой
3. Паклитаксел + карбоплатин (n = 26)	16 (61,5)	9 (34,6)	1 (3,8) $p = 0,025$ при сравнении с 1-й схемой

контрольной группах позволило выявить более высокую 1-летнюю (на уровне тенденции) и статистически значимую 2-летнюю ОВ в контрольной группе (71,4 и 37,5% против 55,5 и 21%; $p_1 = 0,0891$ и $p_2 = 0,0236$).

Однако при раздельном анализе продолжительности жизни в подгруппах с консолидирующей ХТ и без нее медиана показателя составила 17 и 10 мес соответственно. При сравнительном анализе двух подгрупп выявлено значительное увеличение 1- и 2-летней продолжительности жизни у больных, получивших консолидирующий курс ХТ (год прожили 71,4% против 38,2% без консолидирующих курсов, $p = 0,049$; 2 года — 28,6 и 8,8% соответственно; $p = 0,0343$).

Следует отметить, что через один и два года выживаемость больных с консолидирующей ХТ и пациентов контрольной группы была сопоставима.

Таким образом, представленный сравнительный анализ непосредственного эффекта в основной и контрольной группах не выявил улучшения непосредственных результатов при одновременном использовании еженедельных курсов ХТ с ЛТ.

Самой низкой продолжительность жизни (медиана 10,3 мес) была у больных, которые получали лечение по схеме с использованием гемцитабина и цисплатина: ни один из них не прожил 3 и 5 лет. При использовании этих схем продолжительность жизни в течение года и 2 лет была меньше, чем при применении таксанов. При ХЛТ в сочетании с доцетакселом и цисплатином или карбоплатином медиана продолжительности жизни составила 16,7 мес, 2-летняя выживаемость — 38,4%, 3-летняя — 23% и 5-летняя — 11,5%.

Среди схем фракционирования ЛТ самой неблагоприятной по выживаемости оказалась схема с использованием облучения 1,5 Гр 2 раза в день (медиана продолжительности жизни 9,2 мес). Лучшей как по медиане продолжительности жизни (16,3 мес), так и по выживаемости (1-летняя — 66,7%, 2-летняя — 30,6%, 3-летняя — 16,7% и 5-летняя — 11%) оказалась схема динамического фракционирования (1,35 Гр 3 раза в день + 1,2 Гр 2 раза в день).

В контрольной группе при использовании после ХТ только ЛТ наиболее высокая ОВ (медиана, 1-, 2- и 3-летняя) отмечена у больных, которым ЛТ проводилась в разовой очаговой дозе 2—2,5 Гр.

Выживаемость в зависимости от ответа опухоли на лечение была ожидаемой, с высокими (по медиане) ОВ и числом больных, проживших 1—5 лет.

В основной группе из 72 оцененных больных 12 с полным эффектом прожили от 10,7 до 96,9 мес (медиана 26,1 мес); медиана продолжительности жизни у 26 пациентов с частичным эффектом составила 18,2 мес, у 34 больных со стабилизацией — 13,1 мес. Год прожили большее число больных с полным эффектом, чем с частичным ($p = 0,0654$) и со стабилизацией процесса ($p = 0,0213$). Число больных с полным эффектом, проживших 2 года, было статистически значимо больше, чем число больных с частичным эффектом ($p = 0,0100$) и со стабилизацией процесса ($p = 0,0079$). Трехлетняя ОВ больных с полным эффектом была статистически значимо выше, чем с частичным эффектом ($p = 0,0412$) и со стабилизацией процесса ($p = 0,0013$). В контрольной группе полный эффект

был зарегистрирован у 7 пациентов с медианой продолжительности жизни 20,6 мес, частичный — у 17 с медианой 23,1 мес, стабилизация — у 8 с медианой 20,7 мес.

Число больных с полным и частичным эффектом, проживших год, было статистически значимо больше, чем число больных со стабилизацией процесса ($p = 0,0386$); различия между остальными показателями не достигли статистической значимости.

Ни один больной со стабилизацией процесса не прожил 5 лет.

Проведенный анализ показал, что при последовательном использовании двух методов — лекарственного, а затем лучевого максимально используются возможности каждого с минимальными побочными эффектами.

Наши результаты совпадают с некоторыми данными рандомизированных зарубежных исследований и данными, полученными при метаанализе. Во французском исследовании 2-летняя выживаемость повысилась с 14 до 21% при последовательном подходе, особенно при более длительном прослеживании больных. В 1980 г. это объяснялось тем, что индукционная ХТ позволяла улучшать эффективность ЛТ благодаря ответу опухоли, приводя к лучшей оксигенации остатка опухоли и/или меньшему количеству клоногенных клеток. Однако тщательный анализ, проведенный во французском исследовании, ясно показал, что выживаемость увеличилась благодаря уменьшению отдаленных метастазов в отсутствие различий в местном контроле опухоли.

При одновременной ХЛТ сокращается длительность лечения, но существует прямая зависимость ОВ от соблюдения плана лечения, от схем одновременной ХТ, фракционирования ЛТ и консолидирующих курсов ХТ, их числа и времени проведения. Комбинированный подход не должен использоваться во всех случаях распространенного РЛ. Пациенты, включаемые в исследование с одновременной ХЛТ, должны иметь очень хороший физический статус и возможность перенести это лечение.

Необходимо также учитывать расположение опухоли по отношению к паренхиме легкого, наличие ателектазов, воспалительного процесса, распада в опухоли. В то же время одновременное использование ХТ позволяет шире применять современные подходы к планированию ЛТ с использованием конформного облучения и исключением обработки «профилактических» зон, за счет чего возможно увеличение суммарных доз, подводимых к первичной опухоли в легком.

Подкупает также возможность с уменьшением объема ЛТ уменьшить частоту и выраженность постлучевых изменений легких. Однако имеется опасность неполного облучения всей опухоли, увеличения частоты рецидивов. В связи с указанными фактами проведение консолидирующих курсов ХТ после окончания ХЛТ очень желательно.

Однако при любой тактике лечения НМРЛ необходимо стремиться достигать максимального эффекта, что позволит увеличить продолжительность жизни больного. Кроме того, следует отметить, что только тщательный контроль за больными с использованием самых современных методов диагностики (КТ грудной клетки с контрастированием, ПЭТ/КТ, своевременные бронхоскопии) позволит правильно ответить на поставленные вопросы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Немелкоклеточный рак легкого (современные подходы к лечению) / Давыдов М., Горбунова В., Лактионов К., Маренич А. // Врач. — 2007. — № 1. — С. 24—27.
2. Bonomi P., Kim K., Chang A. Phase III trial comparing etoposide (E), cisplatin (C) versus Taxol (T) with cisplatin G-CSF (G) versus cisplatin in advanced non-small cell lung cancer (NSCLC): Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) // Proc. ASCO. — 1996. — Vol. 15. — P. A1145.
3. Fossella F. Docetaxel (Doc) for non-small cell lung cancer // Lung Cancer. — 1997. — Vol. 18 (suppl. 2). — P. 62—63.
4. Fukuoka M. Camptothecines // Lung Cancer. — 1997. — Vol. 18 (suppl. 2). — P. 57.
5. Hansen H. The effect of gemcitabine in NSCLC // Lung Cancer. — 1997. — Vol. 18 (suppl. 2). — P. 60—61.

6. Johnson D. H. Paclitaxel-combination chemotherapy in non-small cell lung cancer // Lung Cancer. — 1997. — Vol. 7 (suppl. 2). — P. 55—56.
7. Kelly K., Crowley J., Bunn R. B. A randomized phase III trial of paclitaxel plus carboplatin (PC) versus vinorelbine plus cisplatin (VC) in untreated advanced non-small cell lung cancer (NSCLC): A Southwest Oncology Group (SWOG) trial // Proc. ASCO. — 1999. — Vol. 18. — P. 1777.
8. Rodriguez J., Pawel J., Pluzanska A. A multicenter, randomized phase III study of docetaxel + cisplatin (DC) and docetaxel + carboplatin (DCB) vs vinorelbine + cisplatin (VC) in chemotherapy-naive patients with advanced and metastatic non small cell lung cancer // Proc. ASCO. — 2001. — Vol. 20, N 314. — P. 1252.

Поступила 07.10.2011

*Ekaterina Gennadiyevna Rodnikova¹, Zoya Petrovna Mikhina²,
Vera Andreyevna Gorbunova³, Sergey Alexeyevich Tkachev⁴,
Alexander Fedorovich Marenich⁵*

**ADVANTAGES AND DISADVANTAGES OF SEQUENTIAL VERSUS
CONCOMITANT CHEMORADIO THERAPY IN PATIENTS WITH STAGE IIIB
NON-SMALL CELL LUNG CANCER**

*¹ Postgraduate Student, Chemotherapy Department, Clinical Oncology Research Institute,
N. N. Blokhin RCRC RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, RF)*

*² MD, PhD, DSc, Leading Researcher, Radiation Treatment Department, Clinical Oncology Research Institute,
N. N. Blokhin RCRC RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, RF)*

*³ MD, PhD, DSc, Professor, Head, Chemotherapy Department, Clinical Oncology Research Institute,
N. N. Blokhin RCRC RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, RF)*

*⁴ MD, PhD, DSc, Professor, Head, Radiation Treatment Department, Clinical Oncology Research Institute,
N. N. Blokhin RCRC RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, RF)*

*⁵ MD, PhD, Leading Researcher, Chemotherapy Department, Clinical Oncology Research Institute,
N. N. Blokhin RCRC RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, RF)*

Address for correspondence: Rodnikova Ekaterina Gennadiyevna, Chemotherapy Department,
Clinical Oncology Research Institute, N. N. Blokhin RCRC RAMS, 24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, RF;
e-mail: rodnikova@eesg.ru

The purpose of this study was to compare efficacy and tolerability of concomitant vs. sequential chemoradiotherapy in 123 patients with stage IIIA or IIIB locally advanced non-small cell lung cancer. Of these patients 81 received concurrent chemoradiotherapy (test group) and 42 received sequential chemoradiotherapy (control group). Frequency and severity of hematological events, occurrence of esophagitis and tumor-specific symptoms (hemoptysis, fever) were higher in the concomitant group. Overall survival in the test group was 13.5 months vs. 19.7 months in the control. However, if consolidation chemotherapy was added then overall and 1-year survival rates were equal in the two groups. Chemoradiotherapy is a gold standard in the treatment of inoperable non-small cell lung cancer, while sequence, chemotherapy regimens, volume and doses of radiotherapy are disputable. More detailed analysis of these issues is needed.

Key words: lung cancer, chemoradiotherapy, tolerability, overall survival.

Галия Равилевна Сетдикова¹, Оксана Владимировна Паклина²,
Роман Евгеньевич Израйлов³, Сергей Евгеньевич Цыганов⁴

КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ КОРРЕЛЯЦИИ И ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ОНКОБЕЛКОВ p16, p53 и МЕТАСТИНА ПРИ ПРОТОВОЙ АДЕНОКАРЦИНОМЕ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

¹ Врач, патологоанатомическое отделение ФГУ ФМБЦ им. А. И. Бурназяна
ФМБА России (123098, РФ, г. Москва, ул. Маршала Новикова, г. 23)

² Д. м. н., заведующая, патологоанатомическое отделение ФГУ ФМБЦ им. А. И. Бурназяна
ФМБА России (123098, РФ, г. Москва, ул. Маршала Новикова, г. 23)

³ К. м. н., доцент, кафедра факультетской хирургии № 2 МГМСУ
(127473, РФ, г. Москва, ул. Десятская, г. 20)

⁴ Заведующий, патологоанатомическое отделение Городской клинической
больницы им. С. П. Боткина (125284, РФ, г. Москва, 2-й Боткинский проезд, г. 5)

Адрес для корреспонденции: 123098, РФ, г. Москва, ул. Гамалеи, д. 17А,
ФГУ ФМБЦ им. А. И. Бурназяна ФМБА России, патологоанатомическое отделение,
Сетдикова Галия Равилевна; e-mail: galiya84@mail.ru

В статье описаны клинико-морфологические факторы прогноза рака поджелудочной железы. Дана оценка экспрессии генов — супрессоров опухолевого роста p16, p53 и метастина при протоковой аденокарциноме поджелудочной железы.

Ключевые слова: протоковая аденокарцинома поджелудочной железы, гены — супрессоры опухолевого роста, p16, p53, метастин.

Протоковая аденокарцинома (ПАК) поджелудочной железы (ПЖ) входит в четверку карцином с наименьшей 5-летней выживаемостью. Лишь 2% пациентов не умирают от этой болезни [1]. Недостаток знаний о механизме развития рака поджелудочной железы (РПЖ) во многом затрудняет разработку эффективных подходов к лечению. В последнее время все большее внимание уделяется именно молекулярно-генетическим нарушениям при РПЖ для улучшения диагностики и прогнозирования развития болезни. К известным факторам, определяющим исход заболевания, относят локализацию первичной опухоли, клиническую стадию, наличие периневральной инвазии (ПНИ) и метастазов в регионарных лимфатических узлах, степень дифференцировки неопластических клеток и резектабельность опухоли [2]. Прогноз при ПАК ПЖ крайне неблагоприятный в связи с ее быстрым лимфогенным и гематогенным метастазированием. Положительные результаты можно ожидать лишь при I—II стадии заболевания, при которой 5-летняя выживаемость после радикальных операций достигает 35—37% [3].

В последние годы предпринимаются многочисленные попытки по выявлению самостоятельных иммуногистохимических факторов прогноза РПЖ. Молекулярно-

генетические исследования позволили выявить, что в развитии ПАК ПЖ важную роль играют активация онкогенов и инактивация генов — супрессоров опухолевого роста (табл. 1) [4].

Одним из самых известных генов — супрессоров опухолевого роста является ген p53. Мутации в этом гене приводят к безудержному росту клеток, удлинению клеточного цикла и генетической нестабильности [5]. Происходит разъединение двух взаимосвязанных процессов — клеточного деления и апоптоза. Имеются данные о том, что мутации p53 характерны преимущественно для поздних стадий рака, ассоциированы с метастазами в лимфатических узлах и резистентностью опухоли к химио- и лучевой терапии [6].

Таблица 1
Гены-супрессоры при ПАК ПЖ

Ген	Локализация гена	Распространенность при ПАК ПЖ, %
p16	9p/13q	> 90
p53	17p	50—75
Ген метастина	1q	50—65

Мутации гена-супрессора *p16* выявляются в 90% случаев ПАК ПЖ (см. табл. 1). При мутации данного гена происходит потеря контроля над скоростью и порядком прохождения фаз деления клетки, изменяется чувствительность к сигналам, ингибирующим рост, клетка теряет способность вступать в состояние покоя и приобретает свойства неконтролируемой пролиферации. Практически при всех карциномах ПЖ утрачена функция белка *p16* [7].

В последнее время роль независимого прогностического фактора при РПЖ отводится метастину (ген *KISS-1*). Метастин был выявлен в клетках меланомы и описан как ген — супрессор опухолевого роста в 1996 г. [8]. В норме метастин экспрессируется в плаценте, центральной нервной системе, яичках, печени, поджелудочной железе и кишечнике [9]. Свое действие метастин осуществляет через медиатор GPR-54 (G-белок), распознанный в 2001 г. Прогностическая ценность метастина показана при нескольких солидных опухолях, а также при раке яичников [10], щитовидной железы [11], желчного пузыря [12], желудка [13], пищевода [14] и поджелудочной железы [8]. N. Kazduyuki и соавт. обнаружили, что экспрессия *KISS-1* в ПАК ПЖ была значительно ниже, чем в нормальной ткани органа. Однако клиническое значение метастина при РПЖ остается неясным. Имеются данные, что высокий уровень экспрессии *KISS-1* может наблюдаться у больных РПЖ с благоприятным прогнозом. Отмечено, что рецидивы РПЖ чаще встречаются при метастин-негативных опухолях. Эти результаты показывают, что при прогрессировании рака происходит утрата гена метастина.

Целью работы явились изучение клинико-морфологических данных и оценка экспрессии онкобелков *p16*, *p53*, метастина при ПАК ПЖ и влияния данных факторов на прогноз заболевания.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа выполнена на операционном материале, полученном от 30 больных, находившихся на лечении в КБ 119 ФМБА России с 2005 по 2009 г. после гастропанкреатобилиарной резекции (ГПДР) ($n = 13$), лапароскопической (Ls) пилоросохраняющей панкреатодуоденальной резекции ($n = 8$), Ls ГПДР ($n = 8$), дистальная субтотальная резекция ($n = 1$). В качестве контроля использовали 7 образцов нормальной ткани ПЖ (аутопсийный материал). Среди пациентов преобладали мужчины (1,2:1). Возраст больных составил от 40 до 80 лет (средний 56,5 года).

Гистологические срезы окрашивали гематоксилином и эозином. Иммуногистохимическое исследование проводили на серийных парафиновых срезах толщиной 2 мкм стрептавидинбиотинопереоксидазным методом с докраской ядер гематоксилином фирмы «Shandon» по стандартной методике, рекомендованной фирмой-производителем с применением моно- и поликлональных антител: *p16*, *p53* (Novocastra) и метастин (Abcam). Использовали систему визуализации «Ultra Vision LP» («LabVision»). Интенсивность экспрессии маркеров оценивали полуколичественным методом, разделяя по концентрации антигена и локализации (цитоплазматическое, мембранное, внеклеточное): (–) — отрицательная реакция; (+) — слабая очаговая реакция; (+++) — сред-

няя реакция; (+++) — интенсивная реакция по всей цитоплазме. При ядерной локализации оценивали процент окрашенных ядер на 100 исследованных ядер.

Силу и значимость связи между анализируемыми признаками оценивали с помощью корреляционного анализа. Для количественных признаков вычисляли корреляционный коэффициент Пирсона. За уровень статистической значимости принимали $p < 0,05$. Для анализа выживаемости (по методу Каплана—Мейера) использовали регрессионную модель пропорциональных рисков Кокса. Достоверность различий между кривыми выживаемости подтверждали с помощью лог-рангового теста, критерия Гехана и F-критерия Кокса, с использованием пакета программ Statistica для Microsoft Windows, версия 6.0 [15].

РЕЗУЛЬТАТЫ

В исследуемом материале преобладали опухоли IIВ стадии (Т3N1M0) — у 13, что составило 43,3% (рис. 1). У 4 (13,3%) больных выявлены опухоли IIА стадии, при которой диаметр узла превышал 2 см в наибольшем измерении и отмечалось распространение процесса на прилежащие анатомические структуры, но лимфогенные и гематогенные метастазы отсутствовали. Доля стадии IА (диаметр опухолевого узла не превышает 2 см, метастазы отсутствуют), при которой отмечается самый благоприятный прогноз, составила всего 3% (у одного из 30 пациентов).

Продолжительность жизни после резекции ПЖ в среднем достигала 9 мес. Кумулятивная доля выживших спустя год после операции составила 0,15.

Регрессионный анализ влияния различных факторов на выживаемость больных ПАК ПЖ позволил выявить, что наиболее значимыми показателями прогноза заболевания являются стадия процесса (pTNM), степень

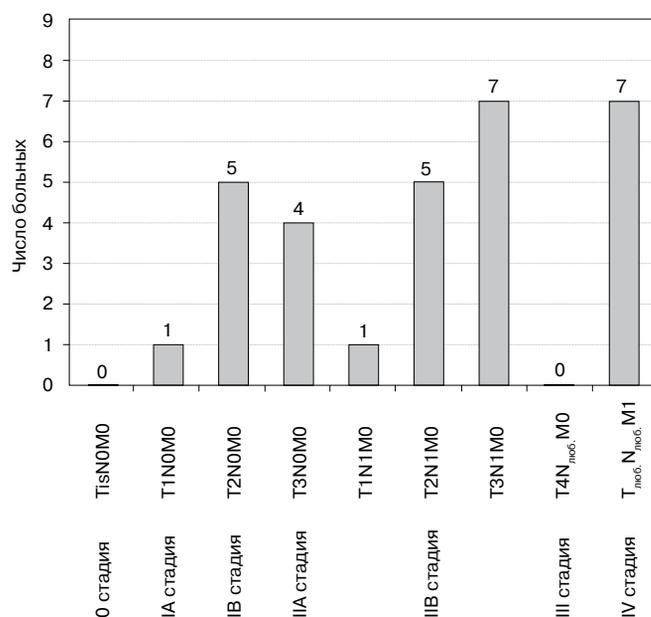


Рисунок 1. Распределение больных ПАК по стадиям. Люб. — любой.

дифференцировки опухолевых клеток (grade), резектабельность (R), периневральная инвазия (ПНИ) и изменения экспрессии генов — супрессоров опухолевого роста (табл. 2).

В зависимости от размера опухоли больных распределили на 3 группы: 1-я (n = 4) — опухоль 2 см и менее, 2-я группа (n = 23) — опухоль 2,1—5 см, 3-я группа (n = 3) — опухоль более 5,1 см. Прогноз в 1-й группе после резекции ПЖ был значительно лучше, чем у пациентов 2-й и 3-й групп. В отличие от данных W. Meurer и соавт. о связи между размером опухоли и ПНИ, а также наличием метастазов в регионарных лимфатических узлах, в нашем исследовании не выявлена статистически значимая корреляция между этими признаками ($p > 0,05$).

ПНИ обнаружена у 20 (66,7%) из 30 обследованных больных (рис. 2). Чаще она наблюдалась в умереннодифференцированных аденокарциномах ПЖ, но значимой корреляции между дифференцировкой опухоли и наличием ПНИ не выявлено. Кумулятивная доля выживших преобладала в отсутствие ПНИ (0,95/0,65), прогноз у таких больных был более благоприятным. Следует отметить прямую зависимость между наличием ПНИ и поражением регионарных лимфатических узлов ($r = 0,62$). Сходные данные получили I. Hirai и соавт., обнаружив, что формы РПЖ, которые легко распространяются по лимфатическим путям, склонны к распространению по периневральным пространствам. При этом инвазия имеет прерывистый характер, поэтому даже при R0 нельзя полностью гарантировать отсутствие опухолевых клеток вдоль нервного волокна [16].

Следующим важным прогностическим фактором является радикальность операции (R). Изучали следующие

Таблица 2

Результаты регрессионного анализа влияния клинико-анатомических и биомолекулярных факторов на выживаемость больных ПАК ПЖ

Фактор	β	t	p
Пол	-1,17244	-1,85979	0,062924
Размер опухоли	-0,27109	-2,11349	0,034566
pTNM	2,19783	2,09061	0,036571
Стадия	12,91706	2,71495	0,006632
R	5,03258	2,46771	0,013603
Grade	-4,25673	-2,33910	0,019336
ПНИ	0,1020	6,1767	0,000001
p16	0,05986	0,22970	0,088326
p53	0,0338	3,56987	0,001145
Ген метастина	0,03250	3,39270	0,000367

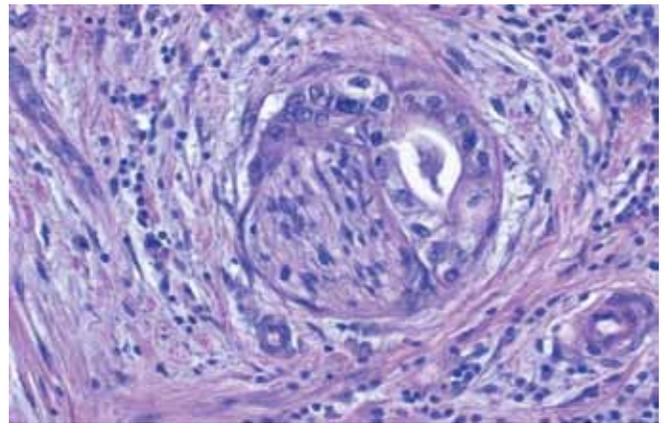


Рисунок 2. Протоковая аденокарцинома ПЖ: периневральная опухолевая инвазия (окраска гематоксилином и эозином, $\times 400$).

линии резекции: край общего желчного протока, край главного панкреатического протока, край ткани железы, срезы задней и передней поверхностей удаленной части железы. Кумулятивная доля выживших при R0 составила 0,92, что в 2 раза больше, чем при R1. Продолжительность жизни больных с III стадией при R1 составила 9 мес.

В результате иммуногистохимического исследования установлено, что в неизмененной ткани ПЖ наблюдалась выраженная (+++) экспрессия метастина в цитоплазме клеток эпителия протоков и ацинарных клеток (рис. 3); экспрессия онкобелка p16 расценена как интенсивная ($> 75\%$), а экспрессия p53 не превышала 5%. При оценке уровня экспрессии генов-супрессоров больных ПАК ПЖ распределили по группам (табл. 3) в зависимости от уровня экспрессии антигенов. Следует отметить, что при ПАК ПЖ экспрессия онкобелка p16 не превышала 30% — II группа и составила 11 (36,7%) из 30 случаев. В основном это были высокодифференцированные формы рака. При низкодифференцированных формах экспрессия p16 резко снижалась и

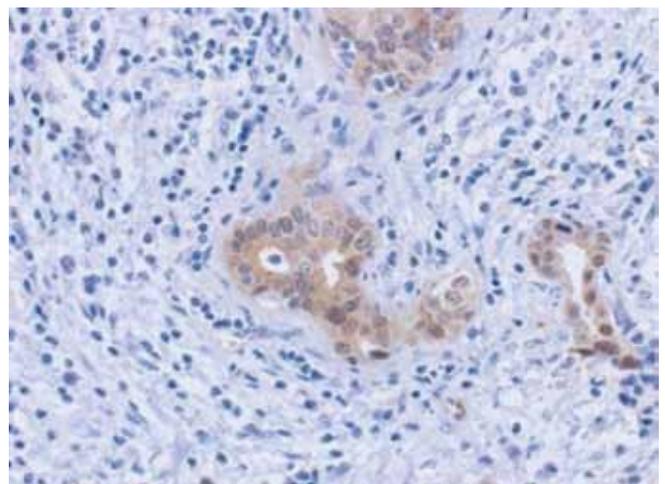


Рисунок 3. Экспрессия метастина нормальной ткани ПЖ ($\times 100$).

Таблица 3

Распределение уровней экспрессии антигенов по группам

Маркер	Группа	Уровень экспрессии антигена, %
p16, p53	I — прогноз относительно благоприятный	< 25
	II — прогноз относительно благоприятный	25,1—50
	III — прогноз относительно неблагоприятный	50,1—75
	IV — прогноз неблагоприятный	> 75,1
Метастин	I — прогноз неблагоприятный	—
	II — прогноз относительно неблагоприятный	+
	III — прогноз относительно благоприятный	++
	IV — прогноз относительно благоприятный	+++

выявлялась лишь в единичных ядрах. В умереннодифференцированных формах экспрессия p16 не превышала 25%. Значимой связи между экспрессией онкобелка p16 и клинико-морфологическими данными не выявлено. При оценке экспрессии онкобелка p53 преобладала III группа (рис. 4) и составила 53,33% (16 случаев из 30). При оценке экспрессии p53 отмечена прямая зависимость с наличием метастазов ($r = 0,33$; $p = 0,004$) и соответственно стадией заболевания ($r = 0,25$; $p = 0,03$).

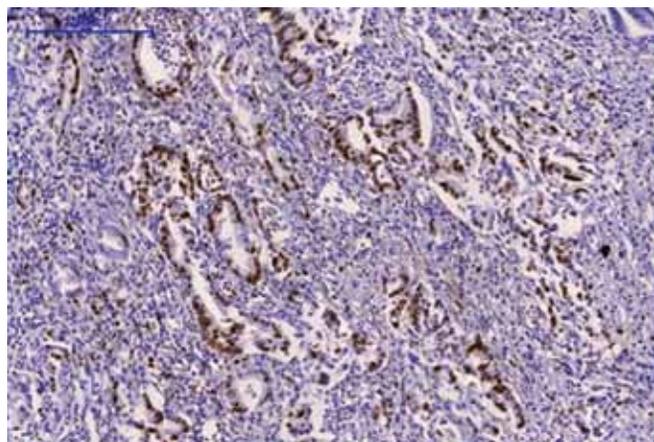


Рисунок 4. Экспрессия p53 в опухолевых клетках при ПАК ПЖ (x400).

Экспрессия метастина расценена как слабо и умеренно выраженная и составила 36,67% (11 случаев из 30) и 30% (9 случаев из 30) соответственно. По мере снижения дифференцировки опухолевых клеток экспрессия метастина уменьшалась, вплоть до полного исчезновения ($r = -0,57$), однако в неизмененных протоках его экспрессия оставалась высокой (рис. 5). Нами также обнаружена статистически значимая зависимость между экспрессией метастина и стадией заболевания ($r = -0,25$; $p = 0,03$).

Регрессионный анализ выживаемости пациентов с учетом индексов экспрессии онкобелка p53 и метастина позволил выявить, что изменение в генах — супрессорах опухолевого роста служит значимым прогностическим фактором ($p = 0,001145$ и $p = 0,000367$ соответственно), за исключением гена p16 ($p = 0,088$). Мы отметили прямую корреляцию между экспрессией p53 и продолжительностью жизни больных ($r = -0,28$). Медиана продолжительности жизни в I и во II группах по уровню экспрессии p53 составила по 17 мес, а в III и IV группах — 11 и 12 мес соответственно. В отсутствие экспрессии метастина продолжительность жизни больных после хирургического лечения не достигла 4 мес.

Такие клинико-анатомические факторы, как пол и возраст, по нашим данным, не имели прогностической значимости при оценке скорректированной выживаемости больных РПЖ ($p > 0,1$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование показало, что факторами прогноза ПАК ПЖ являются стадия, степень дифференцировки опухолевых клеток, резектабельность (R), наличие/отсутствие ПНИ, уровень экспрессии p53 и метастина. Более высокая выживаемость больных отмечается при R0 и диаметре опухоли менее 2 см в наибольшем измерении. Из исследованных генов-супрессоров уровень экспрессии метастина является наиболее значимым фактором прогноза РПЖ. Для более достоверной оценки прогноза протоковой аденокарциномы ПЖ необходимо детальное морфологическое и иммуногистохимическое исследование.

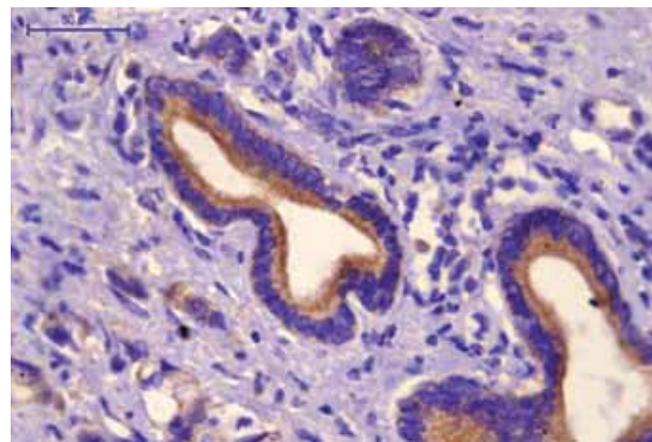


Рисунок 5. Экспрессия метастина в неизмененных протоках при ПАК ПЖ (x400).

ЛИТЕРАТУРА

1. Гарин А. М. Четыре формы рака с наименьшей 5-летней выживаемостью / Матер. XII Рос. онкол. конгр., Москва, 2009 г. — С. 37—39.
2. Pancreatic cancer: basic and clinical aspects / Schneider G., Siveke J. T., Eckel F., Schmid R. M. // *Gastroenterology*. — 2005. — Vol. 128. — P. 1606—1625.
3. Resected adenocarcinoma of the pancreas-616 patients: results, outcomes, and prognostic indicators / Sohn T. A., Yeo C. J., Cameron J. L., Koniaris L., Kaushal S., Abrams R. A., Sauter P. K., Coleman J., Hruban R. H., Lillmoie K. D. // *J. Gastrointest. Surg.* — 2000. — Vol. 4. — P. 567—579.
4. Genetic progression and divergence in pancreatic carcinoma / Yamano M., Fujii H., Takagaki T., Kadowaki N., Watanabe H., Shirai T. // *Am. J. Pathol.* — 2000. — Vol. 156. — P. 2123—2133.
5. Kirsch D. G., Kastan M. B. Tumor-suppressor p53: implications for tumor development and prognosis // *J. Clin. Oncol.* — 1998. — Vol. 16. — P. 3158—3168.
6. Yeo C. J., Cameron J. L. Prognostic factors in ductal pancreatic cancer // *Arch. Surg.* — 1998. — Vol. 383. — P. 129—133.
7. Патютко Ю. И., Котельников А. Г. Хирургия рака органов билиопанкреатодуоденальной зоны — М.: Медицина, 2007. — 677 с.
8. Prognostic value of metastin expression in human pancreatic cancer // Kazuyuki Nagai, Ryuichiro Doi, Fumihiko Katagiri, Tatsuo Ito, Atsushi Kida, Masayuki Koizumi, Toshihiko Masui, Yoshiya Kawaguchi, Kenji Tomita, Shinya Oishi, Nobutaka Fujii and Shinji Uemoto // *J. Gastroenterol.* — 2009. — Vol. 21. — P. 147—152.
9. KiSS-1, a novel human malignant melanoma metastasis-suppressor gene / Lee J. H., Miele M. E., Hicks D. J., Phillips K. K., Trent J. M.,

Weissman B. E., Welch D. R. // *J. Natl. Cancer Inst.* — 1996. — Vol. 88. — P. 1731—1736.

10. Hata K., Dhar D. K., Watanabe Y. Expression of metastin and a G-protein-coupled receptor (AXOR12) in epithelial ovarian cancer // *J. Cancer*. — 2007. — Vol. 43. — P. 1452—1459.

11. Metastin receptor is overexpressed in papillary thyroid cancer and activates MAP kinase in thyroid cancer cells / Ringel M. D., Hardy E., Bernet V. J., Burch H. B., Schuppert F., Burman K. D., Saji M. // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* — 2002. — Vol. 87, N 5. — P. 2399.

12. Sanchez-Carbayo M., Capodiceci P., Cordon-Cardo C. Tumor suppressor role of KiSS-1 in bladder cancer: loss of KiSS-1 expression is associated with bladder cancer progression and clinical outcome // *Am. J. Pathol.* — 2003. — Vol. 162. — P. 609—617.

13. Downregulation of KiSS-1 expression is responsible for tumor invasion and worse prognosis in gastric carcinoma / Dhar D. K., Naora H., Kubota H., Maruyama R., Yoshimura H., Tonomoto Y., Tachibana M., Ono T., Otani H., Nagasue N. // *J. Cancer*. — 2004. — Vol. 111. — P. 868—872.

14. Ikeguchi M., Yamaguchi K., Kaibara N. Clinical significance of the loss of KiSS-1 and orphan G-protein-coupled receptor (hOT7T175) gene expression in esophageal squamous cell carcinoma // *J. Clin. Cancer Res.* — 2004. — Vol. 10. — P. 1379—1383.

15. Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. — М.: Медиа Сфера, 2002. — 312 с.

16. Perineural invasion in pancreatic cancer / Hirai I., Kimura W., Ozawa K., Kudo S., Suto K., Kuzu H., Fuse A. // *J. Pancreas*. — 2002. — Vol. 4. — P. 15—25.

Поступила 05.09.2011

*Galiya Ravilevna Setdikova¹, Oxana Vladimirovna Paklina²,
Roman Evgenievich Izrailov³, Sergey Evgenievich Tsyganov⁴*

CLINICOMORPHOLOGICAL CORRELATIONS AND PROGNOSTIC VALUE OF ONCOPROTEINS p16, p53 AND METASTATIN IN PANCREATIC DUCTAL ADENOCARCINOMA

¹ *Physician, Pathological Anatomy Department, A. I. Burnazyan PMBC,
Russian PMBA (23, Marshala Novikova ul., Moscow, 123098, RF)*

² *MD, PhD, DSc, Head, Pathological Anatomy Department, A. I. Burnazyan PMBC,
Russian PMBA (23, Marshala Novikova ul., Moscow, 123098, RF)*

³ *MD, PhD, Assistant Professor, Chair of Faculty Surgery No.2, MSMDU
(20, Delegatskaya ul., Moscow, 127473, RF)*

⁴ *Head, Pathological Anatomy Department, S. P. Botkin Municipal Clinical Hospital
(5, 2 Botkinsky pr., Moscow, 125284, RF)*

Address for correspondence: Setdikova Galiya Ravilevna, Pathological Anatomy Department,
A. I. Burnazyan PMBC, Russian PMBA, 17a, Gamaley ul., Moscow, 123098, RF; e-mail: galiya84@mail.ru

The paper describes clinical and morphological prognostic factors for pancreatic cancer. Expression of tumor growth suppressor genes p16, p53 and metastatin is evaluated in pancreatic ductal adenocarcinoma.

Key words: pancreatic ductal adenocarcinoma, tumor growth suppressor genes, p16, p53, metastatin.

Марина Александровна Скрыпникова¹, Марина Борисовна Стенина²,
Мона Александровна Фролова³, Илья Анатольевич Покатаев⁴,
Александр Валерьевич Петровский⁵, Ольга Владимировна Крохина⁶,
Екатерина Олеговна Игнатова⁷, Александра Дмитриевна Петрова⁸,
Сергей Алексеевич Тюлягин⁹

КОМБИНАЦИЯ ДОКСОРУБИЦИНА, КАПЕЦИТАБИНА И ЦИКЛОФОСФАМИДА В ПЕРВОЙ ЛИНИИ ХИМИОТЕРАПИИ МЕСТНОРАСПРОСТРАНЕННОГО И МЕТАСТАТИЧЕСКОГО РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ С ТРОЙНЫМ НЕГАТИВНЫМ ФЕНОТИПОМ

¹ Аспирант, отделение клинической фармакологии и химиотерапии

НИИ клинической онкологии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

² Д. м. н., ведущий научный сотрудник, отделение клинической фармакологии и химиотерапии

НИИ клинической онкологии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

³ К. м. н., научный сотрудник, отделение клинической фармакологии и химиотерапии

НИИ клинической онкологии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

⁴ К. м. н., врач, отделение клинической фармакологии и химиотерапии

НИИ клинической онкологии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

⁵ К. м. н., доцент, кафедра онкологии лечебного факультета

ГОУ ВПО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

⁶ К. м. н., старший научный сотрудник, отделение реконструктивной и сосудистой хирургии

НИИ клинической онкологии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

⁷ Аспирант, отделение клинической фармакологии и химиотерапии

НИИ клинической онкологии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

⁸ Аспирант, отделение клинической фармакологии и химиотерапии

НИИ клинической онкологии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

⁹ Д. м. н., профессор, заведующий, отделение клинической фармакологии и химиотерапии

НИИ клинической онкологии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

Адрес для переписки: 115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, д. 24. Отделение клинической фармакологии и химиотерапии НИИ клинической онкологии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, Скрыпникова Марина Александровна. e-mail: m.skrypnikova@mail.ru

Тройной негативный рак молочной железы характеризуется отсутствием рецепторов эстрогенов (ER), прогестерона (PgR) и HER-2/neu и отличается крайне агрессивным течением. В связи с этим перспективным представляется изучение интенсифицированных и метронных режимов химиотерапии. Целью исследования была оценка эффективности и токсичности комбинации доксорубицина, циклофосфамида и капецитабина в качестве первой линии химиотерапии у больных местнораспространенным и метастатическим раком молочной железы с тройным негативным фенотипом. Особенностью данной комбинации является сочетание метронных свойств (еженедельные введения доксорубицина, ежедневный прием циклофосфамида и капецитабина) и уплотненного графика введения препаратов. В исследование включена 41 больная: 21 местнораспространенным и 20 диссеминированным раком молочной железы. Все больные получили лечение по схеме: доксорубицин 25 мг/м² еженедельно, циклофосфамид 50 мг внутрь ежедневно, капецитабин 1500 мг/сут ежедневно. Частота развития объективных эффектов 63,4% (у 26 женщин из 41), из них полных регрессий — 26,8% (у 11 из 41). Радикальное хирургическое лечение выполнено у 20 (95,2%) из 21 больной местнораспространенным раком молочной железы, у 7 (35%) из них достигнут полный лечебный патоморфоз в опухоли и лимфатических узлах. Медиана времени до прогрессирования составила 17 мес. В группе больных метастатическим раком молочной железы медиана времени до прогрессирования составила 9,4 (1,4 ± 23) мес. Несмотря на относительно высокую токсичность комбинации доксорубицина, циклофосфамида, капецитабина, доказана ее высокая эффективность у больных местнораспространенным и метастатическим раком молочной железы с тройным негативным фенотипом.

Ключевые слова: рак молочной железы, тройной негативный фенотип, химиотерапия, полный лечебный патоморфоз.

Тройной негативный рак молочной железы (РМЖ) составляет 8—20% всех случаев, характеризуется отсутствием рецепторов эстрогенов (ER), прогестерона (PgR) и HER-2/neu (т. е. мишеней для гормоно- и анти-HER-2-терапии), примерно в 75% случаев представлен базальноподобным молекулярным подтипом и отличается крайне агрессивным течением, в основе которого лежит высокий пролиферативный потенциал [1].

С учетом высоких темпов пролиферации тройных негативных опухолей перспективным представляется изучение интенсифицированных (главным образом за счет сокращения интервалов между курсами, т. е. «уплотнения» дозы) режимов химиотерапии.

В качестве примера можно привести опыт использования в составе адъювантной терапии еженедельного введения паклитаксела, позволившего на 40% снизить риск рецидива РМЖ с тройным негативным фенотипом на протяжении 5 лет наблюдения; аналогичный показатель для больных с гормонозависимыми опухолями составил всего 20% [2]. В другом исследовании сравнивалась эффективность стандартного (каждые 3 нед) режима введения доксорубина, циклофосфамида и паклитаксела и дозоинтенсивного (каждые 2 нед) режима в качестве адъювантной химиотерапии у больных с опухолями, отрицательными по ER, включая тройной негативный фенотип. Безрецидивная и общая 5-летняя выживаемость больных, получавших дозоинтенсивный режим, составила 70 и 75% соответственно, в то время как у больных, получавших стандартный режим, — 63 и 68% [3]. Однако, несмотря на многочисленные сообщения, касающиеся эффективности различных вариантов химиотерапии, до сих пор не предложено специфических подходов к лечению подгруппы больных с тройными негативными опухолями.

Отсутствие терапевтических мишеней для традиционно использующихся при лечении РМЖ препаратов (гормональная и анти-HER-2-терапия) заставляет искать другие подходы, в частности антиангиогенные механизмы, тем более что для этого имеются некоторые теоретические предпосылки. В исследовании E2100 сравнивалась эффективность паклитаксела в монотерапии и паклитаксела в комбинации с бевацизумабом в первой линии химиотерапии диссеминированного РМЖ. При подгрупповом анализе результатов исследования E2100 оказалось, что снижение риска прогрессирования при добавлении бевацизумаба было наиболее выраженным в подгруппах с ER(+)/PgR(+) и ER(-)/PgR(-). Учитывая, что почти у 90% больных, включенных в исследование, отсутствовала гиперэкспрессия HER-2/neu, группу больных с ER(-)/PgR(-) можно рассматривать как группу с тройным негативным фенотипом [4].

Одним из способов воздействия на ангиогенез кроме препаратов непосредственной антиангиогенной направленности (например, бевацизумаб и подобные ему препараты) может быть метрономная терапия, которая основана на длительном частом, иногда ежедневном,

применении малых доз химиопрепаратов, обладающих минимальной токсичностью. Используемые в рамках метрономных режимов дозы цитостатиков слишком малы для того, чтобы оказывать непосредственный противоопухолевый эффект, но подавляют пролиферацию эндотелия сосудов, в том числе опухолевых, и таким образом тормозят рост опухоли [5].

Целью исследования была оценка эффективности и токсичности комбинации доксорубина, циклофосфамида и капецитабина в качестве химиотерапии первой линии у больных местнораспространенным и метастатическим РМЖ с тройным негативным фенотипом. Особенностью данной комбинации является сочетание метрономных свойств (еженедельные введения доксорубина, ежедневный прием циклофосфамида и капецитабина) и уплотненного графика введения препаратов. При применении стандартного режима FAC (5-фторурацил 500 мг/м², доксорубин 50 мг/м², циклофосфамид 500 мг/м² каждые 3 нед) больные получают еженедельно 16,7 мг/м² доксорубина и 166,7 мг/м² циклофосфамида. При использовании исследуемого режима планируемая еженедельная доза доксорубина составляет 25 мг/м², а циклофосфамида — 350 мг/нед.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании приняли участие больные местнораспространенным или метастатическим РМЖ с тройным негативным фенотипом, получавшие лечение в отделении клинической фармакологии и химиотерапии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН в 2009—2010 гг. У всех больных диагноз был морфологически верифицирован. Тройной негативный фенотип определяли при помощи иммуногистохимического исследования, рецепторный статус опухоли оценивали по методу Allred, который предусматривает количественную характеристику 2 параметров — числа положительно окрашенных ядер и интенсивности окраски. В сомнительных случаях иммуногистохимического определения Her-2/neu (2+) результаты уточняли с помощью реакции флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH-реакция).

Степень злокачественности определяли по модифицированной схеме Bloom-Richardson [6; 7].

В исследование включали больных в общем удовлетворительном состоянии (по шкале ECOG 0—2), с нормальной функцией печени (уровень аланинаминотрансферазы и аспартатаминотрансферазы $\leq 2,5$ верхней границы нормы в отсутствие метастазов в печени и ≤ 5 верхней границы нормы при метастазах в печени), почек (уровень креатинина в крови 60—115 мкмоль/л), костного мозга (абсолютное число палочко- и сегментоядерных нейтрофилов $1,5 \times 10^9 \text{ л}^{-1}$ и более, тромбоцитов $100 \times 10^9 \text{ л}^{-1}$ и более), сердца (фракция выброса левого желудочка — ФВ ЛЖ 50% и более), с клинически проявляющимися или выявляемыми с помощью объективных методов обследования болезнями и не получавших ранее терапии по поводу метастатической болезни (допускалось наличие в анамнезе адъювантной химиотерапии с использованием безантрациклиновых режимов). Больных с метастазами в головном мозге, а также тяжелой сопутствующей патологией в исследование не включали.

Все больные получали лечение по схеме: доксорубин 25 мг/м² еженедельно до достижения максимальной суммарной дозы 475 мг/м², циклофосфамид (эндоксан, «Baxter») 50 мг внутрь ежедневно, капецитабин (кселода, «Roche») 1500 мг/сут ежедневно. Дозовая интенсивность при таком режиме введения (без пропусков и отсрочек) была принята за идеальную и составила для доксорубина 25 мг/м² в неделю, для капецитабина 10 500 мг в неделю, для циклофосфамида 350 мг в неделю. При достижении максимальной суммарной дозы доксорубина больные диссеминированным раком продолжали лечение в поддерживающем режиме (циклофосфамид 50 мг/сут внутрь ежедневно, капецитабин 1500 мг/сут ежедневно) до прогрессирования болезни или достижения неприемлемой токсичности. При анализе результатов для каждой больной была рассчитана реальная дозовая интенсивность (в процентах от идеальной по каждому препарату).

Очередные инфузии доксорубина проводили при абсолютном числе нейтрофилов (АЧН) $\geq 1,0 \times 10^9 \text{ л}^{-1}$ и числе тромбоцитов $\geq 100 \times 10^9 \text{ л}^{-1}$. Протоколом исследования была предусмотрена коррекция лечения в связи с токсичностью: при АЧН $< 1,0 \times 10^9 \text{ л}^{-1}$, но $> 0,5 \times 10^9 \text{ л}^{-1}$ и количестве тромбоцитов $< 100 \times 10^9 \text{ л}^{-1}$, но $> 75 \times 10^9 \text{ л}^{-1}$ введение доксорубина пропускали, а прием циклофосфамида и капецитабина продолжали в прежних дозах; при АЧН $< 0,5 \times 10^9 \text{ л}^{-1}$ и/или тромбоцитах $< 75 \times 10^9 \text{ л}^{-1}$ лечение откладывали до восстановления токсичности ≤ 1 -й степени.

При явлениях ладонно-подошвенного синдрома (ЛПС) 3—4-й степени предусматривалась отмена капецитабина до уменьшения степени выраженности симптомов ≤ 1 -й степени. При сохранении ЛПС > 1 -й степени в течение более 2 нед капецитабин отменяли полностью, введение доксорубина и прием циклофосфамида продолжали в прежних дозах; при снижении ФВ ЛЖ $< 50\%$ или $\geq 10\%$ от исходного уровня введение доксорубина прекращали, прием циклофосфамида и капецитабина продолжали в прежних дозах.

При возникновении фебрильной нейтропении больные продолжали лечение всеми препаратами в прежних дозах после восстановления АЧН $\geq 1,0 \times 10^9 \text{ л}^{-1}$, но профилактически им назначали антибактериальные препараты (АБ), при повторном эпизоде фебрильной нейтропении, несмотря на прием АБ, лечение отменяли. Максимальная допустимая отсрочка лечения (при отмене всех 3 препаратов) — пропуск 2 введений доксорубина или 2 нед приема циклофосфамида и капецитабина; при необходимости более длительного перерыва в лечении рассматривали альтернативные варианты химиотерапии. При возникновении других видов токсичности 3—4-й степени лечение откладывали до регрессии симптомов (≤ 1 -й степени).

До начала лечения у всех больных была проведена оценка распространенности болезни с помощью рентгенографии грудной клетки, скintiграфии костей в сочетании с рентгенографией/компьютерной томографией (КТ)/магнитно-резонансной томографией (МРТ) при наличии показаний, ультразвуковым исследованием (УЗИ) или КТ брюшной полости, маммографии (у больных местнораспространенным РМЖ). Выполняли об-

щий и биохимический анализы крови, эхокардиографию (ЭхоКГ).

Лечебный эффект оценивали каждые 8 нед с использованием тех же диагностических методов, которые применяли на этапе скрининга. Кроме того, для оценки токсичности еженедельно (перед каждым введением доксорубина) выполняли общий анализ крови, а каждые 4 нед — биохимический анализ крови. Оценка сократительной способности миокарда проводили каждые 8 нед. Больным местнораспространенным РМЖ, достигшим в результате химиотерапии операбельного состояния, проводили хирургическое лечение (радикальная резекция молочной железы или радикальная мастэктомия).

Степень лечебного патоморфоза в подгруппе оперированных больных оценивали с использованием методики Chevallier, согласно которой 1-му классу соответствовало отсутствие опухоли как макроскопически, так и микроскопически (Ch1); 2-му классу — наличие карциномы *in situ* только в молочной железе без инвазивной опухоли и опухолевых клеток в лимфатических узлах (Ch2); 3-му классу — наличие инвазивной карциномы со стромальными изменениями, такими, как фиброз и склероз (Ch3); 4-му классу — отсутствие или минимальные изменения структуры опухоли [8]. Сочетание морфологических признаков лечебного патоморфоза 1-го и 2-го классов расценивали как полный лечебный патоморфоз. После хирургического вмешательства всем больным проводили адьювантное лечение паклитакселом в режиме 80 мг/м² еженедельно (12 введений) с последующей лучевой терапией.

Объективные эффекты (ОЭ) химиотерапии оценивали по критериям ВОЗ при наличии измеряемых опухолевых очагов по данным КТ, МРТ или УЗИ, у больных местнораспространенным РМЖ проводили оценку полных морфологических регрессий. Токсичность оценивали в соответствии с критериями NCI CTC 3.0 [9]. Время до прогрессирования рассчитывали от начала лечения до момента прогрессирования, зафиксированного с помощью объективных методов обследования. Продолжительность жизни рассчитывали от начала лечения до смерти.

Статистический анализ произведен с помощью программ Microsoft Excel и Statistica 8. Кривые времени до прогрессирования создавали по методу Каплана—Майера.

В общей сложности в исследование была включена 41 больная: 21 местнораспространенным и 20 диссеминированным РМЖ, медиана возраста составила 51 (33—73) год. Подробная характеристика больных представлена в табл. 1.

Таким образом, в целом больные, включенные в исследование, характеризовались удовлетворительным общим состоянием; в большинстве случаев (90,2%) имелся инфильтративно-протоковый гистологический вариант 2—3-й степени злокачественности с высоким индексом пролиферации (в 100% случаев среди больных, у которых данные показатели определялись). В подгруппе больных местнораспространенным РМЖ у 76,2% определены стадии T3—4N0—3M0. В подгруппе с метастатической болезнью соотношение больных с висцеральными и мягкоткаными/костными метастазами было примерно равным (55 и 50% соответственно).

Таблица 1

Характеристика больных местнораспространенным и метастатическим РМЖ, получавших комбинацию доксорубицина, циклофосфамида и капецитабина

Параметр	Значение	
	абс.	%
Число больных	41	100,0
Медиана возраста, годы ^а	51 (33—73)	
Оценка общего состояния по ECOG 0—1 балл	41	100,0
Местнораспространенный РМЖ	21	100,0
Т3—4N0—3M0	16	76,2
Метастатический РМЖ	20	100,0
висцеральные метастазы	11	55,0
печень	6	30,0
легкие	5	25,0
другие органы	2	10,0
только кости ± мягкие ткани (без висцеральных метастазов)	4	20,0
мягкие ткани ± регионарные лимфатические узлы	6/20	30,0
Измеряемые проявления болезни	41	100,0
Гистологический тип	41	100,0
инфильтративный протоковый	37	90,2
инфильтративный дольковый	2	4,9
инфильтративный протоковый + дольковый	2	4,9
Степень злокачественности	Определена у 26 больных из 41	63,4
1	0	
2	11	42,3
3	15	57,7
Индекс пролиферации	Определен у 17 больных из 41	41,5
высокий (≥ 14%)	17	100,0
Предшествующее лечение		
Не получали	37	90,2
Получали только локальное (хирургическое ± лучевая терапия)	4	9,8

^а Данные представлены в виде среднего (мин. — макс.).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Характеристика проведенного лечения

На момент анализа результатов лечение по схеме доксорубин, циклофосфамид, капецитабин завершили все больные ($n = 41$), 4 (9,7%) женщины продолжают прием циклофосфамида и капецитабина в поддерживающем режиме. Запланированный объем лечения (максимально 19 введений доксорубина, суммарная доза 475 мг/м²) получили 9 (21,9%) больных. Причинами досрочного окончания терапии у остальных 32 больных были следующие: ЛПС 3-й степени, возникший после 10 нед лечения, — у одной больной; кардиотоксичность (снижение ФВЛЖ больше чем на 10% от исходного уровня; суммарная доза доксорубина составила 300 мг/м²) — у одной больной; стоматит 3-й степени после 8 нед лечения — у одной; прогрессирование — у 13; достижение операбельного состояния — у 15 (у больных, которые достигли операбельного состояния, но в связи с такими осложнениями, как стоматит 3-й степени, нейтропения 3—4-й степени, не могли продолжать химиотерапию, принимали решение о проведении хирургического лечения из-за опасений прогрессирования болезни).

Одна больная отказалась от введения доксорубина (суммарная доза доксорубина на момент отказа 425 мг/м²).

В результате коррекции режима медиана реальной дозой интенсивности для доксорубина составила 22,4 мг/м²/нед (89,5% от идеальной), медиана кумулятивной дозы доксорубина во всей группе — 425 (100—475) мг/м², дозовая интенсивность для циклофосфамида — 308,8 мг/нед (88,2%), для капецитабина — 9187,5 г/нед (87,5% от идеальной).

Медиана длительности лечения для режима доксорубин + циклофосфамид + капецитабин (без учета поддерживающей фазы) составила 17,3 нед (от 4 до 25 нед; планировалось 19 нед). После завершения введения доксорубина медиана продолжительности лечения (с учетом продолжения приема циклофосфамида и капецитабина в поддерживающем режиме) составила 18 нед (3 ± 60 нед).

Необходимо отметить, что лечение проводилось амбулаторно, ни в одном случае не было причиной развития опасных для жизни осложнений, обусловивших необходимость экстренной госпитализации.

Терапевтические эффекты

ОЭ во всей группе достигнут у 26 (63,4%) больных: полная регрессия (ПР) — у 11 (26,8%), частичная регрессия (ЧР) — у 15 (36,6%), стабилизация (СТ) — у 9 (22%), прогрессирование — у 6 (14,6%).

Среди больных местнораспространенным РМЖ ($n = 21$) операбельное состояние достигнуто у 20 (95,2%): 16 (80%) из 20 выполнена радикальная мастэктомия, а 4 (20%) — радикальная резекция. У одной женщины констатировано прогрессирование болезни через 3 нед от начала лечения, в связи с чем схема лечения была изменена на паклитаксел 60 мг/м², карбоплатин АUC2 в еженедельном режиме, однако после 8 нед лечения зарегистрировано прогрессирование болезни, принято решение о выполнении санационной мастэктомии.

Среди 20 прооперированных больных у 7 (35%) достигнут полный лечебный патоморфоз в опухоли и исследованных лимфатических узлах (Ch1 + Ch2). Медиана кумулятивной дозы доксорубина у больных с полным лечебным патоморфозом составила 420 мг/м² (325—475 мг/м²), в то время как у больных, не достигших полного патоморфоза, медиана кумулятивной дозы составила 300 мг/м² (150—475 мг/м²; $p < 0,046$).

Проведен сравнительный анализ зависимости степени лечебного патоморфоза (4-й степени по сравнению с 1, 2 и 3-й) от уровня Ki67. Выявлено, что при уровне Ki67 более 60% чаще наблюдался полный лечебный патоморфоз ($p = 0,09$).

В группе больных местнораспространенным РМЖ ($n = 21$) при медиане длительности наблюдения 13,7 (3—20,9) мес прогрессирование болезни отмечено у 7 (33,3%), в том числе у 2 (9,5%) — за счет поражения головного мозга. Медиана времени до прогрессирования составила 17 мес, годовая безрецидивная выживаемость — 73%.

На момент анализа результатов в группе больных метастатическим РМЖ при медиане времени наблюдения 13,1 (1—23) мес у 13 (65%) больных зафиксировано прогрессирование болезни, медиана времени до прогрессирования в этой подгруппе составила 9,4 (1,4—23) мес, годовая выживаемость без прогрессирования — 40%.

Данные об эффективности комбинации доксорубина, циклофосфамида и капецитабина представлены в табл. 2.

Таким образом, несмотря на относительно высокую токсичность комбинация доксорубина, циклофосфамида, капецитабина оказалась высокоэффективной. Данный режим позволил добиться 63,4% ОЭ. Среди всех больных местнораспространенным РМЖ ($n = 21$) у 20 (95,2%) в результате химиотерапии достигнуто операбельное состояние, и они прооперированы. Среди прооперированных больных у 7 (35%) достигнут полный лечебный патоморфоз.

Токсичность

У всех (100%) больных на протяжении всего периода лечения отмечались побочные эффекты 3—4-й степени, которые были причиной коррекции терапии. Основными видами токсичности были ЛПС 1—3-й степени — у 30 (73,2%) больных, мукозиты 1—3-й степени — у 35 (85,4%) и гематологическая токсичность — у 100%. ЛПС 3-й степени отмечен у 16 (39%) женщин. Нейтропения 3—4-й степени за весь период лечения зафиксирована у 16 (39%) больных и согласно условиям протокола обусловила необходимость приостановления лечения до восстановления показателей гемограммы. Вместе с тем зафиксирован только один случай фебрильной нейтропении, ни у одной больной лечение не было прекращено только по причине длительно существующей глубокой нейтропении. Другие гематологические осложнения встречались гораздо реже (< 10%) и редко достигали значительной выраженности.

Мукозиты 3-й степени являлись причиной приостановления лечения до уменьшения выраженности симптомов токсичности у 13 (31,7%) больных.

Подробные данные о токсичности изученного режима представлены в табл. 3.

Таблица 2

Эффективность режима в группе больных местнораспространенным и метастатическим РМЖ

Показатель эффективности	Значение	
	абс.	%
ОЭ	26	63,4
ПР	11	26,8
ЧР	15	36,6
Стабилизация	9	22
Контроль болезни (ПР + ЧР + СТ \geq 6 мес)	30	73,2
Прогрессирование	6	14,6
Медиана времени до прогрессирования у больных метастатическим РМЖ, мес ^a	9,4 (1,24—23)	
Лечебный патоморфоз у больных местнораспространенным РМЖ, получивших хирургическое лечение	20	100
Ch1	6	30
Ch2	1	5
Ch1 + Ch2 (полный лечебный патоморфоз)	7	35

^a Данные представлены в виде среднего (мин. — макс.).

ОБСУЖДЕНИЕ

Лечение тройного негативного РМЖ — одна из наиболее острых проблем современной онкологии. Данный вариант РМЖ чаще всего встречается у молодых женщин и характеризуется агрессивным течением. В связи с отсутствием специфических подходов к терапии результаты лечения остаются неудовлетворительными. Следует подчеркнуть также, что в литературе практически отсутствуют проспективные рандомизированные исследования, посвященные терапии больных тройным негативным РМЖ. Все это диктует необходимость поиска новых методик лечения больных данной категории. В связи с отсутствием мишеней для таргетной терапии одним из возможных решений является использование интенсифицированных (за счет «уплотнения дозы») и метромомных (основанных на применении малых доз препаратов) режимов химиотерапии.

Особенностями изученного режима были еженедельное непрерывное введение доксорубина, постоянный ежедневный прием циклофосфамида и капецитабина и продолжение поддерживающего лечения циклофосфамидом и капецитабином до прогрессирования болезни или неприемлемой токсичности.

В нашей работе частота развития объективных ответов составила 63,4%, из них полных регрессий 26,8%, ча-

стичных — 36,6%; медиана времени до прогрессирования составила 9,4 (1,4 \pm 23) мес. В ретроспективном анализе S. Y. Yi и соавт. при использовании стандартного режима AC (доксорубин 60 мг/м², циклофосфамид 600 мг/м² каждые 3 нед) в качестве химиотерапии первой линии у больных диссеминированным РМЖ с тройным негативным фенотипом частота развития объективных ответов составила 56,5%, а медиана времени до прогрессирования — 8,1 мес [10].

По-прежнему спорным остается вопрос о длительности индукционной химиотерапии. В последнее время появляется все больше данных о преимуществах тактики лечения до прогрессирования или до развития неприемлемой токсичности, тем более что стали доступными малотоксичные и высокоэффективные препараты (например, капецитабин).

В настоящем исследовании больные получали поддерживающую терапию циклофосфамидом и капецитабином, и в среднем продолжительность лечения составила у них 18 нед (3 \pm 60 нед), что также могло положительно повлиять на эффективность. По данным A. Gennagy и соавт., продолжительность жизни больных находится в прямой зависимости от длительности химиотерапии первой линии [11].

Крайне важным для больных местнораспространенным тройным негативным РМЖ является достижение в результате химиотерапии полной патоморфологической регрессии, так как только этот фактор позволяет улучшить прогноз у больных данной категории [12]. В работе L. A. Carey и соавт. при использовании режима AC-T (4 курса по схеме доксорубин 60 мг/м², циклофосфамид 600 мг/м² каждые 3 нед, затем 4 курса по схеме доцетаксел 75 мг/м² каждые 3 нед) в качестве неoadьювантной терапии среди 107 больных тройным негативным подтипом РМЖ клинические ответы были зарегистрированы у 87%, полная морфологическая регрессия — у 27% [13]. В рамках исследования SWOG0012 изучена эффективность неoadьювантной химиотерапии доксорубицином (еженедельные введения) в сочетании с постоянным пероральным приемом циклофосфамида в течение 15 нед с последующими еженедельными введениями паклитаксела (12 введений) у больных с опухолями без рецепторов стероидных гормонов. Авторам удалось достичь полного лечебного патоморфоза у 36% больных по сравнению с 29% больных, получавших стандартный режим AC [14]. В исследовании von G. Minckvitz при проведении неoadьювантной химиотерапии TAC (доцетаксел 75 мг/м², доксорубин 50 мг/м², циклофосфамид 600 мг/м² каждые 3 нед) и AC-T у больных тройным негативным РМЖ частота полного лечебного патоморфоза составила 24,2% [15]. В нашей работе у 7 (35%) из 20 больных достигнут полный лечебный патоморфоз в опухоли и исследованных лимфатических узлах (Ch1 + Ch2). Таким образом, несмотря на то что изученная нами комбинация не содержала таксанов, наши результаты не уступают данным, полученным при использовании комбинаций, содержащих антрациклины и таксаны.

При статистическом анализе выявлено, что кумулятивная доза доксорубина при полном лечебном патоморфозе (Ch1 + 2) была выше и составила 400 мг/м² по сравнению с 320 мг/м² в подгруппе больных, не достиг-

ших полного лечебного патоморфоза (Ch3 + 4; $p < 0,046$), т. е. вероятность достижения пПР зависела от кумулятивной дозы доксорубина. Подобная зависимость описана и другими авторами: N. Ramirez-Tortres и соавт. показали, что 6 курсов FEC (5-фторурацил 500 мг/м², эпирубицин 100 мг/м², циклофосфамид 500 мг/м² каждые 3 нед) эффективнее 4 курсов такой же химиотерапии по частоте развития как объективных эффектов (87,5 и 62,5%), так и полных морфологических регрессий (20,8 и 12,5%) [16].

Изученная нами комбинация доксорубина, циклофосфамида и капецитабина формально была относительно токсична, поскольку те или иные побочные реакции встречались у всех 100% больных. Однако токсичность 3—4-й степени наблюдалась у 25 (61%) больных, была причиной отсрочки введений доксорубина и приостановления приема капецитабина и циклофосфамида. При этом реальная дозовая интенсивность лечения приблизи-

лась к 90% от запланированной по всем трем препаратам. Из основных видов токсичности при использовании комбинации доксорубина, циклофосфамида, капецитабина следует выделить высокую частоту развития ЛПС, мукозитов, гематологической токсичности. Побочные эффекты 3—4-й степени уменьшались до 1-й степени на фоне пропусков введений, симптоматической терапии и не вызывали необходимость экстренной госпитализации. Все больные получали лечение амбулаторно.

Таким образом, соотношение эффективности и токсичности изученного нами режима доксорубин + циклофосфамид + капецитабин позволяет расценивать его как высокоэффективный при метастатическом и (с учетом высокой частоты достижения полных морфологических регрессий) при местнораспространенном РМЖ с тройным негативным фенотипом.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на относительно высокую токсичность, показана высокая эффективность комбинации доксорубина, циклофосфамида, капецитабина при применении у больных местнораспространенным и метастатическим РМЖ с тройным негативным фенотипом.

ЛИТЕРАТУРА

- Rakha E. A., Reis-Filho J. S., Ellis I. O. Basal-like breast cancer: a critical review // *J. Clin. Oncol.* — 2008. — Vol. 26, N. 15. — P. 2568—2581.
- Weekly paclitaxel in the adjuvant treatment of breast cancer / Sparano J. A., Wang M., Martino S., Jones V., Perez E. A., Saphner T., Wolff A. C., Sledge G. W. Jr., Wood W. C., Davidson N. E. // *N. Engl. J. Med.* — 2008. — Vol. 358, N 16. — P. 1663—1671.
- Estrogen-receptor status and outcomes of modern chemotherapy for patients with node-positive breast cancer / Berry D. A., Cirincione C., Henderson I. C., Citron M. L., Budman D. R., Goldstein L. J., Martino S., Perez E. A., Muss H. B., Norton L., Hudis C., Winer E. P. // *JAMA.* — 2006. — Vol. 295, N 14. — P. 1658—1667.
- Paclitaxel plus bevacizumab versus paclitaxel alone for metastatic breast cancer // Miller K., Wang M., Gralow J., Dickler M., Cobleigh M., Perez E. A., Shenkier T., Cella D., Davidson N. E. // *N. Engl. J. Med.* — 2007. — Vol. 357, N 26. — P. 2666—2676.
- Pasquier E., Kavallaris M., André N. Metronomic chemotherapy: new rationale for new directions // *Nat. Rev. Clin. Oncol.* — 2010. — Vol. 7, N 8. — P. 455—465.
- Bloom H. J., Richardson N. W. Histological grading and prognosis in breast cancer // *Br. J. Cancer.* — 1957. — Vol. 11. — P. 393—377.
- WHO Classification of Tumors. — Lyon, 2003. — P. 18—19.
- Inflammatory breast cancer. Pilot study of intensive induction chemotherapy (FEC-HD) results in a high histologic response rate. Chevallier B., Roche H., Olivier J. P., Chollet P., Hurlteloup P. // *Am. J. Clin. Oncol.* — 2011. — Vol. 16, N 3. — P. 223—228.
- Cancer Therapy Evaluation Program, Common Terminology Criteria for Adverse Events, Version 3.0, DCTD, NCI, NIH, DHHS. [Электронный ресурс] — 2003. — URL: <http://www.ctep.cancer.gov> (дата обращения: 01.05.2011).
- Favorable response to doxorubicin combination chemotherapy does not yield good clinical outcome in patients with metastatic breast cancer with triple-negative phenotype / Yi S. Y., Ahn J. S., Uhm J. E., Limdo H., Ji S. H., Jun H. J., Kim K. H., Chang M. H., Park M. J., Cho E. Y., Choi Y. L., Park Y. H., Im Y. H. // *BMC Cancer.* — 2010. — Vol. 10. — P. 527.
- Duration of chemotherapy for metastatic breast cancer: a systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials // Genari A., Stockler M., Puntoni M., Sormani M., Nanni O., Amadori D., Wilcken N., D'Amico M., DeCensi A., Bruzzi P. // *J. Clin. Oncol.* — 2011. — Vol. 29, N 16. — P. 2144—2149.
- Response to neoadjuvant therapy and long-term survival in patients with triple-negative breast cancer // Liedtke C., Mazouni C.,

Таблица 3

Токсичность комбинации доксорубина, циклофосфамида, капецитабина во всей группе больных

Вид токсичности	Частота	
	всего	3-й степени ^а
Нейтропения, все степени ^б	89 из 179 (49,7%)	45 из 179 (25,1%)
Фебрильная нейтропения ^б	1 из 179 (0,6%)	1 из 179 (0,6%)
Тромбоцитопения, все степени ^б	1 из 179 (0,6%)	0
Анемия ^в	4 из 41	1 из 41 (2,4%)
Стоматит ^б	60 из 179 (33,5%)	32 из 179 (17,9%)
Диарея ^б	1 из 179 (0,6%)	0
Нейротоксичность 1—2-й степени ^в	0	0
Тошнота/рвота ^б	1 из 179 (0,6%)	0
Ладонно-подошвенный синдром ^в	38 из 41 (92,7%)	16 из 41 (39%)
ФВ ЛЖ ^в (снижение на 10% от исходной)	1 из 41 (2,4%)	0

^а Среди токсичности 4-й степени отмечена только нейтропения.

^б В процентах от числа проведенных курсов химиотерапии (1 курс = 4 нед).

^в В процентах от числа больных.

Hess K. R., André F., Tordai A., Mejia J. A., Symmans W. F., Gonzalez-Angulo A. M., Hennessy B., Green M., Cristofanilli M., Hortobagyi G. N., Puztai L. // *J. Clin. Oncol.* — 2008. — Vol. 29, N 8. — P. 1275—1281.

13. The triple negative paradox: primary tumor chemosensitivity of breast cancer subtypes // Carey L. A., Dees E. C., Sawyer L., Gatti L., Moore D. T., Collichio F., Ollila D. W., Sartor C. I., Graham M. L., Perou C. M. // *Clin. Cancer Res.* — 2007. — Vol. 13, N 8. — P. 2329—2334.

14. Phase III Comparison of Standard Doxorubicin and Cyclophosphamide Versus Weekly Doxorubicin and Daily Oral Cyclophosphamide Plus Granulocyte Colony-Stimulating Factor As Neoadjuvant Therapy for Inflammatory and Locally Advanced Breast Cancer: SWOG 0012 // Ellis G. K., Barlow W. E., Gralow J. R., Hortobagyi G. N., Russell C. A., Royce M. E., Perez E. A., Lew D., Livingston R. B. // *J. Clin. Oncol.* — 2011. — Vol. 29, N 8. — P. 1014—1021.

15. Identification of biology-based breast cancer types with distinct predictive and prognostic features: role of steroid hormone and HER2

receptor expression in patients treated with neoadjuvant anthracycline/taxane-based chemotherapy // Darb-Esfahani S., Loibl S., Müller B. M., Roller M., Denkert C., Komor M., Schlüns K., Blohmer J. U., Budczies J., Gerber B., Noske A., du Bois A., Weichert W., Jackisch C., Dietsch M., Richter K., Kaufmann M., von Minckwitz G. [Электронный ресурс] // *Breast Cancer Res.* — 2009. — Vol. 11, N 5. — URL: <http://breast-cancer-research.com/content/11/5/R69> (дата обращения: 01.05.2011).

16. Ramirez-Torres N., Perez-Puentes A., Astudillo-de la Vega H. Effectiveness analysis of neoadjuvant treatment by using 4 FE100C vs. 6 FE100C in patients with advanced breast cancer [Электронный ресурс] // *Cancer Res.* — 2010. — Vol. 70, N 24. — URL: <http://www.sabcs.org> (дата обращения: 01.05.2011).

Поступила 19.12.2011

*Marina Alexandrovna Skrypnikova¹, Marina Borisovna Stenina²,
Mona Alexandrovna Frolova³, Ilya Anatolievich Pokatayev⁴,
Alexander Valerievich Petrovsky⁵, Olga Vladimirovna Krokhina⁶,
Ekaterina Olegovna Ignatova⁷, Alexandra Dmitrievna Petrova⁸,
Sergey Alekseyevich Tjulandin⁹*

**COMBINATION OF DOXORUBICIN, CAPECITABINE
AND CYCLOPHOSPHAMIDE IN FIRST-LINE CHEMOTHERAPY
FOR LOCALLY ADVANCED OR METASTATIC BREAST CANCER
WITH TRIPLE NEGATIVE PHENOTYPE**

¹ *Postgraduate Student, Clinical Pharmacology and Chemotherapy Department, Clinical Oncology Research Institute, N. N. Blokhin RCRC RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, RF)*

² *MD, PhD, DSc, Leading Researcher, Clinical Pharmacology and Chemotherapy Department, Clinical Oncology Research Institute, N. N. Blokhin RCRC RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, RF)*

³ *MD, PhD, Researcher, Clinical Pharmacology and Chemotherapy Department, Clinical Oncology Research Institute, N. N. Blokhin RCRC RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, RF)*

⁴ *MD, PhD, Physician, Clinical Pharmacology and Chemotherapy Department, Clinical Oncology Research Institute, N. N. Blokhin RCRC RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, RF)*

⁵ *MD, PhD, Assistant Professor, Oncology Chair, Treatment Department, I.M.Sechenov 1st MSMU (24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, RF)*

⁶ *MD, PhD, Senior Researcher, Reconstructive and Vascular Surgery Department, Clinical Oncology Research Institute, N. N. Blokhin RCRC RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, RF)*

⁷ *Postgraduate Student, Clinical Pharmacology and Chemotherapy Department, Clinical Oncology Research Institute, N. N. Blokhin RCRC RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, RF)*

⁸ *Postgraduate Student, Clinical Pharmacology and Chemotherapy Department, Clinical Oncology Research Institute, N. N. Blokhin RCRC RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, RF)*

⁹ *MD, PhD, DSc, Professor, Head, Clinical Pharmacology and Chemotherapy Department, Clinical Oncology Research Institute, N. N. Blokhin RCRC RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, RF)*

Address for correspondence: Skrypnikova Marina Alexandrovna, Clinical Pharmacology and Chemotherapy Department, Clinical Oncology Research Institute, N. N. Blokhin RCRC RAMS, 24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, RF; e-mail: m.skrypnikova@mail.ru

Triple negative breast cancer is a type free from estrogen, progesterone and HER-2/neu receptors and is characterized by highly aggressive course. It therefore seems promising to study intensified and metronomic chemotherapy regimens. The purpose of this study was to assess efficacy and toxicity of a combination of doxorubicin, cyclophosphamide and capecitabine in first line chemotherapy in patients with locally advanced or metastatic breast cancer with triple negative phenotype. This regimen has the advantage of combining metronomic properties (weekly doxorubicin, daily cyclophosphamide and capecitabine) with condensed schedule. A total of 41 patients were enrolled including 21 with locally advanced and 20 with metastatic breast cancer. All patients received treatment with doxorubicin at 25 mg/m² weekly, oral cyclophosphamide at 50 mg/m² daily, capecitabine at 1,500 mg/d daily. Response rate was reported in 63.4% (26/41) of cases including 26.8% (11/41) with complete response. Definite surgery was made in 20 (95.2%) of 21 women with locally advanced breast cancer, of whom 7 (35%) presented with complete tumor and lymph node therapeutic pathomorphosis. Median time to progression was 17 months. In the metastatic breast cancer group median time to progression was 9.4 (1.4 ± 23) months. The doxorubicin, cyclophosphamide and capecitabine combination proved highly effective, though rather toxic, in patients with triple negative locally advanced or metastatic breast cancer.

Key words: breast cancer, triple negative phenotype, chemotherapy, complete therapeutic pathomorphosis.

Ольга Павловна Сотникова¹, Евгений Николаевич Сорокин²,
Елена Владимировна Поддубская³, Дмитрий Владимирович Комов⁴,
Ирина Владимировна Поддубная⁵

КЛИНИКА, ДИАГНОСТИКА И ЛЕЧЕНИЕ ПЕРВИЧНЫХ НЕХОДЖКИНСКИХ ЛИМФОМ ОКОЛОУШНОЙ СЛЮННОЙ ЖЕЛЕЗЫ

¹ Аспирант, кафедра онкологии ГБОУ ДПО Российская медицинская академия последипломного образования Минздравсоцразвития (123100, РФ, г. Москва, ул. Баррикадная, г. 2/1)

² Д. м. н., ведущий научный сотрудник, отделение химиотерапии гемобластозов НИИ клинической онкологии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

³ К. м. н., научный сотрудник, хирургическое отделение диагностики опухолей НИИ клинической онкологии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

⁴ Профессор, г. м. н., заведующий, хирургическое отделение диагностики опухолей НИИ клинической онкологии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

⁵ Член-корреспондент РАМН, профессор, г. м. н., заведующая, кафедра онкологии ГБОУ ДПО Российская медицинская академия последипломного образования Минздравсоцразвития (123100, РФ, г. Москва, ул. Баррикадная, г. 2/1)

Адрес для переписки: 123100, РФ, г. Москва, ул. Баррикадная, д. 2/1, ГБОУ ДПО
Российская медицинская академия последипломного образования Минздравсоцразвития,
кафедра онкологии, Сотникова Ольга Павловна; e-mail: olga100va@yandex.ru

Изучены особенности клинического течения, морфологических характеристик и эффективности терапии первой линии у 44 больных первичными неходжкинскими лимфомами околоушной слюнной железы. Использование комбинированного метода лечения — сочетания химиотерапии и лучевой терапии чаще способствовало развитию позднего рецидива (спустя 6 мес и более после констатации полной ремиссии и увеличивало 5-летнюю общую выживаемость до 85%.

Ключевые слова: неходжкинские лимфомы, химиотерапия, околоушная железа.

Первичная неходжкинская лимфома (НХЛ) околоушной слюнной железы (ОСЖ) — редкая опухоль, которая составляет 1,7—7,7% от всех неоплазий слюнных желез [1] и в 0,6—5% наблюдений от всех экстранодальных НХЛ [2]. По некоторым данным, при наличии в анамнезе синдрома Шегрена риск развития лимфомы увеличивается в 2 раза [3]. НХЛ ОСЖ наиболее распространена у женщин, особенно при синдроме Шегрена [4], при этом чаще развивается MALT-лимфома ОСЖ. Достаточно редко опухоль встречается у пациентов моложе 50 лет (медиана возраста 55—65 лет) [5]. Редко НХЛ развивается в поднижнечелюстной, малой слюнной и подъязычной слюнных железах [6]. В 4—21% наблюдений описывают билатеральное поражение [7]. Редко основным клиническим проявлением служит болевой синдром (до 9%), парез лицевого нерва (4—15%) или фиксация масс с подлежащими тканями [8]. О появлении заболевания чаще свидетельствует наличие объемного, каменистой плотности, неподвижного образования в проекции ОСЖ различных размеров [9].

В 84—97% случаев первичные лимфомы ОСЖ представлены В-клеточным фенотипом: диффузная крупноклеточная В-клеточная лимфома (ДВККЛ), фолликулярная и MALT-лимфома. Частота выявления каждого варианта примерно одинакова [10]. В исключительно редких случаях лимфомы ОСЖ характеризуются Т-клеточным фенотипом и составляют, по разным данным литературы, от 0,6 до 0,8% случаев [11].

MALT-лимфома характеризуется низкой степенью злокачественности и чаще диагностируется в локализованных стадиях на протяжении длительного времени. В некоторых случаях, однако, она может трансформироваться в лимфому высокой степени злокачественности — ДВККЛ [12]. Существуют сведения, что MALT-лимфома ОСЖ ассоциирована (от 0,3 до 44%) с аутоиммунными процессами, в частности с синдромом Шегрена и ревматоидным артритом [13]. При этом риск развития НХЛ выше в 2,7 раза в случае первичного возникновения синдрома Шегрена. По данным разных авторов, на момент морфологической верификации диагноза у 48—53% пациентов наблюдались ранние (IE—IIЕ) стадии [14].

Лучевая терапия (ЛТ) и химиотерапия (ХТ), в частности схема СНОР-21, позволяют добиться хороших

результатов: достижение полной ремиссии (ПР) почти в 95% случаев и 5-летней общей выживаемости (ОВ) до 90% случаев, но не исключают рецидива. Указанные методы являются наиболее адекватными по сравнению с хирургическим воздействием, которое играет только диагностическую роль. ХТ на основании антрациклин-содержащих режимов в комбинации с ЛТ используется при диссеминированном процессе, либо при лимфоме ОСЖ высокой степени злокачественности, либо при трансформации MALT-лимфом низкой степени злокачественности в опухоли высокой степени злокачественности [15]. В последнее время хорошие результаты показала иммунохимиотерапия — сочетание схемы СНОР-21 с ритуксимабом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН с 1983 по 2009 г. наблюдали 708 больных с первичными экстранодальными НХЛ, среди них первичная лимфома ОСЖ выявлена у 44 (6,25%). Медиана длительности наблюдения составила 74,2 мес. Поражение чаще наблюдалось у женщин — 27 (62%) случаев против 17 (38%) у мужчин. Возраст варьировал от 16 до 86 лет (медиана 52 года), 28 (65%) пациентов были моложе 60 лет. Диагноз установлен после выполнения паротидэктомии или биопсии опухоли с последующим иммуногистохимическим исследованием.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В анамнезе у 18% больных (7 женщин и один мужчина) наблюдался синдром Шегрена. Злокачественная трансформация лимфомы на фоне аутоиммунного процесса заняла от 5 до 12 лет. Двустороннее поражение ОСЖ на фоне синдрома Шегрена выявлено у 5 (62,5%) из 8 женщин. Основным клиническим проявлением болезни было наличие объемного, безболезненного, каме-

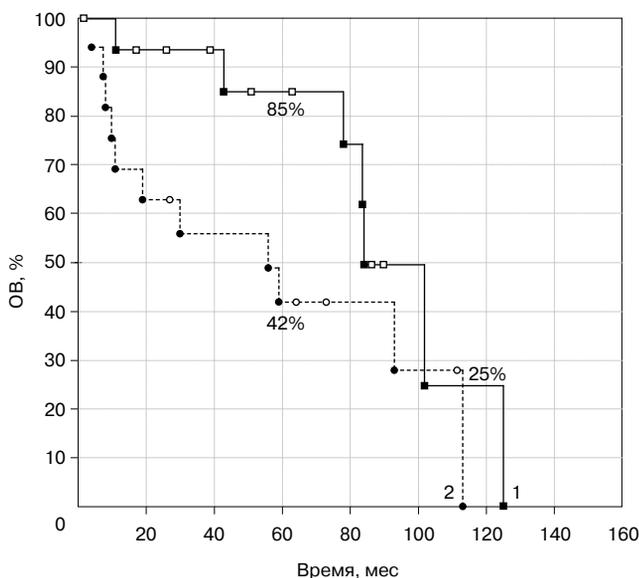
нистой плотности, неподвижного образования ОСЖ, размерами от 0,5 до 12 см. Массивное опухолевое поражение ОСЖ (диаметром более 10 см) наблюдалось у 10 (23%) больных. Наиболее распространенными морфологическими вариантами при поражении ОСЖ были агрессивные лимфомы В-клеточного происхождения (21 больной, 47,7%): ДВККЛ — 18 (41,0%) случаев, лимфома Беркитта, лимфома зоны мантии, фолликулярная лимфома 3-го цитологического типа — по одному (2,3%) случаю. Анапластическая Т-клеточная лимфома наблюдалась у 4 (9,1%) больных, индолентные лимфомы — у 19 (43,2%).

На момент верификации диагноза I стадия (IE) констатирована у 15 (34%) больных, IIЕ стадия — у 14 (32%), IIIЕ стадия — у одного (2%), IVЕ стадия — у 14 (32%): двусторонняя локализация — у 8 (18%), поражение одновременно других органов — у 6 (14%). При диссеминации первичной НХЛ ОСЖ выявлено поражение костей у 5 (35,7%) больных и костного мозга — у 4 (28,6%). В соответствии с Международным прогностическим индексом большинство пациентов — 32 (72,5%) были отнесены в благоприятную прогностическую группу.

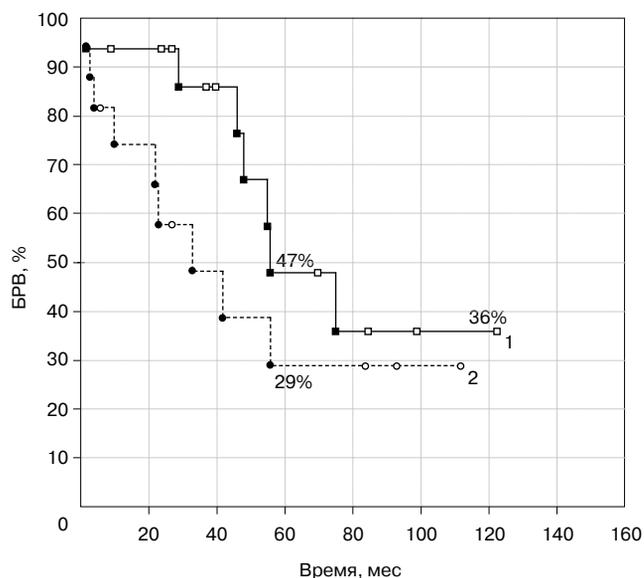
Несмотря на то что ОСЖ относится к визуально определяемым опухолям, время от начала болезни до момента верификации диагноза варьировало от 1,0 до 61 мес (медиана 12 мес).

Одной из целей нашего исследования являлась оценка эффективности терапии первой линии.

Только лекарственное лечение на основе антрациклин-содержащих и неантрациклиновых режимов получили 19 (43%) пациентов: схема СНОР-21 применялась у 15 (79%). Число курсов варьировало от 3 до 8. Ритуксимаб в сочетании с ХТ использован в 10 (53%) случаях. Общий эффект — сочетание ПР и частичной ремиссии (ЧР) достигнут у 14 (73%) больных: ПР констатирована у 11 (58%),



А



Б

Рисунок 1. Зависимость выживаемости больных от метода терапии первой линии. Черными значками обозначены завершённые наблюдения, светлыми — цензурированные. 1 — ХТ + ЛТ; 2 — только ХТ.

А. ОВ. Б. БРВ.

ЧР — у 3 (15,7%). Стабилизация наблюдалась в 2 (10,6%) случаях, прогрессирование — в 3 (15,7%).

Операция (в объеме паротидэктомии), предшествующая ХТ, выполнена 9 (21%) больным. Целью хирургического лечения были морфологическая верификация диагноза и удаление первичного очага поражения. ПР отмечена в 7 (77,8%) случаях, прогрессирование — в 2 (22,2%). Развития ЧР не было. В дальнейшем ЛТ проведена у 5 (11,3%) больных, суммарная очаговая доза составила в среднем 38 Гр. У всех пациентов достигнута ПР. Только хирургическое лечение получили 2 больных с IЕ стадией, которые отказались от дальнейшего лечения и были из-под наблюдения.

Комбинированное лечение — сочетание ХТ и ЛТ проведено у 36% больных, из них у 9 (56%) в сочетании с ритуксимабом. Суммарная очаговая доза в среднем составила 39 Гр. Общий эффект достигнут у 15 (93%) пациентов, при этом ПР — у 13 (81%), а ЧР — у 2 (12,5%). Стабилизация наблюдалась в одном (6,25%) случае.

В целом общий эффект отмечен у 36 (82%) больных. После терапии первой линии у 31 (70,5%) пациента достигнута ПР.

Рецидив развился у 22 (50%) больных. Ранний рецидив (в первые 6 мес после достижения ПР и ЧР) выявлен у 4 (18%) пациентов: локализованный (в околоушной железе и регионарных лимфатических узлах) и генерализованный — по 2 (50%) случая. Поздний рецидив развился у 18 (82%) больных, из них локализованный — у 17 (95%). Чаще всего рецидив возникал в ОСЖ — 12 (54,5%) случаев, в кольце Пирогова—Вальдейера — у 5 (22,7%), в придаточных пазухах носа — у 4 (18%). Отмечены по 3 (13%) случая вторичного поражения кожи, центральной нервной системы (в виде нейролейкемии) и легких. Поражение костного мозга наблюдалось в 2 (9%) случаях, тонкой кишки — в 2 (9%), надпочечников и селезенки — по одному (4,5%).

Прослеживается зависимость ОВ и безрецидивной выживаемости (БРВ) от варианта терапии первой линии: при комбинированном методе лечения (ХТ + ЛТ) 5-летняя ОВ составила 85%, а БРВ — 42%, что в 2 раза выше, чем при использовании только ХТ (рис. 1).

При оценке отдаленных результатов выявлено, что НХЛ ОСЖ является наиболее благоприятной группой среди всех редких форм НХЛ: 5-летняя ОВ составляет 70%, а 5-летняя БРВ — 47% (рис. 2).

К окончанию исследования живы 11 (25%) пациентов, выбыли из-под наблюдения 10 (23%), умерли 23 (52%). Причиной смерти в 16 (70%) случаях явилось прогрессирование болезни.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

НХЛ ОСЖ — редкая патология, которая выявляется чаще всего на ранних стадиях в связи со склонностью к местнораспространению. Характерным является развитие позднего местного рецидива опухоли. Использование ЛТ в комбинации с ХТ повышает эффективность лечения по сравнению с применением только ХТ или сочетания ХТ и хирургического лечения. Использование ЛТ в сочетании с ХТ по сравнению с другими вариантами лечения уменьшает вероятность прогрессирования заболевания. Эффективность ритуксимаба очевидна при оценке непосредственных результатов лечения: иммунохимиотерапия позволяет достичь общего эффекта у 73% больных, ПР — у 58%. В целом больных НХЛ ОСЖ можно отнести в благоприятную прогностическую группу.

ЛИТЕРАТУРА

1. Association of chronic inflammation, not its treatment, with increased lymphoma risk in rheumatoid arthritis / Baecklund E., Iliadou A., Askling J., Batchelor T. // Arthritis Rheumatol. — 2006. — Vol. 54. — P. 692—701.

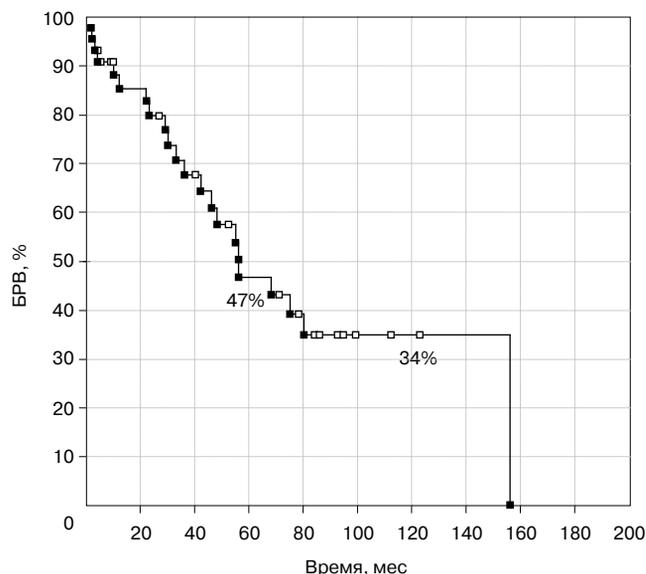
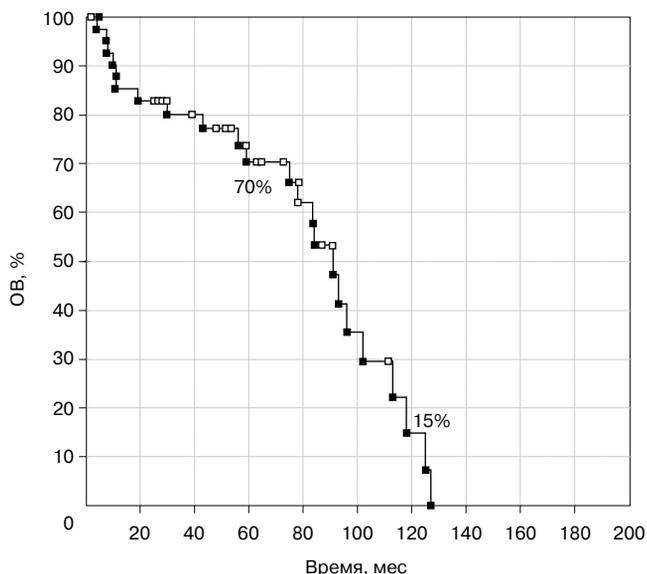


Рисунок 2. Выживаемость больных при лимфоме околоушной железы. Черными значками обозначены завершённые наблюдения, светлыми — цензурированные.
А. ОВ. **Б.** БРВ.

2. Florid marginal zone differentiation in follicular lymphoma mimicking marginal zone lymphoma of MALT type in the lung / Jourdan F., Molina T. J., Le Tourneau A., Salmon J. S. // *Histopathology*. — 2006. — Vol. 49. — P. 426—429.
3. Ellis G. L. Lymphoid lesions of salivary glands: Malignant and Benign // *Med. Oral Patol. Oral Cir. Bucal*. — 2007. — Vol. 12, N 7. — P. 479—485.
4. The risk of lymphoma in patients with psoriasis / Gelfand J. M., Shin D. B., Neimann A. L., Mack A. A. // *J. Investigat. Dermatol*. — 2006. — Vol. 126. — P. 2194—2201.
5. Changes in salivary gland immunohistology and function after rituximab monotherapy in a patient with Sjögren's syndrome and associated MALT lymphoma / Pijpe J., van Imhoff G. W., Vissink A. // *Ann. Rheum. Dis*. — 2005. — Vol. 64. — P. 958—960.
6. Clinicopathologic characteristics of nodal follicular lymphomas lacking IgH/BCL2 translocations / Keller C., Subramaniam S., Murty V., Abrey L. E., Ben-Porat L. // *Modern Pathol*. — 2007. — Vol. 20. — P. 247—248.
7. Primary T-cell lymphoma of salivary gland: a report of a case and review of the literature / Hew W. S. R., Carey F. A., Kernohan N. M., Heppleston A. D. // *J. Clin. Pathol*. — 2002. — Vol. 55. — P. 61—63.
8. BCL2 gene abnormalities define distinct clinical subsets of follicular lymphoma / Goodlad J. R., Batstone P. J., Hamilton D. A., Koch P., Probst A. // *Histopathology*. — 2006. — Vol. 49. — P. 229—241.
9. Malignant Lymphomas in Autoimmunity and Inflammation: A

Review of Risks, Risk Factors, and Lymphoma Characteristics / Ekström-Smedby K., Baecklund E., Askling J., Martinelli G., Ryan G. // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev*. — 2006. — Vol. 15. — P. 2069.

10. Atypical lymphoproliferation progressing into B-cell lymphoma in rheumatoid arthritis treated with different biological agents: clinical course and molecular characterization / Quartuccio L., De Re V., Fabris M., Beal K. // *Haematologica*. — 2006. — Vol. 91. — P. 691—694.

11. Schneider M., Rizzardi C. Lymphoepithelial Carcinoma of the Parotid Glands and Its Relationship With Benign Lymphoepithelial Lesions // *Arch. Pathol. & Laboratory Med*. — 2008. — Vol. 132, N 2. — P. 278—282.

12. Variable frequencies of MALT lymphoma-associated genetic aberrations in MALT lymphomas of different sites / Streubel B., Simonitsch-Klupp I., Mullauer L., Shenkier T. N., Voss N. // *Leukemia*. — 2004. — Vol. 18. — P. 1722—1726.

13. FDG PET in the evaluation of treatment for lymphoma: Clinical usefulness and pitfalls / Kazama T., Faria S. C., Varavithya V. // *Radiographics*. — 2006. — Vol. 25. — P. 191—207.

14. Kovacs L., Szodoray P., Kiss E. Secondary tumours in Sjögren's syndrome // *Autoimmunity Rev*. — 2010. — Vol. 9, N 4. — P. 203—206.

15. Primary Salivary Gland Lymphoma / Po D., Kuob T., Shiha L., Lina T., Suzuki R., Takeuchi K. // *Acta Haematol*. — 2004. — Vol. 112. — P. 203—208.

Поступила 01.11.2011

*Olga Pavlovna Sotnikova¹, Evgeniy Nikolayevich Sorokin²,
Elena Vladimirovna Poddubskaya³, Dmitriy Vladimirovich Komov⁴,
Irina Vladimirovna Poddubnaya⁵*

CLINICAL COURSE, DIAGNOSIS AND TREATMENT OF PRIMARY NON-HODGKIN'S LYMPHOMA OF THE PAROTID GLAND

¹ Postgraduate Student, Oncology Chair, Russian Medical Academy for Postgraduate Education, Russian Health Ministry (2/1, Barrikadnaya pl., Moscow, 123100, RF)

² MD, PhD, DSc, Senior Researcher, Hematology Malignancy Chemotherapy Department, Clinical Oncology Research Institute, N. N. Blokhin RCRC RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, RF)

³ MD, PhD, Researcher, Surgical Department for Tumor Diagnosis, Clinical Oncology Research Institute, N. N. Blokhin RCRC RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, RF)

⁴ MD, PhD, DSc, Professor, Head, Surgical Department for Tumor Diagnosis, Clinical Oncology Research Institute, N. N. Blokhin RCRC RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, RF)

⁵ MD, PhD, DSc, Professor, Associate Member of the RAMS, Head, Oncology Chair, Russian Medical Academy for Postgraduate Education, Russian Health Ministry (2/1, Barrikadnaya pl., Moscow, 123100, RF)

Address for correspondence: Sotnikova Olga Pavlovna, Surgical Department for Tumor Diagnosis, Clinical Oncology Research Institute, N. N. Blokhin RCRC RAMS, 24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, RF; e-mail: olga100va@ynadex.ru

The paper analyzes clinical course, morphology and efficacy of first-line therapy in 44 patients with primary non-Hodgkin's lymphoma of the parotid gland. Combination chemoradiotherapy was associated with increased rate of late recurrence (more than 6 months following complete response) and increased (up to 85%) 5-year survival.

Key words: non-Hodgkin's lymphoma, polychemotherapy, parotid gland.

Игорь Николаевич Туркин¹, Михаил Михайлович Давыдов²**ОСОБЕННОСТИ ХИРУРГИЧЕСКОЙ ТАКТИКИ У БОЛЬНЫХ РАКОМ ЖЕЛУДКА ПРИ НАЛИЧИИ КРАНИАЛЬНОЙ ПЕЧЕНОЧНОЙ АРТЕРИИ**¹ Научный сотрудник, торакальное отделение, торакоабдоминальный отдел

НИИ клинической онкологии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

² К. м. н., ведущий научный сотрудник, торакальное отделение, торакоабдоминальный отдел

НИИ клинической онкологии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

Адрес для переписки: 115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, д. 24,

НИИ клинической онкологии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, торакальное отделение,

Давыдов Михаил Михайлович, e-mail: dr.filatov@mail.ru

В современных руководствах по хирургии рака желудка уделяется недостаточно внимания особенностям оперативной техники у больных с нетипичной анатомией сосудов. Между тем хирурги нередко сталкиваются с наличием аберрантных сосудов и чаще всего с наличием крупного артериального ствола в толще малого сальника — добавочной артерии к левой доле печени. Этим подчеркивается его второстепенное значение. В статье изложены особенности топографии краниальной печеночной артерии и хирургическая тактика при ее наличии у больных раком желудка.

Ключевые слова: рак желудка, краниальная ветвь печеночной артерии, сосудистая пластика.

При выполнении радикальной операции по поводу рака желудка, независимо от объема его резекции, малый сальник должен удаляться полностью — после предварительной коагуляции его рассекают непосредственно у печени от верхнего края печеночно-двенадцатиперстной связки до пищеводного отверстия диафрагмы. Печеночные ветви блуждающего нерва и сопровождающие их сосуды при этом также пересекают. При наличии мелких сосудов к левой доле печени, проходящих в малом сальнике, их лигируют после пересечения между зажимами (рис. 1).

Однако в 16% случаев между листками малого сальника в его верхней трети проходит крупная аберрантная артерия, кровоснабжающая не только желудок, но и печень (рис. 2).

В современных руководствах по хирургии дается неточная трактовка анатомических нюансов этой артерии (рис. 3) — многими хирургами она рассматривается как ветвь, берущая свое начало от основного ствола левой желудочной артерии [3; 5].

На самом деле у пациентов с таким вариантом кровоснабжения левую желудочную артерию заменяет аберрантная, средний диаметр которой превосходит средний диаметр левой желудочной [1; 4]. Мы считаем, что топографо-анатомические особенности и нюансы обработки этого сосуда при выполнении операции служат основанием для того, чтобы дать ему более точное название — «arteria hepatica cranialis», подчеркивая тем самым, что она является важным, а в ряде случаев и единственным

источником артериального кровоснабжения левой доли печени. Знание топографии краниальной печеночной артерии важно и с точки зрения осмысленной мобилизации при раке желудка, независимо от вида резекции (тотальная, дистальная или проксимальная). От дуги краниальной печеночной артерии отходят, как правило, 4 ветви к малой кривизне желудка (рис. 4, 5). Наиболее крупной является первая ветвь — аналог нисходящей ветви левой желудочной артерии. Диаметр артерии после отхождения всех желудочных ветвей варьирует от



Рисунок 1. Мелкие сосуды к левой доле печени (стрелка) лигированы и пересечены у печени.



Рисунок 2. Крупный aberrантный артериальный ствол к левой доле печени (стрелки) между листками малого сальника. Вставка: сальник ниже и выше артерии пересечен; при массивном отложении жира артерия может визуальнo не идентифицироваться.

2 до 6 мм. Иногда ее калибр не уступает калибру общей печеночной артерии.

Краниальная печеночная артерия может отходить непосредственно от аорты выше чревного ствола (рис. 6).

Еще одна ошибка, по нашему мнению, заключается в том, что краниальную печеночную артерию, как считают некоторые авторы, можно пересечь, если перед этим убедиться, что она не является единственным источником кровоснабжения левой доли печени [5]. Наш опыт показал, что наличие краниальной печеночной артерии для опытного хирурга не усложняет операцию и не может служить поводом ни к изменению объема резекции желудка, ни к сокращению объема лимфо-

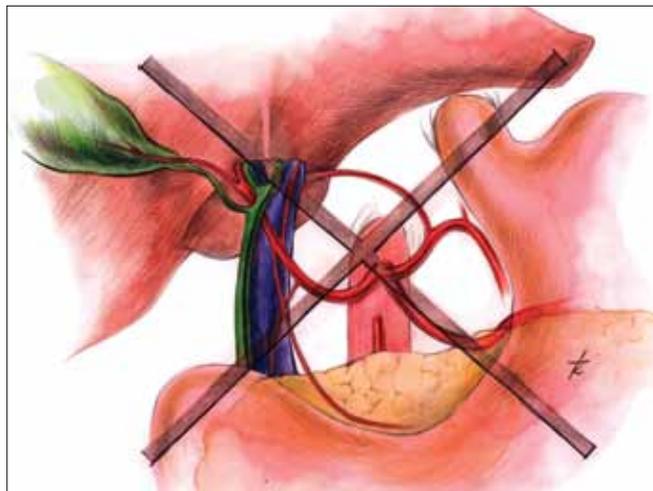


Рисунок 3. Неточное представление о краниальной печеночной артерии как о добавочной ветви к левой доле печени, берущей начало от основного ствола левой желудочной артерии.

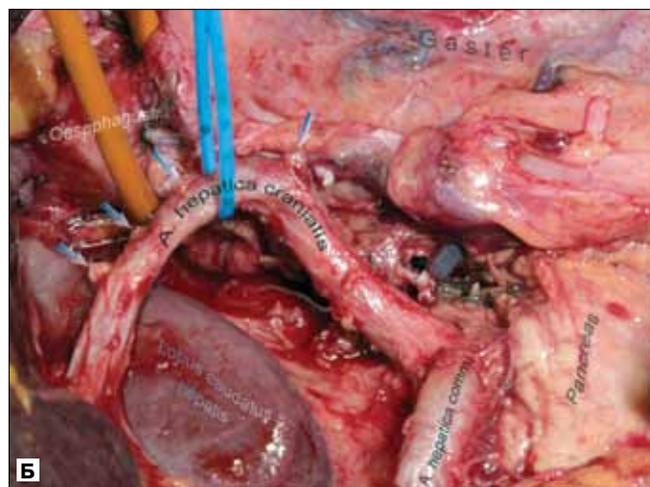
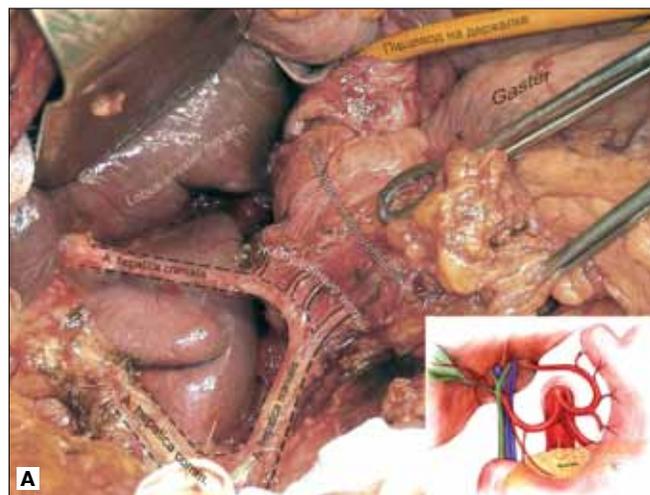


Рисунок 4. Анатомическая конфигурация краниальной печеночной артерии.

А. Краниальная печеночная артерия, от дуги которой отходят 4 ветви к желудку. **Б.** Культи пересеченных ветвей (стрелки).

диссекции. Случайное или преднамеренное пересечение краниальной печеночной артерии всегда связано с риском ишемии печени [1; 2]. В 2 случаях из 5 в нашем исследовании, когда краниальная печеночная артерия была пересечена в связи с вовлечением ее дуги в опухолевый инфильтрат, развился некроз левой доли печени (рис. 7). Поэтому, прежде чем продолжить рассечение малого сальника в его верхней половине, необходимо визуальнo и пальпаторно убедиться в отсутствии краниальной печеночной артерии, а при малейших сомнениях рассечь передний листок сальника, после чего легко удастся выявить наличие и уточнить калибр этого сосуда. Сохранять краниальную печеночную артерию следует всегда, за редкими исключениями, которые будут обсуждаться далее.

Если артерия обнаружена, ее берут у печени на держалку. Малый сальник рассекают до пищевого отверстия диафрагмы. Мобилизуя блок клетчатки от печени к препарату, непосредственно от стенки краниальной печеночной артерии, идентифицируют, лигируют и пере-

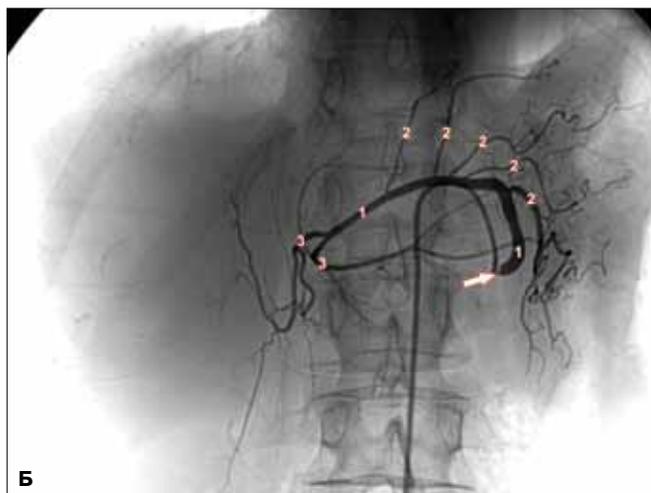
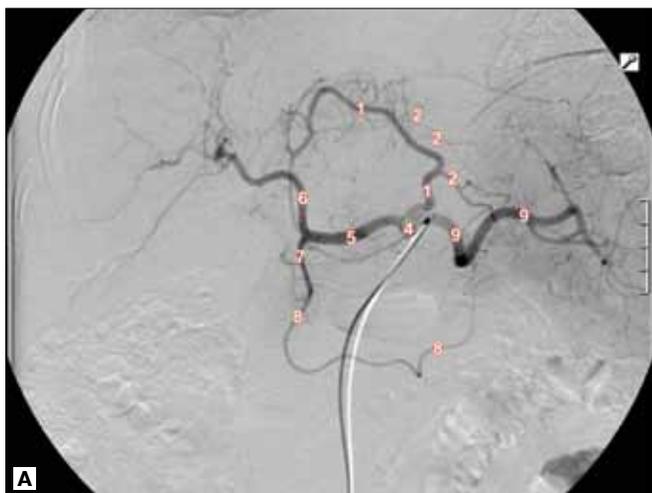


Рисунок 5. Ангиограммы разных больных. 1 — краниальная печеночная артерия; 2 — желудочные ветви краниальной печеночной артерии; 3 — ветви краниальной печеночной артерии к левой доле печени; 4 — чревный ствол; 5 — общая печеночная артерия; 6 — собственная печеночная артерия; 7 — желудочно-двенадцатиперстная артерия; 8 — правая желудочно-сальниковая артерия; 9 — селезеночная артерия.

А. Целиакограмма. **Б.** Селективная ангиограмма краниальной печеночной артерии (стрелка — устье краниальной печеночной артерии).

секают ее дистальные ветви к малой кривизне желудка (рис. 8, 9).

Скелетизацию проксимального отдела артерии и пересечение первой, наиболее крупной ветви к малой кривизне, как правило, выполняют после обработки чревного ствола (рис. 10).

Один из редких анатомических вариантов, при котором от чревного ствола раздельно отходят левая желудочная артерия и краниальная печеночная артерия, отдающая 2—3 ветви к малой кривизне желудка, представлен на рис. 11.

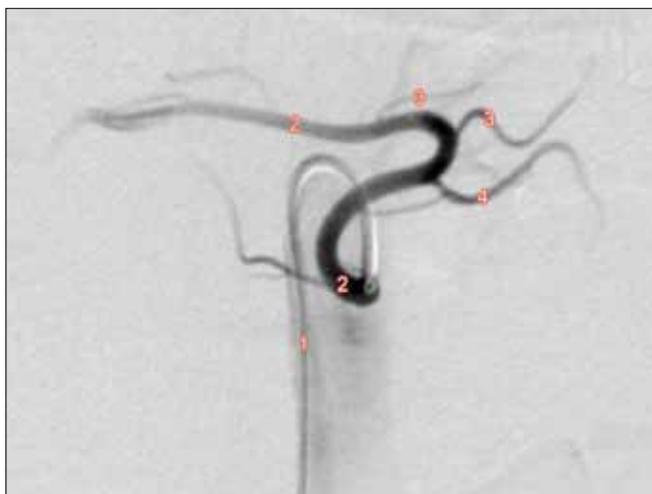


Рисунок 6. Вариант отхождения краниальной печеночной артерии непосредственно от аорты. Ангиограмма.

1 — сосудистый катетер; 2 — краниальная печеночная артерия, отходящая от аорты выше чревного ствола; 3 — желудочные ветви краниальной печеночной артерии; 4 — первая, наиболее крупная ветвь краниальной печеночной артерии — аналог нисходящей ветви.

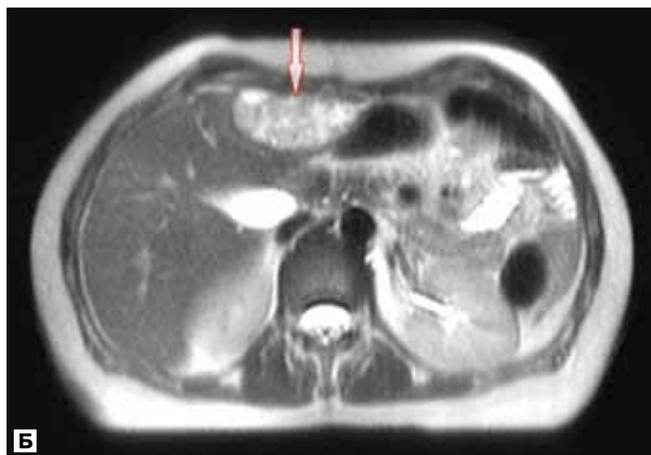


Рисунок 7. Некроз левой доли печени, возникший после перевязки краниальной печеночной артерии. Очаг некроза показан стрелкой, разные больные.

А. КТ. **Б.** МРТ.

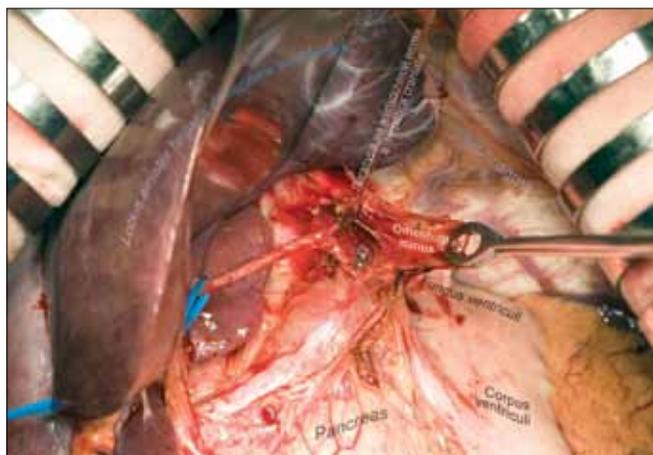


Рисунок 8. Стенка краниальной печеночной артерии скелетирована на большем протяжении.

Современная хирургия рака желудка обуславливает необходимость не только умения оперировать острым путем от стенки сосудов, но и навыков в ангиопластике. Краниальная печеночная артерия в зоне отхождения желудочных ветвей может быть вовлечена в процесс первичной опухоли или пораженными метастазами лимфатическими узлами малой кривизны (рис. 12). В такой ситуации тактика хирурга определяется характером пульсации в дистальном отделе артерии, ее калибром и технической возможностью формирования сосудистого анастомоза после резекции пораженного отрезка.

Как правило, опытному хирургу не составляет труда определить с решением. В отсутствие пульсовой волны, свидетельствующей о блоке, артерию сохранять не имеет смысла. При сомнениях можно пересечь артерию дистальнее уровня блока и оценить наличие и интенсивность ортоградного кровотока по ней. Если пульсация отчетливая, а длина и диаметр дистального отрезка артерии

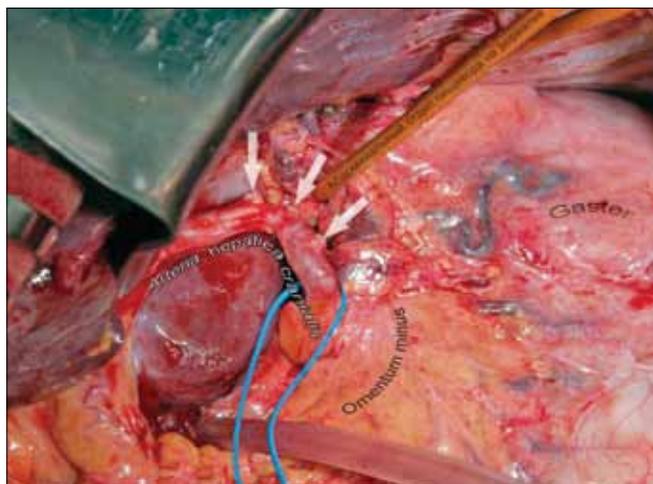


Рисунок 9. Последовательно лигированы и пересечены три дистальные ветви к малой кривизне желудка (показаны стрелками).



Рисунок 10. Перевязка первой ветви краниальной печеночной артерии. Красными стрелками отмечены культы дистальных желудочных ветвей краниальной печеночной артерии, синей стрелкой — культя левой желудочной вены. 1 — начальный отдел краниальной печеночной артерии; 2 — краниальная печеночная артерия после отхождения первой желудочной ветви; 3 — краниальная печеночная артерия после отхождения всех желудочных ветвей; 4 — первая ветвь краниальной печеночной артерии к желудку; 5 — держалка на пищеводе.

позволяют сформировать сосудистый анастомоз, краниальную артерию надо сохранять (рис. 13, 14).

Сосудистый анастомоз у больных раком желудка после резекции дуги краниальной печеночной артерии вследствие ее опухолевой инфильтрации в нашем исследовании сформирован у 3 больных. В 2 случаях при этом использована увеличительная оптика. Ни в одном из наблюдений в послеоперационном периоде не было ни органических, ни функциональных нарушений печени.

В 5 случаях краниальная печеночная артерия пересечена в связи с вовлечением ее дуги в опухолевый инфильтрат.

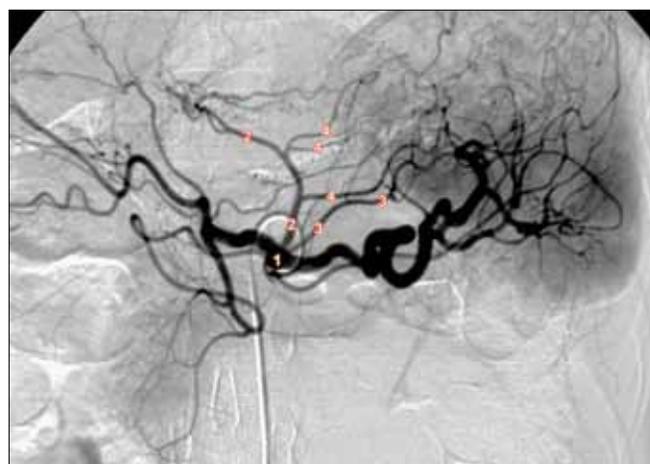


Рисунок 11. Вариант раздельного отхождения от чревного ствола левой желудочной и краниальной печеночной артерии, отдающей ветви к малой кривизне желудка (целиакограмма). 1 — чревной ствол; 2 — краниальная печеночная артерия; 3 — левая желудочная артерия; 4 — желудочные ветви краниальной печеночной артерии.

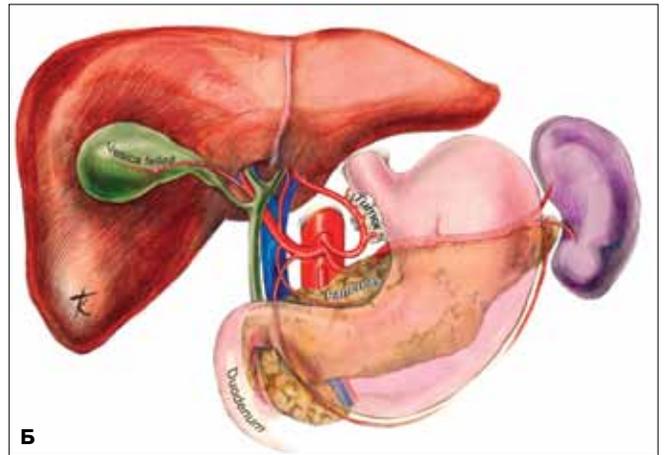
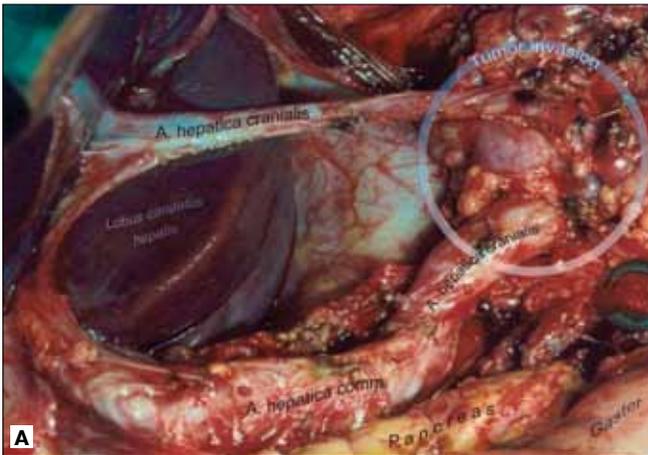


Рисунок 12. Опухоль прорастает дугу крааниальной печеночной артерии в месте отхождения желудочных ветвей. А. Интраоперационная фотография. Б. Схема.

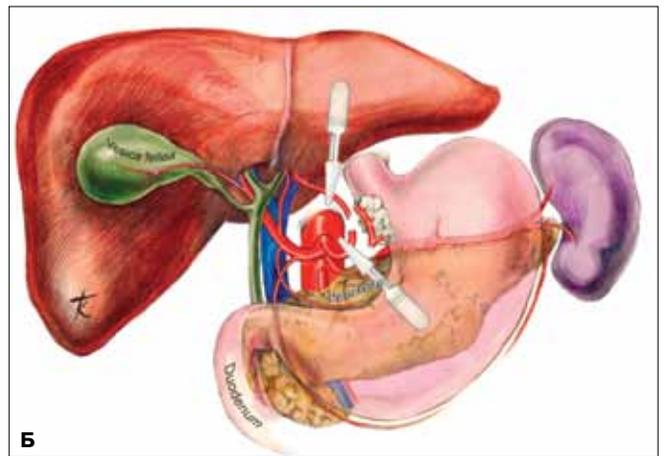
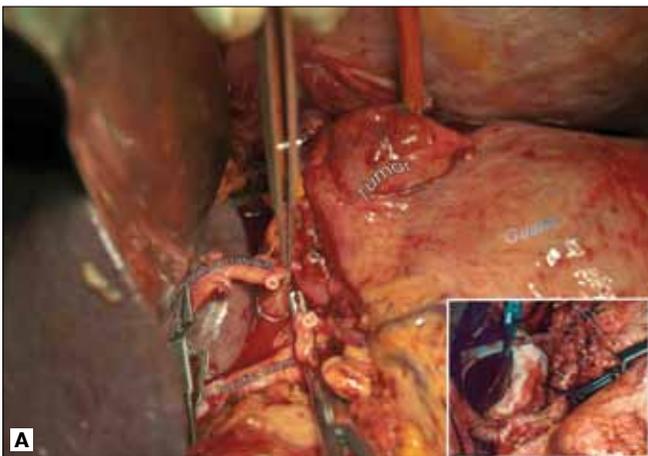


Рисунок 13. Сосудистые клеммы наложены на дугу крааниальной артерии ниже и выше опухоли. Пораженный отдел артерии резецируется единым блоком с препаратом. Пунктиром показаны уровни пересечения. А. Интраоперационная фотография. Б. Схема.

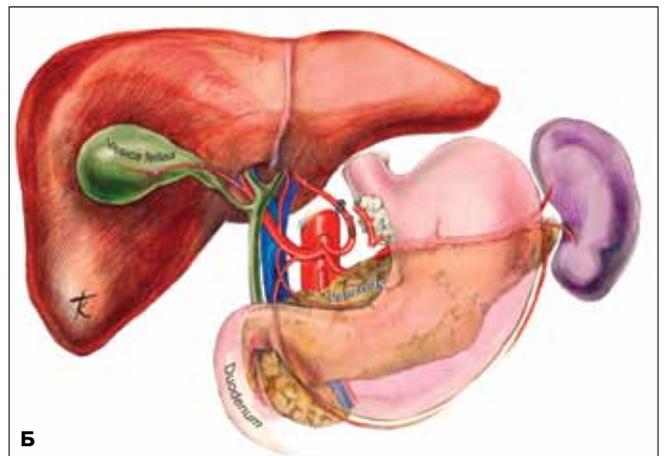
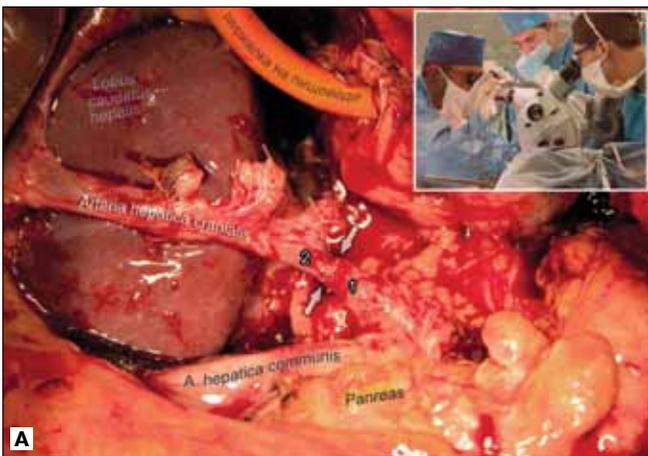


Рисунок 14. Анастомоз конец в конец между проксимальным и дистальным отделами крааниальной печеночной артерии после резекции ее дуги. 1 — проксимальный отдел крааниальной печеночной артерии; 2 — дистальный отдел той же артерии. А. Интраоперационная фотография. Б. Схема.

трат. У 2 больных это привело к развитию некроза левой доли печени (см. рис. 7). В 3 других случаях перевязка сопровождалась повышением уровня прямого билирубина до 19 мкмоль/л, активности аланинаминотрансферазы и аспаратаминотрансферазы более 1000 ед/л, уровня лактата до 4 ммоль/л, хотя по данным ультразвуковой компьютерной томографии и доплерографии не выявлено выраженных нарушений кровотока или структурных изменений левой доли печени. Уровни трансаминаз и билирубина у этих пациентов нормализовались в течение 10—18 сут после операции.

ВЫВОДЫ

1. Краниальная печеночная артерия — важный, а в ряде случаев и единственный источник артериального кровоснабжения левой доли печени.
2. Наличие краниальной печеночной артерии не может служить поводом ни к изменению объема резекции желудка, ни к сокращению объема лимфодиссекции,

а ее случайное или преднамеренное пересечение всегда связано с риском ишемии печени.

3. При вовлечении дуги краниальной печеночной артерии в опухолевый процесс следует оценивать возможность ее резекции с формированием сосудистого анастомоза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Давыдов М. И., Туркин И. Н., Давыдов М. М. Энциклопедия хирургии рака желудка. — М.: Эксмо, 2011. — 536 с.
2. Лурье А. С. Некрозы двенадцатиперстной кишки и печени после операций на желудке // Хирургия. — 1973. — № 5. — С. 93—95.
3. Пучков К. В., Филимонов В. Б. Грыжи пищеводного отверстия диафрагмы. — М.: Медпрактика, 2003. — 172 с.
4. Усович А. К., Тесфайе В. А. Вариант отхождения артерий малой кривизны желудка только от ветвей печеночной артерии // Хирургия. — 2010. — № 3. — С. 74—75.
5. Черноусов А. Ф., Поликарпов С. А., Черноусов Ф. А. Хирургия рака желудка. — М.: ИздАТ, 2004. — 316 с.

Поступила 22.12.2011

Igor Nikolayevich Turkin¹, Mikhail Mikhailovich Davydov²

PARTICULARS OF SURGICAL APPROACH IN GASTRIC CANCER PATIENTS PRESENTING WITH CRANIAL HEPATIC ARTERY

¹ *Researcher, Thoracic Department, Thoracoabdominal Division, Clinical Oncology Research Institute, N. N. Blokhin RCRC RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, RF)*

² *MD, PhD, Leading Researcher, Thoracic Department, Thoracoabdominal Division, Clinical Oncology Research Institute, N. N. Blokhin RCRC RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, RF)*

Address for correspondence: Davydov Mikhail Mikhailovich, Thoracic Department, Thoracoabdominal Division, Clinical Oncology Research Institute, N. N. Blokhin RCRC RAMS, 24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, RF; e-mail: dr.filatov@mail.ru

Contemporary guidelines for gastric cancer surgery pay little attention to particularities of surgical approach in cases with atypical anatomy. However, surgeons often encounter aberrant vessels and in particular the presence of a large arterial trunk in the lesser omentum, i. e. an additional artery in the left lobe of the liver. The paper describes particulars of cranial hepatic artery anatomy and surgical approach in cases with such an artery.

Key words: gastric cancer, cranial hepatic artery, vascular plasty.

ДИСКУССИЯ

Алентина Ивановна Павловская¹, Татьяна Тихоновна Кондратьева²,
Семен Венедиктович Петров³, Евгения Мильевна Аксель⁴,
Надежда Васильевна Балатенко⁵, Алексей Михайлович Беляев⁶,
Лариса Владимировна Болотина⁷, Василий Иванович Борисов⁸,
Надежда Павловна Велижева⁹, Вера Андреевна Горбунова¹⁰,
Мария Вениаминовна Дардык¹¹, Виктория Владимировна Дворниченко¹²,
Нина Алексеевна Карасева¹³, Василий Николаевич Курсанов¹⁴,
Георгий Моисеевич Манихас¹⁵, Анатолий Нахимович Махсон¹⁶,
Дмитрий Александрович Полежаев¹⁷, Борис Евсеевич Полоцкий¹⁸,
Александр Михайлович Сдвижков¹⁹, Юрий Иванович Тюкалов²⁰,
Рустем Шамильевич Хасанов²¹, Евгений Лхаматцыренович Чойнзонов²²,
Мария Долорес Лозано Эскаррио²³, Влодзимеж Ольшевски²⁴,
Сомасунгарам Субраманиан²⁵

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА В РАСПРЕДЕЛЕНИИ ГИСТОЛОГИЧЕСКИХ ТИПОВ И ВАРИАНТОВ РАКА ЛЕГКОГО: АНАЛИЗ ДАННЫХ В РАМКАХ ПРОЕКТА «ГИСТОЛОГИКА»

¹ К. м. н., ведущий научный сотрудник, отдел патологической анатомии опухолей
НИИ клинической онкологии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

² Д. м. н., ведущий научный сотрудник, лаборатория клинической цитологии
НИИ клинической онкологии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

³ Профессор, г. м. н., руководитель, отдел молекулярной патологии,
Республиканский клинический онкологический диспансер Министерства здравоохранения
Республики Татарстан (420029, РФ, г. Казань, ул. Сибирский Тракт, г. 29)

⁴ Д. б. н., заведующая, отделение онкологической статистики
РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

⁵ Заведующая, патологоанатомическое отделение,
Республиканский клинический онкологический диспансер Министерства здравоохранения
Республики Татарстан (420029, РФ, г. Казань, ул. Сибирский Тракт, г. 29)

⁶ Профессор, г. м. н., директор НИИ онкологии им. Н. Н. Петрова
(197758, РФ, г. Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, г. 68)

⁷ Д. м. н., заведующая, химиотерапевтическое отделение
ФГУ Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П. А. Герцена
Росмедтехнологий РФ (125284, РФ, г. Москва, 2-й Боткинский пр., г. 3)

⁸ Профессор, г. м. н., заместитель главного онколога г. Москвы, заместитель главного врача
по химиотерапии опухолей, Онкологический клинический диспансер № 1 Департамента
здравоохранения г. Москвы (105005, РФ, г. Москва, ул. Бауманская, г. 17/1)

⁹ Аспирант, лаборатория клеточного иммунитета НИИ экспериментальной диагностики
и терапии опухолей РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

¹⁰ Профессор, г. м. н., заведующая, отделение химиотерапии НИИ клинической онкологии
РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

¹¹ Врач-онкогематолог, кафедра онкологии ФПДО, ГБОУ ВПО «Московский государственный
медико-стоматологический университет» Министерства здравоохранения и социального
развития РФ (127473, РФ, г. Москва, ул. Делегатская, г. 20, стр. 1)

¹² Профессор, г. м. н., главный врач, главный онколог Сибирского федерального округа,
Иркутский областной онкологический диспансер, (664035, РФ, г. Иркутск, ул. Фрунзе, г. 32)

¹³ Доцент, к. м. н., заведующая, онкоторакальное отделение, Городской клинический онкологический
диспансер г. Санкт-Петербурга (197022, РФ, г. Санкт-Петербург, 2-я Березовая аллея, г. 3/5)

- ¹⁴ Главный врач, Оренбургский областной клинический онкологический диспансер (460000, РФ, г. Оренбург, пр. Гагарина, г. 11)
- ¹⁵ Профессор, г. м. н., главный врач, Городской клинический онкологический диспансер г. Санкт-Петербурга (197022, РФ, г. Санкт-Петербург, 2-я Березовая аллея, г. 3/5)
- ¹⁶ Профессор, г. м. н., главный врач, Городская онкологическая больница № 62 (143423, РФ, Московская обл., Красногорский р-н, п/о Степановское)
- ¹⁷ Доцент, к. м. н., хирург-онколог, онкоторакальное отделение, Городской клинический онкологический диспансер г. Санкт-Петербурга (197022, РФ, г. Санкт-Петербург, 2-я Березовая аллея, г. 3/5)
- ¹⁸ Профессор, г. м. н., ведущий научный сотрудник, отделение торакальной онкологии НИИ клинической онкологии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)
- ¹⁹ Профессор, г. м. н., главный врач, Онкологический клинический диспансер № 1 Департамента здравоохранения г. Москвы (105005, РФ, г. Москва, ул. Бауманская, г. 17/1)
- ²⁰ К. м. н., главный врач, НИИ онкологии СО РАМН (634050, РФ, г. Томск, пер. Кооперативный, г. 5)
- ²¹ Профессор, г. м. н., директор, Приволжский филиал РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН; главный врач, Республиканский клинический онкологический диспансер (420029, РФ, г. Казань, ул. Сибирский Тракт, г. 29)
- ²² Академик РАМН, профессор, г. м. н., директор НИИ онкологии СО РАМН (634050, РФ, г. Томск, пер. Кооперативный, г. 5)
- ²³ Профессор, г. м. н., заведующая, лаборатория цитопатологии, отдел патологии, Университетская клиника Наварры (31008, Pamplona, España, Avenida Pio XII, 36)
- ²⁴ Профессор, г. м. н., заведующий, отдел патологии, Институт им. Марии Склодовски-Кюри, Варшавский онкологический центр (02-781, Warszawa, Polska, ul. W.K. Roentgena 5)
- ²⁵ Директор, Евразийская федерация онкологии; старший научный сотрудник, отделение биотерапии опухолей НИИ клинической онкологии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

Адрес для переписки: 115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, д. 24, НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей, РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, лаборатория клеточного иммунитета, Велижева Надежда Павловна; e-mail: nadezhda.velizheva@gmail.com

Рак легкого — группа опухолей с разнообразными гистологическими характеристиками, включающая мелкоклеточный и немелкоклеточный рак (аденокарцинома, плоскоклеточный рак, крупноклеточный рак и их варианты). Частота морфологической верификации рака легкого в среднем по России остается низкой (61,0%). Также в статистике онкологической заболеваемости отсутствуют сведения о гистологических типах и вариантах рака легкого. Отсутствие единой мультидисциплинарной стратегии организации и проведения иммуноморфологических и молекулярных исследований затрудняет интерпретацию полученных результатов. В связи с этим Евразийской федерацией онкологии в партнерстве с компанией «Эли Лилли» создан проект «ГистоЛогика». Цель проекта — совершенствование диагностики рака легкого. В проекте участвуют онкологические центры из разных регионов России. В рамках проекта проанализировано качество морфологической диагностики с уточнением гистологических типов и вариантов рака легкого на основании пересмотра готовых микропрепаратов пациентов (n = 292) за сентябрь—ноябрь 2010 г.

Ключевые слова: рак легкого, морфологическая диагностика, гистологические типы, гистологические варианты, аденокарцинома легкого, ГистоЛогика.

Рост онкологической заболеваемости в России и других странах мира является одной из главных проблем практического здравоохранения. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) в 2008 г. в мире были зарегистрированы 12,7 миллиона больных злокачественными новообразованиями. Онкологические заболевания остаются социально значимыми, являясь причиной 21% смертей от неинфекционных заболеваний. Общее число смертей от злокачественных новообразо-

ваний в мире в 2008 г. составило 7,6 миллиона. По прогнозам ВОЗ, к 2030 г. этот показатель может достигнуть 11 миллионов [1].

Первое место в структуре онкологической заболеваемости в России занимает рак легкого, на долю которого приходится 19,8% вновь выявленных опухолей у мужчин и 3,9% у женщин [2]. В 2009 г. абсолютное число больных с впервые установленным диагнозом рака легкого составило 57 052 чел. [2]. У мужчин отмечается снижение стандартизованных показателей заболеваемости раком легкого с 64,8 на 100 000 в 1999 г. до 55,2 на 100 000 в 2009 г., а у женщин — их стабилизация (7,1 на 100 000).

Частота морфологической верификации диагноза рака легкого в 2009 г. в среднем по России составила 61,0% [3], что является неудовлетворительным показателем. Во многих регионах (республики Адыгея, Бурятия, Дагестан, Карачаево-Черкесия, Карелия, Саха (Якутия), Тыва, Чечня, Ингушетия, Приморский край,

© Павловская А. И., Кондратьева Т. Т., Петров С. В., Аксель Е. М., Балатенко Н. В., Беляев А. М., Болотина Л. В., Борисов В. И., Велижева Н. П., Горбунова В. А., Дардык М. В., Дворниченко В. В., Карасева Н. А., Кирсанов В. Н., Манихас Г. М., Махсон А. Н., Полежаев Д. А., Полоцкий Б. Е., Сдвижков А. М., Тюкалов Ю. И., Хасанов Р. Ш., Чойнзонов Е. Л., Лозано Эскаррио М. Д., Ольшевски В., Субраманиан С., 2011
УДК 616.24-006.6-091.8

Брянская, Владимирская, Волгоградская, Воронежская, Ивановская, Курганская, Липецкая, Нижегородская, Ульяновская и Читинская области) частота морфологической верификации этой патологии была крайне низкой и составляла 21,0—58,1% [3]. Кроме того, в статистике онкологической заболеваемости России отсутствуют сведения о гистологических типах и вариантах рака легкого.

С учетом низкой выживаемости больных и высокой смертности (в 2009 г. от рака легкого умерли 51 433 чел.) [4] необходимо незамедлительно разрабатывать меры по совершенствованию диагностики этой патологии. Следует не только дифференцировать мелкоклеточный (МРЛ) и немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ), но и определять гистологические типы и варианты, различающиеся по клиническому течению [5], а также чувствительности к специфической противоопухолевой терапии. При этом первостепенное значение в выборе тактики лечения имеет точное развернутое морфологическое заключение, основанное на современной гистологической классификации [6]. Главной особенностью данной классификации является мультидисциплинарный подход к диагностике, который подразумевает оценку не только морфологических особенностей, но и клинических, рентгенологических и молекулярно-генетических признаков аденокарцином легкого.

СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКЕ РАКА ЛЕГКОГО

Технические достижения последних десятилетий, развитие молекулярной биологии и генетики рака легкого, разработка и внедрение в клиническую практику молекулярно-направленной терапии изменили требования к диагностическому процессу. При этом появилась необходимость комплексного подхода, сочетающего оценку результатов клинического, рентгенологического, морфологического и молекулярно-генетического методов с целью выявления клеточных, структурных и иммуноморфологических особенностей опухоли, определения прогностических и предиктивных факторов, а также терапевтических мишеней [7—9]. С появлением новых групп молекулярно-направленных препаратов с различной эффективностью в отношении отдельных гистологических типов НМРЛ [10] такой подход создает пациентам максимальные возможности для получения оптимального лечения и экономически оправдан. В связи с этим необходимость пересмотра действующих диагностических подходов и создание условий для взаимодействия онкологов разных специальностей (хирургов, рентгенологов, химиотерапевтов), патологов (патологоанатомов и цитопатологов), а также молекулярных биологов не вызывают сомнений. При этом в стандартизации нуждаются диагностические критерии как гистологических типов, так и вариантов рака легкого [11].

ПРОЕКТ ПО УЛУЧШЕНИЮ ДИАГНОСТИКИ РАКА ЛЕГКОГО В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

С целью улучшения качества диагностики и повышения выживаемости больных раком легкого Евразийской федерацией онкологии в партнерстве с компанией «Эли Лилли» при активном участии специалистов из различных онкологических учреждений России был создан

проект «ГистоЛогика», который стартовал в декабре 2010 г. Деятельность морфологической программы в рамках настоящего проекта направлена на следующее: (1) пересмотр действующих диагностических подходов; (2) преодоление имеющихся сложностей в организации онкологической помощи населению России; (3) создание условий для взаимодействия патологов (патологоанатомов и цитопатологов) и онкологов разных специальностей; (4) разработку и утверждение мультидисциплинарных рекомендаций по диагностике рака легкого; (5) создание статистической базы данных, учитывающей реальное соотношение гистологических типов и вариантов рака легкого в России; (6) организацию систематической подготовки и переподготовки врачей-онкологов разных клинических специальностей, задействованных в диагностике рака легкого; (7) поддержку морфологических лабораторий учреждений-партнеров. Конечная цель проекта — повышение выживаемости и улучшение качества жизни пациентов с НМРЛ.

В работе по проекту задействованы онкологические центры и диспансеры из разных регионов России (табл. 1), что открывает для практикующих врачей (пато-

Таблица 1

Список учреждений — участников проекта «ГистоЛогика»

№	Учреждение	Город
1.	Городской клинический онкологический диспансер г. Санкт-Петербурга	Санкт-Петербург
2.	Иркутский областной онкологический диспансер	Иркутск
3.	Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П. А. Герцена	Москва
4.	НИИ онкологии им. Н. Н. Петрова	Санкт-Петербург
5.	НИИ онкологии СО РАМН	Томск
6.	Онкологический клинический диспансер № 1 Департамента здравоохранения г. Москвы	Москва
7.	Оренбургский областной клинический онкологический диспансер	Оренбург
8.	Республиканский клинический онкологический диспансер Министерства здравоохранения Республики Татарстан	Казань
9.	Российский онкологический научный центр им. Н. Н. Блохина РАМН	Москва
10.	Самарский областной клинический онкологический диспансер	Самара

логов и онкологов) возможности перейти на качественно новый уровень диагностики и лечения данного заболевания.

Для оценки уровня морфологической диагностики рака легкого с уточнением гистологического типа и варианта опухоли в учреждениях-партнерах эксперты-патологи проекта выполнили пересмотр микропрепаратов 10% наблюдений рака легкого, впервые выявленных в этих учреждениях с сентября по ноябрь 2010 г. Проанализирован цитологический (n = 333) и гистологический (n = 239) диагностический материал, полученный от 292 больных раком легкого (табл. 2).

Во всех учреждениях диагноз рак легкого у впервые выявленных больных был подтвержден гистологически. Полное совпадение представленных морфологических заключений с заключениями экспертов в среднем отмечалось в 51% (43—64%) случаев (рис. 1). При этом если гистологическое исследование опухоли проводили у всех пациентов, цитологические микропрепараты были представлены лишь у 40% больных. Возникает вопрос, по-

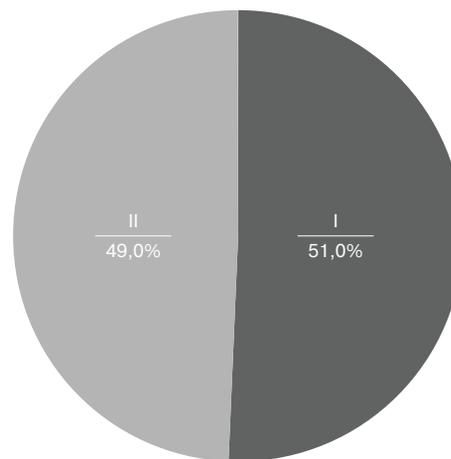


Рисунок 1. Результаты оценки морфологических заключений на основании пересмотра цитологических и гистологических микропрепаратов больных раком легкого (n = 292), выявленных в различных онкологических учреждениях России с сентября по ноябрь 2010 г. I — совпадение представленных заключений с оценкой экспертов; II — расхождение представленных заключений с оценкой экспертов

Таблица 2

Объем проанализированного материала

Название учреждения	Цитологический материал	Гистологический материал
Иркутский областной онкологический диспансер	92 стекла (12 пациентов)	38 стекол (13 пациентов)
Республиканский клинический онкологический диспансер Министерства здравоохранения Республики Татарстан	Не представлен	30 стекол (30 пациентов)
Онкологический клинический диспансер № 1 Департамента здравоохранения г. Москвы	33 стекла (30 пациентов)	53 стекла (30 пациентов)
Оренбургский областной клинический онкологический диспансер	28 стекол (28 пациентов)	28 стекол (28 пациентов)
Самарский областной клинический онкологический диспансер	180 стекол (83 пациента)	40 стекол (40 пациентов)
Городской клинический онкологический диспансер г. Санкт-Петербурга	Не представлен	42 стекла (42 пациента)
НИИ онкологии Томского научного центра Сибирского отделения РАМН	Не представлен	14 стекол (14 пациентов)
Итого	333 стекла (153 пациента)	245 стекол (197 пациентов)
Всего	578 стекол (292 пациента)	

чему? Либо результаты цитологического исследования не представляли для анализа, либо цитологический метод игнорировался в силу сформировавшихся кадровых ограничений и/или других организационно-технических трудностей. Из трех учреждений цитологические микропрепараты не были представлены вовсе, и только в 2 из 7 участвующих в проекте учреждений диагноз рака легкого подтверждали морфологически на основании как гистологического, так и цитологического исследования.

Основные причины расхождений морфологических заключений были связаны с качеством и количеством полученного диагностического материала (выбор места получения материала), качеством препаратов (неудачные срезы, механическая деформация, неправильная фиксация или окраска), а также «проблемными» вариантами рака легкого (светлоклеточный, крупноклеточный рак и рак с низкой степенью дифференцировки). В 89% случаев рака легкого морфологическое заключение содержало информацию об основном гистологическом типе опухоли (МРЛ / НМРЛ) без уточнения гистологического варианта опухоли (рис. 2). В 11% случаев представленные заключения содержали информацию о наличии недифференцированного или низкодифференцированного рака легкого без уточнения основного гистологического типа (МРЛ / НМРЛ).

Распределение морфологических заключений, представленных учреждениями, и морфологических заключений экспертов РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН о характере опухолевого поражения легкого представлено на рис. 3.

Диагноз «аденокарцинома» в учреждениях — участниках проекта был поставлен 42 больным НМРЛ. При пересмотре готовых микропрепаратов в РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН этот диагноз был подтвержден в 35 (83%) случаях, а в 7 (17%) отвергнут (рис. 4 и 5). Всего экспертами РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН было выяв-

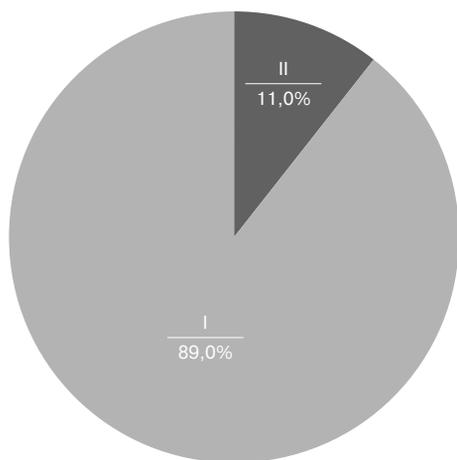


Рисунок 2. Распределение заключений, представленных учреждениями, по наличию в них информации об основном гистологическом типе рака легкого. I — основной гистологический тип (МРЛ / НМРЛ) верифицирован; II — отсутствует информация об основном гистологическом типе (МРЛ / НМРЛ).

лено 90 случаев аденокарциномы легкого, из которых в учреждениях успешно верифицированы 35 (39,0%) случаев, а 55 (61,0%) ошибочно трактованы как плоскоклеточный, светлоклеточный рак или МРЛ (рис. 4 и 6).

На рис. 7 и 8 представлена частота выявления аденокарциномы легкого от общего числа представленных для пересмотра цитологических и гистологических микропрепаратов соответственно. Так, у 153 больных раком легкого, у которых имелись цитологические микропрепараты, в учреждениях — участниках проекта выявили 16 (10,5%) случаев аденокарциномы, а при пересмотре в РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН — 64 (41,8%). Аналогичные показатели для 197 больных, у которых имелись гистологические микропрепараты, составили 26 (13,1%) и 36 (18,3%) соответственно.

ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенный анализ свидетельствует о недостаточном уровне морфологической диагностики рака легкого в России, что затрудняет выбор оптимальной тактики лечения больного. В ряде работ показано, что для назначения современной лекарственной терапии и индивидуализации лечения больных НМРЛ необходимо точное развернутое морфологическое заключение с указанием гистологического варианта опухоли [12—17]. В связи с этим такие часто встречающиеся заключения, как «рак с низкой степенью дифференцировки», «низкодифференцированный немелкоклеточный рак» или «недифференцированный немелкоклеточный рак», не могут считаться окончательными и требуют дальнейшего уточнения не только по гистологическому типу (плоскоклеточный рак / аденокарцинома), но и по гистологическому варианту опухоли (аденокарцинома *in situ* / минимально инвазивная со слизеобразованием / немущинозная / муцинозно — немущинозная смешанного типа; аденокарцинома инвазивная ацинарная / папиллярная / микропапиллярная / солидная немущинозная / со слизеобразованием) [6]. В морфологическом заключении абсолютно необходимо исключить метастатическую природу опухоли. Такие редкие диагнозы, как «крупноклеточный рак» или «светлоклеточный рак», требуют дополнительных уточнений, потому что под маской подобных заключений зачастую скрываются другие типы НМРЛ или метастатические опухоли.

В случае возникновения трудностей при интерпретации результатов гистологического и цитологического исследований, а также при их расхождении на светооптическом уровне следует проводить реакцию на слизь и иммунофенотипирование. Для выяснения иммуноморфологических особенностей опухоли необходимо использовать оба морфологических метода одновременно (иммуноцито- и иммуногистохимическое исследование) с окрашиванием на TTF-1, p63, CK5/6, CK7, MUC2 [14; 15]. Если планируется назначение молекулярно-направленной

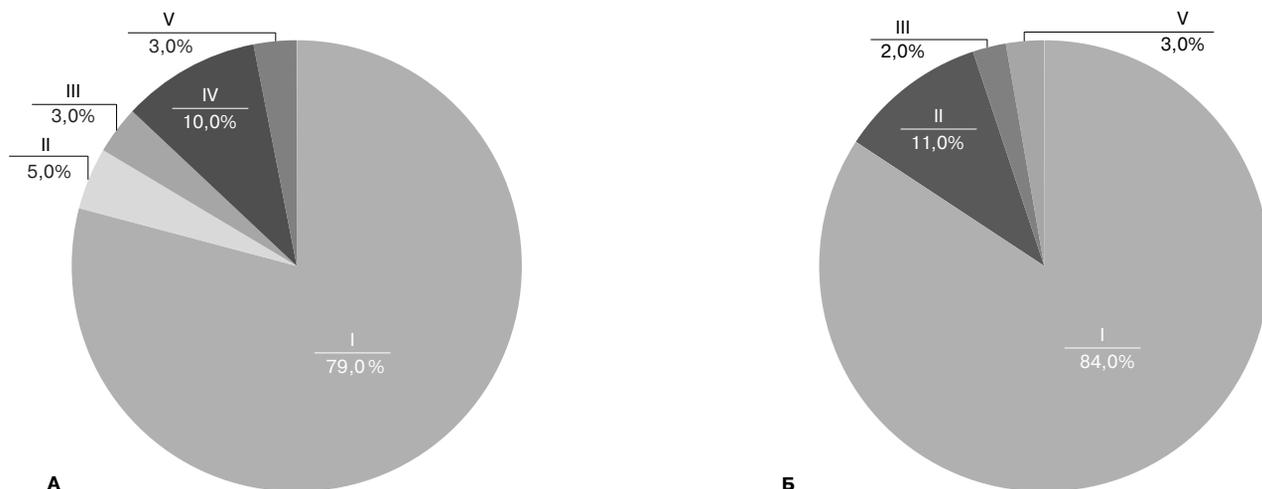


Рисунок 3. Распределение морфологических заключений о характере опухолевого поражения легкого. I — НМРЛ; II — МРЛ; III — метастатическая опухоль; IV — рак легкого без уточнения основного гистологического типа (МРЛ / НМРЛ); V — другие опухоли легкого.

А. Представленные учреждениями. **Б.** Данные экспертами РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН.

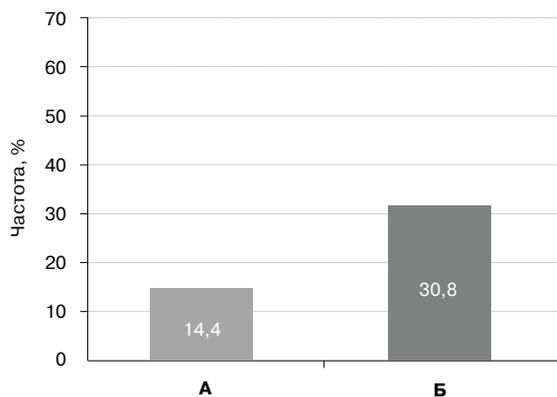


Рисунок 4. Частота выявления аденокарциномы легкого.
А. В учреждениях — участниках проекта. **Б.** Экспертами РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН.

терапии ингибиторами тирозинкиназы, морфологические исследования необходимо дополнять молекулярно-генетическим исследованием на активирующую мутацию в гене EGFR [18]. Выявление других молекулярных мишеней, таких, как VEGF, K-ras, EML4-ALK, на сегодняшний день остается в рамках протоколов клинических исследований и научных изысканий, поскольку убедительных доказательств их прогностической значимости пока не обнаружено [16; 17; 19]. Гистологический вариант опухоли является предиктивным фактором, позволяющим судить об эффективности и токсичности лечения, а также прогностическим фактором, определяющим выживаемость больных. Поэтому на сегодняшний день крайне важно не только дифференцировать МРЛ и НМРЛ, но и предоставлять информацию о гистологическом типе и варианте опухоли.

Объединение усилий онкологов разных специальностей (торакальных хирургов, хирургов-эндоскопистов, рентгенологов, химиотерапевтов), патологов (цитопато-

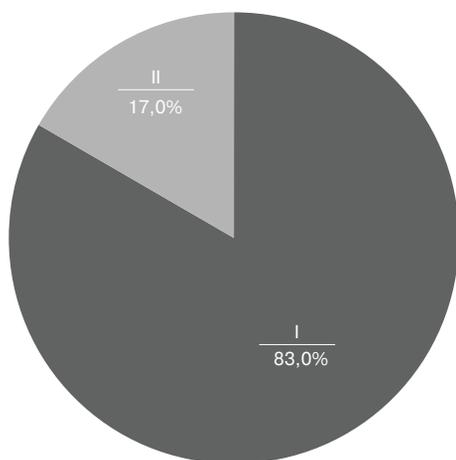


Рисунок 5. Точность верификации гистологического типа на примере аденокарциномы легкого. I — заключение «аденокарцинома легкого», данное в учреждениях — участниках проекта, совпадает с оценкой экспертов; II — диагноз «аденокарцинома легкого», поставленный в учреждениях — участниках проекта, отвергнут экспертами.

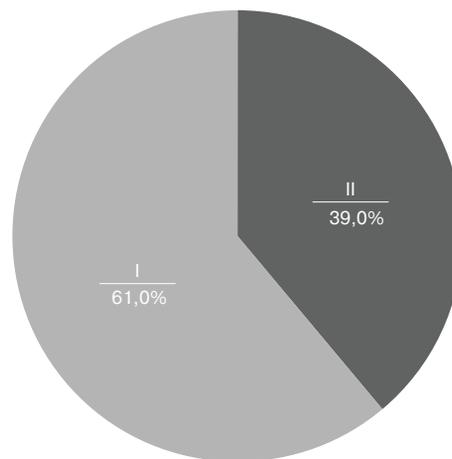


Рисунок 6. Полнота выявления аденокарциномы легкого в учреждениях — участниках проекта по сравнению с заключениями экспертов РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН. I — случаи аденокарциномы легкого, выявленные экспертами при пересмотре микропрепаратов; II — случаи аденокарциномы легкого, описанные в морфологических заключениях, представленных учреждениями и данных экспертами.

тологов и патологоанатомов) и молекулярных биологов, применение обоих диагностических методов (цитологического и гистологического), а также активное взаимодействие специалистов позволят улучшить диагностику рака легкого и, следовательно, повысить выживаемость больных.

Работа выполнена в рамках проекта «Гистология», направленного на улучшение диагностики рака легкого в Российской Федерации, разработанного Евразийской федерацией онкологии в партнерстве с компанией «Эли Лилли». Авторы благодарят проф. Георгия Авраамовича Франка за прочтение статьи и высказанные ценные замечания.

Отдельно благодарим всех специалистов партнерских учреждений за активное участие в работе проекта «Гистология»:

Бутенко Галину Романовну (к. м. н., заведующая, цитологическая лаборатория, Онкологический клинический диспансер № 1 Департамента здравоохранения г. Москвы);

Васильева Николая Вольтовича (к. м. н., старший научный сотрудник, отделение патологической анатомии и цитологии НИИ онкологии СО РАМН);

Зайцева Никона Владимировича (врач-патологоанатом, патологоанатомическое отделение, Оренбургский областной клинический онкологический диспансер);

Кивацого Андрея Васильевича (врач-цитопатолог, отделение патологической анатомии и цитологии НИИ онкологии СО РАМН);

Кислицыну Лагу Юрьевну (заведующая, цитологическая лаборатория, Иркутский областной онкологический диспансер);

Костина Алексея Юрьевича (заведующий, патологоанатомическое отделение, Онкологический клинический диспансер № 1 Департамента здравоохранения г. Москвы);

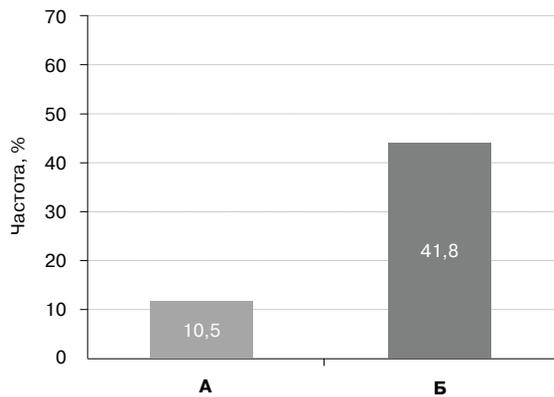


Рисунок 7. Частота выявления аденокарциномы легкого от общего числа представленных для пересмотра цитологических микропрепаратов (153 больных).

А. В учреждениях — участниках проекта. **Б.** Экспертами РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН.

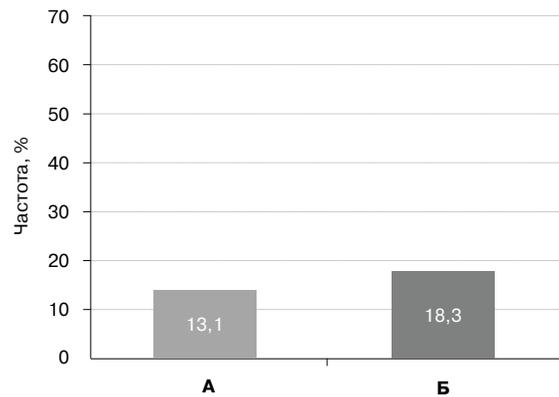


Рисунок 8. Частота выявления аденокарциномы легкого от общего числа представленных для пересмотра гистологических микропрепаратов (197 больных).

А. В учреждениях — участниках проекта. **Б.** Экспертами РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН.

Манькову Татьяну Леонидовну (заведующая, патологоанатомическое отделение, Иркутский областной онкологический диспансер);

Масленникову Ольгу Борисовну (врач-цитопатолог, цитологическая лаборатория, Оренбургский областной клинический онкологический диспансер);

Нетелеву Светлану Геннадьевну (врач-цитопатолог, ГБУЗ Самарский областной клинический онкологический диспансер);

Раскина Григория Александровича (к. м. н., врач-патологоанатом, Городской клинический онкологический диспансер г. Санкт-Петербурга);

Севостьянова Тимофея Федоровича (к. м. н., заведующий, патологоанатомическое отделение, Городской клинический онкологический диспансер г. Санкт-Петербурга);

Торопову Надежду Ефимовну (г. б. н., заведующая, лаборатория цитологии и молекулярной генетики опухолей, ГБУЗ Самарский областной клинический онкологический диспансер);

Югину Оксану Васильевну (к. м. н., заведующая, патологоанатомическое отделение, ГБУЗ Самарский областной клинический онкологический диспансер).

ЛИТЕРАТУРА

1. Global status report on noncommunicable diseases 2010 [Электронный ресурс] // WHO Library Cataloguing-in-Publication Data — URL: http://whqlibdoc.who.int/publications/2011/9789240686458_eng.pdf (дата обращения 01.01.2011)
2. Давыдов М. И., Аксель Е. М. Заболеваемость злокачественными новообразованиями населения России и стран СНГ в 2009 г. // Вестн. РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН. — 2011. — Т. 22, № 3 (прил. 1). — С. 54—92.
3. Аксель Е. М. Состояние онкологической помощи населению России и стран СНГ в 2009 г. // Вестн. РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН. — 2011. — Т. 22, № 3 (прил. 1). — С. 9—53.
4. Давыдов М. И., Аксель Е. М. Смертность населения России и стран СНГ от злокачественных новообразований в 2009 г. // Вестн. РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН. — 2011. — Т. 22, № 3 (прил. 1). — С. 93—123.
5. Does lung adenocarcinoma subtype predict patient survival?: A clinicopathologic study based on the new International Association for

the Study of Lung Cancer / American Thoracic Society / European Respiratory Society international multidisciplinary lung adenocarcinoma classification / Russell P. A., Wainer Z., Wright G. M., Daniels M., Conron M., Williams R. A. // J. Thorac. Oncol. — 2011. — N 9. — P. 1496—1504.

6. International Association for the Study of Lung Cancer / American Thoracic Society / European Respiratory Society International Multidisciplinary Classification of Lung Adenocarcinoma // J. Thorac. Oncol. — 2011. — Vol. 6, N 2 — P. 244—285.

7. Pathology and Genetics: Tumors of the Lung, Pleura, Thymus and Heart / Travis W. D., Brambilla E., Müller-Hermelink H. K., Harris C. C. — Lyon: IARC, 2004. — P. 21—44.

8. Role of Cytology in the Management of Non-Small-Cell Lung Cancer / Fischer A. H., Edmund S., Lydia P., Kurian E. M., Rodolfo L., Moriarty A. T., Renshaw A. A., Zakowski M. F., Young N. A. // J. Clin. Oncol. — 2011. — Vol. 29 — P. 1—2.

9. Unique Clinicopathologic Features Characterize ALK-rearranged Lung Adenocarcinoma in the Western Population / Rodig S. J., Mino-Kenudson M., Dacic S., Yeap B. Y., Shaw A., Barletta J. A., Stubbs H., Law K., Lindeman N., Mark E., Janne P., Lynch T., Johnson B. E., Iafrate A. J., Chirieac L. R. // Clin. Cancer Res. — 2009. — Vol. 15. — P. 5216—5223.

10. Distinctive Characteristics of Non-small Cell Lung Cancer (NSCLC) in the Young: A Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) Analysis / Subramanian J., Morgensztern D., Goodgame B., Baggstrom M. Q., Gaoet F., Piccirillo J., Govindan R. // J. Thorac. Oncol. — 2010. — Vol. 5, N 1. — P. 23—28.

11. Lung Adenocarcinoma: Modification of the 2004 WHO Mixed Subtype to Include the Major Histologic Subtype Suggests Correlations Between Papillary and Micropapillary Adenocarcinoma Subtypes, EGFR Mutations and Gene Expression Analysis / Noriko M., Janos S., Gregory R. J., Venkatraman S. E., Mark K. G., Valerie R. W., William G. L., Travis W. D. // Am. J. Surg. Pathol. — 2008. — Vol. 32, N 6. — P. 810—827.

12. Predictive advantage of a cell type classification for pulmonary adenocarcinoma coupled with data for p53, K-ras and EGFR alterations / Okada A., Shimmyo T., Hashimoto T., Kobayashi Y., Miyagi Y., Ishikawa Y., Nakagawa K., Hayashi J., Tsuchiya E. // Cancer Sci. — 2010. — Vol. 101, N 7. — P. 1745—1753.

13. Characterisation and predictive value of epidermal growth factor receptor status using quantitative real-time PCR combined with immunohistochemistry on non-small cell lung cancer specimens / Hilbe W., Dlaska M., Dirnhofer S., Duba H. C., Eisterer W., Oberwasserlechner F., Mildner A., Schmid T., Ammann K., Thaler J., Wöll E. // Int. J. Oncol. — 2003. — Vol. 23, N 4. — P. 893—899.

14. Impact of histology on survival of resected non-small cell lung cancer (NSCLC) receiving adjuvant chemotherapy: subgroup analysis of the adjuvant vinorelbine (NVB) cisplatin (CDDP) versus observation in the ANITA trial / Bennouna J., Senellart H., Huret S., Vaissiere N., Douillard J. Y. // Lung Cancer. — 2011. — Vol. 74, N 1 — P. 30—34.

15. The diagnostic value of cytokeratin 5/6, 14, 17, and 18 expression in human non-small cell lung cancer / Chen Y., Cui T., Yang L., Mireskandari M., Knoesel T., Zhang Q., Pasya-Gengelbach M., Petersen I. // *Oncology*. — 2011. — Vol. 80, N 5. — P. 333—340.

16. Rapid and dramatic radiographic and clinical response to an ALK inhibitor (crizotinib, PF02341066) in an ALK translocation-positive patient with non-small cell lung cancer / Ou S. H., Bazhenova L., Camidge D. R., Solomon B. J., Herman J., Kain T., Bang Y. J., Kwak E. L., Shaw A. T., Salgia R., Maki R. G., Clark J. W., Wilner K. D., Iafrate A. J. // *J. Thorac. Oncol.* — 2010. — Vol. 5, N 12. — P. 2044—2046.

17. Anaplastic lymphoma kinase translocation: a predictive biomarker of pemetrexed in patients with non-small cell lung cancer / Lee J. O., Kim T. M., Lee S. H., Kim D. W., Kim S., Jeon Y. K., Chung D. H., Kim W. H., Kim Y. T., Yang S. C., Kim Y. W., Heo D. S., Bang Y. J. //

J. Thorac. Oncol. — 2011. — Vol. 6, N 9. — P. 1474—1480.

18. Особенности экспрессии молекулярно-биологических маркеров пролиферации и апоптоза у больных раком легкого с мутацией рецептора эпидермального фактора роста / Иванцов А. О., Имянитов Е. Н., Моисеенко В. М., Мацко Д. Е. // *Арх. патол.* — 2009. — № 6. — С. 9—12.

19. Vascular endothelial growth factor C as a predictor of early recurrence and poor prognosis of resected stage I non-small cell lung cancer / Chen S. C., Shih C. M., Tseng G. C., Cheng W. E., Chiou J., Hsiao M., Kuo M. L., Su J. L., Chen C. Y. // *Ann. Acad. Med. Singapore*. — 2011. — Vol. 40, N 7. — P. 319—326.

Поступила 10.09.2011

*Alentina Ivanovna Pavlovskaya¹, Tatiana Tikhonovna Kondratieva²,
Semyon Venediktovich Petrov³, Evgenia Milyevna Aksel⁴,
Nadezhda Vasilievna Balatenko⁵, Aleksey Mikhailovich Belyaev⁶,
Larisa Vladimirovna Bolotina⁷, Vasiliy Ivanovich Borisov⁸,
Nadezhda Pavlovna Velizheva⁹, Vera Andreevna Gorbunova¹⁰,
Maria Veniaminovna Dardyk¹¹, Viktoriya Vladimirovna Dvornichenko¹²,
Nina Alekseevna Karaseva¹³, Vasiliy Nikolaevich Kirsanov¹⁴,
Georgiy Moiseevich Manikhas¹⁵, Anatoliy Nakhimovich Makhson¹⁶,
Dmitriy Aleksandrovich Polezhaev¹⁷, Boris Evseyevich Polotskiy¹⁸,
Aleksandr Mikhailovich Sdvizhkov¹⁹, Yuriy Ivanovich Tyukalov²⁰,
Rustem Shamilievich Khasanov²¹, Evgeniy Lkhamatsyrenovich Choinzonov²²,
Maria Dolores Lozano Escario²³, Wlodzimierz Olszewski²⁴,
Somasundaram Subramanian²⁵*

HISTOLOGIC TYPES AND VARIANTS IN LUNG CANCER PATHOLOGIC DIAGNOSTICS: ANALYSIS WITHIN THE FRAMEWORK OF HISTOLOGICA PROJECT

¹ MD, PhD, Leading Researcher, Human Tumor Pathologic Anatomy Department, Clinical Oncology Research Institute, N. N. Blokhin RCRC RAMS (24, Kashirskoe sh., Moscow, 115478, RF)

² MD, PhD, DSc, Leading Researcher, Clinical Cytology Laboratory, Clinical Oncology Research Institute, N. N. Blokhin RCRC RAMS (24, Kashirskoe sh., Moscow, 115478, RF)

³ MD, PhD, DSc, Professor, Head, Molecular Pathology Unit, Tatarstan Republic Clinical Cancer Dispensary, (29, Sibirskiy Trakt st., Kazan, 420029, RF)

⁴ PhD, DSc, Head, Oncology Statistics Department, N. N. Blokhin RCRC RAMS (24, Kashirskoe sh., Moscow, 115478, RF)

⁵ MD, Head, Pathologic Anatomy Department, Tatarstan Republic Clinical Cancer Dispensary, (29, Sibirskiy Trakt st., Kazan, 420029, RF)

⁶ MD, PhD, DSc, Professor, Director, N. N. Petrov Research Institute of Oncology (68, Leningradskaya st., Pesochnyi pos., Saint-Petersburg, 197758, RF)

⁷ MD, PhD, DSc, Chair, Department of Chemotherapy, P. A. Hertzen Moscow Oncology Research Institute (3, 2-nd Botkinskiy pr., Moscow, 125284, RF)

⁸ MD, PhD, DSc, Professor, Chief Medical Oncologist of Moscow City, Deputy Chief Medical Officer, Moscow Clinical Cancer Dispensary № 1 (17/1, Baumanskaya st., Moscow, 105005, RF)

⁹ PhD Scholar, Laboratory of Cell Immunity, Research Institute of Experimental Diagnostics and Therapy of Tumors, N. N. Blokhin RCRC RAMS (24, Kashirskoe sh., Moscow, 115478, RF)

¹⁰ MD, PhD, DSc, Professor, Chair, Department of Chemotherapy, Clinical Oncology Research Institute, N. N. Blokhin RCRC RAMS (24, Kashirskoe sh., Moscow, 115478, RF)

¹¹ MD, PhD Scholar, Physician, Oncologist & Hematologist, Postgraduate Department of Oncology, Moscow State University of Medicine & Dentistry (20, bld. 1, Delegatskaya st., Moscow, 127473, RF)

- ¹² MD, PhD, DSc, Professor, Chief Medical Officer, Chief Oncologist of Siberian Federal Region, Irkutsk Regional Cancer Dispensary (32, Frunze st., Irkutsk, 664035, RF)
- ¹³ MD, PhD, Associate Professor, Chair, Thoracic Oncology Department, St. Petersburg City Clinical Cancer Dispensary (3/5, 2-nd Beresovaya alleya, Saint-Petersburg, 197022, RF)
- ¹⁴ MD, Chief Medical Officer, Orenburg Regional Clinical Cancer Dispensary (11, Gagarin prospect, Orenburg, 460000, RF)
- ¹⁵ MD, PhD, DSc, Professor, Chief Medical Officer, St. Petersburg City Clinical Cancer Dispensary (3/5, 2-nd Beresovaya alleya, Saint-Petersburg, 197022, RF)
- ¹⁶ MD, PhD, DSc, Professor, Chief Oncologist of Moscow City, Chief Medical Officer, Moscow City Oncology Hospital No 62 (p/o Stepanovskoye, Krasnogorskiy Area, Moscow Region, 143423, RF)
- ¹⁷ MD, PhD, Associate Professor, Thoracic Oncology Department, St. Petersburg City Clinical Cancer Dispensary (3/5, 2-nd Beresovaya alleya, Saint-Petersburg, 197022, RF)
- ¹⁸ MD, PhD, DSc, Professor, Leading Researcher, Thoracic Oncology Department, Clinical Oncology Research Institute, N. N. Blokhin RCRC RAMS (24, Kashirskoe sh., Moscow, 115478, RF)
- ¹⁹ MD, PhD, DSc, Professor, Chief Medical Officer, Moscow Clinical Cancer Dispensary № 1 (17/1, Baumanskaya st., Moscow, 105005, RF)
- ²⁰ MD, PhD, Chief Medical Officer, Oncology Research Institute – Siberian Division of Russian Academy of Medical Sciences (5, Kooperativnyi sidest., Tomsk, 634050, RF)
- ²¹ MD, PhD, DSc, Professor, Director, Volga River Basin Branch of N. N. Blokhin RCRC RAMS; Chief Medical Officer, Tatarstan Republic Clinical Cancer Dispensary, (29, Sibirskiy Trakt st., Kazan, 420029, RF)
- ²² MD, PhD, DSc, Professor, Academician of RAMS, Director, Oncology Research Institute – Siberian Division of Russian Academy of Medical Sciences (5, Kooperativnyi sidest., Tomsk, 634050, RF)
- ²³ MD, PhD, Professor, Head of Cytopathology section, Department of Pathology, Navarra University Clinic (31008, Pamplona, España, Avenida Pio XII, 36)
- ²⁴ MD, PhD, DSc, Professor, Chairman, Department of Pathology, M. Skladowska – Curie Memorial Cancer Center and Institute of Oncology (02 -781, Warszawa, Polska, ul. W.K. Roentgena 5)
- ²⁵ Director, Eurasian Federation of Oncology; Senior Researcher, Department of Tumor Biotherapy, Clinical Oncology Research Institute, N. N. Blokhin RCRC RAMS (24, Kashirskoe sh., Moscow, 115478, RF)

Address for correspondence: Velizheva Nadezhda Pavlovna, Laboratory of Cell Immunity, Research Institute of Experimental Diagnostics and Tumor Therapy, N. N. Blokhin RCRC RAMS, 24, Kashirskoe sh., Moscow, 115478, RF; e-mail: nadezhda.velizheva@gmail.com

Lung cancer is a group of tumors of various histologic features, including small cell and non-small cell carcinoma (adenocarcinoma, squamous cell carcinoma, large cell and their subtypes). The level of pathologic confirmation of lung cancer diagnosis in Russian Federation is low (61.0%). The histologic types and subtypes of lung cancer are not included in the Russia-CIS cancer statistics. Lack of multidisciplinary strategy in organizing and performing immunopathologic and molecular investigations have led to difficulty in interpretation of the results obtained. To address this issue, the Eurasian Federation of Oncology in collaboration with Eli Lilly Company developed the HistoLogica project. The aim of the project is to improve lung cancer diagnostics. Cancer centers from different regions of Russia take part in this project. Within the framework of this project, the level of lung cancer diagnostics with confirmation of histologic type and subtype based on second opinion of the cytological and histological slides (n = 292) by experts for the period September to November 2010.

Key words: lung cancer, pathologic diagnostics, histologic types, histologic variants, lung adenocarcinoma, HistoLogica.

ТРЕБОВАНИЯ К ПУБЛИКАЦИЯМ В ЖУРНАЛЕ «ВЕСТНИК РОНЦ им. Н. Н. БЛОХИНА РАМН»

Журнал «Вестник РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН» состоит из следующих разделов: «Экспериментальные исследования», «Клинические исследования», «Клинические лекции», «Случай из практики», «Обзорные статьи», «Хроники», «Дискуссия».

Статьи для разделов «Экспериментальные исследования» и «Клинические исследования» должны состоять из реферата, введения, описания материалов и методов, результатов, обсуждения, заключения и списка литературы; статьи для раздела «Случай из практики» — из реферата, краткой исторической справки (по желанию авторов), описания клинического наблюдения, обсуждения (по желанию авторов), заключения и списка литературы; статьи для разделов «Обзорные статьи» и «Клинические лекции» — из реферата, отдельных разделов (по желанию авторов), заключения и списка литературы.

Статья должна быть представлена в виде файла формата RTF на дискете или CD и распечатана в 2 экземплярах. В основном файле должны содержаться текст статьи, таблицы, подписи и надписи к рисункам, список литературы. Кроме того, на дискете или CD должны быть записаны рисунки (каждый в виде отдельного файла). Штриховые и тоновые рисунки (фотографии, рентгенограммы и т. д.), т. е. растровая графика, должны быть сохранены в виде файлов формата TIF или JPEG, графики и диаграммы (векторная графика) — в виде файлов формата EPS. Если автор не работает с современными программными пакетами для создания векторной графики, можно присылать графики в виде файла Microsoft Excel с обязательным приложением в виде таблицы с данными, которые использованы для построения графика.

Обзорные статьи не должны превышать 24 страницы, оригинальные статьи и клинические лекции — 12 страниц, описания клинических наблюдений, рационализаторских предложений, хроникальных заметок, рецензий — 4 страницы текста.

Весь текст должен быть набран шрифтом Times New Roman 14, через полуторный интервал. Ширина полей: левое — 30 мм, верхнее — 20 мм, правое — 15 мм, нижнее — 20 мм. Текст должен быть выровнен по левому краю, не содержать переносов. Все страницы должны быть пронумерованы.

После названия статьи следует указать имена, отчества (полностью) и фамилии авторов, их ученые звания и должности, полное название учреждений (в том числе названия отделений, НИИ), в которых работают авторы, с указанием адреса, почтового индекса и e-mail. Кроме того, необходимо указать контактное лицо, адрес для переписки и e-mail (нужно иметь в виду, что все эти данные будут опубликованы). Затем должен следовать реферат, в котором кратко, без рубрикации должны быть указаны цель исследования, материалы и методы (количество больных, используемая методика), полученные автором результаты и основные выводы. Рекомендуемый объем

реферата — 500—1000 печатных знаков. В конце реферата автор приводит ключевые слова работы (не более 5).

Статья должна быть написана ясно, четко, лаконично, тщательно выверена авторами, не содержать повторов и исправлений. Наименования единиц (физических величин, результатов анализов) необходимо приводить по системе СИ. Сокращения допустимы только в отношении часто встречающихся в статье терминов. Они приводятся при первом вхождении в круглых скобках и в дальнейшем используются по всему тексту. Если сокращений больше 10, следует создать список сокращений. В тексте необходимо использовать международные названия лекарственных средств, которые пишутся с маленькой буквы. Торговые названия препаратов следует писать с большой буквы.

По тексту нужно дать ссылки на все таблицы и рисунки (например, табл. 1, рис. 1). Они должны быть размещены в соответствующих по смыслу абзацах и последовательно пронумерованы. Рисунки и таблицы нумеруются отдельно.

Таблицы должны быть компактными, иметь название, не повторять графики. Размерность величин следует указывать через запятую. Таблица не должна содержать пустых ячеек (отсутствие данных должно отмечаться тире, «нет данных» или специальным примечанием). Все уточнения и локальные сокращения выносятся в подтабличные примечания. Каждое примечание нужно располагать с новой строки, помечать надстрочной буквой (а, б, в и т. д.).

Размер каждого рисунка должен быть не менее 10 × 10 см при разрешении не менее 300 dpi. Если под одной подписью планируется несколько рисунков (фотографий, рентгенограмм), каждый должен быть прислан отдельно и соответствовать указанным выше требованиям. Подпись к рисунку должна быть лаконичной, точно соответствовать его содержанию. Если несколько рисунков идут под общей подписью, то сначала приводят ее, а затем названия отдельных рисунков. В подписях к микрофотографиям следует указать методику микроскопии, увеличение, метод окраски материала.

Все формулы должны быть тщательно выверены автором, набраны или встроены в формат текстового редактора. В формулах необходимо размечать строчные и прописные, латинские и греческие, подстрочные и надстрочные буквы и символы. Используемые автором сокращения должны быть разъяснены под формулой.

Список литературы должен быть кратким и содержать не более 20 ссылок для статей из разделов «Экспериментальные исследования», «Клинические исследования», «Клинические лекции», «Случай из практики» и не более 100 ссылок для обзорных статей. Литературные источники перечисляют в списке литературы в порядке цитирования. В тексте статьи ссылки на литературу представляют в квадратных скобках.

Ссылки должны быть пронумерованы в соответствии с их положением в списке литературы. Все литературные источники, перечисленные в списке литературы, должны иметь соответствующую ссылку в тексте. Фамилии иностранных авторов приводятся в оригинальной транскрипции. В список литературы не включают ссылки на неопубликованные работы. Ссылки должны быть тщательно выверены авторами, которые несут ответственность за правильность приведенных данных.

В каждой ссылке должны быть указаны все авторы. Если авторов не более трех, их фамилии и инициалы пишут в начале ссылки, затем следуют название работы и выходные данные издания, если авторов четыре и более, то сначала пишут название работы, затем фамилии и инициалы всех авторов, затем выходные данные издания. Это касается ссылок на любые издания: книги, журналы, сборники и т. д.

Иванов И. И. Хронические гастриты. — 3-е изд. — М.: Медицина, 1986. — 148 с.

Хронические гастриты / Иванов И. И., Петров П. П., Сидоров С. С., Федоров Ф. Ф. — 3-е изд. — М.: Медицина, 1986. — 148 с.

При ссылке на книгу следует указывать авторов, название книги, номер издания (может отсутствовать), место издания, издательство (может отсутствовать), год и страницы (если автор ссылается на всю книгу, то пишется 150 с., если — на ее часть, то указывается С. 145—150), например:

Баадер В. Ю. Биогаз: теория и практика. — 3-е изд. — М.: Колос, 1986. — 148 с.

Schrier R. Manual of nephrology. — 4th ed. — New York: Little, Brown and company, 1995. — P. 170—187.

При ссылке на главу из книги, написанной коллективом авторов, указывают авторов главы и ее название, затем название книги, ее редакторов, номер издания (может отсутствовать), место издания, издательство (может отсутствовать), год и страницы, например:

Кэйн Д. Этические и правовые основы медицинской помощи // Гинекология по Эмилю Новаку: Пер. с англ. / Под ред. Д. Берека, И. Адаши, П. Хиллард. — М.: Практика, 2002. — С. 14—18.

Cain J. Principles of patient care // Novak's Gynecology / Berek J., Adashi E., Hillard P. (eds.). — 12th ed. — Baltimore: Williams & Wilkins, 1996. — P. 14—18.

При ссылке на журнал указывают авторов, название статьи, журнала (в традиционном сокращении), год, том, номер (может быть только том или номер) и страницы, например:

Заварзин Г. А. Трофические связи в метаногенном сообществе // Известия РАН. — 1996. — Т. 3, №6. — С. 34—36.

Хронические гастриты / Иванов И. И., Петров П. П., Сидоров С. С., Федоров Ф. Ф. // Гастроэнтерология. — 1996. — Т. 3, №6. — С. 34—36.

Fallowfield L. J. Psychological outcomes of different treatment policies in women with early breast cancer outside a clinical trial // BMJ. — 1990. — Vol. 3, N 5. — P. 575—580.

При ссылке на сборник статей указывают авторов, название статьи, сборника, место издания, год, страницы, например:

Кононенко Г. А. Решение уравнений движения однофазного вязкого закрученного потока в длинной трубе // Отопление и вентиляция. — Иркутск, 1994. — С. 34—36.

При ссылке на тезисы докладов указывают авторов, затем название тезисов, конференции, сроки ее проведения, страницы, например:

Кононенко Г. А. Решение уравнений движения однофазного вязкого закрученного потока в длинной трубе // Тез. докл. Всерос. науч.-тех. совещ., г. Иркутск, 19—21 апр. 1994 г. — С. 34—36.

Bailees M. D. The professional-client relationship // Proceedings of 17th International Cancer Congress, Rio de Janeiro, 23—28 Aug, 1998. — P. 596.

При ссылке на диссертации или авторефераты указывают автора, затем название диссертации, место и дату написания, страницы, например:

Бредикис Ю. И. Анатомическое и экспериментальное обоснование пункции сердца: Дис... канд. мед. наук. — М., 1957. — 157 с.

При этом используются следующие сокращения: «Дис... канд. мед. наук», «Дис... д-ра мед. наук», «Автореф. дис... канд. мед. наук», «Автореф. дис... д-ра мед. наук».

При ссылке на журналы, представленные в электронном доступе, следует указывать авторов и название статьи, название электронного журнала, год, номер, электронный адрес и дату обращения, например:

Иванова И. И. Развитие металлопроизводства в эпоху раннего металла [Электронный ресурс] // Вестн. РФФИ. — 1997. — №2. — URL: <http://www.rfbr.ru> (дата обращения: 01.01.2008).

Один из печатных вариантов работы должен быть обязательно подписан всеми авторами и руководителем подразделения, в нем должны содержаться контактные телефоны и e-mail.

Все статьи, поступившие в редакцию, подлежат рецензированию. Рецензенты назначаются редакционной коллегией журнала, которая имеет право отклонить работу из-за несоответствия профилю и требованиям журнала. В случае отказа в публикации редакция высылает авторам письмо с объяснением его причин. Плата за публикацию не взимается.

Редакция журнала осуществляет научное и литературное редактирование статей, обязуется информировать авторов обо всех смысловых изменениях, возникающих при редактировании их работ (это не касается литературной правки).

Статьи, ранее опубликованные в других журналах или сборниках, не принимаются к публикации.

Передача рукописи в редакцию журнала «Вестник РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН» означает, что авторы статьи дают согласие на ее размещение в свободном доступе на сайтах www.ronc.ru и www.elibrary.ru.

Адрес редакции: 115478, РФ, Москва, Каширское шоссе, д. 24,
редакция журнала «Вестник РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН».
Телефон редакции: +7-499-324-5537. E-mail: vestnikronc@mail.ru



ГИСТОЛОГИКА

ПРОЕКТ ПО УЛУЧШЕНИЮ ДИАГНОСТИКИ РАКА ЛЕГКОГО В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Аденокарцинома является одним из самых распространенных гистологических типов рака легкого, характеризуется значительной морфофенотипической и молекулярной гетерогенностью. Отсутствие в России единой мультидисциплинарной стратегии организации и проведения иммуноморфологических и молекулярных исследований затрудняет интерпретацию полученных результатов. В связи с этим Евразийской федерацией онкологии в партнерстве с компанией «Эли Лилли» создан проект «ГистоЛогика». Цель проекта — совершенствование диагностики рака легкого. В нем участвуют онкологические центры и диспансеры из разных регионов России. В рамках проекта совместно с хирургами, морфологами и химиотерапевтами ведущих онкологических учреждений России разработаны и опубликованы рекомендации по диагностике рака легкого. Регулярно проводятся обучающие семинары для морфологов и хирургов, включающие интерактивное обсуждение наиболее сложных клинических наблюдений и просмотр микропрепаратов. Деятельность проекта направлена на преодоление комплекса существующих проблем в организации морфологической диагностики рака легкого и на создание базы данных, которая позволит судить о соотношении его гистологических типов и подтипов. Конечной целью проекта является индивидуализация лечения и повышение выживаемости больных раком легкого.



Uniting Continents
in Fighting Cancer



Answers That Matter.